پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، صفحات ۱۰۷ تا ۱۱۲

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی بیان و عملکرد ژن پمپ‌های افلاکس ایزوله‌های مقاوم به چند دارو در اسینتوباکتر بامانی غیرکلونال

حسین گودرزی[*1]، معصومه دورقی[2]، حسین دبیری[1]، زهره قلاوند[1]

[1] گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[2] گروه میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *سیستم‌های افلاکس در غشاء باکتری قرار دارند و نقش مهمی در هموستازی سلول و دفع ترکیبات سمی دارند. افزایش بیان پمپ‌های افلاکس خانواده RND منجر به مقاومت چند دارویی باکتری می‌شود. یکی از پمپ‌های RND شناخته شده در اسینتوباکتر بامانی سیستم AdeABC می‌باشد. یکی دیگر از پمپ‌های متعلق به خانواده MATE به نام AbeM نیز در اسینتوباکتر بامانی شناسایی شده است. هدف از این مطالعه، بررسی بیان و عملکرد ژن پمپ‌های افلاکس ایزوله‌های مقاوم به چند دارو در اسینتوباکتر بامانی بود.*

روش بررسی: *تحقیق در یک دوره ۱۸ ماهه به روش توصیفی صورت گرفت. ۱۹۱ ایزوله اسینتوباکتر بامانی به روش Rep-PCR دیسک دیفیوژن و E-test بررسی شدند. بیان ژن و عملکرد پمپ های افلاکس در ۵۰ ایزوله بالینی مقاوم به چند دارو غیر کلونال به روش real-time PCR و آزمایش تجمع اتیدیوم بروماید بررسی شد.*

یافته‌ها: *میزان مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از ۶۹ تا ۹۹ درصد متفاوت بود. تمام ایزوله‌ها حاوی ژن‌های adeB (۱۰۰٪) و abeM (۱۰۰٪) بودند. موتاسیونی در ژن adeS یا adeR یافت نشد. بیان adeB با کاهش حساسیت به سفی پیم ارتباط داشت. بیان abeM با تغییرات MIC همخوانی نداشت.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد مکانیسم‌های متعددی در ایجاد مقاومت چندگانه اسینتوباکتر بامانی نقش داشته باشند. افزایش بیان adeABC نقش اصلی را در مقاومت آنتی بیوتیکی ایفاء نمی‌کند.*

واژگان کلیدی: *پمپ افلاکس، اسینتوباکتر بامانی مقاوم به چند دارو، Rep-PCR، بیان ژن.*

مقدمه

مقاومت چند دارویی در اسینتوباکتر بامانی، علت اصلی شکست درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از آن به شمار می‌آید. سویه های اسینتوباکتر بامانی به دلیل مقاومت ذاتی و پذیرش عناصر ژنتیکی حامل ژنهای مقاومت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌باشند و سویه‌های مقاوم به چند دارو پدیدار شده‌اند (۱). امروزه پمپ‌های افلاکس فعال به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها مطرح شده‌اند (۲). پمپ‌های افلاکس آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها از نظر فیلوژنی به پنج خانواده بزرگ تعلق دارند. از بین آنها پمپ‌های خانواده Resistance-Nodulation-Division (RND) و Multidrug and Toxic compound Extrusion (MATE) در اسینتوباکتر بامانی جزء پمپ‌های افلاکس چند دارویی (Multidrug Efflux pumps) می‌باشند. پمپ‌های افلاکس نه تنها

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، حسین گودرزی (**e-mail:** medicalopto@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۲/۲۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۵/۱

باعث افزایش حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری (MIC) آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردند، بلکه با کاهش غلظت دارو در داخل سلول منجر به ایجاد سویه‌هایی موتانت مقاوم به آنتی بیوتیک در باکتریها می‌گردند (۳). AdeABC یکی از مهم‌ترین سیستم افلاکس متعلق به خانواده RND می‌باشد. ژن‌های پمپ افلاکس AdeABC بر روی کروموزوم باکتری قرار دارند و سه ژن *adeB*، *adeA* و *adeC* در مجاورت هم یک اپرون را تشکیل می‌دهند. AdeB یک پروتئین ترانسپورتر می‌باشد، در حالی که AdeA و AdeC به ترتیب یک پروتئین فیوژن غشایی و یک پروتئین غشاء خارجی می‌باشند. بیان adeABC توسط یک سیستم دو جزئی مشتمل بر تنظیم کننده پاسخ (Response regulator, AdeR) و یک کیناز حسگر (Sensor kinase, AdeS) انجام می‌شود (۴). آنتی‌بیوتیک‌های متعددی از جمله آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین، فلوروکینولون‌ها، تری‌متوپریم و کلرامفنیکل به عنوان سوبستراهای این سیستم مطرح شده‌اند (۵). داروها به عنوان سوبسترای پمپ AdeABC می‌توانند بیان ژن‌های AdeABC را افزایش دهند که به نوبه خود منجر به بروز مقاومت چند دارویی می‌شوند. مشخص شده است که افزایش بیان adeABC با موتاسیون ژن‌های تنظیمی *adeS* و *adeR* مرتبط می‌باشد (۶). علاوه بر این مشخص شده است که افزایش بیان adeABC با کاهش حساسیت به تایگی سایکلین مرتبط می‌باشد (۷، ۸). AbeM یکی دیگر از پمپ‌های افلاکس چند دارویی متعلق به خانواده MATE می‌باشد. سوبستراهای این پمپ عبارتند از جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و تری‌متوپریم می‌باشد (۹). وجود این پمپ‌های افلاکس منجر به افزایش MIC به افلوکساسین، سیپروفلوکساسین و جنتامایسین می‌شود (۱۰). پمپ‌های افلاکس چند دارویی به خاطر تنوع وسیع سوبسترایی، اثرات ناشی از افزایش بیان آنها، همراهی و اثر سینرژیسمی آنها با دیگر مکانیسم‌های مقاومت نقش مهمی در پدیدار شدن سویه‌های مقاوم به چند دارو دارند. به دلیل وفور پمپ‌های افلاکس در اسینتوباکتر بامانی، یافتن داروهای جدید علیه این اهداف نوین درمانی اهمیت دارد. بنابراین، شناخت نحوه بیان و عملکرد ژن‌های ساختمانی و تنظیمی پمپ‌های افلاکس چند دارویی به منظور طراحی راهکارهای نوین درمانی و درک نقش پمپ‌ها در تداوم و بقاء باکتری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. از جمله راهکارهای مقابله با پمپ افلاکس دارویی مهار عملکرد پمپ، تغییر تنظیم بیان یا شبکه تنظیمی و ساختمانی می‌باشد. از آنجا که افزایش بیان سیستم‌های افلاکس نقش مهمی در مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارد و به دلیل اینکه افزایش بیان به آسانی در سطح فنوتیپی قابل ردیابی نمی‌باشد و بسیاری از موتاسیون‌های ژن‌های تنظیمی در سطح ژنوتیپی ناشناخته باقی می‌ماند؛ هدف از این پژوهش بررسی حضور، بیان کمّی، موتاسیون و عملکرد ژن‌های ساختمانی و تنظیمی پمپ‌های افلاکس چند دارویی RND و MATE باشد. این تحقیق در یک دوره زمانی ۱۸ ماهه در گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی صورت پذیرفت.

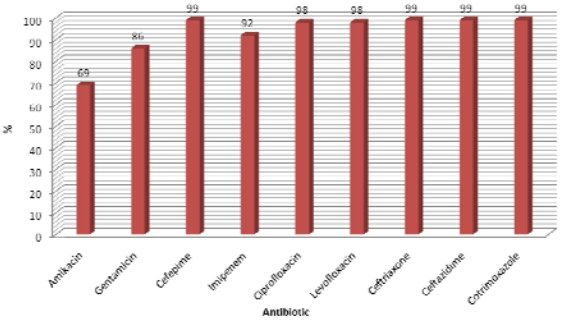
مواد و روشها

در این پژوهش توصیفی- مقطعی، ایزوله‌های اسینتوباکتر بامانی‌های مقاوم به چند داروی غیرکلونال (ایزوله‌هایی که از یک کلون نباشند) بررسی شدند. ایزوله‌های غیر تخمیری جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان، به آزمایشگاه منتقل شدند. تست‌های افتراقی بیوشیمیایی متعدد به منظور تعیین هویت باکتری انجام شد. علاوه بر این، رشد در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد و مصرف قند دکستروز به منظور تأیید هویت باکتری انجام شد. حساسیت آنتی‌بیوتیکی اسینتوباکتر بامانی به روش دیسک دیفیوژن تعیین شد و MIC به روش E –test اندازه‌گیری شد. در نهایت، ایزوله‌های مقاوم به چند دارو تعیین شدند. استخراج DNA به روش استاندارد فنل – کلروفروم انجام شد و ناهمگونی ژنتیکی ایزوله‌ها به روش rep-PCR تعیین شد. ایزوله‌های مقاوم به چند دارو غیرکلونال به منظور آزمایش‌های بعدی انتخاب شدند. حضور ژن‌های ساختمانی پمپ‌های افلاکس به روش PCR بررسی شد و موتاسیون ژن‌های تنظیمی به روش PCR-sequencing (Bioneer, Korea) مشخص شد. استخراج RNA از باکتری در فاز لگاریتمی رشد انجام شد و واکنش Reverse transcription به منظور تهیه cDNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن 16S rRNA انجام شد. میزان بیان ژن‌های مورد نظر و ژن به روش کمی Real-time PCR (Rotor gene 6000 Real Time PCR, Corbett, Australia) انجام شد و عملکرد پمپ‌های افلاکس به روش تجمع اتیدیوم بروماید بررسی شد. داده‌های آزمایش داده‌های حساسیت یا مقاومت آنتی‌بیوتیکی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و محل تقاطع رشد کلنی با نوار حاوی غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک به دست آمد. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده شامل ایمی‌پنم (Mast, UK)، سفی‌پیم (Mast, UK)، سفتازیدیم (Mast, UK)، سفتریاکسون (Mast, UK)، سیپروفلوکساسین (Mast, UK)، لووفلوکساسین (Mast, UK)، امیکاسین (Mast, UK)، جنتامایسین (Mast,UK) و کوتریماکسازول (Mast,UK)

بودند. داده‌های آزمایش‌های مولکولی بر حسب حضور باند، تعیین توالی، دندوگرام و میزان فلورسنس حاصل از نشانگر مشخص می‌شود. داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ (Sigma stat, Chicago, USA) بررسی شدند. با استفاده از این نرم افزار تعیین فراوانی مطلق و نسبی هر یک از متغیرها انجام شد. به منظور تعیین ارتباط متغیرها، آزمون کای دو و در برخی موارد آزمون فیشر استفاده شد. P کمتر یا مساوی ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

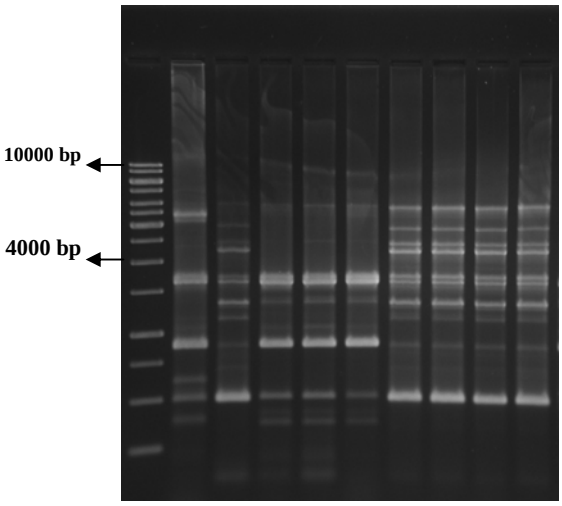
یافته‌ها

از میان ۲۳۰ ایزوله غیر تخمیری ارسالی به آزمایشگاه، ۱۹۴ ایزوله بر اساس تست‌های افتراقی بیوشیمیایی به عنوان اسینتوباکتر بامانی شناسایی شدند. علاوه بر این، هویت تمام این ایزوله‌ها با تکثیر ژن blaOXA-51 به روش PCR تأیید گردید؛ به طوری در تمام ایزوله‌ها محصول PCR قطعه به اندازه ۳۵۳ جفت بود. بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نشان داد که میزان مقاومت از ۶۹ تا ۹۹ درصد بر حسب نوع آنتی بیوتیک متفاوت است (نمودار ۱).

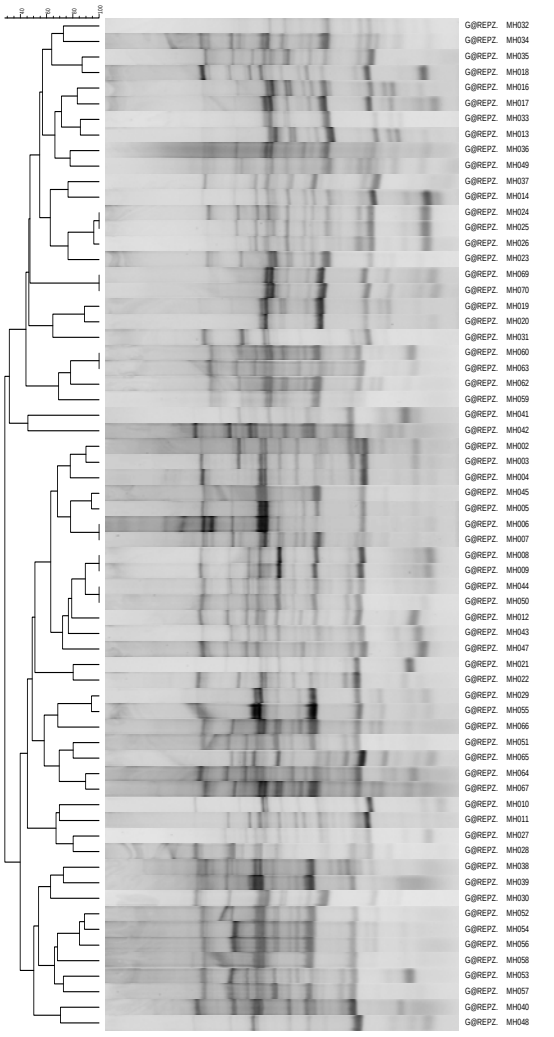


نمودار ۱- میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر حسب درصد در ایزوله‌های اسینتوباکتر بامانی

تعیین MIC به روش E- test نشان داد که محدوده MIC ایمی‌پنم از ۳۲-۰/۳۸ میکروگرم/میلی لیتر متغیر بود و این محدوده در مورد سفی پیم، ۲۵۶-۳ میکروگرم/ میلی لیتر و در مورد لووفلوکساسین ۳۲-۰/۰۶۴ میکروگرم / میلی لیتر بود. بررسی الگوی ژنتیکی ۱۹۴ ایزوله اسینتوباکتر بامانی به روش Rep-PCR نشان داد که کلون‌های متعددی در میان ایزوله‌های جدا شده از یک بیمارستان یا ایزوله‌هایی دارای الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشابه یافت شد (شکل ۱).



شکل ۱- الگوی ژنتیکی ایزوله‌های اسینتوباکتر بامانی به روش Rep-PCR ؛ M : مارکر 1kb، ۹- ۱: نمونه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی



شکل ۲- دندوگرام ایزوله‌های اسینتوباکتر بامانی بر اساس rep-PCR

همان طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود دندوگرام حاصل از آنالیز الگوی ژنتیکی تنوع کلون‌ها را ۵ کلون (A-E) نشان می‌دهد (شکل ۲). از مجموع ایزوله‌ها، بررسی ۵۰ ایزوله غیرکلونال و مقاوم به چند دارو اسینتوباکتر بامانی نشان داد که فراوانی ژن‌های *adeA* (۱۰۰٪) مشابه فراوانی دیگر ژن‌های ساختمانی *adeB* (۱۰۰٪)، *adeC* (۱۰۰٪) و *abeM* (۱۰۰٪) بود. بنابراین، تمام ایزوله‌ها دارای ژن‌های ساختمانی پمپ‌ها بودند. نتایج تعیین توالی نشان داد که موتاسیونی در ژن‌های *adeS* و *adeR* وجود نداشت (شکل ۳).

1atgtttgatcattctttttctttgattgccaagataaagttattcttgtggtagaa
aatgactacgatattggcgacattattgaaaattatttaaaacgtgaaggcatg
agtgttattcgggccatgaatggaaagcaagcgattgaattgcacgctagcc
aacccatcgatttaatcttacttgatattaaattacccgaattaaacggttgggaa
gtattaaataaaatacgccaaaaagctcagactcccgtgatcatgttgacggc
gctagatcaagatattgataaagttatggcattacgcataggtgcagatgacttt
gtggtgaagccttttaacccaaatgaagtcgtcgctagagttcaggcagtcct
aagacgtactcagtttgcaaacaaagcaactaataaaaataaactctataaaa
atattgaaattgataccgacactcatagcgtttatatacactctgagaataagaa
gatcttgcttaatctgacgctgactgaatataaaattatttcattcatgattgatca
gcctcataaagtttttacgcgcggagagcttatgaatcactgcatgaatgatag
cgatgcactagagcgaaccgtagatagccatgtgagtaagctgagaaaaaa
actagaagaacaaggcatatttcaaatgttaattaatgtgcgtggcgtgggata
tagactagataatcccctagctgtaaaagatgatgcctaaataatattaaaaaat
agctagggaatattttatgaaaagtaagttaggaattagtaagcaacttttattg
ccttaactattgtgaatttaagcgttacgctattttctatagtattgggttatatcatt
tataactatgcgattgaaaaaggctggattagcttaagctcatttcaacaagaa
gattggaccagttttcatttttgtagactggatctggttagccactgttatcttctgt
ggctgtattatttcattagtgattggcatgcgcctcgcaaagcgttttattgtgcc
aattaacttcttagtcgaagcagcaaaaaaaattagtcacggcgacctctctgc
tagagcttacgataatagaattcactccgccgaaatgtcggagcttttatataat
tttaatgatatggctcaaaagctagaggtttccgtcaaaaatgcgcaggtttgg
aatgcagctatcgcacatgagttaagaacgcctataacgatattacaaggtcg
tttacagggaattattgatggcgtttttaaacctgatgaagtcctatttaaaagcc
ttttaaatcaagttgaaggtttatctcacttagtcgaagacttacggactttaagc
ttagtagagaaccagcaactccggttaaattatgaattgtttgacttgaaggcg
gtagttgaaaaagttcttaaagcatttgaagatcgtttggatcaagctaagctag
taccagaacttgacctaacgtccactcctgtatattgcgaccgccgtcgtattg
agcaagttttaattgctttaattgataatgcgattcgctattcaaatgcaggcaaa
cttaaaatctcttcagaagtggttgcagacaactggatattaaaaattgaggat
gaaggccccggcattgcaaccgagtttcgggacgatttatttaagcctttcttta
gattagaagaatcaaggaataaagaatttggcggcacaggtttaggtcttgct
gttgtacatgcaattattgtggcactgaaaggcactattaaatatagcaatcaa
ggctcgaaaagtgttttcaccataaaaatttctatgggtcatgaagagatgggg
taa1861

شکل ۳- توالی نوکلئوتیدی ژن‌های تنظیمی *adeS* و *adeR*

از باز شماره ۱ تا ۷۴۴ مربوط به ژن *adeR* و از باز ۷۷۶ تا ۱۸۶۱ مربوط به ژن *adeS* است. کاهش حساسیت به سفی پیم را در گروه‌های A ، C و D مشاهده گردید (جدول ۱). در مورد ایزوله‌هایی که بیان *adeB* در مقایسه با کنترل کاهش نشان می‌دهد افزودن مهار کننده پمپ اثری بر MIC سفی‌پیم نداشت. با این حال، میزان بیان *adeB* اثری بر MIC آنتی‌بیوتیک‌های دیگر از جمله ایمی‌پنم نداشت. از سوی دیگر تغییرات بیان *abeM* اثری بر تغییر MIC آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی نداشت (جدول ۱).

جدول ۱- حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر حسب MIC و بیان نسبی ژن‌های پمپ افلاکس

گروه ایزوله	MIC (میکروگرم/میلی لیتر)			بیان نسبی در مقایسه با ژن 16S rRNA	
	ایمی پنم	سفی پیم	لووفلوکساسین	*adeB*	*abeM*
گروه A	۱۶	>۲۵۶	۱۲	۴	۱/۳
گروه B	>۳۲	۱۲۸	>۳۲	۱/۴	۱
گروه C	۳۲	>۲۵۶	>۳۲	۳/۳	۰/۶۸
گروه D	۲۴	>۲۵۶	>۳۲	۴/۳	۰/۸۳
گروه E	۳۲	۲۵۶	۳۲	۲/۹	۱/۵

بحث

بر اساس نتایج مطالعه ما مشخص گردید که علیرغم حضور ژن‌های ساختمانی در تمامی ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه و عدم موتاسیون در ژن‌های تنظیمی، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی متفاوت می‌باشد. کاهش حساسیت به سفی‌پیم را در گروه‌های A، C و D مشاهده گردید و تا حدودی می‌توان به سیستم عملکرد پمپ افلاکس نسبت داد. میزان بیان ژن *adeB* تا حدودی با میزان MIC سفی‌پیم همخوانی داشت، ولی این روند در مورد سایر آنتی بیوتیک های مورد بررسی صدق نداشت.

همان طور که پیشتر اشاره شد، یکی از مکانیسم‌های مقاومت در این باکتری حضور پمپ‌های افلاکس است. این گونه پمپ‌ها باعث دفع و تراوش طیف گسترده‌ای از مواد شامل آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات آنتی‌سپتیک، رنگ‌ها و دترژنت‌ها می‌گردند؛ بنابراین در ایجاد مقاومت چند دارویی نقش به سزایی دارند (۳). طیف وسیع مقاومت منجر به بی اثر شدن بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌شود؛ بنابراین جستجوی اهداف نوین درمانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۹). طراحی داروهای نوین مستلزم شناسایی و درک وضعیت سیستم‌های ایجاد کننده مقاومت از جمله پمپ‌های افلاکس است. نیک آسا و همکاران در سال ۱۳۸۷ نشان دادند که میزان MIC در حضور ماده مهار کننده پمپ‌های افلاکس در سویه‌های اسینتوباکتر بامانی جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی شهر تهران کاهش می‌یابد (۱۱). Ruzin و

همکاران در سال ۲۰۱۰ با مطالعه ایزوله‌های بالینی نشان دادند که ارتباط معنی‌داری میان میزان بیان پمپ افلاکس و میزان MIC وجود دارد. علاوه بر این، نشان داده شد که افزایش بیان پمپ افلاکس AdeABC یک مکانیسم رایج کاهش حساسیت به تایگی سایکلین در این باکتری می باشد (۱۲). در سال ۲۰۱۰ Hornsey و همکاران نشان دادند افزایش MIC تایگی‌سایکلین، با افزایش بیان پمپ افلاکس *adeABC* مرتبط است (۱۳). Lin و همکاران در سال ۲۰۰۹ فراوانی ژن پمپ‌های افلاکس *adeDE*، *adeABC*، *adeIJK* و *adeSR* را در سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بامانی بررسی نمودند. در مطالعه Lin مشخص شد که ۷۵ درصد سویه‌های با میزان مقاومت بالا از نظر ژن‌های *adeSR*، *adeABC* و *adeIJK* مثبت بودند (۱۴). Wong و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم نشان دادند که حضور ژن‌های *adeABC* نقش مهمی در مقاومت سویه‌های اسینتوباکتر بامانی دارد (۱۵). Bratu و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که افزایش بیان *adeABC* نقش چندانی در مقاومت به آمینوگلیکوزیدها یا فلورکینولون‌ها ایفاء نمی‌کند، ولی با کاهش حساسیت به تایگی‌سایکلین مرتبط است. علاوه بر این نشان دادند که بیان *abeM* با مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارتباطی ندارد (۱۶). Huang و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که ژن کد کننده پمپ افلاکس *adeB* در سویه‌های اسینتوباکتر جدا شده از ICU جراحی به وفور یافت می‌شود. علاوه بر این، نشان داده شد که افزایش بیان پمپ افلاکس AdeABC نقش مهمی در کاهش حساسیت به مروپنم ایفاء می‌کند (۱۷). در سال ۲۰۰۷، Nemec و همکاران نشان دادند که ژن‌های AdeABC به وفور در سویه‌های اسینتوباکتر بامانی یافت می‌شوند، ولی در برخی سویه‌های کاملا حساس وجود ندارد. علاوه بر این نشان داده شد که مقاومت چند دارویی نمایانگر افزایش بیان AdeABC می‌باشد (۱۸). در تحقیقی در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که موتاسیون در ژن‌های تنظیمی *adeS* و *adeR* در سویه‌های غیرحساس به تایگی‌سایکلین رخ می‌دهد. این مطالعه نشان داد که پمپ افلاکس AdeABC نقش مهمی در کاهش حساسیت سویه‌های اسینتوباکتر بامانی به تایگی‌سایکلین دارد (۷). متناسب با مطالعات فوق به خصوص نتایج مطالعه MF Lin و همکاران در مطالعه ما نیز مشخص گردید که ژن‌های ساختمانی *adeA* ، *adeB*، *adeC* و *abeM* در تمام ایزوله‌های مقاوم به چند دارو یافت می‌شوند (۲۰). اگرچه افزایش بیان *adeB* باعث افزایش مقاومت در برابر سفی‌پیم و افزایش MIC می‌شود، نباید نقش مکانیسم‌های دیگر را نادیده گرفت. افزایش بیان *adeB* نقش چندانی در ایجاد مقاومت به سیپروفلوکساسین و تغییر MIC آن نداشت. به نظر می‌رسد عوامل یا مکانیسم‌های دیگری در بروز مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر بامانی نیز نقش داشته باشند. تغییرات بیان *abeM* اثری بر فنوتیپ مقاومت ندارد. میزان MIC هیچ یک از آنتی‌بیوتیک‌ها با تغییر بیان ژن *abeM* همخوانی نداشت.

متاسفانه در این تحقیق امکان مقایسه الگوی تایپینگ سویه‌های مورد بررسی با سایر سویه های شناخته شده وجود نداشت. یکی از محدودیت‌های این مطالعه حجم کم نمونه مورد بررسی بود. پیشنهاد می‌شود که مطالعات در جامعه آماری گسترده‌تر و با حجم نمونه بیشتر جهت تعیین الگوی مقاومت دارویی و علل ایجاد و انتشار آن در مراکز درمانی و همچنین شناسایی تایپ آنها به منظور پی بردن به منشا عفونت با این باکتری صورت پذیرد.

با انجام این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که عملکرد پمپ افلاکس نقش به سزایی در کاهش حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف دارد، و لی هیچ گاه نباید نقش سایر عوامل و مکانیسم‌های دخیل در ایجاد مقاومت نادیده گرفت.

REFERENCES

1. Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zórawski M, Krawczyk M, Tryniszewska E. Multidrug resistant Acinetobacter baumannii--the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. Folia Histochem Cytobiol 2008; 46:257-67.
2. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother 2007; 59:1210-15.
3. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in Acinetobacter baumannii strain BM4454. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45:3375-80.
4. Higgins PG, Wisplinghoff H, Stefanik D, Seifert H. Selection of topoisomerase mutations and overexpression of adeB mRNA transcripts during an outbreak of Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother 2004; 54:821-3.
5. Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in Acinetobacter baumannii is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:3298-304.

6. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline Efflux as a Mechanism for Nonsusceptibility in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51:2065-69.

7. Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. J Antimicrob Chemother 2007; 59:1001-1004.

8. Su XZ, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. AbeM, an H+-coupled Acinetobacter baumannii multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49:4362-64.

9. Vila J, Martínez JL. Clinical impacts of the over-expression of efflux pump in nonfermentative Gram-negative bacilli, development of efflux pump inhibitors. Curr Drug Targets 2008; 9:797-807.

10. Nikasa P. Antibiotic resistance of clinical isolates of Acinetobacter baumannii in the presence of efflux pump inhibitor. Infect Dis Trop Med 1387; 42:19-23.

11. Ruzin A, Immermann FW, Bradford PA. RT-PCR and statistical analyses of adeABC expression in clinical isolates of Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. Microb Drug Resist 2010; 16:87-89.

12. Hornsey M, Ellington MJ, Doumith M, Thomas CP, Gordon NC, Wareham DW, et al. AdeABC-mediated efflux and tigecycline MICs for epidemic clones of Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother 2010; 65:1589-93.

13. Lin L, Ling BD, Li XZ. Distribution of the multidrug efflux pump genes, adeABC, adeDE and adeIJK, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii-Acinetobacter calcoaceticus complex. Int J Antimicrob Agents 2009; 33:27-32.

14. Wong EW, Yusof MY, Mansor MB, Anbazhagan D, Ong SY, Sekaran SD. Disruption of adeB gene has a greater effect on resistance to meropenems than adeA gene in Acinetobacter spp. isolated from University Malaya Medical Centre. Singapore Med J 2009;50:822-26.

15. Bratu S, Landman D, Martin DA, Georgescu C, Quale J. Correlation of antimicrobial resistance with beta-lactamases, the OmpA-like porin, and efflux pumps in clinical isolates of Acinetobacter baumannii endemic to New York City. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52:2999-3005.

16. Huang L, Sun L, Xu G, Xia T. Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of Acinetobacter baumannii in a Chinese hospital. Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 62:326-32.

17. Nemec A, Maixnerová M, van der Reijden TJ, van den Broek PJ, Dijkshoorn L. Relationship between the AdeABC efflux system gene content, netilmicin susceptibility and multidrug resistance in a genotypically diverse collection of Acinetobacter baumannii strains. J Antimicrob Chemother 2007; 60:483-89.

18. Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections. Lancet Infect Dis 2008; 8:751-62.

19. Lin MF, Chang KC, Lan CY, Chou J, Kuo JW, Chang CK, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance determinants of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii in five proximal hospitals in Taiwan. Jpn J Infect Dis 2011; 64:222-27.