مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۱/هفته دوم آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۴

# شناسایی و تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کلیستین جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Polymerase chain reaction

رزیتا یوسفیان[۱]، دکتر وجیهه کرباسی‌زاده[۲]، دکتر شراره مقیم[۳]

مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین عوامل باکتریایی ایجاد کننده‌ی عفونت بیمارستانی رو به گسترش است. اسینتوباکتر بومانی (Acinetobacter baumannii) یکی از این عوامل است که مقاومت فزاینده‌ی آن به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری را با مشکل روبه‌رو ساخته است. هدف از این مطالعه، شناسایی Acinetobacter baumannii جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش PCR (Polymerase chain reaction) و تعیین فراوانی نسبی سویه‌های مقاوم به کلیستین بود.

**روش‌ها:** طی یک دوره‌ی ۷ ماهه، تعداد ۹۶ نمونه‌ی بالینی مورد بررسی قرار گرفتند. تمام جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی با آزمایش‌های بیوشیمیایی مرسوم و سپس با تکثیر ژن blaOXA-51 تعیین هویت شدند. جهت تعیین مقاومت فنوتیپیک جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک کلیستین، از روش کلنی اسکرینینگ استفاده شد و همچنین مقاومت سویه‌ها به طور کمی به روش Broth microdilution با تعیین میزان حداقل غلظت بازدارنده (MIC یا Minimum inhibitory concentration) اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** تعداد ۵۱ نمونه (۵۳/۱ درصد) از نظر فنوتیپیک به کلیستین مقاوم بودند و میزان MIC تعیین شده برای سویه‌های مقاوم بیش از ۱۲۸ µg/ml بود.

**نتیجه‌گیری:** فراوانی بالای ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین در نمونه‌ها و میزان MIC فزون یافته‌ی آن‌ها، نشانگر تغییر الگوی مقاومت این سویه‌ها نسبت به کلیستین می‌باشد. بنابراین نظارت و دقت بیشتر بر تجویز و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها همراه با بهبود معیارهای کنترل عفونت در سیستم‌های بهداشتی برای جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم ضروری است.

**واژگان کلیدی:** Acinetobacter baumannii، کلیستین، عفونت بیمارستانی، Polymerase chain reaction

**ارجاع:** یوسفیان رزیتا، کرباسی‌زاده وجیهه، مقیم شراره. **شناسایی و تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کلیستین جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Polymerase chain reaction.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۱): ۱۴۷۴-۱۴۶۶

## مقدمه

Acinetobacter baumannii کوکوباسیل گرم منفی، پاتوژن فرصت طلب و عامل اصلی عفونت های بیمارستانی مانند پنومونی، منتژیت، عفونت‌های دستگاه ادراری و دستگاه تنفسی است. این باکتری همچنین در عفونت های ناشی از سوختگی و بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه درگیر می‌باشد. در سال های اخیر، همانند سایر نقاط جهان گزارش هایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
**نویسنده‌ی مسؤول:** دکتر شراره مقیم
Email: moghim@med.mui.ac.ir

مبنی بر مقاومت باکتری نسبت به عوامل آنتی بیوتیکی وسیع‌الطیف در ایران گزارش شده است (۲-۱).

یکی از عوامل درمانی مؤثر علیه این باکتری کلیستین است. کلیستین در آنتی‌بیوتیک‌های لیپوپپتیدی قرار دارد که پلی میکسین E نیز نامیده می‌شود. این آنتی‌بیوتیک نوعی پلی‌پپتید کاتیونی است که از یک دکاپپتید حلقوی تشکیل شده است و با پیوند آلفا آمیدی به یک آسیل چرب متصل شده است. این آنتی‌بیوتیک فعالیت ضد میکروبی خود را با دو مکانیسم نشان می دهد که شامل اتصال اولیه و نفوذ پذیری غشای خارجی است که توسط تثبیت مجدد غشای سیتوپلاسمی دنبال می شود. در حالی که مکانیسم دقیق کشتن باکتری هنوز به طور واضحی تعریف نشده است، نقطه ی بحرانی اول در عملکرد پلی میکسین واکنش الکترواستاتیک بین پپتیدهای دارای بار مثبت و لیپید A دارای بار منفی (محتوای اندوتوکسیک لیپو پلی‌ساکارید) است.

کلیستین طیف ضد میکروبی وسیعی روی بسیاری از باکتری‌های گرم منفی دارد و اغلب به عنوان یکی از آخرین آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر علیه سویه‌های اسینتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه استفاده می‌شود، اما در سال‌های اخیر، جدایه‌های کلینیکی مقاوم به کلیستین نیز گزارش شده اند. مقاومت به این آنتی‌بیوتیک می‌تواند ناشی از موتاسیون در یکی از سه ژن درگیر در مسیر سنتز لیپید A یعنی lpxA، lpxC و lpxD باشد و یا ناشی از حرکت توالی الحاقی ISAba۱۱ باشد که منجر به غیر فعال شدن ژن‌های درگیر در بیوسنتز لیپید A می‌شود و هر دو حالت، منجر به فقدان تشکیل کامل لیپو پلی ساکارید باکتری و مقاومت بالای آن به کلیستین می‌گردد (۴-۳).

از آنجایی که امکان انتقال المنت های مقاومت آنتی بیوتیکی بین باکتری ها به خصوص اسینتوباکتر بومانی به طور افقی وجود دارد (Horizontal gene transfer)، آگاهی از فراوانی سویه‌های مقاوم می‌تواند منجر به استفاده از روش‌هایی برای پیشگیری از انتشار آن ها در محیط های بیمارستانی و تجدید نظر در رژیم‌های درمانی رایج شود. از این رو، هدف از این مطالعه تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه های اسینتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه نسبت به کلیستین بود.

## روش‌ها

از اسفند ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲ تعداد ۹۶ نمونه ی بالینی مشکوک به اسینتوباکتر بومانی از بیمارستان های مختلف شهر اصفهان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها ابتدا بر روی محیط کشت مک کانکی آگار (Merck) و بلاد آگار (Merck) تلقیح گردیدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ $^{o}C$ انکوبه شدند. جدایه‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمایش‌های بیوشیمیایی مرسوم همچون اکسیداز، کاتالاز، تخمیر هوازی گلوکز (Oxidative-fermentation)، سیترات و آزمایش تخمیر قندها تعیین هویت شدند.

با ردیابی و تکثیر ژن blaOXA-۵۱ به وسیله‌ی تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) گونه‌ی اسینتوباکتر بومانی تأیید شد. بدین منظور، ابتدا DNA باکتری با روش جوشاندن استخراج شد و با استفاده از توالی‌های پرایمری

Forward: ۵'-TAA TGG TTT GAT CGG CCT TG-۳'

Reverse: ۵'-TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG-۳'

این ژن با شرایط PCR به صورت زیر تکثیر گردید: واسرشت‌سازی اولیه در $^{o}C$ ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، ۲۵ سیکل برای واسرشت‌سازی در $^{o}C$ ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، اتصال در $^{o}C$ ۵۳ به مدت ۴۰ ثانیه، گسترش در $^{o}C$ ۷۲ به مدت ۵۰ ثانیه و گسترش نهایی در $^{o}C$ ۷۲ به مدت ۶ دقیقه. سپس محصولات PCR به وسیله‌ی الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد حاوی DNA Green تفکیک شدند و با مقایسه با DNA ladder ۱۰۰ bp به عنوان نشانگر وزن مولکولی با استفاده از دستگاه Gel documentary ردیابی شدند (۵).

جهت بررسی مقاومت فنوتیپیک جدایه‌ها، از روش کلنی اسکرینینگ استفاده شد. در این روش، ابتدا محیط کشت مولر- هینتون آگار (Himedia) حاوی ۱۰ µg/ml از آنتی‌بیوتیک کلیستین (Sigma) تهیه شد. سپس سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل ۰/۵ McFarland تهیه گردید. پس از تأیید کدورت با اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۳۰ nm، بر روی محیط کشت مولر- هینتون آگار (Himedia) به صورت جارویی تلقیح گردید و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در $^{o}C$ ۳۷ رشد و یا عدم رشد نمونه‌ها بررسی شد (۳).

میزان حداقل غلظت بازدارنده (MIC یا Minimum inhibitory concentration) کلیستین برای سویه های مقاوم اسینتوباکتر بومانی به روش Broth microdilution تعیین شد. برای این منظور، سوسپانسیون میکروبی با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند در محیط کشت مولر- هینتون براث (Himedia) از کشت ۲۴ ساعته‌ی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی تهیه شد. محلول استوک با غلظت ۱۰ mg/ml از آنتی‌بیوتیک کلیستین تهیه شد و رقت های متوالی از آن تهیه گردید که پس از مخلوط شدن با سوسپانسیون میکروبی، غلظت‌های نهایی بین ۴-۱۲۸ µg/ml حاصل شد. ۵۰ µl از هر رقت به چاهک میکروپلیت استریل تلقیح و سپس ۵۰ µl از سوسپانسیون باکتری به آن اضافه شد.

بعد از هر بار تلقیح، سوسپانسیون حاصل ۸-۶ بار توسط سمپلر مخلوط گردید. جهت شاهد مثبت، ۱۰۰ µl از محیط مولر- هینتون براث حاوی سوسپانسیون میکروبی و برای شاهد منفی ۱۰۰ µl از محیط مولر- هینتون براث فاقد سوسپانسیون باکتری به چاهک های مجزا تلقیح شد. میکروپلیت به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در $^{o}C$ ۳۷ انکوبه شد. قبل و بعد از انکوباسیون، میکروپلیت در دستگاه الایزا گذاشته شد و میزان جذب چاهک ها قرائت و سپس جهت تعیین میزان MIC مقایسه گردید. مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به کلیستین بر حسب میزان MIC بر اساس استاندارد CLSI ۲۰۱۲ (Clinical and Laboratory Standards Institute) تعیین شد.

جهت تأیید مقادیر حداقل غلظت بازدارنده، ۵۰ µl از چاهک هایی که کدورتی در آن ها مشاهده نشده بود، به محیط کشت مولر- هینتون آگار تلقیح شد و به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در دمای $^{o}C$ ۳۷ انکوبه شدند و رشد یا عدم رشد جدایه‌ها بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

## یافته‌ها

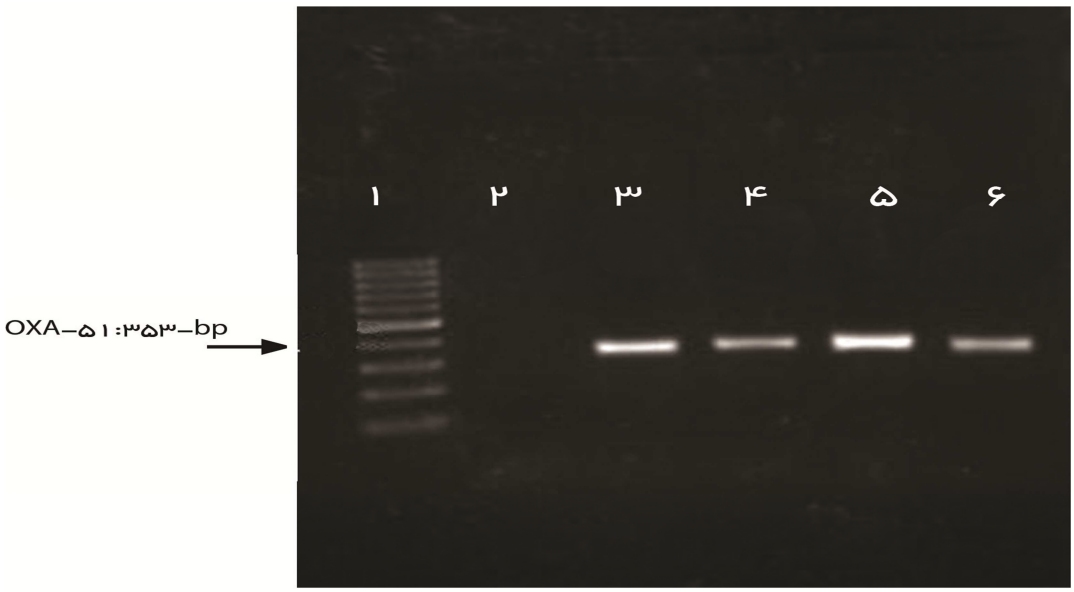
با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی از میان نمونه‌های مورد بررسی، جدایه های اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت،

سیترات مثبت و تخمیر هوازی گلوکز مثبت جدا شدند و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای ژن blaOXA-۵۱ انجام گرفت. نتایج حاصل از PCR نشان داد که blaOXA-۵۱ در تمامی ایزوله‌ها موجود بودکه این تأییدی بر انجام روش‌های فنوتیپی و جداسازی صحیح گونه‌ی Acinetobacter baumannii بود (شکل ۱).

از میان ۹۶ نمونه‌ی مورد بررسی، تعداد ۵۱ نمونه (۵۳/۱ درصد) از نظر فنوتیپیک به کلیستین مقاوم بودند. شکل ۲ پراکندگی سویه‌های مقاوم را به تفکیک نوع نمونه‌های بالینی نشان می‌دهد. آنالیزهای آماری نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی سویه‌های مقاوم در نمونه‌های بالینی وجود دارد. بر اساس نتایج این آزمون، فراوانی این سویه‌ها در زخم و کاتتر بیشتر و در سایر انواع نمونه‌ها کمتر بوده است ($P < ۰/۰۰۰۱$). شکل ۳، درصد فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین را در بخش‌های مختلف بیمارستان نشان می‌دهد. مقاومت به کلیستین در میان سویه‌های اسینتوباکتر بومانی در بخش ICU (Intensive care unit) بیش از سایر بخش‌ها بود. درصد فراوانی سویه‌های مقاوم با MIC ≥ ۱۶ µg/ml، ۱/۵۳ درصد و فراوانی سویه‌های حساس با MIC ≤ ۱ µg/ml، ۹/۴۶ درصد بود.

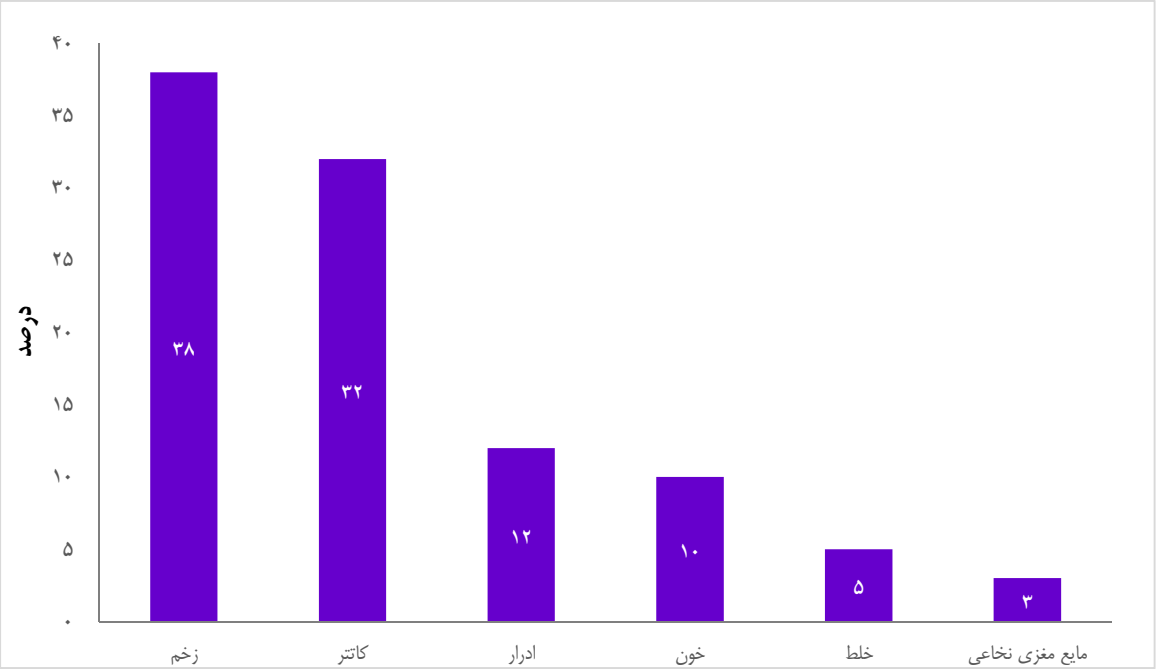
## بحث

بر اساس یافته‌های این مطالعه، فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین در حال افزایش است. سایر مطالعات صورت گرفته نیز گسترش سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به آنتی‌بیوتیک و مشکلات درمانی ناشی از آن را در ایران تأیید می‌کند. در مطالعه‌ی اردبیلی و همکاران، الگوی مقاومت سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از زخم بیماران بستری در بیمارستان سوختگی مطهری تهران نسبت به ۱۷ آنتی‌بیوتیک به روش Disk diffusion

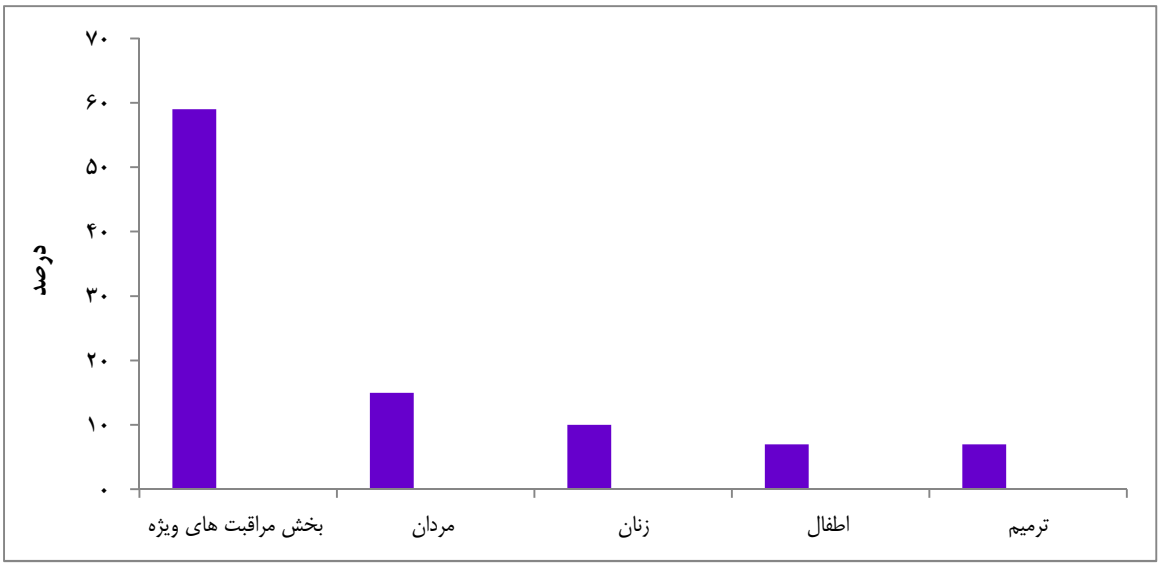



**شکل ۱. PCR (Polymerase chain reaction) ژن blaOXA-۵۱**

**۱. نشانگر مولکولی bp ۱۰۰، ۲. شاهد منفی، ۳. شاهد مثبت، ۶-۴. نمونه‌های بالینی**




**شکل ۲. درصد فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین در نمونه‌های بالینی**




**شکل۳. درصد فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین به تفکیک بخش‌های بیمارستان**

مورد سنجش قرار گرفت و برای ۵ آنتی‌بیوتیک MIC انجام شد. ۹۴ درصد سویه‌های مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر MDR (Multi drug resistant) بودند (۶).

اختلاف زیادی در خصوص فراوانی سویه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین با مطالعات انجام شده وجود دارد. گودرزی و همکاران مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۲۴۳ نمونه ی اسینتوباکتر بومانی را نسبت

به ۱۹ آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن بررسی کردند. تمامی نمونه‌ها نسبت به کلیستین و تایگه سایکلین حساس بودند؛ به همین دلیل، این دو آنتی‌بیوتیک را به عنوان دارویی مناسب برای درمان اسینتوباکتر بومانی مطرح کردند (۷).

در مطالعه‌ی دیگری، ۱۰۸ جدایه‌ی اسینتوباکتر بومانی از دو بیمارستان تهران جداسازی شدند و مقاومت ایزوله‌ها نسبت به کلیستین به روش Kirby-Bauer بررسی شد. ۱/۸درصد از ایزوله‌ها نسبت به کلیستین مقاومت نشان دادند (۸). اختلاف در این یافته ها با نتایج حاصل از پژوهش حاضر را می‌توان از یک سو به تفاوت در روش بررسی مقاومت سویه ها نسبت داد. دیسک دیفیوژن روش رایجی است که برای تعیین حساسیت جدایه ها نسبت به کلیستین به کار برده می‌شود؛ اما ارزیابی روش‌های تعیین حساسیت نسبت به کلیستین نشان داده است که روش‌های متنوع دیسک دیفیوژن در مقایسه با روش‌هایی مانند Broth microdilution که بر پایه‌ی تعیین MIC هستند، میزان خطای بالاتری دارند (۱۲-۹).

ارتباط زیادی بین آزمایش‌های Broth microdilution، E-test و Agar dilution ثابت شده است که نشان دهنده ی آن است که روش‌های بر پایه‌ی MIC باید به جای دیسک دیفیوژن جهت تعیین حساسیت نسبت به کلیستین استفاده شوند (۱۵-۱۳، ۱۱، ۹). از سوی دیگر، اختلاف در منطقه‌ی جغرافیایی که نمونه‌ها جداسازی شده‌اند، در الگوی مقاومت سویه‌ها نیز مؤثر است؛ بسته به این که در آن منطقه چه استراتژی درمانی به کار گرفته می‌شود. همان گونه که بهادر و همکاران ظهور مقاومت در سویه های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از سه بیمارستان در شمال، جنوب و مرکز ایران را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، تایگه سایکلین و کلیستین بررسی کردند و وابستگی ژنتیکی ایزوله ها را با تکنیک RFLP (Restriction fragment length polymorphism) تعیین و بر این اساس، ۹۱/۲ درصد ایزوله‌ها را در چهار کلاستر مجزا طبقه‌بندی نمودند. اما ۱۴/۲ درصد از ایزوله ها نسبت به کلیستین، مقاومت نشان دادند و ۹ درصد از ایزوله‌ها نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک انتخابی مقاوم بودند که اختلاف زیادی با نتایج حاصل از این پژوهش دارد (۱۶).

به هر حال، در توجیه این اختلافات علاوه بر موارد پیش گفته باید بر این نکته نیز اشاره نمود که نتایج حاصل از بررسی های اپیدمیولوژی در خصوص مقاومت آنتی بیوتیکی عوامل باکتریایی، همواره قابل پیش‌بینی نیست. برای مثال در یک مطالعه در تهران، فراوانی مقاومت در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نسبت به تایگه سایکلین ۹ درصد و در مطالعه‌ای دیگر در تهران صفر درصد تعیین شده است (۱۷، ۷). از آن جایی که در هر دو مطالعه، از روش دیسک دیفیوژن برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها استفاده شده است، این اختلاف نشان دهنده‌ی غیر قابل تکرار بودن و میزان بالای خطای این آزمایش است (۱۸).

Moffatt و همکاران با بررسی های مولکولی بر روی ایزوله های بالینی مقاوم به کلیستین نشان دادند که مقاومت، ناشی از موتاسیون در ژن‌های کد کننده‌ی لیپو پلی‌ساکارید این ایزوله‌ها می‌باشد و همچنین وجود یک توالی الحاقی ۸۷۳ جفت بازی را در یکی از این ژن‌ها یافتند. این توالی، بیان ترانسپوزاز و

ترانسپوزیسیون را فراهم می‌آورد؛ پدیده ای که در گذشته برای المنت ISAba۱ در اسینتوباکتر بومانی توصیف شده و در گسترش مقاومت به انواعی از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر درگیر است (۳). از این رو فراوانی بالای سویه‌های مقاوم به کلیستین در این پژوهش، می‌تواند ناشی از پدیده‌هایی مثل ترانسپوزیسیون و انتقال افقی ژن‌های مقاومت بین ایزوله‌ها باشد؛ مسأله‌ای که اثبات آن نیازمند بررسی‌های ملکولی بر روی ایزوله‌ها است.

بالا بودن فراوانی سویه های مقاوم به کلیستین در این پژوهش، می‌تواند ناشی از افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک کلیستین در بیمارستان‌ها و انتشار مبین‌های مقاومت در بین عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی باشد. در مطالعه ای که در استرالیا بر روی سویه های اسینتوباکتر بومانی MDR انجام شد، مقاومت ناهمگون به کلیستین حتی در جدایه های بالینی که به ظاهر بر اساس MIC حساس بودند، مشاهده شد (۱۹). ردیابی چنین سویه‌هایی در نمونه‌های بالینی هشدار دهنده ی این مسأله است که اگر کلیستین یا کلیستین متانوسولفات به طور نامناسب به کار برده شوند، زمینه‌ی مهمی برای ظهور سویه‌های مقاوم و باعث عدم موفقیت درمان خواهد شد.

از آن جایی که از کلیستین به عنوان آخرین خط درمان استفاده می شود، افزایش مقاومت به آن، زنگ خطری را برای سیستم‌های بهداشتی به صدا در می‌آورد. از این رو به کارگیری رژیم‌های درمانی جدید و حساسیت بیشتر در تشخیص به موقع و کنترل عفونت‌های بیمارستانی، امری ضروری به نظر می‌رسد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات و همکاری سرکار خانم ریحانه جعفری تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

1. Karbasizade V, Heidari L. Antimicrobial resistance of acinetobacter baumannii isolated from intensive care units of Isfahan hospitals, Iran. J Isfahan Med Sch 2012; 30(191): 759-63. [In Persian].
2. Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N, Aligholi M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among Acinetobacter spp. Isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn J Infect Dis 2008; 61(4): 274-8.
3. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in Acinetobacter baumannii is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(12): 4971-7.
4. Moffatt JH, Harper M, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD. Insertion sequence ISAba11 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(6): 3022-4.
5. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of Acinetobacter baumannii by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol 2006; 44(8): 2974-6.
6. Ardebili A, Azimi A, Mohammadi-Barzelighi H, Owlia P, Beheshti M, Talebi M, et al. Determination of resistance pattern of isolated acinetobacter baumannii from hospitalized burned patients in Motahari Hospital, Tehran. J Zanjan Univ Med Sci 2012; 20(83): 112-9. [In Persian].
7. Goudarzi H, Goudarzi H, Goudarzi H, Goudarzi M. Assessment of antibiotic resistance pattern in Acinetobacter bumannii carrying bla oxA type genes isolated from hospitalized patients. Novel Biomed 2013; 1(2): 54-61.
8. Noori M, Karimi A, Fallah F, Hashemi A, Alimehr Sh, Goudarzi H, et al. High prevalence of metallo beta lactamase producing Acinetobacter baumannii isolated from two hospitals of Tehran Iran. Arch Pediatr Infect Dis

2014; 2(1): e15439.
9. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. J Clin Microbiol 2001; 39(1): 183-90.
10. Jones RN, Anderegg TR, Swenson JM. Quality control guidelines for testing gram-negative control strains with polymyxin B and colistin (polymyxin E) by standardized methods. J Clin Microbiol 2005; 43(2): 925-7.
11. Nicodemo AC, Araujo MR, Ruiz AS, Gales AC. In vitro susceptibility of Stenotrophomonas maltophilia isolates: comparison of disc diffusion, Etest and agar dilution methods. J Antimicrob Chemother 2004; 53(4): 604-8.
12. Tan TY, Ng LS. Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. J Antimicrob Chemother 2006; 58(4): 864-7.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth information supplement (M100-S15). Wayne, PA: CLSI; 2005.
14. Goldstein FW, Ly A, Kitzis MD. Comparison of Etest with agar dilution for testing the susceptibility of Pseudomonas aeruginosa and other multidrug-resistant bacteria to colistin. J Antimicrob Chemother 2007; 59(5): 1039-40.
15. Tan TY, Ng SY. The in-vitro activity of colistin in gram-negative bacteria. Singapore Med J 2006; 47(7): 621-4.
16. Bahador A, Taheri M, Pourakbari B, Hashemizadeh Z, Rostami H, Mansoori N, et al. Emergence of rifampicin, tigecycline, and colistin-resistant Acinetobacter baumannii in Iran; spreading of MDR strains of novel International Clone variants. Microb Drug Resist 2013; 19(5): 397-406.
17. Karmostaji A, Najar S, Salmanian A. Emergence of tigecycline resistant Acinetobacter baumannii from an intensive care unit (ICU) in Tehran. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6 (3): 215-9.
18. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederen BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant Enterobacter cloacae and Acinetobacter baumannii strains. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10): 3726-30.
19. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(9): 2946-50.

**Journal of Isfahan Medical School**
Received: 10.05.2014
**Vol. 32, No. 301, 2nd Week, November 2014**
Accepted: 15.09.2014

# Identification and Frequency of Colistin-Resistant Acintobacter Baumanii in Clinical Isolates Using Polymerase Chain Reaction

Rozita Yousefian[1], Vajihe Karbasizade PhD[2], Sharareh Moghim PhD[3]

**Original Article**

## Abstract

**Background:** Antibiotic resistance among bacterial agents causing nosocomial infections is increasing. Acinetobacter baumannii is one of these agents that its increasing resistance to commonly used antibiotics makes it difficult to treat such infections. The aim of this study was to identify Acinetobacter baumannii isolates from clinical specimens using polymerase chain reaction (PCR) method and to determine relative frequency of colistin-resistant isolates.

**Methods:** In a period of 7 months, 96 clinical specimens were isolated. All isolates were identified as Acinetobacter baumannii via standard biochemical tests and amplification of $bla_{oxa\text{-}51}$ gene. To determine phenotypic resistance of isolates toward colistin, colony screening method was used and also minimum inhibitory concentration (MIC) of colistin was determined via broth microdilution.

**Findings:** 51 isolates (53.1%) were resistant to colistin phenotypically and the minimum inhibitory concentration level for colistin resistant strains was more than 128 µg/ml.

**Conclusion:** Based on our findings, the relative frequency of colistin-resistant Acinetobacter baumannii isolates was high. Therefore, more supervision and controlled use of this antibiotic is necessary; more infection control measurements are necessary to be done.

**Keywords:** Acinetobacter baumannii, Colistin, Nosocomial infections, Polymerase Chain Reaction (PCR)

**Citation:** Yousefian R, Karbasizade V, Moghim Sh. **Identification and Frequency of Colistin-Resistant Acintobacter Baumanii in Clinical Isolates Using Polymerase Chain Reaction.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1466-74

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
**Corresponding Author:** Sharareh Moghim PhD, Email: moghim@med.mui.ac.ir