

## The Study of Antibiotic Resistance and Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs) Encoding Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolates from Raw Foodstuffs

Mohammad Moradi<sup>1</sup>, Mohammad Reza Arabestani<sup>1</sup>, Ghodratollah Roshanaii<sup>2</sup>, Mohammad Yousef Alikhani<sup>\*3,1</sup>

1. Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

2. Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

3. Brucellosis Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

### Article Information

#### Article history:

Received: 2017/09/17

Accepted: 2018/11/19

Available online: 2018/12/22

#### Article Subject:

Antibiotic Resistance

IJMM 2018; 12(5): 329-337

#### Corresponding author:

Mohammad Yousef Alikhani

Brucellosis Research Center,  
Hamadan University of Medical  
Sciences, Hamadan, Iran

#### Email:

[alikhani43@yahoo.com](mailto:alikhani43@yahoo.com)

Use your device to scan  
and read the article online



### Abstract

**Background and Aims:** Pharmaceutical residuals like antibiotics in livestock products and their consumption by humans from food chain can lead to the spread of bacteria resistant to antibiotics. The aim of the current study was to investigate antibiotic resistance and determine the prevalence rate of genes encoding extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) in *Acinetobacter* strains isolated from raw foodstuffs.

**Materials and Methods:** In this study, 300 samples from protein foodstuffs (mutton, beef, chicken, hamburger, hot dog, sausages) and dairy foodstuffs (raw milk and cheese) were prepared and investigated in terms of contamination with *Acinetobacter baumannii* from July 2015 to November 2016. The isolated bacteria were identified by biochemical tests to species level and confirmed by the PCR technique via *blaOXA-51* gene. Antibiotic resistance of the isolates was studied using the diffusion disc method. Also, the presence of ESBLs enzymes in the isolates was done phenotypically and genetically through PCR and combined disk tests.

**Results:** The results showed that 43 strains of *A. baumannii* were isolated from the protein and dairy foodstuffs, 93% from protein foodstuffs and 7% from dairy foodstuffs. Also, 30% of the isolates had multidrug-resistance (MDR). Further, the findings of PCR illustrated that the prevalence of genes encoding ESBLs in the isolates were: *TEM* 21%, *PER* 23.5%, *VEB* 18.5% and *SHV* 35%.

**Conclusions:** Foodstuffs can act as a food source for *A. baumannii* that can lead to transferring and spreading genes encoding antibiotic resistance to humans.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, Antibiotic resistance, Extended-Spectrum Beta-Lactamase

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

### How to cite this article:

Moradi M, Arabestani M R, Roshanaii G, Alikhani M Y. The Study of Antibiotic Resistance and Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs) Encoding Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolates from Raw Foodstuffs. Iran J Med Microbiol. 2019; 12 (5) :329-337



## بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و میزان شیوع ژن های کدکننده آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از مواد غذایی خام

محمد مرادی<sup>۱</sup>، محمدرضا عربستانی<sup>۱</sup>، قدرت الله روشنایی<sup>۲</sup>، محمدیوسف علیخانی<sup>۳،\*</sup>

- ۱- گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۲- گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات بروسولوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**زمینه و هدف:** وجود باقیمانده های مواد دارویی مانند آنتی بیوتیک ها در فرآورده های دامی و مصرف آن به دست انسان از طریق زنجیره غذایی، باعث گسترش باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک شده است. هدف از این مطالعه بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و تعیین میزان شیوع ژن های کدکننده آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* ایزوله شده از مواد غذایی خام است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تعداد ۳۰۰ نمونه از مواد غذایی پروتئینی (گوشت گوسفند، گاو، مرغ، همبرگر، سوسیس، کالباس) و مواد لبنی (شیر و پنیر) از آبان ۱۳۹۴ تا تیر ۱۳۹۵ تهیه و از نظر آلودگی به *اسینتوباکتر بومانی* بررسی شد. باکتری های جدا شده با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی تا سطح گونه تعیین هویت و با تکنیک PCR با ردیابی ژن *blaOXA-51* تأیید نهایی شدند. مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بررسی شده و حضور آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف در این ایزوله ها به صورت فنوتیپی و ژنوتیپی با روش های Combined Disk Test و PCR مطالعه شد.

**یافته ها:** نتایج نشان می دهد که تعداد ۴۳ سویه *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه های مواد غذایی پروتئینی و لبنی خام ایزوله شد که ۹۲ درصد سویه ها از مواد غذایی پروتئینی و ۷ درصد سویه از مواد غذایی لبنی جدا شده است. میزان ۳۰ درصد از ایزوله ها مقاومت چندگانه داشتند. همچنین نتایج PCR مشخص کرد که شیوع ژن های کدکننده آنزیم های بتالاکتاماز در ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* شامل ۳۵ درصد *SHV*، ۲۱ درصد *TEM*، ۲۳/۵ درصد *PER* و ۱۸/۵ درصد *VEB* است.

**نتیجه گیری:** مواد غذایی خام می تواند به عنوان منبع *اسینتوباکتر بومانی* عمل کند و در نتیجه باعث انتقال و انتشار ژن های کدکننده مقاومت آنتی بیوتیکی به انسان باشد.

**کلمات کلیدی:** *اسینتوباکتر بومانی*، مقاومت آنتی بیوتیکی، آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۲۶

پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۸

انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۱۰/۰۱

### موضوع:

مقاومت پادزیستی (آنتی بیوتیکی)  
IJMM1397;12(5): 329-337

### نویسنده مسئول:

محمدیوسف علیخانی

مرکز تحقیقات بروسولوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

### پست الکترونیک:

[alikhani43@yahoo.com](mailto:alikhani43@yahoo.com)

### مقدمه

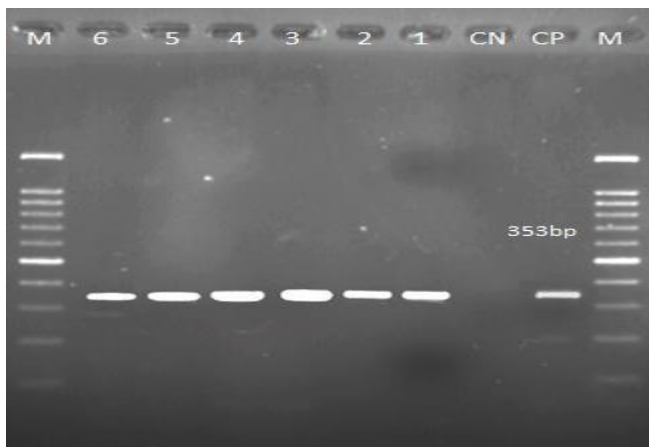
می یابند. انتشار این پاتوژن ها از این طریق به دغدغه اصلی بهداشت عمومی تبدیل شده است (۲). انواع زیادی از میکروارگانیسم ها یا توکسین های آنان با مکانیسم های مختلف در ایجاد بیماری های منتقله از غذا نقش دارند. باکتری ها بیشترین موارد بیماری را سبب شده و به دنبال آن ویروس ها و انگل ها قرار دارند. از میان بیماری های باکتریایی منتقله از طریق مواد غذایی می توان به بوتولیسم، کامپیلوباکتریوزیس، عفونت اشریشیاکلی، سالمونلوزیس و شیگلوزیس اشاره کرد (۳). *اسینتوباکتر بومانی*

مصرف غذا امکان انتقال بسیاری از پاتوژن ها (باکتری ها، ویروس ها و انگل ها) را به بدن انسان فراهم می سازد (۱). همچنین وجود باقی مانده های مواد دارویی مانند آنتی بیوتیک ها در فرآورده های دامی و مصرف آن توسط انسان از طریق زنجیره غذایی، باعث بروز واکنش هایی نظیر آلرژی، تب، اسهال، گرفتگی ماهیچه های شکمی، اثرات مخرب بر متابولیسم مواد در دستگاه گوارش می شود که طی آن ژن های کدکننده مقاومت به آنتی بیوتیک ها از فلور میکروبی دام به پاتوژن های انسانی انتقال

محیط را روی محیط مکانیکی آگار و بلاداآگار کشت و پلیت‌ها در حرارت ۳۷ درجه سلسیوس، به مدت ۲۴-۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس کلنی‌ها شناسایی و تعیین هویت شد.

### شناسایی باکتری

سویه‌های *اسینتوباکتریومانی* ایزوله‌شده با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی، مانند حرکت، سیمون سترات، TSI، SIM، کاتالاز و اوره‌آز و کشت روی محیط OF حاوی قند گلوکز و رشد در دمای ۴۲-۴۴ درجه سلسیوس بررسی و تعیین هویت‌شده و با ردیابی ژن *blaOXA-51* (شکل ۱) که در سویه‌های *اسینتوباکتریومانی* وجود دارد، تأیید شدند (۱۵، ۱۶). به منظور انجام آزمون‌های تکمیلی نمونه‌های باکتریایی به محیط کشت BHI Broth حاوی ۱۸ درصد گلیسرول تلقیح و در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.



شکل ۱. الکتروفورز ژن *blaOXA-51* با باندهای ۳۵۳ bp در *اسینتوباکتریومانی*، مارکر DNA ۱۰۰ bp

### بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی

آزمون آنتی‌بیوگرام با روش استاندارد انتشار دیسک (Kirby Bauer) بر محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) انجام و براساس استانداردهای CLSI سال ۲۰۱۴ تفسیر شد (۱۷). در این بررسی از ۲۰ دیسک مختلف آنتی‌بیوتیکی (شرکت هایمدیا، هند) استفاده شد. از *E. coli* ATCC 25922 نیز براساس پروتکل CLSI به عنوان کنترل کیفی استفاده شد و برای تأیید مقاومت به کلیستین بعد از روش دیسک دیفیوژن سویه‌های مقاوم با روش حداقل غلظت مهاری طبق پروتکل CLSI تأیید شدند.

### Combined Disk Test (CDT)

برای انجام این آزمون، باکتری‌ها بر محیط مولر هینتون آگار کشت داده شده و دیسک‌های سفوتاکسیم (۳۰µg) / سفوتاکسیم +

کوکوباسیل گرم منفی، اکسیداز منفی غیرمتحرک و هوازی اجباری است که می‌توان آن را از مواد غذایی جدا کرد. گونه‌های متعلق به این جنس، پاتوژن‌های فرصت‌طلبی هستند که مسبب بروز عفونت‌های ناشی از قرارگیری در محیط‌های جمعی و عفونت‌های بیمارستانی، به‌ویژه در بیماران بستری‌شده در بخش مراقبت‌های ویژه هستند (۴-۷). *اسینتوباکتریومانی* علاوه بر اینکه دارای طیف وسیعی از مقاومت ذاتی است، توان دستیابی به مکانسیم‌های جدیدتر و مقاومت به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان را دارد (۸-۱۰). جداسازی سویه‌های *اسینتوباکتریومانی* مقاوم به اکثر کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی در بیمارستان‌ها نشان‌دهنده تشابه ژنتیکی این ایزوله‌ها است (۱۱، ۱۲). پس می‌توان انتظار داشت که زنجیره غذایی می‌تواند نقش مهمی در انتشار پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها داشته باشد (۱۳). حضور طیف گسترده‌ای از ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) در باکتری‌ها، یکی از عوامل عمده نگرانی در سلامت جهانی است. یکی از دلایل اصلی اینکه چرا *اسینتوباکتریومانی* توجه فراوانی را در عرصه بالین و مواد غذایی به خود جلب کرده، همین توانایی شگفت‌انگیز آن برای به‌دست‌آوردن و انتشار ژن‌های مقاومتی است که نتیجه آن مقاومت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها خواهد شد. اگر حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم باشد (MDR) و اگر علاوه بر سه کلاس آنتی‌بیوتیکی به کارباپنم‌ها نیز مقاوم باشد، به‌عنوان (XDR) خواهد بود (۱۴). لذا هدف از این مطالعه، بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تعیین شیوع ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBLs) در سویه‌های *اسینتوباکتریومانی* ایزوله‌شده از مواد غذایی خام است.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه از آبان ۱۳۹۴ تا تیر ۱۳۹۵ تعداد ۲۳۰ نمونه از مواد غذایی پروتئینی شامل ۲۵ نمونه گوشت گوسفند، ۲۵ نمونه گوشت گاو، ۱۰۸ نمونه گوشت مرغ، ۲۴ نمونه همبرگر، ۲۴ نمونه سوسیس، ۲۴ نمونه کالباس و ۷۰ نمونه از مواد لبنی شامل ۵۰ نمونه شیر محلی و ۲۰ نمونه پنیر از سطح شهر همدان در فواصل زمانی مختلف تهیه و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی انتقال داده شد. حدود ۲۵ گرم از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از گوشت و سایر مواد غذایی را در ۲۵ میلی‌لیتر محیط LB برات به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور شیکردار قرار داده و سپس ۱۰ میکرولیتر از این

۱۰۰mL از محلول NaOH ۵۰ میلی مولار روی رسوب ریخته و ورتکس می کنیم و در بن ماری ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه قرار می دهیم؛ سپس ویال را از بن ماری خارج و بعد از مقداری خنک شدن، ۵۰mL از Tris20mM به ویال اضافه و بعد ورتکس می کنیم تا یکنواخت شود و سپس ویال را در سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور (rpm) ۱۲۰۰۰ قرار می دهیم. بعد از اتمام این مرحله، به دقت و به آرامی مقدار ۱۰۰mL مایع رویی که حاوی DNA استخراج شده است، برداشته و در داخل میکروتیوپ استریل می ریزیم. تا زمان انجام PCR، DNA استخراج شده در دمای منفی ۲۰ نگهداری شد (۱۹).

### تکثیر ژن های مدنظر به روش PCR

از ژن *blaOXA-51* (شکل ۱) به عنوان تأیید ژن داخلی استفاده شد. برای تکثیر ژن های بتالاکتاماز *SHV*، *PER*، *TEM*، *VEB* از پرایمرهای جدول (۱) استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵μL شامل ۱۰μL مس ترمیکس (شرکت Ampliqon)، ۲μL DNA، ۱μL از هر پرایمر ۱۰pmol، ۱۱μL آب مقطر در نظر گرفته شد.

اسید کلولانیک (30μg+10μg) و سفنازیدیم (30μg) / سفنازیدیم+ اسید کلولانیک (30μg+10μg) (شرکت mast انگلستان) با فاصله ۱۵ میلی متر از لبه پللیت روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شد و پس از ۱۸ ساعت، قطر هاله رشدنیافتگی اندازه گیری شد. چنانچه هاله رشدنیافتگی در دیسک های ترکیبی حاوی اسید کلولانیک نسبت به حالت بدون اسید کلولانیک، ۵ میلی متر یا بیشتر بود، به معنای مثبت شدن این تست و تأیید تولید ESBL در نظر گرفته می شد (۱۸).

### استخراج DNA

استخراج DNA به روش جوشاندن (boiling) انجام گرفت. ابتدا ایزوله های تعیین هویت شده زیر هود میکروبیولوژی با استفاده از لوپ استریل مقداری از باکتری برداشته و در ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه استریل داخل یک ویال اپندرف ۱/۵ سی سی مخلوط و یک سوسپانسیون تهیه و سپس آن را ورتکس کرده تا سوسپانسیون یکنواختی تهیه شود. سپس ویال به مدت ۵ دقیقه در سانتریفوژ (rpm) ۸۰۰ قرار می دهیم و بعد از اتمام این عمل، مایع رویی را دور ریخته و این عمل شست و شو سه بار تکرار می شود. بعد از آخرین مرحله شست و شو و دورریختن محلول رویی،

جدول ۱. توالی پرایمرهای به کاررفته در PCR

منبع	دمای اتصال (°C)	اندازه باند (bp)	توالی نوکلئوتیدی پرایمر	پرایمر
۲۰	۵۰	۳۷۰	5-GAAACAACCTTTGACGATTGA-3 5-CCCTGTTTTATGAGCAACAA-3	<i>F-VEB</i> <i>R-VEB</i>
۲۱	۵۰	۹۲۰	5-ATGAATGTCATTATAAAAAGC-3 5-AATTTGGGCTTAGGGCAGAA-3	<i>F-PER</i> <i>R-PER</i>
۲۲	۵۴/۲	۲۹۳	5-CGCCTGTGTATTATCTCCCT-3 5-CGAGTAGTCCACCAGATCCT-3	<i>SHV- F</i> <i>SHV- R</i>
۲۲	۵۷/۷	۴۰۳	5-TTTCGTGTCGCCCTTATTCC-3 5-ATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGG-3	<i>TEM-F</i> <i>TEM-R</i>
۲۳	۵۲	۳۵۳	5-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3 5-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3	<i>OXA-51 F</i> <i>OXA-51 R</i>

سوسپیس ۱ (۴درصد) جدایه و از ۵۰ نمونه شیر ۳ (۶درصد) جدایه سینتوباکتر بومانی جدا شد. درضمن از نمونه های کالباس و پنیر محلی هیچ سویه ای جدا نشد.

### نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی

بین ۴۳ سویه سینتوباکتر بومانی، مقاومت به سفتیزوکسیم، آمپی سیلین، کلرامفنیکل و سفکسیم (۱۰۰درصد)، سفالوتین

### یافته ها

نتایج نشان می دهد که تعداد ۴۳ (۱۴/۵درصد) جدایه سینتوباکتر بومانی در ۳۰۰ نمونه مواد غذایی یافت شد. از ۱۰۸ نمونه گوشت مرغ ۳۱ (۲۸/۵درصد) جدایه، از ۲۵ نمونه گوشت گوسفند ۴ (۱۶درصد) جدایه، از ۲۵ نمونه گوشت گاو ۲ (۸درصد) جدایه، از ۲۴ نمونه همبرگر ۲ (۸/۵درصد) جدایه، از ۲۴ نمونه

گوشت مرغ بود. مقاومت به تیکارسیلین حداقل در یک نمونه از همه نوع مواد غذایی دیده شد، ولی در نمونه گوشت مرغ ۹ (۲۱ درصد) دیده شد. مقاومت سفنازیدیم در نمونه گوشت مرغ ۱۴ (۳۲/۵۰ درصد)، در نمونه گوشت گوسفند ۲ (۴/۵۰ درصد) و در نمونه‌های گوشت گاو و همبرگر هر کدام ۱ (۲/۵۰ درصد) دیده شد. مقاومت به توبرامایسین و ایمپنم مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی ۴۳ سویه *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از مواد غذایی خام

مقاوم NO (%)	حد واسط NO (%)	حساس NO (%)	آنتی‌بیوتیک
۰	۰	۴۳ (۱۰۰)	ایمپنم (10µg)
۱۴ (۳۲/۵۰)	۲۹ (۶۷/۵۰)	۰	تیکارسیلین (30µg)
۱ (۲/۵۰)	۲ (۴/۵۰)	۴۰ (۹۳)	سیپروفلوکساسین (30µg)
۲ (۴/۵۰)	۶ (۱۴)	۳۵ (۸۱/۵۰)	تری متوپریم-سولفامتوکسازول (23.75.1.25µg)
۰	۲ (۴/۵۰)	۴۱ (۹۵/۵۰)	توبرامایسین (10µg)
۲ (۴/۵۰)	۳ (۷)	۳۸ (۸۸/۵۰)	جنتامایسین (30µg)
۶ (۱۴)	۳۶ (۸۳/۵۰)	۱ (۲/۵۰)	سفتریاکسون (30µg)
۵ (۱۱/۵۰)	۳۸ (۸۸/۵۰)	۰	سفوتاکسیم (30µg)
۱۸ (۴۲)	۱۹ (۴۴)	۶ (۱۴)	سفنازیدیم (30µg)
۴ (۹/۵۰)	۶ (۱۴)	۳۳ (۷۶/۵۰)	سفی پیم (30µg)
۴۳ (۱۰۰)	۰	۰	کلرامفنیکل (30µg)
۴۳ (۱۰۰)	۰	۰	آمپی‌سیلین (10µg)
۱ (۲/۵۰)	۱ (۲/۵۰)	۴۱ (۹۵)	تتراسایکلین (30µg)
۶ (۱۴)	۰	۳۷ (۸۶)	پلی‌میکسین B (30µg)
۱ (۲/۵۰)	۰	۴۲ (۹۷/۵۰)	نورفلوکساسین (10µg)
۱ (۲/۵۰)	۰	۴۲ (۹۷/۵۰)	افلوکساسین (5µg)
۱۰ (۲۳/۵۰)	۰	۳۳ (۷۶/۵۰)	کلیستین (10µg)
۴۳ (۱۰۰)	۰	۰	سفکسیم (5µg)
۳۷ (۸۶)	۶ (۱۴)	۰	سفالوتین (30µg)
۴۳ (۱۰۰)	۰	۰	سفتریوکسیم (30µg)

#### نتایج تکثیر ژن‌های بتالاکتاماز (ESBLs):

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که شیوع ژن‌های بتالاکتاماز (ESBLs) در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* ایزوله شده

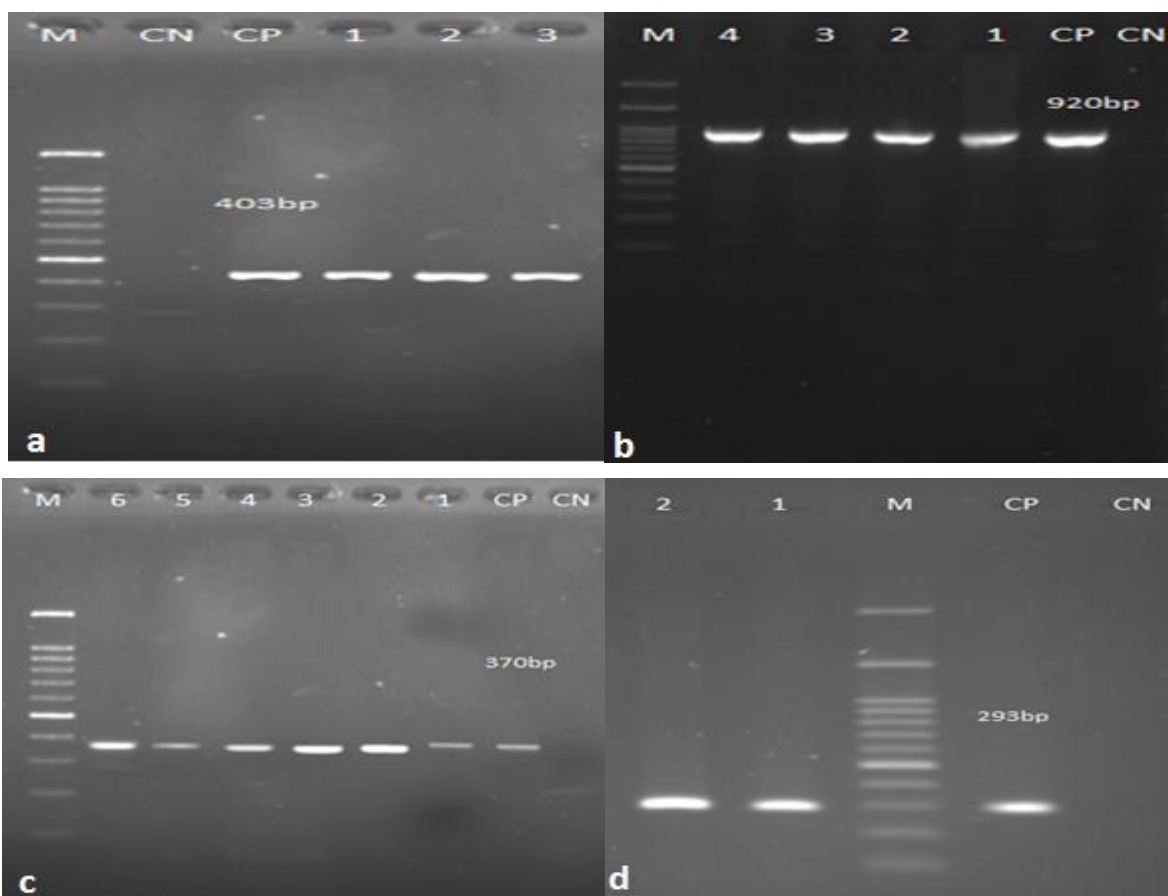
#### نتایج Combined Disk Test (CDT)

از ۴۳ سویه *اسینتوباکتر بومانی* هیچ سویه با روش CDT به‌عنوان ESBL مثبت مشاهده نشد.

از مواد غذایی شامل SHV ۱۵ (۳۵ درصد)، TEM ۹ (۲۱ درصد)، PER ۱۰ (۲۳/۵ درصد)، VEB ۸ (۱۸/۵ درصد) (شکل ۲) هستند. درصد شیوع ژن‌های مدنظر در سویه‌های ایزوله شده از نمونه‌های

جدول ۳. نتایج PCR ژن‌های بتالاکتاماز در سویه‌های ایزوله شده از نمونه‌های مواد غذایی

نمونه	VEB No (%)	PER No (%)	TEM No (%)	SHV No (%)
گوشت مرغ	۶ (۱۹/۵)	۷ (۲۲/۵)	۸ (۲۶)	۱۱ (۳۵/۵)
گوشت گاو	۰	۰	۰	۰
گوشت گوسفند	۰	۲ (۵۰)	۱ (۲۵)	۰
همبرگر	۰	۰	۰	۲ (۱۰۰)
سوسیس	۰	۰	۰	۰
شیر	۲ (۶۶/۵)	۱ (۳۳/۵)	۰	۲ (۶۶/۵)



شکل ۲. a. الکتروفورز ژن TEM با باندهای ۴۰۳bp، b. الکتروفورز ژن PER با باندهای ۹۲۰bp، c. الکتروفورز ژن VEB با باندهای ۳۷۰bp، d. الکتروفورز ژن SHV با باندهای ۲۹۳bp در اسینتوباکتریومانی، مارکر DNA ۱۰۰bp



## بحث و نتیجه گیری

با توجه به اینکه یکی از راه‌های انتقال مقاومت دارویی، از طریق مصرف مواد غذایی آلوده به باکتری‌ها است. مطالعه حاضر نشان داد که (۱۷/۵ درصد) از نمونه‌های مواد غذایی پروتئینی و (۴/۵ درصد) از مواد غذایی لبنی آلوده به *اسینتوباکتر بومانی* بود. اگرچه گوشت مرغ (۲۸/۵ درصد) و گوشت گوسفند (۱۶ درصد) بیشترین آلودگی را داشتند، ولی آلودگی نمونه‌های گوشت گاو (۸ درصد)، همبرگر (۸/۵ درصد)، سوسیس (۴ درصد) و شیر (۶ درصد) را نمی‌توان نادیده گرفت؛ چراکه خطراتی برای بهداشت عمومی دارد. مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به کلیستین (۲۳/۵ درصد)، سفوتاکسیم (۱۱/۵ درصد)، سفی‌پیم (۹/۵ درصد)، جنتامایسین (۴/۵ درصد) و سیپروفلوکساسین (۲/۵ درصد) مشاهده شد. در حالی که در مطالعه انجام شده از سوی M. Gurung و همکاران روی نمونه‌های جمع‌آوری شده از ۲۲۸۷ مخزن شیر، ۵۷ (۳۲/۴ درصد) سویه *اسینتوباکتر بومانی* ایزوله کرد و هیچ کدام از این ایزوله‌ها نسبت به سفی‌پیم، ایم‌پیم، مروپنم، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین یا کلیستین مقاوم نبود؛ ولی به جنتامایسین (۷/۴ درصد) و به سفوتاکسیم (۴ درصد) مقاوم بود که مقاومت در این مطالعه نسبت به مطالعه ما پایین‌تر بود (۲۴). در مطالعه‌ای که Lupu A و همکاران روی ۲۴۸ نمونه گوشت در سوئیس انجام دادند، مشخص شد که یک‌چهارم این نمونه‌ها آلوده به *اسینتوباکتر بومانی* بوده و از بین نمونه‌های مورد مطالعه بیشترین آلودگی مربوط به گوشت مرغ بود و اغلب ایزوله‌های *اسینتوباکتر* از نمونه‌های ذکر شده به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های رایج بالینی حساس بودند. با این حال تعداد کمی از ایزوله‌ها نسبت به کلیستین (۵ درصد)، سیپروفلوکساسین (۲/۵ درصد)، تتراسایکلین (۵ درصد) و سفتازیدیم (۲/۵ درصد) مقاوم بودند. نتایج به دست آمده در این مطالعه با پژوهش کنونی مغایرت داشت که نشان می‌دهد میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف الگوهای خاصی دارد (۲۵). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مقاومت به تتراسایکلین (۲/۵ درصد)، سفتازیدیم (۴۲ درصد)، پلی‌میکسین B (۱۴ درصد)، تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول (۴/۵ درصد) است. ولی در مطالعه Carvalho و همکاران از پنجاه نمونه گوشت (مرغ، بوقلمون، گوشت گاو و گوشت خوک) ۱۶۶ سویه *اسینتوباکتر* ایزوله شد که از این تعداد ۳۱ (۱۸/۷ درصد) سویه *اسینتوباکتر بومانی* بود که درصد مقاومت انواع سویه‌های مختلف *اسینتوباکتر* به انواع آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان مثل سفتازیدیم (۴۳/۵۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۲/۹ درصد) و همچنین

کلیستین (۴۱/۷ درصد) و پلی‌میکسین B (۳۵/۱ درصد)، مقاومت به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، تتراسایکلین، آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین و توبرامایسین) و آمپی‌سیلین سولباکتام به ترتیب بیشتر از ۱۰ درصد (۲۳/۲ درصد، ۲۳/۲ درصد، ۱۴/۳ درصد، ۱۲/۵ درصد، ۱۲/۵ درصد) بود. ۵۱/۲ درصد سویه‌ها MDR و ۹/۶ درصد XDR بودند (۲۶). مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به سفالوتین، سفتریاکسون، افلوکساسین و نورفلوکساسین، نشان می‌دهند که الگوی مقاومت چند داروی (MDR) در میان سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* ۳۰ درصد است. بیشترین میزان مقاومت، در یک سویه با ۱۳ آنتی‌بیوتیک و در دو سویه با ۱۰ آنتی‌بیوتیک و کمترین مقاومت به ۶ آنتی‌بیوتیک گزارش شد. این نتایج می‌تواند نگرانی به دنبال داشته باشد؛ چراکه برخی از این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان نمونه‌های کلینیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. یافته‌های به دست آمده در این مطالعه با مطالعات مشابهی که در بالا ذکر شده‌اند نتایج متفاوتی داشت که دلیل این تفاوت‌ها می‌تواند شرایط جغرافیایی و سطح بهداشت و مصرف بی‌رویه برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت دام‌پروری و استفاده آنتی‌بیوتیک‌ها مختلف در کلینیک است. همچنین یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که میزان شیوع ژن‌های بتالاکتاماز (ESBL) در مواد غذایی SHV (۳۵ درصد)، PER (۲۳/۵ درصد)، TEM (۲۱ درصد)، VEB (۱۸/۵ درصد) چشمگیر بوده که در گوشت مرغ شیوع ژن‌های SHV (۳۵/۵۰ درصد)، TEM (۲۶ درصد)، PER (۲۲/۵۰ درصد)، VEB (۱۹/۵۰ درصد) و در گوشت گوسفند شیوع ژن‌های PER (۵۰ درصد)، TEM (۲۵ درصد) و در همبرگر شیوع ژن‌های SHV (۱۰۰ درصد) مشاهده شد. در باکتری‌های جدا شده از شیر، شیوع ژن‌های SHV (۶۶/۵۰ درصد)، VEB (۶۶/۵۰ درصد)، PER (۳۳/۵۰ درصد) گزارش شد. در مجموع این مقاله بیان می‌کند که مواد غذایی پروتئینی و لبنی خام موجود در بازار می‌تواند منبع *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به انواع کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی باشد و به انتشار ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف از طریق زنجیره غذایی نیز کمک کند و از این طریق می‌تواند باعث انتقال به بیمارستان و محیط شود. برای کنترل انتقال باکتری‌های فرصت‌طلب و جلوگیری از توسعه ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی باید سطح بهداشت در جامعه افزایش پیدا کند و مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در دام و طیور به صورت برنامه‌مدون به اجرا درآید؛ چراکه مواد غذایی پروتئینی و لبنی و مشتقات آنها برای تغذیه انسان بسیار مهم است؛ لذا کنترل و نظارت بر آماده‌سازی، حمل‌ونقل و اصول نگهداری سالم مواد غذایی ضروری است.

## سپاسگزاری

از کارمندان و کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان که ما را در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری داده‌اند، نهایت سپاسگزاری را داریم.

## تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

## References

- Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, et al. Food-borne diseases—the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International journal of food microbiology*. 2010; 139: 3-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021>
- Myllyniemi A-L. Development of microbiological methods for the detection and identification of antimicrobial residues in meat. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food and Environmental Hygiene. 2004; ISBN 952-10-2048-2.
- Fadaei A, Jamshidi E, Kheiri S. Comparison of bacterial contamination of raw and pasteurized milk used in Shahrekord in 2006. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2008; 10(2): 37-44.
- Eveillard M, Kempf M, Belmonte O, Pailhoriès H, Joly-Guillou M-L. Reservoirs of *Acinetobacter baumannii* outside the hospital and potential involvement in emerging human community-acquired infections. *International Journal of Infectious Diseases*. 2013; 17(10): e802-e805. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.03.021>
- Oh YJ, Song SH, Baik SH, Lee HH, Han IM, Oh DH. A case of fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia in Korea. *Kjim*. 2013; 28(4): 486-90. <https://doi.org/10.3904/kjim.2013.28.4.486>
- Kim UJ, Kim HK, An JH, Cho SK, Park K-H, Jang H-C. Update on the epidemiology, treatment, and outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter* infections. *Cmj*. 2014; 50(2): 37-44. <https://doi.org/10.4068/cmj.2014.50.2.37>
- Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of  $\beta$ -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv drug deliver rev*. 2014; 78: 3-13. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.08.003>
- Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*. 2007; 5(12): 939-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>
- Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *New England Journal of Medicine*. 2008; 358(12): 1271-81. <https://doi.org/10.1056/NEJMr070741>
- Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007; 59(6): 1210-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl509>
- Decker BK, Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Hall GS, Jacobs MR, et al. Longitudinal analysis of the temporal evolution of *Acinetobacter baumannii* strains in Ohio, USA, by using rapid automated typing methods. *PloS one*. 2012; 7(4): e33443. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033443>
- Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int j antimicrob agents*. 2013; 41(1): 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008>
- Seiffert SN, Tinguely R, Lupo A, Neuwirth C, Perreten V, Endimiani A. High prevalence of extended-spectrum-cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in poultry meat in Switzerland: emergence of CMY-2-and VEB-6-possessing *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013; 57(12): 6406-8.
- Novovic K, Mihajlovic S, Vasiljevic Z, Filipic B, Begovic J, Jovicic B. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Serbia: Revision of CarO classification. *PloS one*. 2015; 10(3): e0122793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122793>
- Visca P, Seifert H, Towner KJ. *Acinetobacter* infection—an emerging threat to human health. *IUBMB life*. 2011; 63(12): 1048-54. <https://doi.org/10.1002/iub.534>
- Hausler WJ, Sussman M, Topley WWC, Wilson SGS. *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections: Bacterial Infections*. Arnold. 1998.
- Wayne P. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-fourth informational supplement, M100-S24. CLSI. 2014; 34(1).



18. CLSI N. Clinical and Laboratory Standard Institute: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standard. M2-A9 9th edition Wayne: CLSI, NCCLS. 2006.
19. Taris N, Baron S, Sharbel T, Sauvage C, Boudry P. A combined microsatellite multiplexing and boiling DNA extraction method for high-throughput parentage analyses in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture research*. 2005; 36(5): 516-18. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01208.x>
20. Farajnia S, Azhari F, Alikhani MY, Hosseini MK, Peymani A, Sohrabi N. Prevalence of PER and VEB type extended spectrum betalactamases among multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in North-West of Iran. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2013; 16(6): 751.
21. El-Shazly S, Dashti A, Vali L, Bolaris M, Ibrahim AS. Molecular epidemiology and characterization of multiple drug-resistant (MDR) clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Infectious Diseases*. 2015; 41: 42-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.10.016>
22. Bali EB, Accedil L, Sultan N. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum-lactamase produced by *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella* isolates in a Turkish hospital. *African Journal of Microbiology Research*. 2010; 4(8): 650-4.
23. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *International journal of antimicrobial agents*. 2006; 27(4): 351-3. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.01.004>.
24. Gurung M, Nam H, Tamang M, Chae M, Jang G, Jung S, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* from raw bulk tank milk in Korea. *Journal of dairy science*. 2013; 96(4): 1997-2002.
25. Lupo A, Vogt D, Seiffert SN, Endimiani A, Perreten V. Antibiotic resistance and phylogenetic characterization of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from commercial raw meat in Switzerland. *Journal of food protection*. 2014; 77(11): 1976-81. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-073>
26. Carvalheira A, Casquete R, Silva J, Teixeira P. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* spp. isolated from meat. *International journal of food microbiology*. 2017; 243: 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.001>