اثر آنتی باکتریال ملیتین استخراج شده از زهر زنبور عسل ایرانی بر سویه های آسینتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت سوختگی بیمارستانی

فاطمه پاشایی[۱] ،کامران پوشنگ باقری[۲] *

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی، آزمایشگاه ونوم و بیومولکول های درمانی، انستیتو پاستور ایران

***نشانی برای مکاتبه:** تهران، انستیتو پاستور ایران، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی، آزمایشگاه ونوم و بیومولکول های درمانی، تلفن و نمابر: ۶۶۴۸۰۷۸۰، کد پستی: ۱۳۱۶۹۴۳۵۵۱، k_bagheri@pasteur.ac.ir

دریافت مقاله: دی نود و چهار پذیرش برای چاپ: فروردین نود و پنج

چکیده

سابقه و هدف: آسینتوباکتر بومانی یک عامل بیماریزای خطرناک و یک پاتوژن مهم در بیمارستان های سطح جهان بوده و از عوامل مهم در ایجاد عفونت سوختگی به شمار می رود. امروزه تعداد آسینتوباکتر بومانی های مقاوم به چندین آنتی بیوتیک رو به افزایش است و به همین دلیل پیشنهاد می شود که برای درمان عفونت های میکروبی از پپتید های ضد میکروبی استفاده شود. لذا هدف از این تحقیق تعیین اثر آنتی باکتریال ملیتین استخراج شده از زهر زنبور عسل ایرانی بر سویه های آسینتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت سوختگی بیمارستانی در شرایط in vitro تعیین گردید.

روش کار: نمونه های آسینتوباکتر بومانی از مرکز آموزشی درمانی شهید مطهری تهران جمع آوری و مجددا جنس و گونه سویه ها تشخیص داده شد. پپتید ملیتین با تکنیک کروماتوگرافی HPLC فاز معکوس از زهر زنبور عسل تخلیص شده و لیوفیلیزه گردید. سپس غلظت و کیفیت ملیتین تعیین و کنترل شد. پس از تعیین MIC و MBC ملیتین، نتایج آن با آنتی بیوتیک ایمی پنم مقایسه گردید.

یافته ها: میانگین MIC و MBC ملیتین در کل جمعیت باکتریایی به ترتیب ۰/۷۹و ۱/۵۹ میکروگرم و همچنین MIC50 ، MIC90، MBC50 و MBC90 ملیتین به ترتیب ۰/۵۵، ۱/۱ ، ۱/۱ و ۲/۱۷ میکرو گرم به دست آمد. با توجه به جدولCLSI، ۸۶٪ از نمونه ها به ایمی پنم مقاوم، ۶٪ دارای مقاومت حد واسط و ۸٪ حساس گزارش شدند. همچنین ۴۶٪ از نمونه ها در برابر ایمی پنم دارای MIC بیشتر از۳۲ میکروگرم و ۱۰۰٪ از نمونه ها دارای MBC بالاتر از ۳۲ میکروگرم بودند.

نتیجه گیری: مقایسه درصد مهاری و کشندگی ملیتین با ایمی پنم نشان داد که قدرت مهاری و کشندگی ملیتین از ایمی پنم بسیار بیشتر است. بر اساس نتایج به دست آمده می توان استنباط کرد که پپتید ملیتین می تواند در آینده به عنوان یک عامل پیش گیری کننده یا درمانی بر علیه کلونیزاسیون باکتری ها در بیماران بستری به کار رود.

واژگان کلیدی: آسینتوباکتر بومانی، عفونت سوختگی، ملیتین، زهر زنبور عسل

مقدمه

آسینتوباکتر بومانی یک عامل بیماری زای خطرناک و یک پاتوژن مهم در مراکز درمانی سطح جهان به شمار می رود. در میان گونه های آسینتوباکتر، بومانی متداول ترین گونه در عفونت بیمارستانی محسوب می شود(۱). در حال حاضر خط اول درمان آسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو (Multi Drug Resistance=MDR) ، Colistin و Tigecycline می باشد(۲). گزارشات زیادی از آسینتوباکترهای MDR در مناطق مختلف از جمله اروپا، شمال آمریکا، آرژانتین، برزیل، چین، تایوان، هنگ کنگ، ژاپن و کره و اقیانوس آرام جنوبی ثبت شده است(۳).

پوست اولین خط دفاعی در برابر تهاجم میکروبی می باشد. اختلال در این ساختار مهم دفاعی بدن، احتمال ابتلا به عفونت را در بیماران بیشتر می کند. سوختگی صدمات زیادی به پوست و عروق وارد کرده و همچنین می تواند باعث اختلال در سیستم ایمنی بدن شود. ضعف سیستم ایمنی نقش مهمی را در عفونت سوختگی بازی می کند(۴).

علت اصلی مرگ و میر در بخش های سوختگی در سراسر جهان، عفونت سوختگی می باشد که آسینتوباکتر بومانی یکی از عوامل مهم در ایجاد این عفونت به شمار می آید(۴و۱). در پنج روز اول پس از سوختگی ۷۳٪ از بیماران بر اثر سپسیس جان خود را از دست می دهند(۵). از آن جا که آسینتوباکتر بومانی به بسیاری از آنتی بیوتیک ها مقاوم است بنابراین پیشنهاد می شود برای درمان عفونت های ناشی از این باکتری از پپتید های ضد میکروبی استفاده شود. بسیاری از پپتید ها دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری ها، قارچ ها و ویروس ها می باشند(۶).

ریشه ی دقیق زنبور درمانی مربوط به مصر باستان، یونان و چین می باشد. امروزه در سراسر جهان از محصولات زنبور عسل به علت خواص درمانی آن استفاده می شود(۷). روش های استفاده از زهر زنبور عسل به صورت پماد می باشد. این زهر دارای فعالیت توکسیک بوده و سلول های قرمز خون را از بین می برد(۹و۸). ملیتین مهم ترین جزء زهر زنبور است که از ۲۶ اسیدآمینه تشکیل شده و ۵۰٪ از وزن زهر خشک شده ی زنبور را تشکیل می دهد. همچنین دارای خواص ضد التهابی، ضد باکتری و ضد ویروسی است(۹).

در سال ۱۹۹۳ در ایالات متحده ی آمریکا آسینتوباکتر های مقاوم به چند دارو ۶/۷٪ گزارش شد که این رقم در سال ۲۰۰۴ به ۲۹/۹٪ رسیده بود که بسیار نگران کننده می باشد(۱۰). بومن در سال ۱۹۹۵ و زاسلوف در سال ۲۰۰۲ بیان کردند که پپتیدهای ضدمیکروبی نقش بسیار مهم و موثری در دفاع از میزبان در برابر عفونت ها دارند(۱۱). هانکوک و سهل در سال ۲۰۰۶، با توجه به مقاومت بسیاری از باکتری ها به آنتی بیوتیک ها، پیشنهاد دادند که از پپتیدها برای درمان عفونت استفاده شود(۱۲).

با توجه به افزایش مقاومت های آنتی بیوتیکی در سویه های بیمارستانی، مطالعه در مورد کاربرد پپتید های آنتی میکروبیال از منابع طبیعی حائز اهمیت بوده و لذا هدف از این مطالعه تعیین اثر آنتی باکتریال ملیتین استخراج شده از زهر زنبور عسل ایرانی بر سویه های آسینتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت سوختگی بیمارستانی بود.

روش کار

زهر از زنبورهای عسل منطقه شهرکرد و زنجان (خرمدره)، توسط شرکت فروشنده به روش الکتروشوک تهیه شد. نمونه های آسینتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت سوختگی، طی یک دوره زمانی ۸ ماهه از دی ماه ۱۳۹۳ الی مرداد ۱۳۹۴ از مرکز آموزشی درمانی شهید مطهری تهران جمع آوری گردید. تعداد نمونه ها با توجه به میزان شیوع عفونت آسینتوباکتر در بیمارستان شهید مطهری، بر اساس فرمول کوکران، ۵۰ عدد به دست آمد. باکتری ها بعد از کشت، درمحیط Stock (حاوی ۲۰٪ گلیسرول) و در داخل فریزر ۲۰- نگه داری شدند. با انجام تست های اکسیداز، سیترات، تریپل شوگر آیرون (TSI) و OF (Oxidative fermentative) جنس و گونه باکتری های جمع آوری شده، تأیید شد.

جهت آماده سازی زهر ابتدا ۲۰ میلی گرم از آن را وزن و در ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر حل کرده و در ۱۲۴۷۰ g به مدت ۵ دقیقه سانتریوفوژ شد. برای تخلیص ملیتین از زهر زنبور، از کروماتوگرافی فاز معکوس و ستون c_{18} استفاده گردید. محلول های مورد استفاده در این آزمایش شامل محلول B (استونیتریل خالص به همراه آب- ۰/۰۵TFA٪ (تری فلورواستیک اسید=TFA)) و محلول D (آب دیونیزه به همراه ۰/۰۵TFA ٪) بود. برای لیوفیلیزه کردن نمونه ها ابتدا ملیتین جمع آوری شده در میکروتیوپ را در داخل یک بشر ریخته و به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه فریز درایر قرار داده شد.

برای تعیین غلظت ملیتین از روش BCA استفاده و سپس OD آن در طول موج۵۶۲ نانومتر خوانده شد. غلظت نهایی با استفاده از فرمول خط به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

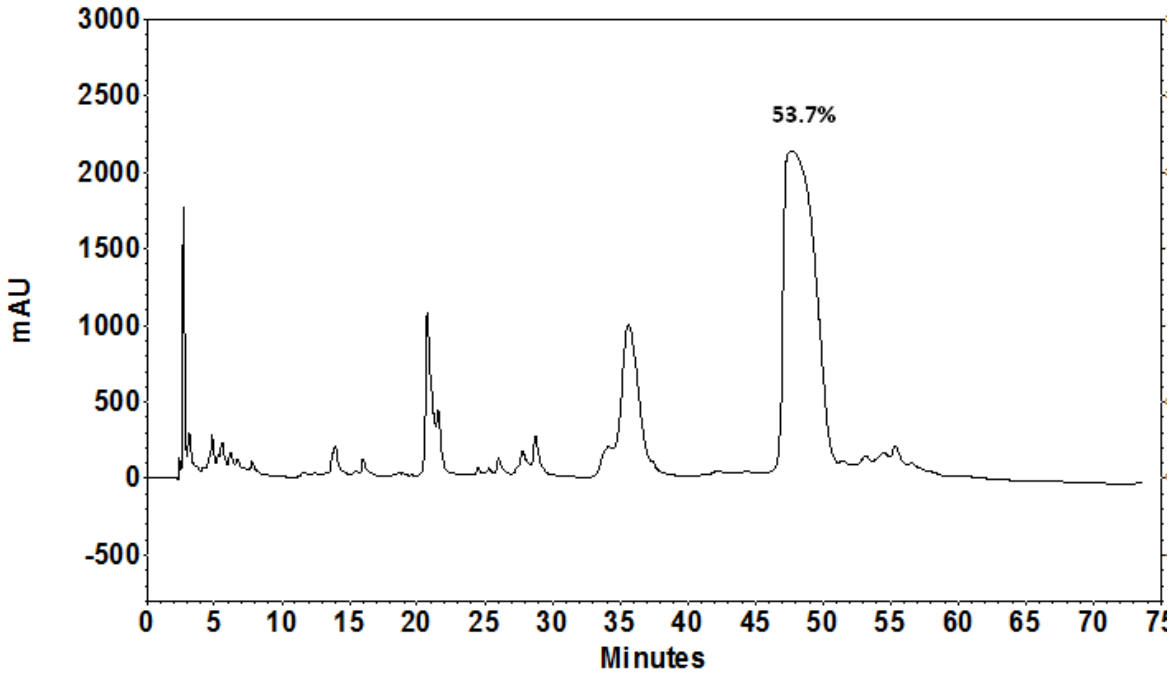
به منظور بررسی خلوص و کیفیت ملیتین به دست آمده، از روش(SDS-PAGE) الکتروفورز پلی اکریل آمید- سدیم دودسیل سولفات با درصد ژل ۱۵ درصد استفاده شد.

در مرحله ی بعد MIC ملیتین و ایمی پنم تعیین شد. برای انجام این کار ابتدا رقت های سریالی از ملیتین و ایمی پنم

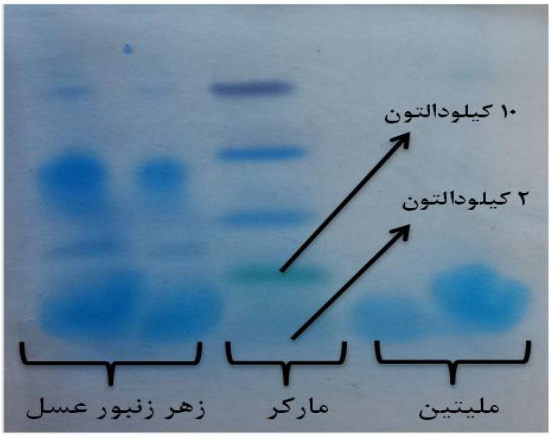
تهیه شد. µl ۱۰۰ محیط کشت مولر هینتون براث به چاهک ها ی دوم به بعد اضافه کرده و µg ۶۴ آنتی بیوتیک در حجم µl ۲۰۰ و به صورت جداگانه µg ۶۹/۵ ملیتین به چاهک اول اضافه شده و سپس رقیق سازی با ضریب ۱/۲ تا چاهک ۸ صورت گرفت و در مرحله ی آخر $۱/۵\times۱۰^{۵}$باکتری به هر چاهک در حجم µl ۱۰۰ اضافه شد و میکروپلیت مورد نظر را در $۳۷^{o}c$ درجه سانتی گراد انکوباسیون به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت قرار داده و سپس نتایج خوانده شد. سپس MBC ملیتین و ایمی پنم تعیین گردید. برای این منظور µl ۲۰ از هر چاهک شفاف به محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده و انکوباسیون آن در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت انجام گرفت. مقادیر MIC50، MBC50، MIC50/MBC50، و MIC90/MBC90 جهت ملیتین با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ با محاسبه frequency percentile بدست آمد.

یافته ها

حدود ۲۰ پیک در کروماتوگرام مشاهده گردید که ملیتین تقریبا ۵۳/۷٪ از مساحت کل فراکشن ها را تشکیل داده بود. در حدود دقیقه ۵۲ تا ۵۶ معادل با درصد استونیتریل ۴۷ درصد، ملیتین از ستون C_{18} خارج گردید(شکل۱). OD به دست آمده در اسپکتروفوتومتر در فرمول خط منحنی استاندارد BSA (Y=0.5115x+0.1211) قرار داده شد و در نتیجه غلظت ملیتین استخراج شده برابر با µg/µl ۲۸/۲۵ به دست آمد.



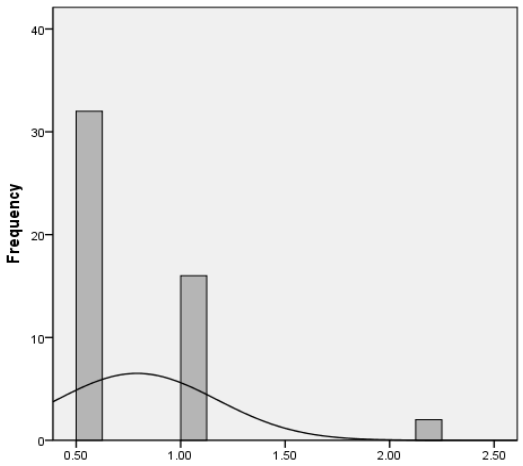
شکل۱. کروماتوگرام زهر زنبور. بیشترین سطح زیر منحنی بین فراکشن های موجود، مربوط به ملیتین بود که تقریبا ۵۳/۷٪ از مساحت کل فراکشن ها را تشکیل داده بود.



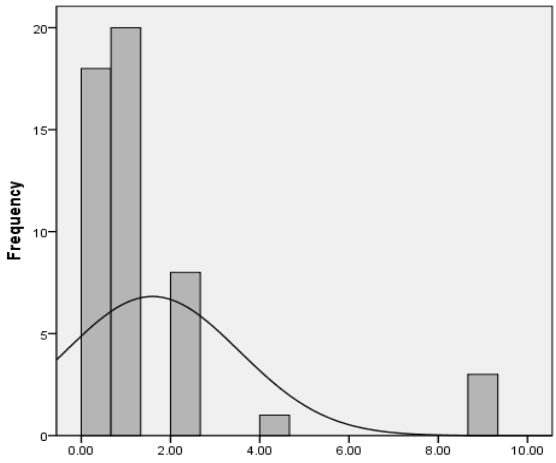
شکل۲. SDS-PAGE زهر زنبور و ملیتین.

چاهک ها به ترتیب از چپ به راست: چاهک اول و دوم: زهر زنبور، چاهک سوم: مارکر شرکت Thermo Fisher ، چاهک چهارم و پنجم: ملیتین تخلیص شده در مقادیر مختلف

با توجه به منحنی توزیع فراوانی MIC مشخص شد که اکثر سویه ها در مقدار بسیار کم ملیتین معادل با ۰/۵ میکروگرم از بین رفتند و میانگین مقدار ملیتین جهت مهار رشد ۰/۷۹ میکروگرم برآورد گردید(شکل۳). با توجه به منحنی توزیع فراوانی MBC مشخص شد که اکثر سویه ها در مقدار بسیار کم ملیتین معادل با ۱/۱ میکروگرم از بین رفتند و میانگین مقدار ملیتین جهت از بین بردن کامل باکتری ها ۱/۵۹ میکروگرم برآورد گردید (شکل۴).



شکل۳. توزیع فراوانی MIC ملیتین علیه سویه های بیمارستانی آسینتوباکتر بومانی



شکل۴. توزیع فراوانی MBC ملیتین علیه سویه های بیمارستانی آسینتوباکتر بومانی

میانگین MIC، MBC و نسبت MIC/MBC ملیتین در کل نمونه های مورد بررسی به ترتیب ۰/۷۹ µg، ۱/۵۹ µg و ۰/۷۸۶به دست آمد. MIC50، MIC90، MBC_{50} و MBC90ملیتین در مطالعه به ترتیب ۰/۵۵، ۱/۱ ، ۱/۱ و ۲/۱۷ میکرو گرم به دست آمد. هر دو نسبت MIC50/MBC50 وMBC90/MIC90 ملیتین ۰/۵ میکروگرم به دست آمد.

در بررسی MIC ایمی پنم ۴۶٪ از نمونه ها دارای MIC بیشتر از ۳۲µg و ۲۸٪ از نمونه ها نسبت به ۳۲ µg ایمی پنم و ۱۲٪ از نمونه ها نسبت به ۱۶µg ایمی پنم و ۶٪ از نمونه ها نسبت به ۸ µg ایمی پنم و ۶٪ از نمونه ها نسبت به ۴ µg ایمی پنم و ۲٪ از نمونه ها نسبت به ۱ µg ایمی پنم حساس بودند. در بررسی MBC ایمی پنم۱۰۰٪ از نمونه ها دارای MBC بالاتر از ۳۲µg بوده و نسبت MIC به MBC در ۱۰۰ ٪ از نمونه ها بیشتر از ۳۲µg به دست آمد. در این مطالعه با توجه به جدولCLSI، ۸۶٪ از نمونه ها به ایمی پنم مقاوم، ۶٪ دارای مقاومت حد واسط و ۸٪ حساس گزارش شدند.

بحث

عفونت های ناشی از آسینتوباکتر بومانی به دلیل مقاومت های آنتی بیوتیکی همیشه مورد توجه بوده اند. آسینتوباکتر بومانی یکی از شایعترین علت های عفونت های سوختگی بوده و همچنین می تواند عامل بیماری در ریه به ویژه پنومونی، عفونت دستگاه ادراری، کلیه ها، پوست، چشم و خون باشد(۱).

آسینتوباکتر به اکثر داروها مقاوم است که از جمله این داروها می توان به کارباپنم ها، سفالوسپورین ها، بتا لاکتام ها، فلوروکینولون ها و آمینوگلیکوزید ها اشاره کرد. این باکتری از طریق مکانیسم های مختلف نسبت به آنتی بیوتیک ها مقاوم می شود(۵). آسینتوباکتر بومانی معمولا با یک دارو درمان نمی شود، زیرا باکتری به سرعت به دارو مقاوم شده و میزان موفقیت درمان پایین است. برخی از مطالعات اخیر نشان داده اند که مقاومت فنوتیپی مربوط به تشکیل بیوفیلم نیز ممکن است در مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری به درمان مهم باشد(۲).

در سال های اخیر موارد مقاومت آسینتوباکتر بومانی به داروهای جدیدی که در حال حاضر برای درمان عفونت های ناشی از آسینتوباکتر بومانی مورد استفاده قرار می گیرند همانند کولیستین، دوری پنم و تایجی سایکلین گزارش شده است. با توجه به افزایش شیوع مقاومت آسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی بیوتیک های جدید، جستجوی مواد و آنتی بیوتیک های جدیدتر به عنوان جایگزین برای درمان عفونت های آسینتوباکتر بومانی بیشتر شده است(۱۵-۱۳).

استفاده نابجا از آنتی بیوتیک ها باعث افزایش شیوع گونه های مقاوم به آنتی بیوتیک شده است و این امر نیاز به تولید انواع جدید آنتی بیوتیک ها را ضروری کرده است. بنابراین

جستجوی مواد و آنتی بیوتیک های جدید نظر اکثر محققین و داروسازان و شرکت های مختلف داروسازی را به خود جلب کرده است از مهم ترین این مواد پپتیدهای آنتی باکتریال می باشند که در سال های اخیر مطالعات گسترده ای در سراسر دنیا در مورد آن ها انجام گرفته است. پپتیدها با فعالیت آنتی باکتریال، ضد قارچی و ضد ویروسی بر علیه انواع مختلفی از میکروارگانیسم ها شناخته می شوند. به علاوه این پپتیدها می توانند در جنبه های مختلف ایمنی هم شرکت کنند. آن ها در التهابات سپتیک و غیر سپتیک، ترمیم زخم، تنظیم سیستم ایمنی اکتسابی هم نقش موثر دارند(۱۶). ملیتین موجود در زهر زنبور عسل از جمله پپتیدهای آنتی باکتریال است که دارای اثرات آنتی باکتریال، ضد سرطان، ضد درد، و ضد التهاب می باشد(۱۷).

امروزه یکی از مشکلات بسیار مهم در مراکز درمانی و یا بیمارستان های سوختگی، عفونت ناشی از باکتری های مختلف از جمله آسینتوباکتر بومانی، استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا می باشد. بروز عفونت در مصدومین سوختگی که خطر آن از خود سوختگی بیشتر است، حاصل بهم ریختن سیستم دفاعی میزبان و وجود میکروارگانیسم‌های فرصت طلب می‌باشد. عفونت مشکل اصلی در روند درمان سوختگی است، چون باعث تاخیر در بلوغ اپیدرم و شکل گیری بافت‌های اضافه در زخم می‌شود. با توجه به ماهیت سوختگی امکان دارد ایست قلبی در اثر برق گرفتگی، خفگی در اثر دود، آسیب های شیمیایی در اثر مواد اسیدی و قلیایی و سایر صدمات بروز کند در اثر سوختگی مشکلات سایر اندام ها مانند: انفارکتوس میو کارد، صدمه به قلب و ریه ها، دستگاه گوارش به صورت خونریزی معده و آسیب به روده ها و ضعف سیستم ایمنی بروز می کند. از مهم ترین عوارض سوختگی می توان به نارسایی کلیه اشاره کرد.

طی بررسی که در مرکز آموزشی درمانی شهید مطهری تهران انجام شد مشخص شد که پزشکان از داروهای ترکیبی استفاده می کنند که در موارد زیادی ناموفق می باشد. در صورت موفقیت درمان هم عوارض توکسیک آنتی بیوتیک ها باعث صدمات جبران ناپذیری به بدن می شود. این در حالی است که در این مطالعه فقط یک آنتی بیوتیک پپتیدی توانست در مقدار پایین، رشد سویه ها را مهار کرده و از بین می برد.

با توجه به تحقیقات محمد باقر صالحی و همکاران در سال ۲۰۱۲ روی خاصیت ضد باکتریایی پپتید صناعیD28 ، MIC این پپتید بر روی سویه های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923) و سودوموناس آئروژینوزا (ATCC9027) به ترتیب ۶۲/۵ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد. اما در این مطالعه MIC ملیتین بر روی سویه ی استاندارد سودوموناس آئروژینوزا (۲۷۸۵۳ ATCC) ۴۳/۵ میکروگرم در میلی لیتر (۸/۷ میکروگرم) به دست آمد(۱۸).

با توجه به اهمیت تحقیق بر روی پپتید های آنتی میکروبیال، در این تحقیق ملیتین زهر زنبور عسل به عنوان یک پپتید طبیعی بر علیه سویه های آسینتوباکتر بومانی جدا شده ازعفونت سوختگی در شرایط in vitro بررسی شد. با توجه به تحقیقات انجام شده در سطح بین المللی که نشان دهنده مقاومت زیاد انواع آسینتوباکتر ها به انواع آنتی بیوتیک هاست، تصمیم گرفته شد تا اثر ضد میکروبی ملیتین علیه سویه های بالینی آسینتوباکتر بومانی مورد بررسی قرار گیرد.

آنالیز نتایج در نرم افزار CHROMGATE، نشان داد که ملیتین بیشترین جزء تشکیل دهنده زهر زنبور بوده و حدود ۵۰٪ از وزن خشک زهر زنبور را تشکیل داده است. در این مطالعه، ملیتین از زهر زنبور با تکنیک RP-HPLC ، با خلوص بسیار بالایی به دست آمد. تحقیق بر روی سویه های بالینی جمع آوری شده از عفونت سوختگی از این لحاظ حائز اهمیت است که محققین را به این اطمینان خاطر می رساند که پپتید ملیتین قادر به نابود کردن تمام سویه های بالینی است. این مطالعه تا کنون در ایران انجام نشده است و در سطح بین المللی نیز پپتیدهای آنتی باکتریال موضوع روز تحقیقات محققین کشورهای مختلف از جمله آمریکا و کشورهای اروپایی است(۲).

قدرت آنتی باکتریال ملیتین علیه سویه های بالینی بیشتر از ایمی پنم بوده و می تواند در آینده در صورتی که این آنتی بیوتیک صنعتی شود و فازهای مطالعاتی بالینی را طی کند، با دوز پایین مورد تجویز قرار بگیرد. با توجه به منحنی توزیع نرمال MIC و MBC مشخص شد که اکثر سویه ها در مقدار بسیار کمی ملیتین از بین رفتند و همچنین با توجه به نمودار توزیع MIC/MBC مشخص شد که در بیشتر جمعیت باکتری مورد مطالعه نسبت MIC/MBC ، عدد ۱ است که نشان دهنده ی این موضوع است که آنتی بیوتیک

پپتیدی ملیتین از بالاترین استاندارد لازم در علم فارماکولوژی برخوردار است. آنالیز واریانس داخل گروهی دو متغیر MIC و MBC با تست آماری one sample T-Test نشان داد که با p value کمتر از ۰/۰۵، پراکندگی بسیار پایین بود که نشان دهنده اثر تقریبا یکنواخت ملیتین بر سویه ها می باشد. همچنین توزیع نرمال فراوانی MIC و MBC برای ملیتین این موضوع را تأیید می کند.

نتیجه گیری

مقایسه نتایج به دست آمده از تست های آنتی بیوگرام در مطالعات مختلف بین المللی با نتایج این تحقیق نشان می دهد که پپتید ملیتین از لحاظ قدرت مهاری و میکروب کشی از آنتی بیوتیک رایج ایمی پنم قوی تر بوده و این موضوع ثابت کرد که تحقیقات بر روی ملیتین ارزش تحقیقی و صنعتی زیادی دارد و می تواند در آینده با بکار گیری متد های مختلف و بهینه سازی روش های سنتز ملیتین، معضل مقاومت به آنتی بیوتیک ها از بین رفته و بیماری های زیادی که ناشی از عفونت های آسینتوباکتر بومانی هستند درمان شوند. همچنین می توان حدس زد که توانایی پپتید ملیتین از آنتی بیوتیک های رایج مورد استفاده از دسته کارباپنم بیشتر بوده و امیدواری به کاربرد پپتیدهای آنتی میکروبیال را بیشتر می کند. اهمیت اصلی این تحقیق گزارش اثر قابل توجه یک پپتید طبیعی با خاصیت آنتی بیوتیکی بر ضد سویه های بیمارستانی جدا شده از عفونت سوختگی است. ملیتین می تواند در آینده با مطالعات بیشتر به صورت صنعتی وارد بازار دارویی شده و کمکی در حل معضل مقاومت های دارویی و همچنین سمیت داروهای شیمیایی رایج باشد.

REFERENCES

1-Peleg A, Seifert H, Paterson D. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Succesful pathogen. Clinical Microbiology Reviews, 2008; 21(3): p. 538-582.
2- Al –Anazi K.H, Al-Jasser A. Infections caused by *Acinetobacter baumannii* in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. Section of Adult Hematology and Oncology, *2014; 4:p. 1-10.*
3- Perez F, Hujer A, Hujer K, Decker B, Rather P, Bonomo R. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii.* American Society for Microbiology, 2007; 51(10): p. 3471-3484.
4- Dai T, Huang Y, Sharma S, Hashmi J, Kurup D, Hamblin M. Topical Antimicrobials for Burn Wound Infections. Recent Pat Antiinfect Drug Discov, 2010; 5(2): p. 124–151.
5- Thompson M, Black C, L. Pavlicek R, Honnold C, Wise M, A. Alamne Y, et al. Validation of a Novel Murine Wound Model of *Acinetobacter baumannii* Infection. Journals ASM, 2014; 58(3): p. 1332-1342.
6- A.Brogden K. Antimicrobial Peptides: pore formers or metabolic Inhibitors in Bacteria?. Department of Periodonticsand Dows Institute for Dental Research, 2005; 3: P. 238-250.
7- Benton AW, Morse RA, Stewart JD. Venom collection from honeybees .Science, 1963; (3589):142: p. 228-30.
8- Takahashi T, Nomura F, Yokoyama Y, Tanaka-Takiguchi Y, Homma M, Takiguchi K. Multiple Membrane Interactions and Versatile Vesicle Deformations Elicited by Melittin. Toxins ,2013; 5: P. 637-664.
9- Mohseni Kouchesfahani H, Imani S, Haghighi S, Mousavi E, Karimi K. Effect of honey bee venom on differentiation of cholinergic neurons. Journal of Venom Research, 2010; 1 : P. 29-36.

10- Hood M.I, Jacobs A, Sayood K, M. Dunman P, Skaar E. *Acinetobacter baumannii* Increases Tolerance to Antibiotics in Response to Monovalent Cations. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2010 ; 54(3):p. 1029-1041.
11- Diamond G, Beckloff N, Weinberg A, O. Kisich K. The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. Curr Pharm Des , 2009; 15: p. 2377-2392.
12- Zhu W. L, Nan Y, Hahm K.S, Shin S. Cell selectivity of an antimicrobial Peptide Melittin Diastereomer with D-amin Acid in the Leucine zipper Sequence. Journal of biochemistry and molecular biology , 2007; 40(6): p. 1090-1094.
13- Cai Y, Wang R, Liang B, Bia N. Colistin Resistance of *Acinetobacter baumannii* clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. Antimicrob chemother, 2012; 67(7): p.1607-1615.
14- Li Y, Lv Y, Xue F, Zheng B, Lui J, Zhang J. Antimicrobial resistance surveillance of doripenem in china. The journal of antibiotics, 2015; 68: p. 496-500.
15- Shin J, Chang Y.s, Kim H, Kim S, Chang J, Ahn C, et al. Clinical outcomes of tigecycline in the treatment of multidrug-resistance *Acinetobacter baumannii* infection. Yonesi med journal, 2012; 53(5): p.974.

16- Gordon Y, G. Romanowski E. A Review of Antimicrobial Peptides and Their Therapeutic Potential as Anti-Infective Drugs. Curr Eye Res , 2005; 30(7): P. 505–515.
17- Robinson A, J. Brzoska A, M. Turner K, Withers R, J. Harry E, J. Lewis P, et al. Essential Biological Processes of an Emerging Pathogen: DNA Replication, Transcription, and Cell Division in *Acinetobacter* spp. American Society for Microbiology , 2010; 74(2): p. 273-297.
18- Salehi M, Saadati M, Barati B, Saberi M, Olad G, Rahimi A. Evaluation of antibacterial effect of antimicrobial peptide D28 and its dimeric analogs., Arak Medical University Journal (AMUJ), 2012; 14(59): 73-81.