

Prevalence of IMP and SPM Genes in Clinical Isolates of Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii in Educational Hospitals of Sari, Iran

Zahra Norouzi Bazgir¹,
Mohammad Ahanjan²,
Mohammad Bagher Hashemi Soteh³,
Hamid Reza Goli⁴

¹ MSc Student in Medical Microbiology, Molecular and Cell Biology Research Centre, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Department of Medical Microbiology and Virology, Molecular and Cell Biology Research Centre, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Immunogenetic Research Center, Molecular and Cell Biology Research Centre, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Medical Microbiology and Virology, Molecular and Cell Biology Research Centre, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 16, 2018 ; Accepted June 16, 2019)

Abstract

Background and purpose: *Acinetobacter Baumannii* is an opportunistic bacterium, which is considered as a concern in hospitals throughout the world due to high antibiotic resistance rate. The aim of this study was to investigate the prevalence of carbapenem resistance genes in clinical isolates of this bacterium.

Materials and methods: In this study, 100 clinical isolates of *Acinetobacter Baumannii* were collected from hospitals affiliated to Mazandaran University of Medical Sciences. Antibiotic susceptibility patterns of the bacteria were evaluated using disk agar diffusion method and agar dilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration of colistin. Carbapenemase-producing isolates were detected by phenotypic Combined Disk Test (CDT) and PCR method was performed to investigate the presence of *IMP* and *SPM* genes in the isolates.

Results: The highest and the lowest antibiotic resistance rates were to piperacillin (99%) and colistin (7%), respectively. Among the isolates studied, 97 were found to be resistant to carbapenems, while phenotypic evaluation (CDT) showed metallo-beta-lactamase production in 95 isolates. Of the strains resistant to carbapenems, only two (2.06%) contained the *IMP* gene, while none of these isolates carried the *SPM* metallo-beta-lactamase.

Conclusion: According to the findings, other mechanisms of resistance such as increasing the activity of the efflux pumps, decreasing the expression of outer membrane proteins, excessive expression of the AmpC enzyme or production of other carbapenemases can be effective in resistance to carbapenem in *Acinetobacter Baumannii* species isolated in this area.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, carbapenems, metallo-beta-lactamases, *IMP*, *SPM*

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (174): 30-41 (Persian).

* Corresponding Author: Mohammad Ahanjan - Hamid Reza Goli - Molecular and Cell Biology Research Centre, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: ahanjan2007@ gmail.com , goli59@gmail.com)

شیوع ژن های *IMP* و *SPM* در ایزوله های بالینی *آسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربایتم ها در بیمارستان های آموزشی

زهرا نوروزی بازگیر^۱

محمد آهنگان^۲

محمدباقر هاشمی سوته^۳

حمیدرضا گلی^۴

چکیده

سابقه و هدف: آسینتوباکتر بومانی یک باکتری فرصت طلب است که به واسطه مقاومت آنتی بیوتیکی بالا به عنوان یک نگرانی در بخش های بیمارستانی در دنیا محسوب می شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی شیوع ژن های مقاوم به کاربایتم ها در ایزوله های بالینی این باکتری بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه ۱۰۰ ایزوله بالینی *آسینتوباکتر بومانی* از بیمارستان های آموزشی - درمانی مازندران جمع آوری شد. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری ها به روش دیسک آگار دیفیوژن ارزیابی شد و برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی کلیستین از روش آگار دایلوژن استفاده شد. تست فنوتیپی دیسک ترکیبی (CDT) Combined Disk Test برای بررسی تولید کاربایتمازها استفاده شد و برای بررسی حضور ژن های *IMP* و *SPM* در ایزوله ها از PCR استفاده شد.

یافته ها: بیشترین و کمترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در این مطالعه، نسبت به پیپراسیلین (۹۹ درصد) و کلیستین (۷ درصد) مشاهده شد. از بین ۱۰۰ ایزوله *آسینتوباکتر بومانی*، ۹۷ ایزوله مقاوم به کاربایتم ها بودند، در حالی که آزمایش فنوتیپی CDT نشان داد که ۹۵ ایزوله تولیدکننده متالو بتالاکتاماز بودند. از میان سویه های مقاوم به کاربایتم ها فقط ۲ (۲/۰۶ درصد) ایزوله دارای ژن *IMP* بودند، در حالی که هیچ کدام از این ایزوله ها حامل ژن *SPM* نبودند.

استنتاج: نتایج به دست آمده نشان داد که مکانیسم های دیگر مقاومت از قبیل افزایش فعالیت سیستم افلاکس، کاهش بیان پروتئین های غشای خارجی، افزایش بیان آنزیم AmpC یا تولید سایر کاربایتمازها می توانند در مقاومت به کاربایتم ها در *آسینتوباکتر بومانی* ایزوله شده در این منطقه مؤثر باشند.

واژه های کلیدی: *آسینتوباکتر بومانی*، کاربایتم ها، متالو بتالاکتامازها، *SPM*، *IMP*

مقدمه

آسینتوباکتر بومانی یک باکتری گرم منفی غیر تخمیری است که شایع ترین گونه ایزوله شونده از نمونه های بالینی در مقایسه با سایر گونه های *آسینتوباکتر*

محسوب می شود (۱). با توجه به مطالعات انجام شده در ایران و سایر کشورها از جمله فرانسه، آب و هوای گرم و مرطوب شرایط مساعدی را برای زنده ماندن و قابلیت

مؤلف مسئول: محمد آهنگان و حمیدرضا گلی؛ ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبراعظم، دانشکده پزشکی

E-mail: ahanjan2007@gmail.com, Email: goli59@gmail.com

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، مرکز تحقیقات ایمنونوزنیک، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۳/۲۶

بقای طولانی مدت آسیتوباکتر بومانی ایجاد می کند (۲، ۳). لیوپولی ساکارید، پیلی و تازک قطبی سبب چسبیدن این پاتوژن فرصت طلب به غشای سلولی میزبان بوده و نقش مهمی را در بیماری زایی این باکتری ایفا می کنند (۴).

این پاتوژن در ایجاد طیف وسیعی از عفونت ها از قبیل پنومونی، عفونت دستگاه ادراری، عفونت زخم، باکتری می و مننژیت نقش دارد، به طوری که مطالعات بسیاری مننژیت ناشی از آسیتوباکتر بومانی را پس از انجام عمل جراحی مغز گزارش کرده اند (۷-۵). هم چنین، این باکتری در ایجاد عفونت های بیمارستانی به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی و بیماران بستری در بخش ICU یا افراد دارای بیماری زمینه ای مانند دیابت، سرطان، نوتروپنی و سوختگی نقش بسیار مهمی را ایفا می کند (۱۰، ۵-۸). کارباپنم ها از جمله ایمی پنم، مروپنم، دوری پنم و ارتاپنم از مهم ترین آنتی بیوتیک های ضد میکروبی هستند که برای درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم به چند آنتی بیوتیک آسیتوباکتر بومانی استفاده می شوند (۱۱). امروزه ایجاد مقاومت دارویی در آسیتوباکتر بومانی نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک ها از جمله بتالاکتام ها، آمینو گلیکوزیدها، فلورو کینولون ها و کارباپنم ها به عنوان بزرگ ترین چالش حرفه پزشکی و در درمان بیماری های عفونی می باشد که درصد فراوانی از مرگ و میرهای سالانه بیمارستانی را به خود اختصاص داده است (۹، ۱۴-۱۲). مکانیسم های متفاوتی از جمله کاهش بیان پروتئین های غشای خارجی، افزایش فعالیت سیستم های افلاکس، تولید آنزیم های تخریب کننده و دریافت عناصر ژنتیکی متحرک (پلاسمیدها، اینتگرون ها و ترانسپوزون ها) حمل کننده ژن های مقاومت در پیدایش مقاومت آسیتوباکتر بومانی در برابر کارباپنم ها شناخته شده اند، در حالی که تولید آنزیم های کارباپنماز مهم ترین مکانیسم مقاومت می باشد (۱۵، ۱۶). بتالاکتامها آنزیم هایی هستند که باعث تخریب حلقه بتالاکتام موجود در آنتی بیوتیک های گروه بتالاکتام می شوند و بر اساس ساختار مولکولی به ۴ گروه A-D تقسیم می شوند (۱۷، ۱۸). گروه A (سرین

کارباپنمازها) شامل آنزیم هایی است که برای هیدرولیز کردن دارو نیاز به یک جایگاه فعال سرین دارند، در حالی که آنزیم های کلاس B شامل متالوبتالاکتامها می باشند که قادر به هیدرولیز کارباپنم ها می باشند و برای فعالیت خود به فلز روی در جایگاه فعال احتیاج دارند. آنزیم های کلاس D (اگراسیلینازها) نیز از خانواده سرین بتالاکتامها بوده و قادر به هیدرولیز اگراسیلین ها می باشند (۴، ۱۹، ۲۰). ژن های IMP و SPM در کلاس B آنزیم های بتالاکتاماز قرار می گیرند و از نظر کلینیکی شایع ترین آنزیم های متالوبتالاکتاماز هستند که به ترتیب توسط ژن های blaSPM و blaIMP کد می شوند (۲۱). ژن SPM (Sao Paulo metallo-beta lactamase) اولین بار در سال ۱۹۹۷ از یک دختر ۴ ساله مبتلا به لوسمی در برزیل و ژن IMP (Imipenemase) نیز در سال های ۱۹۹۲ تا ۱۹۹۴ در کشور ژاپن مورد شناسایی قرار گرفت (۲۲، ۲۳). این ژن ها در مقاومت باکتری ها نسبت به کارباپنم ها و سفالوسپورین های وسیع الطیف نقش دارند (۲۴). با توجه به افزایش مقاومت طیف وسیعی از باکتری های بیماری زا به داروهای ضد میکروبی در طی دهه های اخیر، شناسایی سریع مکانیسم هایی که منجر به مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه های باکتریایی می شوند دارای اهمیت زیادی می باشد. از جمله روش های فنوتیپی که قابلیت بالایی از لحاظ حساسیت و اختصاصیت جهت شناسایی متالوبتالاکتامها با سهولت بیش تر و هزینه کم تر دارد روش Combined Disk Test (CDT) می باشد (۲۵). با توجه به اهمیت کارباپنم ها در درمان عفونت های ناشی از آسیتوباکتر بومانی و هم چنین گزارشات متعدد از افزایش روز افزون مقاومت این باکتری به کارباپنم ها، این مطالعه با هدف بررسی شیوع ژن های مقاومت به کارباپنم ها در ایزوله های بالینی آسیتوباکتر بومانی در بیمارستان های آموزشی-درمانی شهر ساری انجام گرفت.

نمونه گیری و تعیین هویت باکتری ها

در این مطالعه توصیفی ۱۰۰ ایزوله آسیتوباکتر

تازوباکتام ($100/10 \mu\text{g}$)، سپیروفلوکساسین ($5 \mu\text{g}$) و جنتامایسین ($10\mu\text{g}$) (MAST Diagnostic Co., Bootle, UK) بودند. هم‌چنین برای تعیین MIC کلیستین از روش آگار دایلوژن و براساس دستورالعمل‌های CLSI استفاده شده و میزان مقاومت تمامی ایزوله‌ها نسبت به کلیستین تعیین شد (۲۸).

بررسی فنوتیپی تولید متالوبتالاکتاماز به روش
Combined Disk Test

روش دیسک ترکیبی (CDT) با استفاده از دیسک ایممی پنم ($10 \mu\text{g}$) به تنهایی و دیسک ترکیبی ایممی پنم - EDTA ($750\mu\text{g}-10\mu\text{g}$) برای شناسایی متالوبتالاکتامازها بر روی پلیت حاوی مولر هینتون آگار کشت داده شده با سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند انجام شده و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای 37°C درجه‌ی سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش قطر هاله عدم رشد بیش‌تر یا مساوی ۷ میلی‌متر در اطراف دیسک ترکیبی ایممی پنم - EDTA در مقایسه با دیسک ایممی پنم تنها نشان‌دهنده تولید متالوبتالاکتاماز می‌باشد (۱، ۲۹، ۳۰).

استخراج DNA باکتریایی و شناسایی مولکولی ژن‌های
IMP و *SPM*

پس از کشت ۲۴ ساعته سویه‌های خالص آسیتوباکتر بومانی، ژنوم تمام ایزوله‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA (Bioneer Co. Korea, Cat. No. K-3032-2) Polymerase Chain Reaction (PCR) برای شناسایی حضور ژن‌های متالوبتالاکتاماز استفاده شد. توالی پرایمرها و شرایط مورد استفاده جهت تکثیر ژن‌های مذکور در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. جهت تکثیر ژن‌های مورد مطالعه مخلوط PCR در حجم نهایی $15 \mu\text{l}$ تهیه شد (۳۱).

یافته‌ها

در این بررسی تعداد ۱۰۰ ایزوله بالینی با استفاده از تست API و تست‌های بیوشیمیایی استاندارد شناسایی و

بومانی از نمونه‌های بالینی از قبیل (ادرار، خون، مدفوع، خلط، زخم، مایع نخاع و کاتتر) از بیماران بستری و سرپایی در بیمارستان‌های آموزشی - درمانی شهر ساری در طی سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۶ جداسازی شدند. برای این منظور، کشت‌های میکروبی طبق استانداردهای میکروبیولوژی انجام گرفته و با استفاده از کیت تشخیص Analytical Profile Index (API) (BioMérieux, Lyon, فرانسه) ایزوله‌های آسیتوباکتر بومانی مورد شناسایی قرار گرفتند. برای نمونه‌های مشکوک از تست‌های مختلف آزمایشگاهی از قبیل کاتالاز، مصرف سترات و مصرف قندها در محیط‌های TSI و OF استفاده شد. هم‌چنین از تست PCR برای شناسایی ژن *OXA51* برای تعیین قطعی ایزوله‌های آسیتوباکتر بومانی استفاده گردید (۱، ۲۶).

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی

برای تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی از روش دیسک آگار دیفیوژن استاندارد (Kirby-Bauer) و براساس دستورالعمل‌های Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده شد (۲۷) و از ATCC 27853 برای کنترل استفاده شد. به طور خلاصه، ابتدا سوسپانسیون مطابق با کدورت ۰/۵ مک فارلند از باکتری مورد نظر در سرم فیزیولوژی تهیه شد و پس از آغشته کردن سوآب استریل با سوسپانسیون باکتری و گرفتن مایع اضافی آن در جدار لوله، به صورت چمنی بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck) پخش شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با فاصله استاندارد از همدیگر و از لبه پلیت قرار داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در حرارت 37°C درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شده و نتایج برای هر آنتی‌بیوتیک مطابق با دستورالعمل‌های CLSI به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم تفسیر شدند. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این بررسی شامل ایممی پنم ($10 \mu\text{g}$)، مروپنم ($10 \mu\text{g}$)، دوری پنم ($10 \mu\text{g}$)، سفوتاکسیم ($30 \mu\text{g}$)، پپراسیلین ($100 \mu\text{g}$)، پپراسیلین -

جدول شماره ۱: پرایمرها و شرایط مورد استفاده در واکنش PCR

References	final extension	cycles	extension	annealing	denaturation	initial denaturation	اندازه محصول PCR (bp)	توالی نوکلئیدی (5' to 3')	نام ژن
(32)	72°C for 10 min	30	72°C for 45 S	57°C for 30 S	94°C for 30 S	94°C for 2 min	587	F:GAAGGCGTTTATGTTTCATAC R:GTATGTTTCAAGAGTGATGC	IMP
(32)	72°C for 5 min	30	72°C for 45 S	53°C for 30 S	95°C for 30 S	95°C for 2 min	271	F:AAAATCTGGGTACGCAAACG R:ACATTATCCGCTGGAACAGG	SPM

آسیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو داشت. بیشترین نمونه‌های مقاوم به کارباینم‌ها مربوط به بیمارستان زارع بودند، در حالی که ۱۰۰ درصد سویه‌های جدا شده از زخم‌های سوختگی نسبت به کارباینم‌ها مقاوم بودند. در این مطالعه ۹۷ درصد از ایزوله‌های بالینی آسیتوباکتر بومانی که حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند (MDR) multi-drug resistant و همه این ایزوله‌ها علاوه بر سه کلاس آنتی‌بیوتیکی به خانواده کارباینم‌ها هم مقاوم بودند که به عنوان سویه‌های extensively drug resistant (XDR) شناسایی شدند. هم‌چنین از ۹۷ ایزوله آسیتوباکتر بومانی غیرحساس به کارباینم‌ها و بر اساس روش فنوتیپی CDT با استفاده از دیسک ترکیبی، ۹۵ (۹۷/۹ درصد) ایزوله به عنوان سویه‌ی تولیدکننده‌ی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز مورد شناسایی قرار گرفتند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: شناسایی فنوتیپی سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز روش CDT

بر اساس این تست فنوتیپی، بیشترین درصد تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (۳۶/۸) در سویه‌های جدا

به عنوان آسیتوباکتر بومانی تعیین هویت شدند. بیشترین نمونه‌های جداسازی شده (۳۷ درصد) مربوط به بیمارستان سوانح و سوختگی زارع بودند. نمونه‌های بالینی از ۷۵ مرد و ۲۵ زن جمع‌آوری شدند که شامل نوزادان ۶ روزه تا افراد ۹۰ ساله و با میانگین سنی (۵۲/۳۲) و انحراف معیار (۲۱/۴۳۳۸۹) بودند. بیشترین فراوانی ایزوله‌ها بر حسب نوع نمونه بدین صورت بود ۴۸ ایزوله از خلط و ۲۵ ایزوله از نمونه‌های زخم به دست آمدند. بر اساس نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام، بیشترین مقاومت سویه‌های به دست آمده نسبت به پیراسیلین (۹۹ درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت نسبت به کلیستین (۷ درصد) مشاهده شد (جدول شماره ۲). میزان مقاومت آسیتوباکتر بومانی در این مطالعه در مقابل همه آنتی‌بیوتیک‌های تست شده بالای ۸۴ درصد مشاهده شد.

جدول شماره ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۱۰۰ ایزوله آسیتوباکتر بومانی جدا شده به روش انتشار دیسک در آگار

آنتی‌بیوتیک‌ها	مقاوم	حساس	نیمه‌حساس
سپروفلوکساسین	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
سفتازوکسیم	۹۸ (۹۸)	-	۲ (۲)
پیراسیلین-تازوباکتام	۹۶ (۹۶)	۲ (۲)	۲ (۲)
پیراسیلین	۹۹ (۹۹)	-	۱ (۱)
جتاماسین	۸۴ (۸۴)	۱۴ (۱۴)	۲ (۲)
دورینم	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
ایمی‌پنم	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
مروپنم	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
کلیستین	۷ (۷)	۹۳ (۹۳)	-

توضیح: نتیجه آنتی‌بیوگرام کلیستین بر اساس تست MIC می‌باشد.

در این بررسی ۹۷ ایزوله نسبت به خانواده کارباینم‌ها مقاوم بودند که تمامی آن‌ها به (ایمی‌پنم، مروپنم و دوری‌پنم) مقاومت نشان دادند. هم‌چنین، کلیستین فعالیت بهتری نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر

بومانی و بخش جداسازی سویه‌ها، نوع نمونه‌ی بالینی و بیمارستان مربوطه را نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از آزمون PCR برای یافتن ژن‌های *IMP* و *SPM* نشان داد که از ۹۷ ایزوله‌ی مقاوم به کاربایتم ها فقط ۲ (۲/۰۶ درصد) ایزوله حامل ژن *IMP* بودند در حالی که هیچ کدام از ایزوله‌ها از نظر حضور ژن *SPM* مثبت نبودند (تصویر شماره ۲).

شده از بیماران بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی زارع مشاهده شد. این در حالی است که بر اساس نوع نمونه بالینی، بیشترین میزان شناسایی متالوبتالاکتامازها (۵۸/۷ درصد) در سویه‌های جدا شده از نمونه‌های خلط بیماران بستری در بیمارستان امام خمینی (ره) بود. جداول شماره ۳ تا ۵ اطلاعات مربوط به ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی آسیتوباکتر

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برحسب بخش و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های بالینی آسیتوباکتر بومانی

بخش‌های مختلف بیمارستانی (تعداد کل = ۱۰۰)	تعداد (درصد) سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های تست شده									
	ایمی‌نم تعداد (درصد)	مروپنم تعداد (درصد)	دوری‌نم تعداد (درصد)	پیراسیلین تعداد (درصد)	پیراسیلین - تازوباکتام تعداد (درصد)	سفتوکسیم تعداد (درصد)	سیروفلوکساسین تعداد (درصد)	جتامیسین تعداد (درصد)	<i>IMP</i> تعداد (درصد)	<i>SPM</i> تعداد (درصد)
ICU (۵۶)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۵ (۹۸/۲)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۵ (۹۸/۲)	۵۴ (۹۶/۴)	۴۵ (۸۰/۴)	۲ (۳/۶)	۰ (۰)
داخلی (۲۲)	۲۲ (۱۰۰)	۲۲ (۱۰۰)	۲۲ (۱۰۰)	۲۲ (۱۰۰)	۲۲ (۱۰۰)	۲۲ (۱۰۰)	۲۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
اطفال (۱۱)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
Picu (۱۱)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
اعصاب (۴)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
مردان (۱۱)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
سوختگی (۲۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۱۷ (۸۵)	۰ (۰)	۰ (۰)
سرایایی (۵۵)	۵۵ (۱۰۰)	۵۵ (۱۰۰)	۵۵ (۱۰۰)	۵۵ (۱۰۰)	۵۵ (۱۰۰)	۵۵ (۱۰۰)	۵۵ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
آنکولوژی (۱۱)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
BICU (۹)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

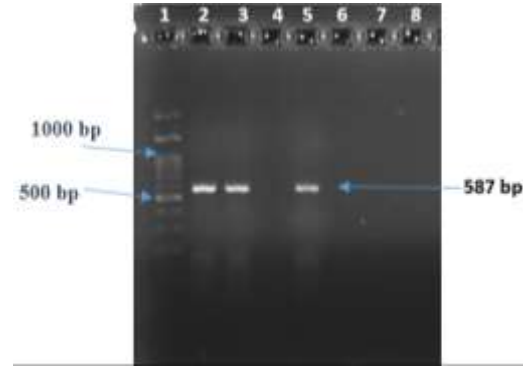
جدول شماره ۴: توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برحسب نوع نمونه بالینی و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های بالینی آسیتوباکتر بومانی

نمونه (تعداد)	تعداد (درصد) سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های تست شده									
	ایمی‌نم تعداد (درصد)	مروپنم تعداد (درصد)	دوری‌نم تعداد (درصد)	پیراسیلین تعداد (درصد)	پیراسیلین تعداد (درصد)	سفتوکسیم تعداد (درصد)	سیروفلوکساسین تعداد (درصد)	جتامیسین تعداد (درصد)	<i>IMP</i> تعداد (درصد)	<i>SPM</i> تعداد (درصد)
زخم (۲۵)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۴ (۹۶)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۳ (۹۲)	۲ (۸)	۰ (۰)
ادرار (۱۲)	۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)	۱۰ (۸۳/۳)	۰ (۰)	۰ (۰)
خلط (۴۸)	۴۶ (۹۵/۸)	۴۶ (۹۵/۸)	۴۶ (۹۵/۸)	۴۶ (۹۵/۸)	۴۷ (۱۰۰)	۴۷ (۱۰۰)	۴۶ (۹۵/۸)	۳۷ (۷۷/۱)	۰ (۰)	۰ (۰)
خون (۹)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۹ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
تراشه (۲)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
آسیت (۱)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
CSF (۲)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
ترشحات (۱)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

جدول شماره ۵: مقاومت به کاربایتم‌ها برحسب بیمارستان، بخش و نوع نمونه بالینی در ایزوله‌های بالینی آسیتوباکتر بومانی

نوع نمونه	بیمارستان	BICU	آنکولوژی	سرایایی	سوختگی	مردان	نورولوژی	PICU	اطفال	داخلی	ICU
زخم (۲۵)	امام خمینی ۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	۱ (۵۰)	-	-	-	۱ (۵۰)
زراع (۱۲)	امام خمینی ۳ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۳۳/۳)
ادرار (۱۲)	امام خمینی ۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۲۵)
خلط (۴۶)	امام خمینی ۲۷ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	۱ (۳/۷)	-	-	-	۱ (۳۳/۳)
خون (۹)	امام خمینی ۴ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۲۵)
تراشه (۲)	امام خمینی ۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۲۵)
CSF (۲)	امام خمینی ۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۲۵)
ترشحات (۱)	امام خمینی ۱ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۲۵)

خالدی و همکارانش در ایران انجام شده بود نیز بیش ترین نمونه بالینی مربوط به نمونه تنفسی بود (۳۴). بنابراین سیستم تنفسی یکی از شایع ترین اندام های درگیر در عفونت های ناشی از *آسیتوباکتر بومانی* می باشد (۳۵). در این مطالعه، ۲۵ درصد ایزوله های بالینی *آسیتوباکتر بومانی* از نمونه های زخم جدا شدند، در حالی که به استثنای جنتاماسین که ۸ درصد ایزوله ها نسبت به آن حساسیت نشان داده بودند، تمامی آنها نسبت به سایر آنتی بیوتیک های مورد بررسی مقاوم بودند. این مقاومت بالا می تواند به دلیل مصرف بیش از اندازه ای آنتی بیوتیک های وسیع الطیف در بیماران دارای سوختگی که ضعف سیستم ایمنی نیز دارند باشد (۲۸). هم چنین با توجه به نتایج این مطالعه، درمان و کنترل عفونت های ناشی از *آسیتوباکتر بومانی* بسیار چالش برانگیز بوده و نگرانی زیادی را در سیستم های بهداشتی - درمانی ایجاد کرده است. در این مطالعه موثرترین آنتی بیوتیک بر روی سویه های *آسیتوباکتر بومانی* کلیستین بود که این نتیجه کاملاً مشابه مطالعات دیگر انجام شده در ایران بود (۳۶-۳۸، ۳۰، ۱۴). هم چنین مطالعات انجام شده در سایر کشورهای هم جوار و غیر هم جوار نیز این نتیجه را تأیید کرده اند (۳۹-۴۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داده است که ۹۷ درصد ایزوله های بالینی *آسیتوباکتر بومانی* نسبت به کاربامپنم مقاوم بودند، در حالی که در مطالعه کوتی و همکارانش میزان مقاومت به ایمپنم ۹۸/۵ درصد گزارش شده است (۴۲). در مطالعه ای که شجاع و همکارانش در سال ۲۰۱۳ در شهر اهواز انجام دادند (۴۳) نیز میزان مقاومت به کاربامپنم ها ۹۶/۱ درصد گزارش شد، در حالی که در مطالعه ای که در کشور پاکستان انجام شد (۱) ۵۸/۹ درصد از ایزوله های بالینی به کاربامپنم مقاوم بودند. میزان مقاومت به ایمپی پنم در طی سالیان اخیر به سرعت در حال افزایش است، به طوری که در مطالعات سرحدی در سال ۱۳۹۴ و ژاپونی در سال ۱۳۹۱ میزان مقاومت به ایمپی پنم ۱۰۰ درصد گزارش شده بود (۴۴، ۱۳)، در حالی که میزان مقاومت به



تصویر شماره ۲: واکنش PCR برای ژن IMP

چاهک شماره ۱، Ladder 100bp - چاهک های شماره ۲ و ۳ حاوی نمونه های بالینی مثبت بوده و چاهک شماره ۴ نمونه کنترل منفی و چاهک شماره ۵ حاوی نمونه کنترل مثبت می باشد. به استثنای حساسیت نسبت به جنتاماسین که در یکی از ایزوله دارای ژن IMP مشاهده شد، هر ۲ ایزوله حامل این ژن نسبت به تمام آنتی بیوتیک های مورد بررسی مقاومت داشتند و هر دو مورد نیز دارای تست فنوتیپی مثبت بودند.

بحث

آسیتوباکتر بومانی یکی از شایع ترین عوامل در ایجاد عفونت های بیمارستانی است، در حالی که عامل ۷۰ درصد مرگ و میر ناشی از عفونت های بیمارستانی در افراد بستری در بخش های ویژه مثل سوختگی و ICU نیز می باشد (۳۳). امروزه در سراسر جهان شاهد گسترش روز افزون مقاومت میکروبی هستیم، به طوری که درمان بیماری های عفونی مشکل ساز شده است. خانواده کاربامپنم ها در درمان عفونت های ناشی از ایزوله های مقاوم به چند دارو به عنوان خط درمانی آخر استفاده می شوند (۱).

امروزه مقاومت به کاربامپنم ها به ویژه در ایزوله های جدا شده از نمونه های بالینی به طور گسترده گزارش شده است (۱، ۳۴). در حالی که بیش ترین میزان جداسازی *آسیتوباکتر بومانی* (۴۸ درصد) در مطالعه حاضر از نمونه های خلط بوده است، مطالعه دیگری که توسط

میزان متالوبتالاکتاماز را به روش CDT (۹۲/۵) و ژن IMP را شناسایی نکردند (۵۴). هم‌چنین نوری و همکاران تولید متالوبتالاکتاماز را با روش CDT (۸۶/۸۶) و ژن IMP (۳/۴۸) گزارش کردند (۳۱). با توجه به شیوع بالای سویه‌های XDR, MDR و درصد بالای ایزوله‌های حاوی متالوبتالاکتامازها به روش فنوتیپی در مطالعه ما و سایر مطالعات مشابه نظر به این که شیوع ژن‌های کد کننده متالوبتالاکتاماز در این سویه‌ها بسیار پایین بود می‌توان به این نتیجه رسید که وجود مکانیسم‌های مختلفی از جمله افزایش بیان پمپ‌های افلاکس، کاهش بیان پروتئین‌های غشای خارجی و تولید سایر کلاس‌های کارباپنم‌ها در ایجاد سویه‌های مقاوم به چند دارو در این مطالعه نقش اساسی داشتند (۵۷، ۱۶-۵۵). شیوع بالای مقاومت به کارباپنم‌ها در مطالعه حاضر هشدار جدی برای لزوم مدیریت مصرف صحیح این آنتی‌بیوتیک‌های مهم درمانی و شناسایی به موقع سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز جهت جلوگیری از انتشار ژن‌های مقاومت می‌باشد. سویه‌های مقاوم به کارباپنم به عنوان معضل جهانی مطرح هستند، زیرا درمان این سویه‌ها بسیار مشکل است با توجه به این که مکانیسم اصلی مقاومت نسبت به کارباپنم‌ها در آسیتوباکتر بومانی غیرفعال‌سازی آنزیماتیک کارباپنم‌ها توسط آنزیم‌های اگزاسیلیناز می‌باشد، فلذا پیشنهاد می‌شود در این منطقه ژن‌های خانواده اگزاسیلیناز به طور مکرر مورد ارزیابی قرار بگیرند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کارکنان آزمایشگاه بیمارستان‌های آموزشی - درمانی ساری و هم‌چنین آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی ساری و کلیه افرادی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند کمال تشکر را داریم.

References

1. Anwar M, Ejaz H, Zafar A, Hamid H. Phenotypic detection of metallo-beta-lactamases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*

این آنتی‌بیوتیک در طی مطالعاتی که از سال ۱۳۸۴ تا سال ۱۳۸۷ در ایران انجام شده است، ۱۶ تا ۶۸ درصد گزارش شده بود (۴۶، ۴۵، ۱۴). این اطلاعات نشان دهنده افزایش میزان مصرف کارباپنم‌ها در طی این چند سال در کشور ایران می‌باشد. در این مطالعه ۹۷ درصد از ایزوله‌های آسیتوباکتر بومانی مورد بررسی MDR بودند که کاملاً مشابه مطالعه جعفری در شهر شیراز بود (۴۷)، این درحالی است که در سال ۲۰۱۳ میزان شیوع سویه‌های آسیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو در بیمارستان‌های آموزشی کشور هندوستان ۷۴ درصد و در مطالعه دیگر در ایالت متحده آمریکا ۷۲ درصد گزارش شده بود (۴۹، ۴۸). شیوع بالاتر سویه‌های MDR در ایران نسبت به سایر نقاط دنیا به علت مصرف بیش از اندازه آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و ویژه کارباپنم‌ها در ایران می‌باشد. در این مطالعه ۹۶ ایزوله آسیتوباکتر بومانی به عنوان تولیدکننده متالوبتالاکتاماز شناسایی شدند، در حالی که گودرزی و همکارانش در سال ۱۳۹۴، میزان شیوع سویه‌های تولیدکننده این آنزیم را در شهر تهران ۸۶ درصد برآورد کرده بودند (۳۶). این شیوع به طور مشابهی در مطالعه‌ای که در کشور پاکستان انجام شده بود به میزان ۹۵/۴ درصد گزارش شده بود (۱). از طرفی دیگر، حضور ژن IMP در ۲ جدایه‌ی مورد بررسی در مطالعه حاضر ردیابی شد که هر دو سویه از نمونه زخم جدا شده بودند.

در مطالعه فلاح و همکارانش در تهران ۳/۴ درصد از ایزوله‌های آسیتوباکتر بومانی دارای ژن IMP بودند، در حالی که آن‌ها نیز مثل مطالعه‌ی ما حضور ژن SPM را منفی گزارش کردند (۵۰). چندین مطالعه انجام شده در ایران و کشور مصر بر روی ایزوله‌های بالینی آسیتوباکتر بومانی نیز حضور هر دو ژن IMP و SPM را منفی گزارش کردند (۲۴، ۲۸، ۴۳، ۵۳-۵۱). در مطالعات عرفانی سال ۲۰۱۷

isolated from pediatric patients in Pakistan. *Journal of Pathogens* 2016; 2016: 8603964.

2. Ibrahim ME. Prevalence of *Acinetobacter*

- baumannii in Saudi Arabia: risk factors, antimicrobial resistance patterns and mechanisms of carbapenem resistance. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2019; 18(1): 1.
3. McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR, System NNIS. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: 1987–1996. *Clin Infect Dis* 1999; 29(5): 1133-1137.
 4. Espinal P, Marti S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect* 2012; 80(1): 56-60.
 5. Khan FY, Abukhattab M, Baager K. Nosocomial postneurosurgical *Acinetobacter baumannii* meningitis: a retrospective study of six cases admitted to Hamad General Hospital, Qatar. *J Hosp Infect* 2012; 80(2): 176-179.
 6. Juttukonda LJ, Green ER, Lonergan ZR, Heffern MC, Chang CJ, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* OxyR regulates the transcriptional response to hydrogen peroxide. *Infect Immun* 2019; 87(1): e00413-418.
 7. Hasani A, Sheikhalizadeh V, Ahangarzadeh Rezaee M, Rahmati-Yamchi M, Hasani A, Ghotaslou R, et al. Frequency of aminoglycoside-modifying enzymes and ArmA among different sequence groups of *Acinetobacter baumannii* in Iran. *Microb Drug Resist* 2016; 22(5): 347-353.
 8. Ning N-z, Liu X, Bao C-m, Chen S-m, Cui E-b, Huang J, et al. Molecular epidemiology of bla OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a single institution over a 65-month period in north China. *BMC Infect Dis* 2017; 17(1): 14.
 9. Routray A, Lavanya P, Soniya R, Madhavan R. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA and NDM-1 carbapenemases in *Acinetobacter*. *J Pharm Res* 2013; 7(4): 324-326.
 10. Sheikhalizadeh V, Hasani A, Rezaee MA, Rahmati-yamchi M, Hasani A, Ghotaslou R, et al. Comprehensive study to investigate the role of various aminoglycoside resistance mechanisms in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Chemother* 2017; 23(2): 74-79.
 11. Doi Y, Murray GL, Peleg AY, editors. *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance—treatment options. *Semin Respir Crit Care Med* 2015; 36(1): 85-98.
 12. 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): 2974-2976.
 13. Sarhaddi N, Dolatabadi S, Amel Jamehdar S. Drug resistance pattern of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from a referral burn center in northeast of Iran. *Med J Mashhad Univ Med Sci* 2016; 59(1): 1-8 (Persian).
 14. Shahcheraghi F, Abbasalipour M, Feizabadi M, Ebrahimipour G, Akbari N. Isolation and genetic characterization of metallo- β -lactamase and carbapenemase producing strains of *Acinetobacter baumannii* from patients at Tehran hospitals. *Iran J Microbiol* 2011; 3(2): 68-74.
 15. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006; 43(Suppl2): S49-S56.
 16. Ghaem H, Haghghi AB. The impact of disability, fatigue and sleep quality on the quality of life in multiple sclerosis. *Ann Indian Acad Neurol* 2008; 11(4): 236-241.
 17. Lye DC, Kwa AL, Chlebicki P. World health day 2011: Antimicrobial resistance and

- practical solutions. *Ann Acad Med Singapore* 2011; 40(4): 156-157.
18. Bokaian M, Shahraki S, Raeisi J, Mohammadzadeh Rostami F. Prevalence of OXA-2 and OXA-10 Type ESBL among *Acinetobacter* Strains Isolated from Patients of Zahedan (South Eastern Iran). *Med J Mashhad Univ Med Sci* 2016; 59(1): 26-34.
 19. Kateete DP, Nakanjako R, Namugenyi J, Erume J, Joloba ML, Najjuka CF. Carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* at Mulago Hospital in Kampala, Uganda (2007–2009). *SpringerPlus* 2016; 5(1): 1308.
 20. Nordmann P, Poirel L, Carrër A, Toleman MA, Walsh TR. How to detect NDM-1 producers. *J Clin Microbiol* 2011; 49(2): 718-721.
 21. Neyestanaki DK, Mirsalehian A, Rezagholizadeh F, Jabalameli F, Taherikalani M, Emaneini M. Determination of extended spectrum beta-lactamases, metallo-beta-lactamases and AmpC-beta-lactamases among carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Burns* 2014; 40(8): 1556-1561.
 22. Maspi M, Ghanbari F, Darboie M, Sadeghifard N. Prevalence of metallo- β -lactamase blaIMP and blaVIM genes in urinary isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Ilam. *SJIMU* 2015; 23(2): 141-148 (Persian).
 23. Salabi AE, Toleman MA, Weeks J, Bruderer T, Frei R, Walsh TR. First report of the metallo- β -lactamase SPM-1 in Europe. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(1): 582.
 24. Solgi H, Ghafarzadeh H, Shahcheraghi F. Evaluation of phenotypic and genotypic carbapenemase genes in gram-negative bacteria resistant to carbapenem and determining their antibiotic resistance. *Journal of Isfahan Medical School* 2017; 34(405): 1290-1296.
 25. Khodaei H, Eftekhari F. Detection of kpc-type Carbapenemases in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *JKIMSU* 2017; 6(4): 64-70 (Persian).
 26. Sarikhani Z, Nazari R, Rostami MN. First report of OXA-143-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* in Qom, Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2017; 20(11): 1282-1286.
 27. Humphries RM, Kircher S, Ferrell A, Krause KM, Malherbe R, Hsiung A, et al. The continued value of disk diffusion for assessing antimicrobial susceptibility in clinical laboratories: report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol* 2018; 56(8): e00437-18.
 28. Azimi L, Talebi M, Pourshafie M-R, Owlia P, Lari AR. Characterization of carbapenemases in extensively drug resistance *Acinetobacter baumannii* in a burn care center in Iran. *Int J Mol Cell Med* 2015; 4(1): 46-53.
 29. Benmahmod AB, Said HS, Ibrahim RH. Prevalence and Mechanisms of Carbapenem Resistance Among *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in Egypt. *Microb Drug Resist* 2019; 25(4): 480-488.
 30. Akhi MT, Khalili Y, Ghotaslou R, Kafil HS, Yousefi S, Nagili B, et al. Carbapenem inactivation: a very affordable and highly specific method for phenotypic detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates compared with other methods. *J Chemother* 2017; 29(3): 144-149.
 31. Noori M, Karimi A, Fallah F, Hashemi A, Alimehr S, 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(3): e15439.

32. Al-Hindawi RA. Detection of Metallo β -lactamase Class among Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) Isolates in Hilla/Iraq. *Journal of Global Pharma Technology* 2018; 9(12): 169-178.
33. Shiraz TE, Yazdi HR, Alijanianzadeh M. Evaluation of Carbapenemase Resistance in *Pseudomonas Aeruginosa* and Enterobacteriaceae Family Isolated from Clinical Specimens by Using Phenotypic Methods. *Pars J of Med Sci* 2016; 14(4): 8-15 (Persian).
34. Khaledi A, Bahador A, Mansoori NM, Ghazali Bina M, Ghazvini K. Determination of antimicrobial resistance pattern of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in intensive care unit (ICU). *Med J Mashhad Univ Med Sci* 2015; 58(7): 376-380 (Persian).
35. Mera RM, Miller LA, Amrine-Madsen H, Sahn DF. *Acinetobacter baumannii* 2002–2008: increase of carbapenem-associated multiclass resistance in the United States. *Microb Drug Resist* 2010; 16(3): 209-215.
36. Goudarzi H, Hashemi A, Fatemeh F, Noori M, Erfanimesh S, Yosefi N, et al. Detection of blaDIM, blaAIM, blaGIM, blaNDM and blaVIM Genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospitalized patients in Tehran hospitals, Iran. *Iran J Med Microbiol* 2016; 9(4): 32-39.
37. Vakili B, Fazeli H, Shoaie P, Yaran M, Ataei B, Khorvash F, et al. Detection of colistin sensitivity in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iran. *J Res Med Sci* 2014; 19(Suppl 1): S67-S70.
38. 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.
39. Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibl AM, El Kholy A. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. *Int J Infect Dis* 2014; 22:49-54.
40. Bakour S, Touati A, Sahli F, Ameer AA, Haouchine D, Rolain J-M. Antibiotic resistance determinants of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Algeria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 76(4): 529-531.
41. Al-Sweih N, Al-Hubail M, Rotimi V. Three distinct clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with high diversity of carbapenemases isolated from patients in two hospitals in Kuwait. *J Infect Public Health* 2012; 5(1): 102-108.
42. Kooti S, Motamedifar M, Sarvari J. Antibiotic resistance profile and distribution of oxacillinase genes among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Shiraz teaching hospitals, 2012-2013. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(8): e20215 (Persian).
43. Shoja S, Moosavian M, Peymani A, Tabatabaiefar MA, Rostami S, Ebrahimi N. Genotyping of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from tracheal tube discharge of hospitalized patients in intensive care units, Ahvaz, Iran. *Iran J Med Microbiol* 2013; 5(4): 315.
44. Japoni S, Japoni A, Farshad S, Ali AA, Jamalidoust M. Association between existence of integrons and multi-drug resistance in *Acinetobacter* isolated from patients in southern Iran. *Pol J Microbiol* 2011; 60(2): 163-168.
45. Khosrishihi N, Sharifi M. Isolation of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*

- (CRAB) strains from patients and equipments of Intensive care units (ICUs) at Qazvin between 2005-2006. *Iran J Med Microbiol* 2007; 1(3): 33-38.
46. Hashemizadeh Z, Bazargani A, Emami A, Rahimi M. Acinetobacter antibiotic resistance and frequency of ESBL-producing strains in ICU patients of Namazi Hospital (2008-2009). *J Qazvin Univ Med Sci* 2010; 14(2): 47-53 (Persian).
47. Jafari S, Najafipour S, Kargar M, Abdollahi A, Mardaneh J, Fasihy Ramandy M, et al. Phenotypical evaluation of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Fasa Univ Med Sci* 2013; 2(4): 254-258 (Persian).
48. Dash M, Padhi S, Pattnaik S, Mohanty I, Misra P. Frequency, risk factors, and antibiogram of *Acinetobacter* species isolated from various clinical samples in a tertiary care hospital in Odisha, India. *Avicenna J Med* 2013; 3(4): 97-102.
49. Dent LL, Marshall DR, Pratap S, Hulette RB. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a descriptive study in a city hospital. *BMC Infect Dis* 2010; 10(1): 196.
50. Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimanesh S, et al. Prevalence of bla_{NDM}, bla_{PER}, bla_{VEB}, bla_{IMP}, and bla_{VIM} genes among *Acinetobacter baumannii* isolated from two hospitals of Tehran, Iran. *Scientifica* 2014; 2014: 245162.
51. Al-Agamy MH, Shibl AM, Ali MS, Khubnani H, Radwan HH, Livermore DM. Distribution of β -lactamases in carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in Riyadh, Saudi Arabia. *J Glob Antimicrob Resist* 2014; 2(1): 17-21.
52. Moosavian M, Shoja S, Nashibi R, Ebrahimi N, Tabatabaiefar MA, Rostami S, et al. Post neurosurgical meningitis due to colistin heteroresistant *Acinetobacter baumannii*. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(10): e12287 (Persian).
53. Vala MH, Hallajzadeh M, Hashemi A, Goudarzi H, Tarhani M, Tabrizi MS, et al. Detection of Ambler class A, B and D β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from burn patients. *Ann Burns Fire Disasters* 2014; 27(1): 8-13.
54. Erfani Y, Yaghuobi S, Fallah F, Rahbar M, Rasti A, Ghanati K. Detection of bla_{NDM-1}, bla_{VIM}, and bla_{IMP} genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from clinical isolates in Tehran hospitals. *Int J Adv Biotechnol Res* 2017; 8(2): 500-506.
55. Ferreira-Valente MA, Ribeiro JLP, Jensen MP. Psychometric properties of the portuguese version of the pain self-efficacy questionnaire. *Acta Reumatol Port* 2011; 36(3): 260-267.
56. Miller A, Dishon S. Health-related quality of life in multiple sclerosis: the impact of disability, gender and employment status. *Qual Life Res* 2006; 15(2): 259-271.
57. Seyed Ahmadi Nejad FS, Golmakani N, Shakeri MT. Effect of progressive muscle relaxation on depression, anxiety, and stress of primigravid women. *Evidence Based Care Journal* 2015; 5(1): 67-76.