

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

زهره نوری بازگیر^۱

محمد آهنگان^۲

محمدباقر هاشمی سوت^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 کاربایتم ها 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 کاربایتم ها 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، *IMP*، *SPM*

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

مولف مسئول: محمد آهنگان و حمیدرضا گلی؛ ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، 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 ایمونونوتیک، 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). لیوپلی ساکارید، پلی 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 کند (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). کاربانم 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، فلوروکینولون ها و کاربانم 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 کاربانم ها شناخته شده اند، در حالی که تولید آنزیم های کاربانم از مهم ترین مکانیسم مقاومت می باشد (۱۵، ۱۶). بتالاکتام ها 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

کاربانم ها) شامل آنزیم هایی است که برای هیدرولیز کردن دارو نیاز به یک جایگاه فعال سرین دارند، در حالی که آنزیم های کلاس B شامل متالوبتالاکتامازهایی هستند که قادر به هیدرولیز کاربانم ها می باشند و برای فعالیت خود به فلز روی در جایگاه فعال احتیاج دارند. آنزیم های کلاس D (اگراسیلینازها) نیز از خانواده سرین بتالاکتامازها 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 کاربانم 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 متالوبتالاکتامازها با سهولت بیش تر و هزینه ی کم تر دارد روش Combined Disk Test (CDT) می باشد (۲۵). با توجه به اهمیت کاربانم ها در درمان عفونت های ناشی از آسیتوباکتر بومانی و هم چنین گزارشات متعدد از افزایش روز افزون مقاومت این باکتری به کاربانم ها، این مطالعه با هدف بررسی شیوع ژن های مقاومت به کاربانم 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

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 ۱۳۹۶-۱۳۹۷ جداسازی شدند. برای این منظور، کشت‌های میکروبی طبق استانداردهای میکروبیولوژی انجام گرفته و با استفاده از کیت تشخیص (API Analytical Profile Index, BioMérieux, Lyon) ایزوله‌های آسیتوباکتر بومانی مورد شناسایی قرار گرفتند. برای نمونه‌های مشکوک از تست‌های مختلف آزمایشگاهی از قبیل کاتالاز، مصرف سترات و مصرف قندها در محیط‌های OF و TSI استفاده شد. هم‌چنین از تست PCR برای شناسایی ژن OXA51 برای تعیین قطعی ایزوله‌های آسیتوباکتر بومانی استفاده گردید (۲۶،۱).

الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی

برای تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی از روش دیسک آگار دیفیوژن استاندارد (Kirby-Bauer) و بر اساس 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 هیتون آگار (Merck) پخش شد. سپس دیسک‌های آنتی بیوتیک با فاصله استاندارد از همدیگر و از لبه پلیت قرار داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شده و نتایج برای هر آنتی بیوتیک مطابق با دستورالعمل‌های CLSI به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم تفسیر شدند. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در این بررسی شامل ایمپی پنم (10 µg)، مروپنم (10 µg)، دوری پنم (10 µg)، سفوتاکسیم (30 µg)، پپراسیلین (100 µg)، پپراسیلین-

تازوباکتام (100/10 µg)، سیپروفلوکساسین (5 µg) و جتامايسين (10µg) (MAST Diagnostic Co., Bootle, UK) بودند. هم‌چنین برای تعیین MIC کلیستین از روش آگار دایلوژن و بر اساس 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 ایمپی پنم (10 µg) به تنهایی و دیسک ترکیبی ایمپی پنم - EDTA (750µg-10µg) برای شناسایی متالوبتالاکتامازها بر روی پلیت حاوی مولر هیتون آگار کشت داده شده با سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند انجام شده و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش قطر هاله عدم رشد بیش تر یا مساوی ۷ میلی متر در اطراف دیسک ترکیبی ایمپی پنم - EDTA در مقایسه با دیسک ایمپی پنم تنها نشان دهنده تولید متالوبتالاکتاماز می باشد (۳۰،۲۹،۱).

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 ۱۵ µl تهیه شد (۳۱).

یافته‌ها

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

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

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

به عنوان آسینتوباکتر بومانی تعیین هویت شدند. بیش تر نمونه های جداسازی شده (۳۷ درصد) مربوط به بیمارستان سوانح و سوختگی زارع بودند. نمونه های بالینی از ۷۵ مرد و ۲۵ زن جمع آوری شدند که شامل نوزادان ۶ روزه تا افراد ۹۰ ساله و با میانگین سنی (۵۲/۳۲) و انحراف معیار (۲۱/۴۳۳۸۹) بودند. بیش ترین فراوانی ایزوله ها بر حسب نوع نمونه بدین صورت بود ۴۸ ایزوله از خلط و ۲۵ ایزوله از نمونه های زخم به دست آمدند. بر اساس نتایج حاصل از آنتی بیوگرام، بیش ترین مقاومت سویه های به دست آمده نسبت به پیراسیلین (۹۹ درصد) و کم ترین میزان مقاومت نسبت به کلیستین (۷ درصد) مشاهده شد (جدول شماره ۲). میزان مقاومت آسینتوباکتر بومانی در این مطالعه در مقابل همه آنتی بیوتیک های تست شده بالای ۸۴ درصد مشاهده شد.

جدول شماره ۲: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰۰ ایزوله

آسینتوباکتر بومانی جدا شده به روش انتشار دیسک در آگار

آنتی بیوتیک ها	مقاوم	حساس	نیمه حساس
سپروفلوکساسین	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
سفتازاکسیم	۹۸ (۹۸)	-	۲ (۲)
پیراسیلین-تازولیکتام	۹۶ (۹۶)	۲ (۲)	۲ (۲)
پیراسیلین	۹۹ (۹۹)	-	۱ (۱)
جتامایسین	۸۴ (۸۴)	۱۴ (۱۴)	۲ (۲)
دورپنم	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
ایمی پنم	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
مروپنم	۹۷ (۹۷)	۳ (۳)	-
کلیستین	۷ (۷)	۹۳ (۹۳)	-

توضیح: نتیجه آنتی بیوگرام کلیستین بر اساس تست MIC می باشد.

در این بررسی ۹۷ ایزوله نسبت به خانواده کاربانم ها مقاوم بودند که تمامی آن ها به (ایمی پنم، مروپنم و دوری پنم) مقاومت نشان دادند. هم چنین، کلیستین فعالیت بهتری نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها در برابر

آسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو داشت. بیش ترین نمونه های مقاوم به کاربانم ها مربوط به بیمارستان زارع بودند، در حالی که ۱۰۰ درصد سویه های جدا شده از زخم های سوختگی نسبت به کاربانم ها مقاوم بودند. در این مطالعه ۹۷ درصد از ایزوله های بالینی آسینتوباکتر بومانی که حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیکی مقاوم بودند multi-drug resistant (MDR) و همه این ایزوله ها علاوه بر سه کلاس آنتی بیوتیکی به خانواده کاربانم ها هم مقاوم بودند که به عنوان سویه های extensively drug resistant (XDR) شناسایی شدند. هم چنین از ۹۷ ایزوله آسینتوباکتر بومانی غیر حساس به کاربانم ها و بر اساس روش فنوتیپی CDT با استفاده از دیسک ترکیبی، ۹۵ (۹۷/۹ درصد) ایزوله به عنوان سویه تولید کننده آنزیم های متالوبتالاکتاماز مورد شناسایی قرار گرفتند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: شناسایی فنوتیپی سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز روش CDT

بر اساس این تست فنوتیپی، بیش ترین درصد تولید آنزیم های متالوبتالاکتاماز (۳۶/۸) در سویه های جدا

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 متالوبتالاکتمازها (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

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).

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

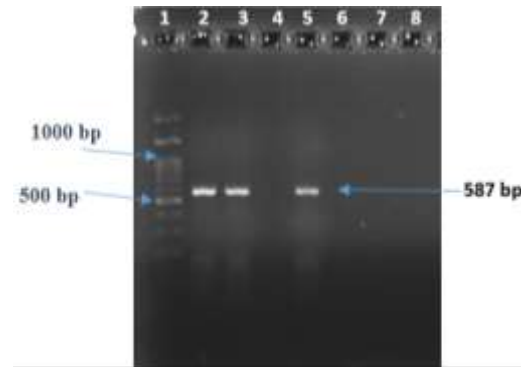
تعداد سویه‌های جدا شده از بخش‌های مختلف بیمارستانی (تعداد کل = ۱۰۰)										تعداد (درصد) سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های تست شده		تعداد (درصد) سویه‌های حامل ژن کد کننده‌ی متالوبتالاکتماز	
ایمی‌نم	مروپنم	دوری‌نم	پیراسیلین	پیراسیلین - تازوباکتام	سفتاکسیم	سپروفلوکساسین	جتامایسین	<i>IMP</i>	<i>SPM</i>				
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)				
۵۶ (۵۶)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۵ (۹۸/۲)	۵۴ (۹۶/۴)	۵۵ (۹۸/۲)	۵۴ (۹۶/۴)	۴۵ (۸۰/۲)	۲ (۳/۶)	۰ (۰)				
داخلی (۲)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
اطفال (۱)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
Picu (۱)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
اعصاب (۴)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
مردان (۱)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
سوختگی (۲۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۲۰ (۱۰۰)	۱۷ (۵۵)	۰ (۰)	۰ (۰)				
سرپایی (۵)	۵ (۱۰۰)	۵ (۱۰۰)	۵ (۱۰۰)	۵ (۱۰۰)	۵ (۱۰۰)	۵ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
آنکولوژی (۱)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
BICU (۹)	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		تعداد (درصد) سویه‌های حامل ژن کد کننده متالوبتالاکتماز	
ایمی‌نم	مروپنم	دوری‌نم	پیراسیلین	پیراسیلین	سفتاکسیم	سپروفلوکساسین	جتامایسین	<i>IMP</i>	<i>SPM</i>				
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)				
۲۵ (۲۵)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۴ (۹۶)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۵ (۱۰۰)	۲۳ (۹۲)	۲ (۸)	۰ (۰)				
ادار (۱۲)	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)	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)	۰ (۰)	۰ (۰)				
تراشه (۲)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
آسیت (۱)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)				
CSF (۲)	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)	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	سرپایی	سوختگی	مردان	نورولوژی	PICU	اطفال	داخلی	ICU
زخم (۲۵)	امام خمینی ۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	۱ (۵۰)	-	-	-	۱ (۵۰)
زارع (۲۱)	۲۱ (۱۰۰)	۵ (۲۳/۸)	-	-	۱۲ (۵۷/۱)	-	-	-	-	-	۴ (۱۹)
رازی ۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	-	-	۱ (۵۰)	-	-	-	-	-	-	۱ (۵۰)
امام خمینی ۳ (۱۰۰)	۳ (۱۰۰)	-	-	۲ (۶۶/۷)	-	-	-	-	-	-	۱ (۳۳/۳)
زارع ۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۱ (۲۵)	-	-	۲ (۵۰)	-	-	-	-	-	۱ (۲۵)
رازی ۵ (۱۰۰)	۵ (۱۰۰)	-	-	۱ (۲۰)	-	-	-	-	-	۱ (۲۰)	۳ (۶۰)
امام خمینی ۲۷ (۱۰۰)	۲۷ (۱۰۰)	-	-	۱ (۳/۷)	۱ (۳/۷)	۱ (۳/۷)	۱ (۳/۷)	۱ (۳/۷)	-	۱ (۳/۷)	۲۱ (۷۷/۸)
زارع ۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	۱ (۲۵)	-	-	۳ (۷۵)	-	-	-	-	-	-
رازی ۱۷ (۱۰۰)	۱۷ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱۵ (۸۸/۲)
زارع ۸ (۱۰۰)	۸ (۱۰۰)	۲ (۲۵)	-	-	۲ (۲۵)	-	-	-	-	-	۴ (۵۰)
رازی ۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱ (۱۰۰)
بوعلی سینا ۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	۱ (۵۰)	-	۱ (۵۰)	-	-
امام خمینی ۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۲ (۱۰۰)
بوعلی سینا ۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	-	-	-	-	-	۱ (۱۰۰)	-	-	-	-



تصویر شماره ۲: واکنش PCR برای ژن IMP

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 آن ها نسبت به سایر آنتی بیوتیک های مورد بررسی مقاوم بودند. این مقاومت بالا می تواند به دلیل مصرف بیش از اندازه ی 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

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 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

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 *آسینتوباکتر 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 *آسینتوباکتر 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 به ویژه کارباپنم‌ها در ایران می‌باشد. در این مطالعه ۹۶ ایزوله *آسینتوباکتر 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 *آسینتوباکتر 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 *آسینتوباکتر بومانی* نیز حضور هر دو ژن *IMP* و *SPM* را منفی گزارش کردند (۵۱-۵۳،۴۳،۲۸،۲۴). در مطالعات عرفانی سال ۲۰۱۷

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 MDR، XDR و درصد بالای ایزوله‌های حاوی متالوبتالاکتامازها به روش فنوتیپی در مطالعه ما و سایر مطالعات مشابه نظر به این که شیوع ژن‌های کدکننده 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 *آسینتوباکتر 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 میکروب 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* 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, Haghighi 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, Emameini 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, Sahm 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, Erfanimanesh 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, Fasihi 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, Erfanimesh S, et al. Prevalence of blaNDM, blaPER, blaVEB, blaIMP, and blaVIM 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.