

Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of Citrobacter freundii Isolated from A Burn Center

Zahra Norouzibazgir¹,
Hamid reza Goli²,
Bahman Mirzaei²,

¹ MSc Student in Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran

² Assistant Professor, Department Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran

(Received November 12, 2018 Accepted May 7, 2019)

Abstract

Background and purpose: *Citrobacter freundii* causes variety of infections, including respiratory tract infection, wound infection, meningitis, and urinary tract infection. The bacterium is considered as one of the main concerns in healthcare settings due to high antibiotic resistance patterns. The current research aimed at studying the prevalence of *C. freundii* strains in burned patients and investigating the antibiotic susceptibility patterns.

Materials and methods: In this cross-sectional study, *C. freundii* isolates (n=109) were collected from clinical specimens in Sari Zareh Hospital, 2016-2017. Conventional biochemical tests were used to confirm the presence of bacteria. Then, antibiotic resistance pattern was determined using standard disk diffusion (Kirby-Bauer) according to the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines.

Results: Out of 3248 clinical samples, 109 (3.35%) *C. freundii* isolates were identified which were detected mainly in wounds (72.50%). Susceptibility patterns indicated that about 11.0% of isolates were susceptible against SXT, 95 of which were resistant to that. Susceptibility and resistance patterns against amikacin were 47.7%. Resistance to cephalexin and SXT, and amikacin were 87.15% and 48.62%, respectively.

Conclusion: In this study, *C. Freundii* was detected as a major concern in burn ward. This bacterium is highly resistant to the majority of antibiotics, therefore, appropriate infection control processes and also using effective antibiotics such as amikacin would be of great value.

Keywords: *Citrobacter freundii*, antibiotic resistance, bacteria

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (174): 165-171 (Persian).

* Corresponding Author Bahman mirzaei - Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran
(E-mail: b.mirzaei@mazums.ac.ir)

فراوانی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های سیتروباکتر فروندی جدا شده از یک بیمارستان سوختگی

زهرا نوروزی بازگیر^۱

حمیدرضا گلی^۲

بهمن میرزایی^۲

چکیده

سابقه و هدف: سیتروباکتر باعث بروز بیماری‌هایی از قبیل عفونت های دستگاه تنفسی و ادراری، زخم و مننژیت می‌شود. به سبب مقاومت آنتی بیوتیکی بالا، سیتروباکتر به عنوان یک نگرانی در جامعه بهداشتی محسوب می‌شود. در این مطالعه به سبب اهمیت حضور این باکتری و هم‌چنین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، فراوانی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های سیتروباکتر فروندی جدا شده از بیمارستان زارع ساری به عنوان هدف این مطالعه در نظر گرفته شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی - مقطعی ۱۰۹ ایزوله سیتروباکتر فروندی از نمونه های بالینی مختلف از بیمارستان زارع شهر ساری طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵ جمع آوری شد. بعد از تایید باکتری‌ها توسط آزمایشات متداول یوشیمیایی، الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها به روش استاندارد دیسک دیفیوژن (کربی بائر) و طبق دستورالعمل CLSI تعیین شد.

یافته‌ها: از ۳۲۴۸ نمونه بالینی، ۱۰۹ ایزوله سیتروباکتر فروندی (۳/۳۵ درصد) شناسایی شد. بیشترین باکتری‌های جدا شده، از نمونه‌های بالینی زخم (۷۲/۵۰ درصد) بود. الگوی حساسیت نشان داد که حدود (۱۱/۰ درصد) از ایزوله‌ها در مقابل کوتریموکسازول حساسیت داشتند و ۹۵ مورد از آن‌ها به آنتی بیوتیک ذکر شده مقاوم بودند. حساسیت و مقاومت در برابر آمیکاسین تقریباً برابر با (۴۷/۷ درصد) بود. الگوی مقاومتی به سفالکسین (۸۷/۱۵ درصد)، کوتریموکسازول (۸۷/۱۵ درصد)، آمیکاسین (۴۸/۶۲ درصد) تعیین شد.

استنتاج: با توجه به نتایج به دست آمده شیوع سیتروباکتر فروندی در این مطالعه به عنوان یک زنگ خطر در بخش سوختگی مطرح بوده و هم‌چنین به سبب بروز مقاومت بالا به آنتی بیوتیک، طراحی یک روش کنترل عفونت و استفاده از یک آنتی بیوتیک موثر مانند آمیکاسین در بخش‌های مربوطه بیمارستان‌ها الزامی می‌باشد.

واژه های کلیدی: سیتروباکتر فروندی، مقاومت آنتی بیوتیکی، باکتری‌ها

مقدمه

عفونت‌ها می‌تواند نقش به‌سزایی در کاهش این آمار و ارقام ایفا کند (۱-۳). امروزه یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در بیماران بستری، ناشی از عفونت‌های مرتبط با

عفونت زخم به واسطه تعداد بالای مرگ و میر در بیماران سوختگی به عنوان یکی از مشکلات اساسی در بیمارستان‌های سوختگی مطرح می‌باشد. کنترل این

E-mail: b.mirzaei@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: بهمن میرزایی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیشناسی، گروه میکروبیشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، گروه میکروبیشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۹/۱۶ تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۲/۲۲

به دارو، این مطالعه با هدف فراوانی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سیتروباکتر فرونیدی جدا شده از بیمارستان سوانح سوختگی زارع انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی-مقطعی از ۳۲۴۸ نمونه بالینی مختلف که در مدت یک سال به آزمایشگاه بیمارستان سوانح سوختگی زارع ارجاع داده شده بودند، ۱۰۹ ایزوله سیتروباکتر فرونیدی جمع‌آوری شدند. سپس بر روی محیط‌های بلاد آگار، مک‌کانکی، تایو گلیکولات (مرک، آلمان) کشت داده شدند. نمونه‌های خون در محیط TSB کشت داده شده و ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. آزمایشات بیوشیمیایی شامل اکسیداز، کاتالاز، حرکت، سترات، TSI، اندول، متیل‌رد، ووگس پروسکوئر، اوره، اورنیتین دکربو کسیناز، لیزین دکربو کسیناز، آرژنین دهیدروژناز جهت تایید نهایی سیتروباکتر فرونیدی انجام گرفت. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن و بر اساس دستور (CLSI) انجام شد (۱۷). سپس به منظور شناسایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از روش انتشار دیسک با سوش کنترل استاندارد (*E. coli* ATCC 25922) استفاده شد. سوپانسیون باکتری (۰/۵ مک فارلند) توسط سوپ استریل به صورت چمنی روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (Mast) شامل آمیکاسین (۳۰ μg)، سفنازیدیم (۳۰ μg)، سفالکسین (۳۰ μg)، سپیروفلوکساسین (۵ μg)، ایمی پنم (۱۰ μg)، مروپنم (۱۰ μg) جنتامایسین (۱۰ μg)، توبرامایسین (۱۰ μg)، کوتریموکسازول (۲۵ μg)، نیتروفورانتوئین (۱۰ μg) استفاده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شدند.

یافته‌ها و بحث

در این مطالعه از ۱۰۹ (۳/۳۵ درصد) ایزوله سیتروباکتر فرونیدی، ۳۵ مورد (۳۲/۱ درصد) زن، ۷۴ مورد (۶۷/۹ درصد)

گونه‌های سیتروباکتر می‌باشد. سیتروباکتر متعلق به خانواده/نتروباکتریاسه و از شایع‌ترین عوامل بیماری‌زایی باکتریایی جدا شده از بیمارستان محسوب می‌شود. یکی از گونه‌های مهم این باکتری، سیتروباکتر فرونیدی می‌باشد که یک باکتری گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و اکسیداز منفی است (۵،۴). این باکتری قابلیت بالایی در ایجاد عفونت در نوزادان و افراد دارای نقص سیستم ایمنی دارد و می‌توان آن را به میزان فراوانی از منابع مختلف جدا نمود (۷،۶) این ارگانسیم موجب سپتی سمی، عفونت دستگاه ادراری، دستگاه تنفسی، استخوان و زخم‌ها می‌شود (۷-۱۰). عفونت ناشی از سیتروباکتر اگرچه نادر است اما اغلب با عفونت جمجمه‌ای همراه است. مننژیت ناشی از سیتروباکتر در سال ۱۹۶۰ گزارش شد (۶). ۴ درصد از مننژیت نوزادان و ۳۰ درصد مرگ و میر را این ارگانسیم به خود اختصاص داده است (۱۳، ۶-۱۱). امروزه یکی از مشکلات موجود در مورد سیتروباکتر فرونیدی ظهور سوبه‌هایی با مقاومت چند دارویی است که به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی از جمله آمینو گلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها و کوتریموکسازول مقاومت نشان می‌دهد (۷، ۱۴). مهم‌ترین روش کاهش مرگ و میر به خصوص در سوختگی‌های وسیع، پیشگیری از عفونت است. در صورتی که باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها را کنترل نکنیم، آن‌ها به سرعت افزایش پیدا کرده و در نتیجه باعث عدم درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شویم (۱۵) که این مسئله موجب روند طولانی شدن دوره بیماری و افزایش رو به رشد خطر مرگ و میر بیماران می‌شود (۱۶). بر اساس افزایش میزان مرگ و میر ناشی از عفونت‌های ایجاد کننده در بیماران بستری، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین گونه‌های سیتروباکتر از نظر درمان برای پزشکان دارای اهمیت خاصی می‌باشد (۷). با توجه به استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران، بنا به دلایل فراوانی از قبیل عدم اطلاع بیماران از عوارض ناشی از استفاده غیر ضروری از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش باکتری‌های مقاوم

مرد بودند. بیماران حداقل دارای ۲ سال و حداکثر ۸۴ سال و میانگین سنی (۴۹/۷۹۸۲) و انحراف معیار (۱۸/۴۰۳۲۹) بودند. بیشترین ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های زخم با ۷۹ مورد (۷۲/۵ درصد)، ادرار ۲۱ (۱۹/۳ درصد)، خلط ۶ (۵/۵ درصد)، خون ۳ (۲/۸ درصد) بود.

جدول شماره ۱: وضعیت سویه‌ها مقاوم، نیمه حساس و حساس برای هر آنتی بیوتیک به روش انتشار دیسک در آگار

آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
آمیکاسین	۵۲ (۴۷/۷)	۴ (۳/۷)	۵۳ (۴۸/۶)
سفتازیدیم	۲۵ (۲۲/۹۳)	۳ (۲/۸)	۸۱ (۷۴/۳۱)
سفالکسین	۱۴ (۱۲/۸)	۰	۹۵ (۸۷/۱۵)
سیپروفلوکساسین	۲۲ (۲۰/۲)	۱ (۰/۹)	۸۶ (۷۹/۸۱)
کوآتریموکسازول	۱۲ (۱۱/۰)	۲ (۱/۸۳)	۹۵ (۸۷/۱۵)
ایمی پنم	۳۲ (۲۹/۳۵)	۰	۷۷ (۷۰/۶۴)
نیتروفورانتوین	۲۴ (۲۲/۰۱)	۲ (۱/۸۳)	۸۳ (۷۶/۱۴)
مروپنم	۳۳ (۳۰/۳)	۰	۷۶ (۶۹/۸)
توبرامایسین	۳۳ (۳۰/۳)	۱ (۰/۹)	۷۵ (۶۸/۸)
جتنامایسین	۲۲ (۲۰/۲)	۰	۸۷ (۷۹/۸)

در این مطالعه آمیکاسین با حساسیت (۴۷/۷ درصد) آنتی بیوتیک نسبتاً موثر، توبرامایسین و مروپنم (۳۰/۳ درصد) و ایمپی پنم با حساسیت (۲۹/۳۵ درصد) تاثیر چندانی نداشت. سویه‌هایی که حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیکی مقاوم باشند Multiple drug resistance (MDR) می‌باشند. ۸۰/۷۳ درصد ایزوله‌ها MDR بودند. بیشترین ایزوله‌ها مربوط به بخش BICU با ۴۸ (۴۴ درصد)، ترمیم ۳۹ (۳۵/۸ درصد)، سوختگی ۱۵ (۱۳/۷ درصد)، آزمایشگاه ۵ (۴/۶ درصد) و پانسمان ۲ (۱/۸۳ درصد) بودند. نمونه‌های زخم بیشترین فراوانی ۶۷ (۸۴/۸) سویه‌های MDR بودند. نمونه‌های زخم و ادرار به ترتیب ۲ (۲/۵۳) و ۳ (۱۴/۲۸) به همه آنتی بیوتیک‌ها حساسیت نشان دادند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در نمونه‌های زخم ۶۷ (۸۴/۸)، ادرار ۱۵ (۷۱/۴)، خلط و خون (۶۶/۶)، نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفالکسین، سیپروفلوکساسین، توبرامایسین و کوآتریموکسازول مشاهده شد. شیوع عفونت‌های فرصت طلب ناشی از گونه‌های سیتروباکتر به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی به طور قابل توجهی افزایش یافته است (۱۸،۷) با

توجه به استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها و عدم آگاهی مسئولین از چگونگی مواجهه و حذف این عامل باکتریال در بیمارستان‌ها لذا بررسی سویه‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها توسط تست‌های آنتی بیوگرام به طور مستمر جهت جلوگیری از ایجاد مقاومت‌های جدید و کنترل گسترش مقاومت‌ها الزامی می‌باشد (۱۹).

مطالعات دیگر (۵۳/۴ درصد) و (۷۱/۵ درصد) حساسیت ایزوله‌های جدا شده به آمیکاسین را برآورد کردند (۱۲،۴). الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی می‌تواند به طور گسترده‌ای از یک کشور به کشور دیگر به دلیل تغییرات ژنتیکی در سویه‌های ایجادکننده مقاومت، تجویز غیر منطقی آنتی بیوتیک‌ها یا حتی در یک منطقه با منطقه دیگر متفاوت باشد (۲۱،۲۰). نتایج نشان داد که مقاومت به ایمپی پنم (۷۰/۶۴ درصد) می‌باشد اما در مطالعه اکیا در کرمانشاه این میزان (۰ درصد) بود و با توجه به این که کاربامپنم‌ها جزو آخرین خط درمانی در درمان عفونت‌های سویه‌های مقاوم می‌باشند، این نتایج نشان می‌دهد که مقاومت به این آنتی بیوتیک رو به افزایش و باعث نگرانی بسیاری در تمام جهان شده است. یکی از دیگر دلایل احتمالی این میزان ایزولاسیون می‌تواند وابسته به الگوی مورد استفاده در روش‌های کنترل عفونت در بیمارستان‌های مطالعه مذکور باشد. در این مطالعه بیشترین ایزوله‌های جدا شده به ترتیب از زخم، ادرار، خلط، مایعات بدن و خون بود که کاملاً مشابه مطالعه Metri بود (۷،۴).

در مطالعه حاضر مقاومت به سیپروفلوکساسین (۷۹/۸۱ درصد) و سفتازیدیم (۷۴/۳۱ درصد) تعیین شد. در مطالعه جاسمی این میزان به ترتیب (۷۶/۲ درصد) و (۶۶/۶ درصد) بود (۱۲) و مانند مطالعه حاضر موثرترین آنتی بیوتیک‌ها آمیکاسین و ایمپی پنم بودند. بدین ترتیب آمیکاسین و ایمپی پنم در درمان عفونت‌های ناشی از سیتروباکتر فروندی بسیار مناسب به نظر می‌رسد (۱۲). مقاومت آنتی بیوتیکی در سال ۲۰۱۱ نسبت به آنتی بیوتیک‌های توبرامایسین (۶۸/۲ درصد)، سفتازیدیم

محمودی سال ۲۰۱۶ در همدان بود (۲۵). هم چنین در مطالعه‌ای دیگر در ایتوی ۳/۴ درصد ایزوله‌های کشت خون مثبت بودند که این شیوع اختلاف چندانی با مطالعه ما نداشت (۲۶، ۲۵). با توجه به شیوع سیتروباکتر فروندی در بیماران بخش سوختگی و هم چنین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ذکر شده این باکتری، استفاده از روش‌های کنترل عفونت جدید و به روز شده و استفاده از ترکیبات ضد باکتری مناسب‌تر برای حذف و درمان این میکروارگانسیم یک نیاز اساسی احساس می‌شود و هم چنین آزمایشگاه بیمارستان‌ها بایستی جهت شناخت، جلوگیری از انتشار، ریشه کنی و بررسی مقاومت ضد میکروبی این میکروارگانسیم سالانه هر چند وقت یک بار این مقاومت‌ها را پایش کنند.

سپاسگزاری

بدین وسیله، از همکاری پرسنل آزمایشگاه بیمارستان سوانح سوختگی شهید زارع شهر ساری که با همکاری آن‌ها انجام این پژوهش میسر شد، کمال تشکر و قدردانی را داریم. این مقاله با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1397.061 مورد تایید کمیته اخلاق قرار گرفته است.

References

1. Issler-Fisher AC, McKew G, Fisher OM, Harish V, Gottlieb T, Maitz PK. Risk factors for, and the effect of MRSA colonization on the clinical outcomes of severely burnt patients. *Burns* 2015; 41(6): 1212-1220.
2. Hidalgo F, Mas D, Rubio M, Garcia-Hierro P. Infections in critically ill burn patients. *Med Intensiva* 2016; 40(3): 179-185.
3. Afkhamzadeh A, Majidi F, Ahmadi C. Risk factors for nosocomial infections among burn patients hospitalized in Tohid hospital, Sanandaj, Kurdistan Iran. *Mashhad Univ Med Sci J* 2016; 59(4): 225-232.
4. Metri BC, Jyothi P, Peerapur BV. Anti-microbial resistance profile of *Citrobacter* species in a tertiary care hospital of Southern India. *Indian J Md Sci* 2011; 65(10): 429-435.
5. Gill MA, Schutze GE. *Citrobacter* urinary tract infections in children. *Pediatr Infect Disease J* 1999; 8(10): 889-892.
6. Plakkal N, Soraisham AS, Amin H. *Citrobacter freundii* brain abscess in a preterm infant: a case report and literature review. *Pediatr Neonatol* 2013; 54(2): 137-140.
7. Akya A, Jafari S, Ahmadi K, Elahi A. Frequency of blaCTX-M, blaTEM and blaSHV (۴/۷۶ درصد)، آمیکاسین (۶/۴۶ درصد)، جنتامایسین (۵/۷۵ درصد) گزارش کردند که با مطالعه ما مطابقت دارد (۴).
- رضایی سال ۲۰۱۶ مقاومت به خانواده سفالوسپورین‌ها را ۸۸ درصد گزارش کرد که با مطالعه ما که (۱۵/۸۷ درصد) همخوانی دارد (۲۲). سال ۲۰۱۸ در تایوان مقاومت آنتی‌بیوتیکی کم‌تر از مطالعه ما مشاهده شد. دلیل این تفاوت این بود که تمام ایزوله‌ها از نمونه خون بودند ولی در مطالعه ما از نمونه‌های مختلف بودند (۲۳). در سال‌های اخیر به علت مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری شاهد ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو هستیم که این امر به یک نگرانی جهانی تبدیل شده است (۱۴). در این مطالعه مقاومت سفنازیدیم (۳۱/۷۴ درصد)، سفالکسین (۱۵/۸۷ درصد) از گروه سفالوسپورین‌ها گزارش شده است. در بررسی دیگر سفنازیدیم (۴/۷۶ درصد) و سفتریاکسون (۴۰ درصد) گزارش شده است (۲۴).
- در مطالعه جعفری و همکاران مقاومت به سفنازیدیم (۳/۸۶ درصد) گزارش شد. از ۳ تا نمونه سیتروباکتر فروندی جدا شده از نمونه‌های خون، ۲ نمونه باکتری MDR بودند که کاملاً مشابه مطالعه

- genes in *Citrobacters* isolated from Imam Reza Hospital in Kermanshah. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 25(127): 65-73.
8. Liu LH, Wang NY, Wu AY, Lin CC, Lee CM, Liu CP. *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *J Microbiol Immunol Infect* 2017; 51(4): 565-572.
 9. Lavigne JP, Defez C, Bouziges N, Mahamat A, Sotto A. Clinical and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Citrobacter* spp. infections in a French university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26(6): 439-441.
 10. Leski TA, Taitt CR, Bangura U, Ansumana R, Stenger DA, Wang Z, et al. Finished genome sequence of the highly multidrug-resistant human urine isolate *Citrobacter freundii* strain SL151. *Genome Announc* 2016; 4(6): e01225-e01241.
 11. Harris D, Cone TE. *Escherichia freundii* meningitis: report of two cases. *J Pediatr* 1960; 56(6): 774-777.
 12. Jasemi SS, Alipoor F, Dehbashi S, Mardaneh J. Isolation of *Citrobacter* spp. from Blood Specimens in Patients Hospitalized in Kermanshah Imam Khomeini hospital. and determination of the of isolates sensitivity to antibiotics. *J Birjand Univ Med Sci* 2014; 21(3): 394-400.
 13. McPherson C, Gal P, Ransom JL. Treatment of *Citrobacter kosen* Infection with Ciprofloxacin and Cefotaxime in a Preterm Infant. *Ann Pharmacother* 2008; 42(7-8): 1134-1138.
 14. Chen S, Hu F, Liu Y, Zhu D, Wang H, Zhang Y. Detection and spread of carbapenem-resistant *Citrobacter freundii* in a teaching hospital in China. *Am J Infect Control* 2011; 39(9): e55-e60.
 15. Gastmeier P, Schwab F, Bärwolff S, Rüden H, Grundmann H. Correlation between the genetic diversity of nosocomial pathogens and their survival time in intensive care units. *J Hosp Infec* 2006; 62(2): 181-186.
 16. Anusha S, Vijaya L, Pallavi K, Manna P, Mohanta G, Manavalan R. An Epidemiological study of surgical wound infections in a surgical unit of tertiary care teaching hospital. *Indian Journal of Pharmacy Practice* 2010; 3(4): 8-13.
 17. Chandrasekaran S, Abbott A, Miller S, Zimmer B, Weinstein M, Thrupp L, et al. Direct-from-blood culture disk diffusion to determine antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria: Preliminary report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microb* 2018; 56(3): 01678-17.
 18. Doran TI. The role of *Citrobacter* in clinical disease of children. *Clin Infect Dis* 1999; 28(2): 384-394.
 19. Nikoonejad A, Gharabaghi N, Davari M, Ayromloo M, Nejad Rahim R. Sensivity Pattern and Resistance against antibiotics in isolated microorganisms of hospitalaizd paitients. *J Urmia Uni Med Sci* 2013; 24(10): 785-790 (Persian).
 20. Pourali Sheshblouki G, Mardaneh J, Hosseinzadeh Z. *Klebsiella pneumoniae* Infections in Hospitalized Patients: Characterization of Antibiotic Cross-resistance and Detection of Cefepime Susceptible-dose Dependent (SDD) Strains. *J Fasa Univ Med Sci* 2016; 6(1): 52-59.
 21. Mohammadi S, Mohammadi B, Zandi S, Ramazanzadeh R, Rouhi S. Antibiotic sensitivity in strains of *klebsiella pneumonia* isolated from clinical samples besat hospitals of sanandaj (2013-2014). *Zanko* 2016; 17(52): 1-9.
 22. Rezaei M, Akya A, Elahi A, Ghadiri K, Jafari S. The clonal relationship among the

- Citrobacter freundii isolated from the main hospital in Kermanshah, west of Iran. Iran J Microb 2016; 8(3): 175-180.
23. Liu LH, Wang NY, Wu AY, Lin CC, Lee CM, Liu CP. Citrobacter freundii bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. J Microb Immunol Infect 2018; 51(4): 565-572.
24. Kim PW, Harris AD, Roghmann MC, Morris JG, Strinivasan A, Perencevich EN. Epidemiological risk factors for isolation of ceftriaxone-resistant versus-susceptible Citrobacter freundii in hospitalized patients. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(9): 2882-2887.
25. Mahmoudi H, Ghasemi Bassir HR, Hosseini SM, Arabestani MR, Alikhani MY. The frequency of bacteria isolated from blood cultures and antibiotic susceptibility patterns among admitted patients in Hospital of Hamedan University of Medical Sciences. Iran J Med Microb 2016; 10(4): 69-74.
26. Zenebe T, Kannan S, Yilma D, Beyene G. Invasive bacterial pathogens and their antibiotic susceptibility patterns in Jimma University specialized hospital, Jimma, Southwest Ethiopia. Ethiop J Health Sci 2011; 21(1): 1-8.