مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۶، شهریور ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

ارزیابی حضور ژن‌های انتقالی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های وابسته به پلاسمید در جزایر ژنومی اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های کلینیکی

سجاد علیزاده: دانشجوی دکترای تخصصی میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکازرون، فارس، ایران

مجید باصری صالحی: دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکازرون، فارس، ایران (* نویسنده مسئول)
majidbaserisalehi682@gmail.com

نیما بهادر: دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، فارس ، ایران

چکیده

زمینه و هدف: *اسینتوباکتربومانی* یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی است. توانایی فوق‌العاده در کسب مقاومت دارویی در مقابل طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها را دارد. سویه‌های مقاوم به چند دارو MDR و تولیدکننده بتالاکتاماز AmpC این باکتری، عامل بیماری‌های عفونی جدی در بخش‌های مختلف بیمارستانی و در افراد بستری می‌باشد و درمان این عفونت‌ها به علت مقاومت گسترده نسبت به داروهای ضد میکروبی با مشکلات جدی مواجه است. هدف از مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اسینتوباکتر بومانی* و بررسی احتمال وجود ژن‌های کروموزومی و پلاسمیدی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در جزایر ژنومی این باکتری بود.

روش کار: در این مطالعه ۶۰ ایزوله از گونه‌های *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شد. آزمون حساسیت ضد میکروبی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و روش PCR برای شناسایی ژن‌های کروموزومی و پلاسمیدی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها (dha، cit و mox) انجام شد.

یافته‌ها: بیشترین مقاومت در آمپی‌سیلین (۹۸/۳ ٪) و کمترین مقاومت در کولیستین (۳۵٪) بود. مقاومت بیش از ۹۰٪ در ۱۲ آنتی بیوتیک از ۱۵ آنتی بیوتیک مشاهده شد. ۶۰ ایزوله ۹۸/۳۴٪ نسبت به بیش از ۸ آنتی بیوتیک مقاوم بودند و فقط یک نمونه به همه حساس بود. فراوانی ژن‌های dha، cit و mox به ترتیب ۱ (۲٪)، ۷ (۱۲٪) و ۲۷ (۴۶٪) بود. ۲۴ ایزوله (۴۰٪) برای هر سه ژن منفی بودند. فراوانی ایزوله‌های حاوی ژنهای mox با مقاومت آنتی‌بیوتیکی رابطه مستقیم داشت ($P\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دهنده درصد بالای فراوانی ژنهای mox است که با مقاومت آنتی‌بیوتیکی رابطه مستقیم دارد، با این حال حضور این ژنها و رابطه آنها با میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیاز به بررسی بیشتری دارد. مقاومت بالای *اسینتوباکتر بومانی* به آنتی‌بیوتیکها بسیار نگران کننده بود، زیرا کنترل و درمان این باکتری را مشکل می سازد. تنها آنتی‌بیوتیک موثر قابل استفاده در درمان عفونت‌های مرتبط کولیستین می‌باشد که مقاومت به آنهم در حال افزایش است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها

مقاومت آنتی‌بیوتیکی،
مقاومت چند دارویی،
بتالاکتاماز AmpC،
اسینتوباکتر بومانی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۴
تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۶/۰۵

شیوه استناد به این مقاله:

Alizadeh S, Baserisalehi M, Bahador N. Evaluation of the Possibility of Chromosomal and Plasmid-Dependent Antibiotic-Transferable Genes in Acinetobacter Genomic Isolates Isolated from Clinical Specimens and genotype. Razi J Med Sci. 2022;29(6):12-24.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

Razi Journal of Medical Sciences. 2022;29(6):12-24. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Evaluation of the Possibility of Chromosomal and Plasmid-Dependent Antibiotic-Transferable Genes in Acinetobacter Genomic Isolates Isolated from Clinical Specimens and genotype

Sajjad Alizadeh: PhD Student, Microbiology Department, Science Faculty, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Fars, Iran
Majid Baseri Salehi: Associate Professor, Microbiology Department, Science Faculty, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Fars, Iran (* Corresponding author) majidbaserisalehi682@gmail.com
Nima Bahador: Associate Professor, Microbiology Department, Science Faculty, Islamic Azad University, Shiraz Branch, Fars, Iran

Abstract

Background & Aims: Acinetobacter baumannii is an opportunistic pathogen and a component of gram-negative, aerobic, and non-fermentative gram-negative bacteria, which is found in the form of cocci or coccobacilli. Because these bacteria have few nutrients to grow, they can survive long periods in adverse conditions, on dry surfaces, as well as in aquatic environments. Acinetobacter is probably known as gram-negative bacteria on the surface of the genus. These organisms are difficult to stain and are often mistaken for gram-positive. Among the gram-negative bacteria that cause nosocomial infections (especially in the intensive care unit of the ICU), Acinetobacter species have received a great deal of attention over the last three decades (1-3).
Acinetobacter baumannii OmpA binds to the host epithelium and mitochondria, causing mitochondrial dysfunction and swelling that is followed by the release of cytochrome c, leading to the formation of apoptosis, all of which contribute to cell apoptosis. OmpA, the most abundant surface protein in the pathogen, is also involved in complement resistance and biofilm formation. Key stress survival strategies and the potential for important virulence factors help increase bacterial survival inside and outside the host (1, 4). Most chromosomal AmpC beta-lactamases are found in Enterobacter, Serachia, Pseudomonas, Acinetobacter and, Citrobacter species. These enzymes belong to the C ambler classification and include the genes cmy, fox, mox, dha, acc, mic, family / related bil / lat (cit and act, mir (related to the ebc family)). They are (5). It is noteworthy that at tigecycline resistance levels in Acinetobacter baumannii isolates, its efficacy may be increased during treatment with tigecycline if the drug is exposed for a short time. Recently, mutations in the trm gene, encoding methyltransferases, have been associated with decreased tigecycline sensitivity in one Acinetobacter baumannii strain (6). Most strains of Acinetobacter baumannii are resistant to ampicillin, amoxicillin-clavulanic acid, anti-staphylococcal penicillins, broad-spectrum cephalosporins (except ceftazidime and cefepime), tetracycline,and, tetracycline. MDR resistance in Acinetobacter strains has become a global and growing problem. In previous studies in Iran, the rate of multidrug resistance has been more than 60% (7).
Methods: A total of 240 clinical samples (including blood, urine, sputum, respiratory secretions, urine, wounds, skin, etc.) were collected from patients admitted to different wards of Dey Hospital in Tehran. Samples were collected from patients who had been hospitalized for at least three days and had acquired the infection in a hospital setting and were transferred to a microbiology laboratory for evaluation. For initial isolation, clinical specimens were cultured linearly in McConkey Agar and Bloodagar media containing 5% sheep blood and incubated at 37 ° C for 24-48 hours (9). After the incubation period, the cultures were examined for macroscopic characteristics (appearance of the colonies) and microscopy using a hot staining technique. Then gram-negative bacilli were analyzed using biochemical tests.

Keywords
Antibiotic resistance,
Multidrug resistance,
AmpC beta-lactamases,
Acinetobacter baumannii

Received: 25/06/2022
Published: 27/08/2022

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

In order to extract the plasmid, the extraction kit made by Sina Clone Company, Iran was used. First, a colony of each isolate cultured on Müller-Hinton agar medium (manufactured by Merck, Germany) was inoculated with 5 ml of Luria Bertani Broth culture medium (manufactured by Sigma-Aldrich, USA) and stored for 13 hours in Incubated at 39 ° C. Then, the plasmid extraction steps were performed using the Cinnagen kit protocol. It should be noted that the resulting plasmids were stored at -20 ° C until PCR.

Results: According to the results in Table 6, the higher the number of isolates containing mox gene, the more antibiotic resistance is observed. In fact, a significant relationship was found between the presence of this gene and antibiotic resistance. For colistin, which had the lowest resistance ratio of this antibiotic, fewer isolates had this gene. (Significance level 0.563) A semi-sensitive to colistin isolate containing both ox mox. Genes. One of the semi-sensitive isolates containing cefpeme contained only dha and no semi-susceptible isolates contained cit gene (significance level 0.853). With 1, 5 and, 14 isolates containing dha, cit and mox genes (significance level 0.802) (Table 6).

Conclusion: Previous studies have shown that resistance to various antibiotics is on the rise. For example, studies by Wang et al. (23) and Esmoliako et al. (24) in recent years have shown that most strains were sensitive to amikacin, ampicillin, sulbactam, ceftazidime, cefpime, gentamicin, imipenem, meropenem, piperacillin, tazobactam. . In contrast to the present study, which found a 98.3% resistance to ampicillin and the highest resistance among all antibiotics studied, Karimi et al. reported a sensitivity of 91.6% to ampicillin in 2020. Consistent with the results of the present study, the results of the study of money changers and colleagues (2019) in Shahrekord have also shown a high prevalence of resistance to carbapenems, impenem 78% and meropenem 44%. In this study, Acinetobacter baumannii had the highest resistance to cefipime and ceftazidime (100%) and the lowest resistance to tobramycin and meropenem (22). In the study of Karimi et al., The resistance to meropenem was 83.3% and to ceftazidime was 93.3%. (19) Salehnia et al. In their study showed 100% resistance to cefpeme (7).

According to the antibiogram results of the present study and also the results of the mentioned studies, to date, some strains of Acinetobacter baumannii have become resistant to all common antibiotics used, which greatly limits the treatment of these infections. The only effective antibiotic used to treat infections associated with this bacterium is colistin, which is also increasing its resistance. In general, the findings of the present study indicate an increase in antibiotic resistance compared to previous studies. This high prevalence of resistance is due to the unnecessary prescription of antibiotics and the lack of appropriate infection control tools. This is very important in identifying antibiotic resistance genes. In addition, the selection of appropriate antibiotics based on antibiogram plays an important role in treating and preventing the spread of drug resistance.

The results show a high percentage of MOX genes that are directly related to antibiotic resistance, however, the presence of these genes and their relationship with antibiotic resistance need further investigation. The high resistance of Acinetobacter baumannii to antibiotics was very worrying because it is difficult to control and treat this bacterium. The only effective antibiotic used to treat infections associated with this bacterium was colistin, which is also increasingly resistant.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Alizadeh S, Baserisalehi M, Bahador N. Evaluation of the Possibility of Chromosomal and Plasmid-Dependent Antibiotic-Transferable Genes in Acinetobacter Genomic Isolates Isolated from Clinical Specimens and genotype. Razi J Med Sci. 2022;29(6):12-24.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

مقدمه

اسینتوباکتر بومانی (Acinetobacter baumannii) یک پاتوژن فرصت‌طلب و جزء باکتری‌های گرم منفی، هوازی و غیرتخمیری است که به صورت کوکسی و یا کوکوباسیل دیده می‌شود. از آنجا که این گونه باکتریایی نیازمندی‌های غذایی کمی برای رشد دارند، می‌توانند در شرایط نامساعد، سطوح خشک و همچنین محیط آبی به مدت طولانی زنده بمانند. اسینتوباکترها به عنوان باکتری‌های گرم منفی شناخته شده و رنگ آمیزی این ارگانیسم‌ها دشوار است و اغلب به طور اشتباه گرم مثبت دیده می‌شوند. در میان باکتری‌های گرم منفی که باعث عفونت های بیمارستانی (به ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit -ICU) می‌گردند، گونه‌های اسینتو باکتر توجه زیادی را طی سه دهه اخیر به خود معطوف داشته‌اند (۳-۱).

اسینتوباکترها در طیف گسترده ای از عفونتهای جدی در بیمارستان و بویژه سوختگی ها دخیل هستند. به عنوان مثال باکتریمی، ذات الریه بیمارستانی، عفونت‌های مجاری ادراری، مننژیت ثانویه ولی نقش برجسته آن‌ها ایجاد پنومونی بیمارستانی به ویژه پنومونی ایجاد شده در دستگاه تنفسی فوقانی بیماران بستری شده در بخش های مراقبت ویژه می‌باشد. پنومونی همراه با ونتیلاتور (Ventilator -VAP associated pneumonia) معمولاً با عفونت در ارتباط است (۲). مدت طولانی بستری شدن در بیمارستان، مدت زمان طولانی تهویه مکانیکی و استفاده قبلی از آنتی‌بیوتیک‌ها از عوامل شناخته شده در افزایش خطر ابتلا به VAP ناشی از اسینتو باکتر هستند. ونتیلاتورهای آلوده یا تجهیزات مراقبت‌های تنفسی و همچنین انتقال داخل بیمارستانی نیز ممکن است در ابتدای شیوع بیماری نقش داشته باشد (۳-۱).

پلاسمیدهای قابل انتقال دارای ژن‌هایی هستند که آنزیم های AmpC را کد می‌کنند. این پلاسمید ها می‌تواند در باکتریهایی که ژن‌های کروموزومی AmpC را ندارند (مانند کلبسیلا) یا اگر دارند بیان این آنزیم ها در آن ها ضعیف است (مانند اشرشیاکلی) منتقل شوند و باعث گسترش این ژن‌ها در میان باکتری‌ها شوند (۴). همچنین OmpA که فراوان‌ترین پروتئین سطحی در پاتوژن است، در مقاومت به کمپلمان و تشکیل بیوفیلم شرکت دارد. استراتژی های کلیدی بقای استرس و پتانسیل فاکتورهای مهم ویرولانس، به افزایش زنده ماندن باکتری در داخل و خارج از میزبان کمک می کنند (۱، ۴). اکثر بتالاکتامازهای AmpCکروموزومی در انتروباکتر، سراشیا، سودوموناس، اسینتوباکتر و گونه های سیترو باکتر وجود دارند. این آنزیم ها در تقسیم‌بندی آمبلر در گروه C قرار می گیرند و شامل ژن‌های cmy، fox ، mox، dha، acc، mic (bil/lat مرتبط با خانواده cit) و act ، mir (مرتبط با خانواده ebc) می‌باشند (۵).

فعالیت تیگا سایکلین علیه *اسینتوباکتر بومانی* به طور کلی خوب است و نتایج موفقیت آمیز بالینی در این باره گزارش شده است. مقاومت به این آنتی بیوتیک در چندین مطالعه ذکر شده است که ممکن است به دلیل تنظیم پمپ افلاکس در چند دارو توسط پمپ AdeABC باشد. اخیراً گزارش شده است که جهش در ژن trm، کدگذاری‌کننده متیل‌ترانسفراز با کاهش حساسیت به تیگا سایکلین در یک سویه *اسینتوباکتر بومانی* مرتبط است (۶).

اکثر سویه‌های *اسینتوباکتربومانی* به آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین-کلاولانیک اسید، پنی‌سیلین‌های ضداستافیلوکوکی، سفالوسپورین های با طیف وسیع (به جز سفتازیدیم و سفی‌پیم)، تترا سایکلین، ماکرولیدها، ریفامپین و کلرامفنیکل مقاوم هستند. مقاومت MDR در سویه‌های اسینتوباکتر به یک مشکل جهانی و روبه رشد تبدیل شده است. در عوض کلیستین در گروه آنتی‌بیوتیک‌های لیپوپپتیدی قرار دارد که پلی‌میکسین E نیز نامیده می شود. در مطالعات قبلی در ایران میزان مقاومت چند دارویی بیش از ۶۰ در صد بوده است (۷). یکی از مکانیسم های مهم ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام در باکتری های گرم منفی ازجمله *اسینتوباکتر بومانی*، تولید آنزیم های بتالاکتامازی می‌باشد (۵).

سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* MDR، یعنی سویه‌هایی از *اسینتوباکتر بومانی* که به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی رایج مقاوم باشند. در مطالعات اخیر، این سه کلاس آنتی‌بیوتیک به نامهای پنی‌سیلین یا سفالوسپورین، آمینوگلیکوزید وکوئینولون مشخص شدند. سویه هایی از *اسینتوباکتر بومانی* که علاوه بر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

مقاومت به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی رایج، به ایمی پنم نیز مقاوم باشند، XDR (drug resistant Extreme) گفته می‌شود. چنانچه یک ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* علاوه بر همه آنتی‌بیوتیک های فوق، مقاومت به پلی میکسین‌ها و تیگه‌سیکلین را به دست اورد PDR خوانده می‌شود (۸). هدف از انجام این تحقیق ارزیابی وجود ژن‌های انتقالی مقاومت آنتی‌بیوتیکی وابسته به پلاسمید در جزایر ژنومی *اسینتو باکتر بومانی* جدا شده از نمونه‌های کلینیکی است.

روش کار

تعداد ۲۴۰ نمونه بالینی (شامل خون، ادرار، خلط، ترشحات تنفسی، ادرار، زخم، پوست) از بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان دی شهرتهران جمع‌آوری شد. نمونه ها از بیمارانی که حداقل به مدت سه روز در بیمارستان بستری شدند جمع‌آوری و جهت ارزیابی به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال داده شد. برای جداسازی اولیه، نمونه های بالینی در محیط‌های کشت مک‌کانکی‌آگار و بلادآگار حاوی ۵٪ خون گوسفند به صورت خطی کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شد (۹). پس از طی مدت زمان انکوباسیون، کشتها از نظر ویژگی های ماکروسکوپی (مشخصات ظاهری کلونی ها) و میکروسکوپی با کمک تکنیک رنگ‌آمیزی گرم بررسی شدند. سپس با سیل‌های گرم منفی به کمک آزمونهای بیوشیمایی و فنوتیپی مورد آنالیز قرار گرفت. از تست PCR نیز برای تایید نهایی استفاده گردید.

شناسایی جدایه‌ها براساس تست بیوشیمیایی: تعیین هویت *اسینتوباکتر بومانی* با انجام تستهای بیوشیمیایی مختلف مطابق با کتابهای مرجع از جمله تست های واکنش گرم (-)، واکنش آلکالین / آلکالین در محیط TSI (Triple Suger Iron) وSIM (Sulfide Indo Motility Medium)، تست اکسیداز (-)، تحرک (-)، تست کاتالاز (+)، آزمایش سیترات (+) تولید اسید از گلوکز در محیط OF صورت گرفت (۱۰).

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و میکرودایلوشن: جهت بررسی میزان حداقل غلظت (رقت) مهارکننده و میزان حداقل غلظت (رقت) کشنده باکتری‌ها از محیط کشت‌های بلاد آگار، مولر هینتون براث استفاده شد. در این تکنیک ۱۰۰ µl از محیط کشت مولر هینتون براث در تمام چاهک‌ها (Wells) واردکرده و سپس ۱۰۰ µl از آنتی بیوتیک موردنظر به چاهک ابتدایی افزوده و اقدام به رقت سازی نموده تا خانه دهم رسیده و به همان اندازه ابتدایی خارج شد. در مرحله بعد ۱۰۰ µl از سوسپانسیون میکروبی به تمام چاهک‌ها اضافه شد.

حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولرهینتون آگار با توجه به دستورالعمل‌های CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) سال ۲۰۱۸ انجام شد. بعد از ایزوله کردن از کلنی های موجود در محیط بلاد آگار کشت ۲۴ ساعته تهیه شد. در انتها پلیت‌ها به صورت واژگون جهت جلوگیری از تعریق سطح پلیت به انکوباتور ۳۵ درجه سانتی‌گراد انتقال داده و نتایج پس از ۱۸ ساعت موردبررسی قرارگرفت.

دیسک‌های مورد استفاده در این پژوهش مربوط به شرکت ROSCO کشور دانمارک بود. دیسک ها در یخچال ۸ درجه سانتیگراد و پایین تر، یا در فریز ۱۴- درجه سانتیگراد و پایین تر تا زمان مصرف نگهداری شدند. دیسک های آنتی‌بیوتیکی یک تا دو ساعت قبل از استفاده از یخچال یا فریزر خارج شدند تا به درجه حرارت اتاق برسند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از دسته بندی‌های مختلف انتی‌بیوتیکی شامل آمپی‌سیلین؛ با علامت اختصاری AM (۱۰µg)، سفوتاکسیم؛ CTX (۳۰µg)، کلرامفنیکل؛ C (۳۰µg)، سفتریاکسون؛ CRO (۳۰µg)، سفتازیدیم؛ CAZ (۳۰µg)، مروپنم؛ MEN (۱۰µg)، تیکارسیلین؛ TIC (۷۵ µg)، جنتامایسین؛ GM (۱۰µg)، سیپروفلوکساین؛ CP (۵µg)، سفپیم؛ FEP (۳۰µg)، پیپراسیلین؛ PIP (۱۰µg)، آمیکاسین؛ AN (۳۰µg)، توبرامایسین؛ OB (۱۰µg)، کولیستین؛ CL (۱۰µg) بودند (۱۱).

تهیه سوسپانسیون میکروبی: به کمک سواپ ۳-۴ کلنی میکروبی را برداشته و داخل یک لوله حاوی سرم فیزیولوژی به صورت سوسپانسیون درآورده شد تا

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام روش PCR (۱۲)

پرایمر	توالی (۵′ به ۳′)	اندازه محصول (bp)
moxmf	GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT	۵۲۰
moxmr	CAC ATT GAC ATA GGT GTG GTG C	
citmf	TGG CCA GAA CTG ACA GGC AAA	۴۶۲
citmr	TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC	
dhamf	AAC TTT CAC AGG TGT GCT GGG T	۴۰۵
dhamr	CCG TAC GCA TAC TGG CTT TGC	

جدول ۲- برنامه زمانی- حرارتی Multiplex PCR برای ژن‌های پلاسمیدی

مرحله	دما (درجه سیلسیوس)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۴	۶۰۰	۳
واسرشت	۹۴	۳۰	-
اتصال	۶۴	۶۰	-
بازآرایی (گسترش)	۷۲	۶۰	۲۵
بازآرایی نهایی	۷۲	۴۲۰	۱

کدورتی به اندازه کدورت لوله استاندارد نیم مک فارلند به دست آید. اگر سوسپانسیون میکروبی رقیق باشد قطر هاله عدم رشد بزرگتر و اگر غلیظ تر از استاندارد باشد هاله عدم رشد کمتر خواهد بود که این نکته نیز مورد توجه قرار گرفت. بعد از ایزوله کردن باکتری، به دلیل اینکه به کار بردن تعداد کم و یا زیاد باکتری منجر به یافته‌های اشتباه خواهد شد، استفاده از تعداد مناسب باکتری مورد آزمایش بسیار مهم است؛ بنابراین باید پس از آماده سازی سوسپانسیون باکتری از روش کدورت سنجی استفاده شود و تعداد تقریبی باکتری در آن محلول را مشخص نمود.

شناسایی مولکولی ژن‌های بتالاکتاماز: به منظور استخراج پلاسمید، از کیت استخراج ساخت شرکت سینا کلون، کشور ایران استفاده شد. ابتدا یک کلنی از هر ایزوله کشت داده شده روی محیط مولر هینتون آگار (ساخت شرکت Merck، کشور آلمان) با ۵ میلی لیتر محیط کشت لوریا برتانی براث (ساخت شرکت Sigma-Aldrich، کشور آمریکا) تلقیح و به مدت ۱۳ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس، مراحل استخراج پلاسمید با استفاده از پروتکل کیت سینا کلون انجام شد. ذکر این نکته ضرورت دارد که پلاسمیدهای حاصل تا زمان انجام آزمایش PCR در دمای ۲۰- درجه ذخیره‌سازی گردید.

واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR): همچنین واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای شناسایی ژن های کدکننده آنزیم های بتالاکتاماز AmpC پلاسمیدی با استفاده از پرایمرهای موجود در جدول ۱ و همچنین تکنیک Multiplex با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر در لوله های دیواره نازک ۰/۵ میلی لیتری انجام شد و از برنامه حرارتی - زمانی مطابق جدول ۲ استفاده گردید.

آماده سازی پرایمرها: پس از مراجعه به سایت زیر و مطالعه و جستجو در مقالات مختلف پرایمرهای مناسب برای ژن‌های cit،dha و mox انتخاب شدند.

پرایمرها (۱۲) از طریق سایت (Blast.cgi http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/) مقایسه و بلاست شده و به شرکت سیناژن سفارش داده شد. پرایمر ها توسط آب مقطر دیونیزه به غلظت ۱۰۰ پیکومول و سپس به غلظت مناسب که ۱۰ پیکومول بود، رسید (جدول ۱ و ۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها به کمک نرم افزار SPSSنسخه Excel۲۰ و آزمون کای دو و فیشر تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری، کمتر یا مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. (p=۰/۰۵).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

یافته‌ها

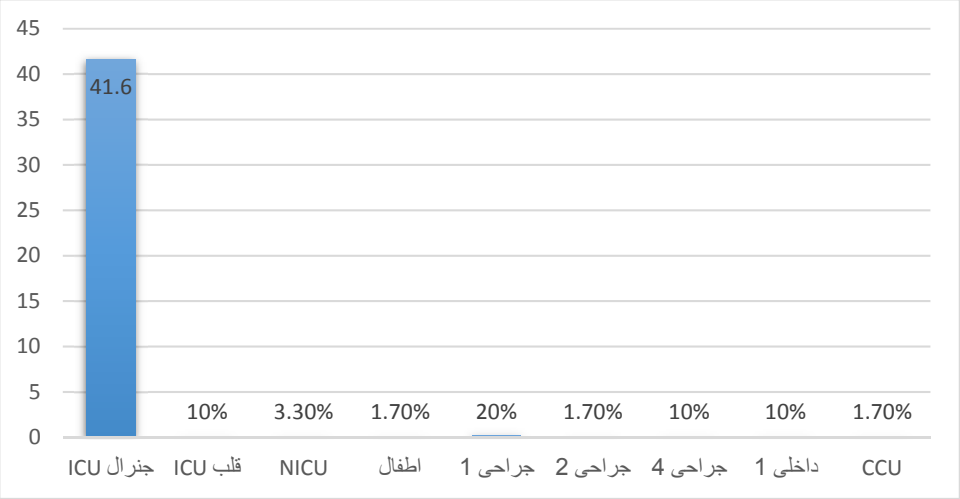
جداسازی و شناسایی اسینتوباکترها توسط ویژگی‌های بیوشیمیایی: از بین ۲۴۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۶۰ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* شناسایی شد. نتایج بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی ایزوله های *اسینتوباکتر* را نشان می دهد. ویژگی بیوشیمیایی *اسینتوباکترها* شامل اکسیداز منفی، سیترات مثبت، SIM منفی و TSI بصورت ALK/ALK بود. از ۲۴۰ ایزوله بدست آمده ۶۰ ایزوله *اسینتوباکتربومانی* شاسایی شد که بیشترین تعداد ایزوله‌های بدست آمده از نمونه‌های نای به میزان ۲۸ نمونه (۴۶/۶ درصد) بود ولی تعداد باقی نمونه ها به شرح جدول ۳ می‌باشد. تعداد زیادی نمونه از بخش ICU عمومی (۱۱ نمونه از بیماران زن و ۱۴ نمونه از بیماران مرد) و تعداد یک نمونه از یک بیمار مرد بستری در CCU بدست آمد (جدول ۳ و نمودار ۱).

ایزوله‌ها از ۲۷ زن و ۳۳ مرد بیمار بستری شده در بیمار ستان بد ست آمد. تعداد نمونه مقاومت دارویی (۹ نمونه) از بیماران بستری شده به دلیل مشکلات قلبی دیده شد و تعداد (۱ نمونه) مقاومت دارویی از بیماران بستری شده به علت تنگی نفس، جراحی پلاستیک، جراحی دریچه آئورت و زایمان بود (نمودار ۲).

الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله های اسینتوباکتر بومانی بر حسب نوع آنتی‌بیوتیک: طبق نتایج بدست آمده از میان ۱۵ آنتی بیوتیک انتخابی بیشترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (۹۸/۳٪) و کمترین مقاومت نسبت به کولیستین (۳۵٪) مشاهده شد. در بین ایزوله های بدست امده ۱ نمونه به

جدول ۳- توزیع فراوانی ایزول‌های *اسینتوباکتر بومانی* به تفکیک نوع نمونه

نوع نمونه	تعداد باکتری	درصد
خلط سینه	۵	۸٪/۲
گلو	۶	۱۰٪
نای	۲۸	۴۶٪/۶
کشت ادرار	۴	۶٪/۷
نمونه از سایر قسمت‌های بدن	۹	۱۵٪
نمونه از زخم سینه و شکم	۱+۲	۵٪
نمونه از کاتتر و سوندها	۲	۳٪/۴
سایر اندامها	۳	٪۵/۱

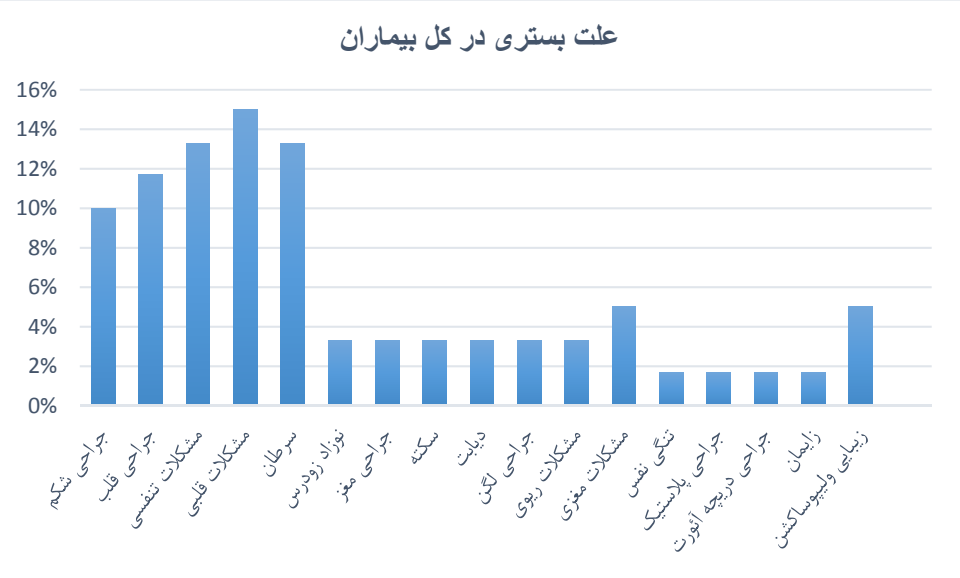


نمودار ۱- درصد ایزوله‌های بدست آمده از بیماران به تفکیک بخش‌های بستری

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

جدول ۴- درصد فراوانی ایزوله‌های بدست آمده از بیماران به تفکیک جنسیت در بخش‌های بستری

بخش‌های بستری	زن		مرد		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ICUجنرال	۱۱	٪۴۰/۸	۱۴	٪۴۲/۴۵	۲۵	٪۴۱/۶
ICUقلب	۳	٪۱۱/۱	۳	٪۹/۱	۶	٪۱۰
NICU	۱	٪۳/۷	۱	٪۳	۲	٪۳/۳
اطفال	۱	٪۳/۷	۰	۰	۱	٪۱/۷
جراحی ۱	۱	٪۳/۷	۱۱	٪۳۳/۳	۱۲	٪۲۰
جراحی ۲	۱	٪۳/۷	۰	۰	۱	٪۱/۷
جراحی ۴	۶	٪۲۲/۲	۰	۰	۶	٪۱۰
داخلی ۱	۳	٪۱۱/۱	۳	٪۹/۱	۶	٪۱۰
CCU	۰	۰	۱	٪۳	۱	٪۱/۷



نمودار ۲- درصد فراوانی علت بستری بیماران

سفتازیدیم، پیپراسیلین و سفپیم نیمه‌حساس بودند. (تصویر ۱ و جدول ۵ و نمودار ۳).

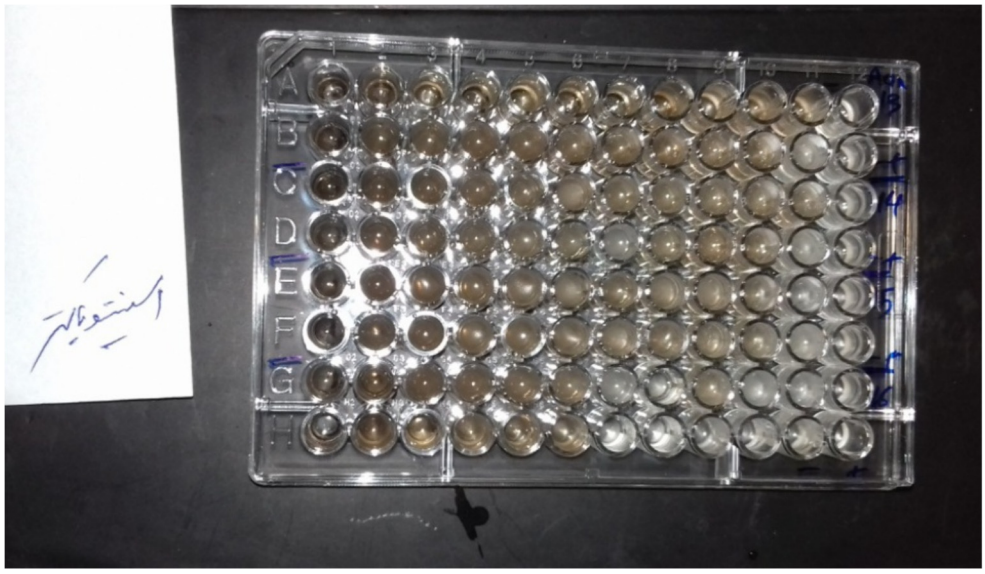
نتایج PCR برای تشخیص ژن‌های بتالاکتامازی AmpC: از بین ۶۰ ایزوله بدست آمده ۱ نمونه برای ژن dha، ۲۷ نمونه برای ژن mox و ۷ نمونه برای ژن cit مثبت بودند و ۲۴ نمونه برای ژن‌های مورد بررسی منفی بودند و باعث تولید محصولاتی در اندازه‌های مورد انتظار شد که در الکتروفورز بر روی ژل آگارز به صورت باندهایی به ترتیب در محدوده های ۴۰۵bp برای dha، ۵۲۰bp برای mox و ۴۶۲pb برای cit آشکار شدند (شکل ۱) که با اطمینان ۹۵ در صد مورد بررسی قرار گرفتند (نمودار ۴).

طبق نتایج بدست آمده در جدول ۶ هرچه میزان تعداد ایزوله‌های حاوی ژن mox بیشتر بوده، مقاومت به آنتی‌بیوتیک کلیستین مورد بررسی بیشتر مشاهده شد. در واقع ارتباط معناداری بین حضور ژن و مقاومت آنتی‌بیوتیکی بدست آمد. برای کولیستین کمترین میزان مقاومت نسبت این آنتی‌بیوتیک در بین نمونه ها مشاهده شد. تعداد ایزوله‌های کمتری دارای ژن مقاومت دارویی بودند (سطح معنی داری ۰/۵۳۶). یک ایزوله نیمه حساس به کولیستین حاوی هر دو ژن mox بود. یک ایزوله نیمه حساس به سفپیم نیز فقط حاوی dha و

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

جدول ۵- توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی در بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان ها بر حسب نوع آنتی‌بیوتیک

آنتی بیوتیک	مقاوم		نیمه حساس		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آمپی‌سیلین	۵۹	٪۹۸/۳	۰	۰	۱	٪۱/۷
سفوتاکسیم	۵۸	٪۹۶/۷	۰	۰	۲	٪۳/۳
کلرامفنیکل	۵۸	٪۹۶/۷	۰	۰	۲	٪۳/۳
سفتریاکسون	۵۸	٪۹۶/۷	۰	۰	۲	٪۳/۳
سفتازیدیم	۵۸	٪۹۶/۷	۱	٪۱/۷	۱	٪۱/۷
مروپنم	۵۸	٪۹۶/۷	۰	۰	۲	٪۳/۳
تیکارسیلین	۵۸	٪۹۶/۷	۰	۰	۲	٪۳/۳
جنتامایسین	۵۷	٪۹۵	۰	۰	۳	٪۵
سیپروفلوکساین	۵۶	٪۹۳/۳	۰	۰	۴	٪۶/۷
سفپیم	۵۵	٪۹۰	۱	٪۱/۷	۴	٪۶/۷
پیپراسیلین	۵۵	٪۷	۱	٪۱/۷	۴	٪۶/۷
آمیکاسین	۴۷	٪۷۸/۳	۰	۰	۱۳	٪۲۱/۷
توبرامایسین	۴۷	٪۷۸/۳	۰	۰	۱۳	٪۲۱/۷
کولیستین	۲۰	٪۳۳	۳	٪۳/۵	۳۷	٪۶۱/۷



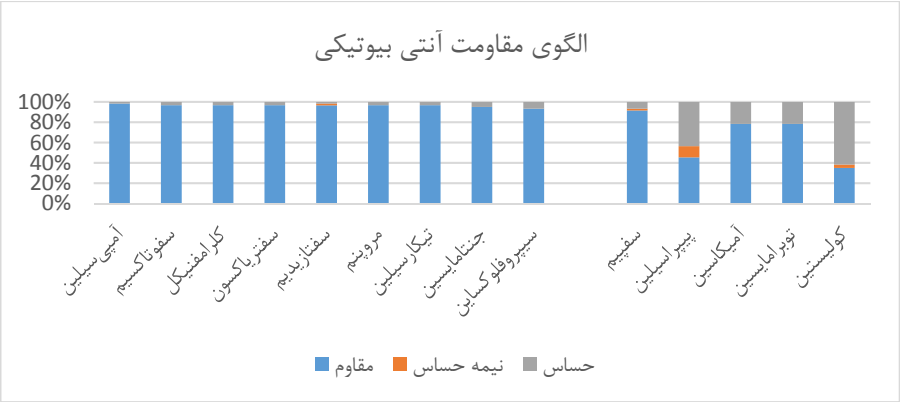
تصویر ۱- چاهک‌های میکرودایلو شن آنتی‌بیوتیکی به ترتیب: ردیف اول: تیکار سیلین، ردیف دوم: جنتامیسین، ردیف سوم: سیپروفلوکساسین، ردیف چهارم: سفپیم، ردیف پنجم: پیپراسیلین، ردیف ششم: آمیکاسین، ردیف هفتم: توبرامایسین، ردیف هشتم: کولیستین.

هیچ ایزوله نیمه حساس حاوی ژن cit نبود (سطح معنی داری ۰/۸۵۳) بیشترین تعداد ایزوله‌های حساس حاوی سه ژن مورد بررسی در بین آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط به کولیسین به ترتیب با ۱، ۵ و ۱۴ تعداد ایزوله حاوی ژن‌های cit،dha و mox بود (سطح معنی‌داری ۰/۸۰۲) (جدول ۶).

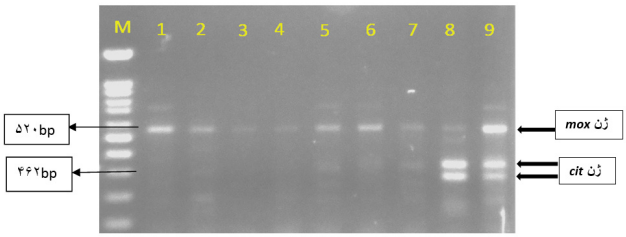
بحث

سویه‌های مقاوم به چند دارو در *اسینتوباکتر بومانی* و تولیدکننده *بتالاکتاماز* AmpC این باکتری، عامل بیماری عفونی جدی در بخش‌های مختلف بیمار ستانی و در افراد بستری می باشند و درمان این چنین عفونت هایی به علت مقاومت گسترده نسبت به داروهای ضد میکروبی با مشکلات جدی مواجه است. این مطالعه با

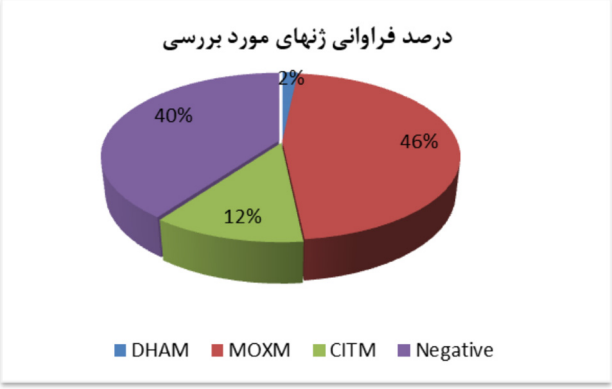
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]



نمودار ۳– الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* بر حسب نوع آنتی‌بیوتیک



شکل ۱– محصول واکنش الکتروفورز روی ژل آگارز نمونه‌های ۱ تا ۹ دارای ژن *mox*، نمونه‌های ۸ و ۹ داری ژن *cit*، M مارکر۱۰۰جفت بازی



نمودار ۴– درصد فراوانی ژن‌های مورد بررسی

هدف تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی سویه‌های مولد بتالاکتاماز AmpC *درسویه‌های اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه های بالینی انجام گردید. تغییر در نفوذ پذیری پورین، سیستم های دفع آنتی‌بیوتیکی (Efflux Pump) و ترشح بتالاکتامازها از عوامل مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری هستند (۱۳).

در این پژوهش که از تمام بخش‌های موجود در بیمار ستان نمونه به ازمایشگاه ار سال نمودند ۶۰ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* بدست آمد و بیشترین تعداد ایزوله‌ها مربوط به ICU جنرال (۴۱/۶ درصد) بود و پس از آن بخش جراحی ۱ (۲۰٪) و جراحی ۴ و داخلی ۱ و ICU قلب (۱۰٪) بود. همچنین شایع‌ترین مکان جمع‌آوری نمونه‌ها نای با ۴۶/۶٪ بود. این نتایج همسو با مطالعات قبلی است که بیشترین تعداد ایزوله از بخش ICU و شایع‌ترین مکان جمع‌آوری نمونه آ سپیره اندوترا شیال بوده است (۱۴-۱۸).

درحال حا ضر ح ضور سویه‌هایی از این ارگانی سم با الگوی م قاو مت دارویی چ ند گا نه (MDR)، م قاو مت دارویی گسترده (XDR) و نیز مقاومت دارویی همه جانبه (PDR) دارد. این امر در حال حاضر نیز مشکلات

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

جدول ۶- فراوانی ژن‌های مورد بررسی به تفکیک انتی‌بیوتیک‌های مقاوم، نیمه‌حساس و حساس

آنتی بیوتیک	فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های مقاوم			فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های نیمه‌حساس			فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های حساس		
	dha	*cit*	*Mox*	*dha*	*cit*	*mox*	*dha*	*cit*	*mox*
آمپی‌سیلین	۱	۰	۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سفوتاکسیم	۱	۰	۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کلرامفنیکل	۱	۰	۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱
سفتریاکسون	۱	۰	۲۷	۰	۰	۰	۰	۰	۱
سفتازیدیم	۱	۷	۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
مروپنم	۱	۰	۲۷	۰	۰	۰	۰	۰	۱
تیکارسیلین	۱	۰	۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
جنتامایسین	۱	۰	۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سیپروفلوکساین	۱	۰	۲۶	۰	۰	۰	۰	۰	۲
باکتریم	۱	۰	۲۷	۰	۰	۰	۰	۰	۱
سفپیم	۰	۷	۲۶	۱	۰	۰	۰	۰	۲
پیپراسیلین	۱	۷	۲۷	۰	۰	۰	۰	۰	۱
آمیکاسین	۱	۷	۲۶	۰	۰	۰	۰	۰	۲
توبرامایسین	۱	۰	۲۵	۰	۰	۰	۰	۰	۳
کولیستین	۰	۲	۱۲	۰	۰	۲	۱	۵	۱۴
ایمیپنم	۱		۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰

فراوانی را برای پزشکان در درمان بیماران آلوده به این ارگانیسم‌های مقاوم ایجاد کرده است (۱۴). مقاومت انتی‌بیوتیکی سویه‌های مقاوم به دسته‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مانند آمینوگلوکوزیدها، بتالاکتام‌ها، فلوروکوئینولون‌ها، سفالوپورین‌ها باعث افزایش طول مدت بستری، هزینه‌های بستری و مرگ و میر می‌شود. درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری به دلیل مقاومت زیاد به طیف وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار مشکل است (۱۹).

شناسایی و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در هر منطقه از مهمترین عوامل جلوگیری از گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد (۱۹). در مقایسه با نتایج مرتبط با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر نشان داد که ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* بدست آمده از بخش‌های مختلف بیمارستان دارای بیشترین میزان مقاومت به آمپی سیلین (۹۸/۳ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به کولیستین (۳۵ درصد) و توبرامایسین و آمیکاسین (۷۸/۳ درصد) بودند. در ۱۲ آنتی‌بیوتیک از ۱۵ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی مقاومت بالای ۹۰ درصد مشاهده شد.

در واقع ایزوله‌های باکتری به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی مقاومت چشمگیری داشتند. بررسی مطالعات قبلی نیز نشان می‌دهد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف سیر صعودی دارد. نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعات قبلی که اعلام کردند اکثر سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده در ایران نسبت به داروهای خط اول درمان شامل آمینوگلیکوزیدها (جنتامایسین، آمیکاسین) سفتازیدیم، فلوروکینولونها (سیپروفلوکساسین) و کاربا پنم‌ها (ایمی پنم و مروپنم) مقاومت نشان می‌دهند، مطابقت دارد (۷، ۱۴، ۲۲-۱۹).

مطالعات وانگ و همکارانش (۲۳) و اسمولیاکاو و همکارانش (۲۴) در سالهای گذشته نشان داد که بیشتر سویه‌ها به آمیکاسین، آمپی‌سیلین، سولباکتام، سفتازیدیم، سفپیم، جنتامایسین، ایمی پنم، مروپنم، پیپراسیلین تازوباکتام حساس بودند. بر خلاف مطالعه حاضر که مقاومت ۹۸/۳ درصدی برای آمپی‌سیلین بدست آمد و بیشترین میزان مقاومت در بین تمامی آنتی‌بیوتیک های مورد بررسی بود، کریمی و همکاران در سال ۲۰۲۰ حساسیت ۹۱/۶ درصدی برای

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

آمپی‌سیلین گزارش کردند.

همسو با نتایج مطالعه حاضر، نتایج مطالعه صرافان و همکاران (۲۰۱۹) در شهرکرد نیز شیوع بالایی از مقاومت به کارباپنمها، ایمیپنم ۷۸ در صد و مروپنم ۴۴ درصد را نشان داده است. در این مطالعه بالاترین میزان مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* به آنتی‌بیوتیک های سفپیم و سفتازیدیم (۱۰۰ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های توبرامایسین و مروپنم بود (۲۲). در مطالعه کریمی و همکاران میزان مقاومت به مروپنم ۸۳/۳ درصد و سفتازیدیم ۹۳/۳ درصد بوده است (۱۹). صالح نیا و همکاران نیز در مطالعه خود مقاومت ۱۰۰ درصدی به سفپیم را نشان دادند (۷).

با توجه به نتایج آنتی بیوگرام مطالعه حاضر و همچنین نتایج مطالعات ذکر شده تا به امروز برخی سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* به تمامی آنتی‌بیوتیکهای رایج مورد استفاده مقاوم شده است که این امر درمان این عفونت‌ها را بسیار محدود می‌کند. تنها آنتی‌بیوتیک موثر قابل استفاده در درمان عفونت‌های مرتبط با این باکتری کولیستین می‌باشد که مقاومت به آن هم در حال افزایش است. بطور کلی یافته‌های مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به مطالعات گذشته است. این شیوع بالای مقاومت در نتیجه تجویز غیر ضروری آنتی‌بیوتیک‌ها و عدم بهره‌گیری از ابزارهای مناسب کنترل عفونت است. این موضوع اهمیت بسیاری در شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارد. علاوه بر این انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مناسب بر اساس آنتی‌بیوگرام نقش مهمی در درمان و جلوگیری از گسترش مقاومت دارویی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان دهنده درصد بالای فراوانی ژن mox است که با مقاومت آنتی‌بیوتیکی رابطه مستقیم دارد، با این حال حضور این ژنها و رابطه آن ها با میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیاز به بررسی بیشتری دارد. مقاومت بالای *اسینتوباکتر بومانی* به آنتی‌بیوتیک ها بسیار نگران کننده بود زیرا کنترل و درمان این باکتری را مشکل می سازد. تنها آنتی‌بیوتیک موثر قابل استفاده در درمان عفونت‌های مرتبط با این باکتری کولیستین بود که مقاومت به آن هم در حال افزایش است.

تقدیر و تشکر

این مقاله که استخراج از پایان نامه دکترای تخصصی با کد ۹۵۰۴۵۳۰۹۶۸۷ بوده حاصل فعالیت آزمایشگاهی میکروبیولوژی است و بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این فعالیت علمی راهنمایی مفید و ارزنده داشتند قدردانی و تشکر می‌گردد.

References

1. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. Acinetobacter baumannii: an emerging opportunistic pathogen. Virulence. 2012;3(3):243-50.
2. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernández-Hinojosa E, Aldabó-Pallás T, Cayuela A, Marquez-Vácaro JA, et al. Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. Intensive Care Med. 2005;31(5):649-55.
3. Luna CM, Aruj PK. Nosocomial acinetobacter pneumonia. Respirology. 2007;12(6):787-91.
4. Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, et al. Outer membrane protein 38 of Acinetobacter baumannii localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. Cell Microbiol. 2005;7(8):1127-38.
5. Akya A, Eahi A, Chegenelorestani R, Hamzavi Y. Antibiotic Resistance and Phenotypic and Genotypic Detection of AmpC Beta-Lactamases among Klebsiella pneumoniae Isolates from Kermanshah Medical Centers. Qom Univ Med Sci. 2019;12(11):40-9.
6. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology. Int J Antimicrob Agents. 2015;45(6):568-85.
7. Salehnia A, Nojomi F. Phenotypic study of Extended-spectrum Beta lactamase (ESBL) producing isolates of Acinetobacter baumannii in patients reffered to a military hospital in Guilan province. Cell Res. 2020;32(4):578-90.
8. Khaledi A BA, Mansoori N, Ghazali Bina M, Ghazvini K. Determination of antimicrobial resistance pattern of Acinetobacter baumanii isolated from patients in intensive care unit (ICU). Med J Mashhad Univ Med Sci. 2015;58(7):376-80.
9. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]

of diagnostic microbiology-e-book: Elsevier Health Sciences; 2018.

10. Buchanan RE, Gibbons NE. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th, editor Baltimore: Williams & Wilkins; 1974. 850 p.

11. Weinstein MP, Limbago B, Patel J, Mathers A, Campeau S, Mazzulli T, et al. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI; 2018.

12. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J Clin Microbiol. 2002;40(6):2153-62.

13. Mirzaei E, Doust RH, Mirnejad R, Haghighat S, Rabiee HR. Frequency of blaKPC and blaNDM Genes among Acinetobacter baumannii by Molecular Method of PCR. Iran J Infect Dis Trop Med. 2015;19(67):61.-

14. Mahmoudi H, Zare Fahim N, Alikhani MY, Shokoohizadeh L. Investigation of Antimicrobial Effect of Berberine on Ciprofloxacin and Imipenem Resistance Acinetobacter baumannii Isolated from Hamadan Hospitals. Iarn J Med Microbiol. 2020;14(1):44-54.

15. Ebrahimi M, Khansari-nejad B, Ghaznavi-Rad E. High frequency of ventilator associated pneumonia nosocomial co-infection Causedby methicillin resistant Staphylococcusaureus and Carbapenem resistant Acinetobacter baumannii in intensive care unit. Iarn J Med Microbiol. 2015;1:67-71.

16. El-Saed A, Balkhy HH, Al-Dorzi HM, Khan R, Rishu AH, Arabi YM. Acinetobacter is the most common pathogen associated with late-onset and recurrent ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit in Saudi Arabia. Int J Infect Dis. 2013;17(9):e696-e701.

17. Safari M, Nejad ASM, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in Acinetobacter baumannii strains isolated from patients of intensive care units (ICU). Saudi J Biol Sci. 2015;22(4):424-9.

18. Vahdani P, Yaghoubi T, Aminzadeh Z. Hospital acquired antibiotic-resistant Acinetobacter baumannii infections in a 400-bed hospital in Tehran, Iran. Int J Prev Med. 2011;2(3):127.

19. Karimi F, Amini K, Javadi G. A Phenotypic and Genotypic Study of Colistin arn Resistance Regulator Gene Classes in Acinetobacter Baumannii isolated from Clinical Cases using Multiplex PCR. Biol J Microorganism. 2020.

20. Karbasizade V, Heidari L. Antimicrobial resistance of Acinetobacter baumannii isolated from Intensive Care Units of Isfahan hospitals, Iran. J Isfahan Med School. 2012;30(191).

21. Rahimi N, Honarmand Jahromy S, Zare Karizi S. Evaluation of Antibiotic Resistance Pattern of Meropenem and Piperacillin-Tazobactam in Multi Drug Resistant Acinetobacter baumannii Isolates by Flow Cytometry Method. Iran J Med Microbiol. 2019;13(3):194-209.

22. Sarafan Sadeghi A, Ansari N, Khademi F, Mir Nejad R, Zamanzad B. Drug Resistance Patterns and Genotyping of Acinetobacter baumannii Strains Isolated from Patients Admitted to Shahrekord Teaching Hospitals Using REP-PCR. J Ardabil Univ Med Sci. 2019;19(1.

23. Wang X, Xu X, Li Z, Chen H, Wang Q, Yang P, et al. An outbreak of a nosocomial NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae ST147 at a teaching hospital in mainland China. Microb Drug Resist. 2014;20(2):144-9.

24. Smolyakov R, Borer A, Riesenberg K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, et al. Nosocomial multi-drug resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. J Hosp Infect. 2003;54(1):32-8.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-12-30]