

## Frequency of OXA-48 and OXA-23 Genes in Strains Resistant to Cephalosporins and Carbapenem Antibiotics in *Acinetobacter baumannii* Isolated from One of the Public Hospitals in Tabriz, Iran

### Abstract

**Background:** *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) is a Gram-negative, aerobic, catalase-positive, and oxidase-negative bacterium that causes respiratory, urinary, blood, wound, and burn infections in patients. Antibiotic resistance, especially in *A. baumannii*, has become a global challenge. Previous studies have shown an increasing prevalence of *OXA-48* and *OXA-23* genes in this bacterium. This study aimed to investigate the frequency of *OXA-48* and *OXA-23* resistance genes in *A. baumannii* isolates resistant to cephalosporins and carbapenems using the molecular PCR method

**Methods:** In this descriptive-cross-sectional study, 497 clinical samples, including blood (135 samples), sputum (92 samples), urine (130 samples), pleural fluid (61 samples), wound, and tracheal aspirates (79 samples) were collected from hospitalized patients at Ali-Nasab Hospital in Tabriz. After culturing on general and specific media and performing biochemical tests, *A. baumannii* was identified. Following antibiogram testing to determine the drug resistance of the isolates, molecular PCR was used to detect the presence of *OXA-48* and *OXA-23* genes.

**Results:** Out of a total of 497 clinical samples, 50 *A. baumannii* isolates were identified, of which 60% were from female patients. Clinical samples from the ICU accounted for the highest proportion of *A. baumannii* isolates with a frequency of 26%. The highest resistance rate was observed against ceftazidime with a frequency of 98%. On the other hand, molecular analysis showed that 97.95% of the 50 resistant isolates carried the *OXA-48* gene and 77.55% carried the *OXA-23* gene. For the *OXA-48* gene, P-value <0/001, and for the *OXA-23* gene, P-value=0.075, indicated a significant association between the presence of the *OXA-48* gene and antibiotic resistance, with no significant association between the presence of the *OXA-23* gene and antibiotic resistance.

**Conclusion:** The high prevalence of resistance to ceftazidime and the *OXA-48* and *OXA-23* genes in *A. baumannii* indicates excessive antibiotic use. The results of this study align with previous findings showing a high prevalence of *OXA-48* and *OXA-23* genes in *A. baumannii* and emphasize the importance of hospital infection control and rational antibiotic use.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, Beta-lactamases, Drug resistance, Polymerase Chain Reaction (PCR)

Dorna Rafighi<sup>1</sup>, Younes Anzabi<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

<sup>3</sup> Biotechnology Research Center, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

### \* Corresponding Author

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran  
Email: anzabi@iaut.ac.ir

Received: Apr 13 2024

Accepted: Jul 28 2024

### Citation to this article

Rafighi D, Anzabi Y. Frequency of OXA-48 and OXA-23 Genes in Strains Resistant to Cephalosporins and Carbapenem Antibiotics in *Acinetobacter baumannii* Isolated from One of the Public Hospitals in Tabriz, Iran. *J Med Counc.* 2024;42(3):22-31.

## بررسی فراوانی ژن‌های OXA-23 و OXA-48 در سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین‌ها و کارباپنم‌ها در اسپنتوباکتر بومانی جدا شده از یکی از بیمارستان‌های دولتی شهر تبریز

### چکیده

**زمینه:** اسپنتوباکتر بومانی باکتری گرم منفی، هوازی، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی می‌باشد که موجب عفونت‌های تنفسی، ادراری، خون، زخم و پوست در سوختگی‌ها می‌شود. مقاومت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌ها، به ویژه در باکتری اسپنتوباکتر بومانی، به یک چالش جهانی تبدیل شده است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که شیوع ژن‌های OXA-23 و OXA-48، در این باکتری در حال افزایش است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی فراوانی ژن‌های مرتبط با مقاومت OXA-48 و OXA-23 در جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین‌ها و کارباپنم‌ها در اسپنتوباکتر بومانی، به روش مولکولی PCR می‌باشد.

**روش کار:** طی مطالعه توصیفی-مقطعی حاضر، از بیماران بستری در بیمارستان عالی‌نسب شهر تبریز تعداد ۴۹۷ نمونه بالینی شامل خون (۱۳۵ نمونه)، خلط (۹۲ نمونه)، ادرار (۱۳۰ نمونه)، پلور (۶۱ نمونه)، زخم و تراشه (۷۹ نمونه) اخذ و پس از کشت در محیط‌های کشت عمومی و اختصاصی و نیز انجام آزمون‌های بیوشیمیایی اسپنتوباکتر بومانی شناسایی گردید. پس از انجام آزمون آنتی‌بیوگرام و تعیین مقاومت دارویی جدایه‌ها، جهت تشخیص حضور ژن‌های OXA-23 و OXA-48، از روش مولکولی PCR استفاده شد.

**یافته‌ها:** از مجموع ۴۹۷ نمونه بالینی، تعداد ۵۰ جدایه اسپنتوباکتر بومانی شناسایی شد که ۶۰ درصد جدایه‌ها مربوط به نمونه‌های بیماران مونث بودند. همچنین نمونه‌های بالینی مربوط به بخش ICU با فراوانی ۲۶ درصد، بیشترین سهم از جدایه‌های اسپنتوباکتر بومانی را داشتند. بیشترین میزان مقاومت هم نسبت به آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم با فراوانی ۹۸ درصد مشاهده گردید. از طرف دیگر با بررسی روش مولکولی، از تعداد ۵۰ جدایه مقاوم، ۹۷/۹۵ درصد حاوی ژن OXA-48 و ۷۷/۵۵ درصد دارای ژن OXA-23 بودند. بین فراوانی وجود ژن OXA-48 و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارتباط معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ ) و بین فراوانی وجود ژن OXA-23 و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (0.075).

**نتیجه‌گیری:** شیوع بالای مقاومت به سفنازیدیم و ژن‌های OXA-48 و OXA-23 در اسپنتوباکتر بومانی، حاکی از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک است. نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعات قبلی مبنی بر شیوع بالای ژن‌های OXA-48 و OXA-23 در اسپنتوباکتر بومانی همخوانی دارد و بر اهمیت کنترل عفونت‌های بیمارستانی و مصرف منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها تأکید می‌کند.

**واژگان کلیدی:** اسپنتوباکتر بومانی، بتالاکتامازها، مقاومت دارویی، شناسایی مولکولی PCR

درنا رفیعی<sup>۱</sup>، یونس انزابی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری تخصصی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
<sup>۲</sup> دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۳</sup> گروه بیوتکنولوژی میکروبی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

\* نشانی نویسنده مسئول:

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
نشانی الکترونیک:

anzabi@iaut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۰۷

## مقدمه

MDR و XDR (extensively drug-resistant) بسیار ضروری است. بنابراین بعد از جداسازی و شناسایی نوع باکتری از نمونه های بالینی، انجام آزمون آنتی‌بیوگرام ضروری است (۱۰). اولین گروه از بتالاکتامازهای مقاوم به کاربامپنم از نوع OXA که در اسیتوباکتر بومانی شناسایی شده، گروه OXA-23 بوده که در سال ۱۹۸۵ برای اولین بار در انگلستان جداسازی و شناسایی گردیده است. در سال ۲۰۰۱ برای بار دیگر نوع جدیدی از بتالاکتامازهای گروه OXA شناسایی شد که OXA-48 نام گذاری گردید، که بتالاکتاماز مذکور از یک بیمار مقاوم به چند دارو (MDR) در استان بول جداسازی شده بود (۱۲). مطالعات انجام شده در ایران هم نشان می‌دهد که ژن bla OXA-51 در بسیاری از سویه‌های اسیتوباکتر بومانی شناسایی گردیده است (۱۲ و ۱۳). البته در مطالعه سرحدی و همکاران ژن‌های OXA-23 و OXA-24 به ترتیب در ۶۶/۷ و ۷۴/۱ درصد موارد شناسایی و ردیابی شده است (۱۴). با توجه به اهمیت مطالب ذکر شده، هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت بتالاکتامازی OXA-48 و OXA-23 در جدایه های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های گروه سفالوسپورین ها و کاربامپنم‌ها در اسیتوباکتر بومانی، با استفاده از روش مولکولی PCR می باشد.

## روش کار

مطالعه حاضر از نوع توصیفی - مقطعی بوده که از فروردین تا تیر سال ۱۴۰۱ انجام گرفت. در این مطالعه ۴۹۷ نمونه بالینی شامل خون (۱۳۵ نمونه)، خلط (۹۲ نمونه)، ادرار (۱۳۰ نمونه)، پلور (۶۱ نمونه) و زخم و تراشه (۷۹ نمونه)، از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان عالی‌نسب شهر تبریز به صورت تصادفی اخذ شده و به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز منتقل گردید.

## کشت میکروبی نمونه ها جهت جداسازی اسیتوباکتر بومانی

ابتدا نمونه‌ها بطور جداگانه، بر روی محیط‌های کشت بلادآگار و اتوزین متیلن‌بلو آگار (کاندلب اسپانیا)، به روش خطی کشت داده شده و بلافاصله پلیت‌ها به مدت ۴۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردیدند. پس از رشد باکتری بر روی محیط‌های مذکور و انجام رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده باکتری های میله‌ای شکل (کوکوباسیل‌های گرم منفی)، تست اکسیداز هم انجام شد. از محیط کشت‌های افتراقی KIA، SIM، TSI ژلاتین‌آگار، فنل‌رد و OF (کاندلب اسپانیا)، جهت افتراق باکتری مورد نظر استفاده شد که پس از کشت جدایه‌های مورد نظر در محیط‌های

در سال‌های اخیر اسیتوباکتر بومانی به عنوان عامل پاتوژن بیمارستانی در سطح جهان شناخته شده و غالباً به دلیل مقاومت به چندین دارو (MDR) Multi Drug Resistance به یک معضل درمانی تبدیل شده است (۱). این میکروارگانیسم یک پاتوژن گرم منفی هوازی بوده که منجر به عفونت در دستگاه ادراری، سوختگی، جریان خون (سپتی‌سمی) و بافت‌های نرم بدن می‌شود (۲ و ۳). گزارش شده که این باکتری ضمن داشتن مقاومت بالا، دارای مکانیسم‌های متعددی برای بقا در محیط‌های بیمارستانی می‌باشد (۴). میزان مرگ و میر توسط اسیتوباکتر بومانی در بخش‌های مختلف بیمارستان متغیر است. این ارگانیسم مسبب ۵۴ درصد از عفونت‌های پنومونی مرتبط با ونتیلاتور در بخش مراقبت‌های ویژه بوده و در سایر بخش‌های بیمارستانی نیز موجب ۵ درصد از عفونت‌های بیماران بستری می‌باشد (۵).

سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۹ با توجه به گزارشات از وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا در سویه‌های MDR اسیتوباکتر بومانی، این ارگانیسم را به عنوان تهدیدی بزرگ برای سلامتی انسان‌ها مطرح کرده و طی بیانیه‌ای به عنوان یک اولویت، تولید و ساخت آنتی‌بیوتیک‌های جدید را ضروری اعلام نموده است (۶). از طرف دیگر نشان داده شده که اسیتوباکتر بومانی توانایی قابل توجهی در ایجاد مقاومت در برابر عوامل متعدد دیگر داشته و به سرعت می‌تواند به تغییرات فشار محیط پاسخ دهد. بر این اساس بطور ذاتی به تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مانند پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌های نسل اول و دوم مقاوم می‌باشد (۷).

دستورالعمل‌های کنونی درمان عفونت‌های اسیتوباکتر بومانی به طور جدی تحت تأثیر چنین تمایل مقاومتی قرار گرفته و گزینه‌های درمانی با آنتی‌بیوتیک را نسبتاً محدود می‌کند (۸). در این راستا اعلام شده که درمان بالینی با ایمی‌پنم برای پنومونی ونتیلاتوری ناشی از اسیتوباکتر بومانی، از ۵۷ تا ۸۳ درصد متغیر می‌باشد. همچنین گزارش شده جدایه‌هایی که به ایمی‌پنم حساس هستند، ممکن است به مروپنم نیز مقاوم باشند (۹). امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی میکروارگانیسم‌ها به یک چالش مهم جهانی تبدیل شده است و یکی از معضلات بهداشتی و درمانی در درمان بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌ها می‌باشد (۱۰). البته آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (مانند پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، کاربامپنم‌ها و مونوباکتام‌ها) به طور تجربی در درمان عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر بومانی تجویز می‌شوند (۱۱).

اما با توجه به اینکه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک انواع باکتری‌ها روز به روز در حال افزایش می‌باشند، لذا انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های

مذکور، گرمخانه گذاری آن‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس صورت گرفت. بعد از رشد جدایه‌ها در محیط‌های افتراقی، آزمون سیترات هم انجام شد. بعد از انجام این مراحل، تایید نهایی وجود اسپیتوباکتر بومانی با استفاده از توالی‌یابی 16S rRNA روی نمونه‌ها انجام گردید (۱۵).

### آزمون آنتیبیوگرام

در مطالعه حاضر، آزمون آنتی‌بیوگرام با استفاده از دیسک‌های مربوط به سه نوع آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم) و ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) (شرکت Rosco، دانمارک) مطابق با آخرین به‌روزرسانی (Clinical and Laboratory Standards Institute) در سال ۲۰۲۲ انجام شد (۱۶). برای انجام آنتی‌بیوگرام ابتدا یک کلنی خالص از باکتری اسپیتوباکتر بومانی از محیط کشت جامد به یک لوله حاوی سرم فیزیولوژی استریل منتقل و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. پس از رشد کافی باکتری، کدورت سوسپانسیون باکتریایی به کمک یک استاندارد نیم مک‌فارلند تنظیم شد. برای این منظور، از یک لوله حاوی استاندارد نیم مک‌فارلند استفاده شد. برای تهیه استاندارد نیم مک‌فارلند ابتدا محلول‌های پایه‌ی کلرید باریم ۱/۱۷۵٪ (w/v) و اسید سولفوریک ۱٪ (v/v) تهیه شدند و در ادامه ۰/۵ میلی‌لیتر محلول کلرید باریم ۱/۱۷۵٪ (w/v) به ۹۹/۵ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوریک ۱٪ (v/v) اضافه گردید. بعد از پخش یکنواخت سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار دیسک‌های مربوطه بر روی آن قرار داده شد و در ادامه به مدت ۱۶ الی ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردید. سپس با خط‌کش مدرج دقیق، قطر منطقه عدم رشد در اطراف هر دیسک، جداگانه اندازه‌گیری شد. سوپه ATCC=25922 باکتری اشریشیا کلی هم به منظور کنترل کیفی آزمون انتخاب گردید. انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها می‌بایست پس از انجام تست سنجش حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک صورت بگیرد (۱۰).

### استخراج DNA

ابتدا از کشت خالص ۲۴ ساعته جدایه‌ها و با استفاده از کیت

### آماده سازی پرایمرها

ابتدا توالی پرایمرهای مورد نظر پس از بررسی در بانک ژنی و انجام بلاست با کمک سایت NCBI، جهت ساخت، تحویل شرکت متابیون آلمان گردید. در ادامه چون پرایمرها پس از ساخته شدن، به صورت لیوفیلیزه تحویل گرفته شدند، برای تهیه محلول ذخیره از آن‌ها، بر طبق برگه دستورالعمل همراه پرایمرها عمل شد، به این صورت که مقدار مناسب آب دوبار تقطیر استریل شده، به محتویات ظرف پرایمرهای لیوفیلیزه، اضافه شد تا غلظتی معادل ۱۰۰ pmol/μl بدست آید. سپس از این محلول اولیه، محلولی با غلظت ۱۰ pmol/μl برای هر پرایمر بدست آمد که برای انجام واکنش PCR استفاده شد (جدول ۱).

### تایید مولکولی جدایه‌های اسپیتوباکتر بومانی به روش PCR

جهت انجام یک برنامه PCR مناسب و موفق، برنامه‌های مختلف با دما و تعداد سیکل‌های متفاوت طراحی و اجرا می‌گردد. بدین منظور در این مطالعه، دمای مناسب جهت فرایند Annealing توسط دستگاه ترموسایکلر گرادیانت، مورد بررسی قرار گرفت و مناسب ترین برنامه دمائی و زمانی، تعیین گردید. (جدول ۲ و ۳)

به منظور بررسی عملکرد بهینه واکنش زنجیرهای پلیمرز (PCR)، از سوپه استاندارد باکتری اسپیتوباکتر بومانی (ATCC=19606)

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن‌های OXA-48 و OXA-23 اسپیتوباکتر بومانی (۱۷)

ژن هدف	توالی پرایمرهای مربوطه (۵'→۳')	طول قطعه محصول PCR (bp)	رفرانس
OXA-۲۳	F: AAGCATGATGAGCGCAAAG R: AAAAGGCCCATTTATCTCAAA	۵۰۱	۱۷
OXA-۴۸	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG R: GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	۷۴۴	

جدول ۲. برنامه PCR برای ژن OXA-23

دندانوراسیون اولیه	دندانوراسیون نهایی	اتصال	پلی‌مریزاسیون اولیه	پلی‌مریزاسیون نهایی	تعداد سیکل
۹۴°C	۹۴°C	۵۵°C	۷۲°C	۷۲°C	۳۵
۳ دقیقه	۴۵ ثانیه	۴۵ ثانیه	۱ دقیقه	۱ دقیقه	

جدول ۳. برنامه PCR برای ژن OXA-48

دندانوراسیون اولیه	دندانوراسیون نهایی	اتصال	پلی‌مریزاسیون اولیه	پلی‌مریزاسیون نهایی	تعداد سیکل
۹۴°C	۹۴°C	۶۲°C	۷۲°C	۷۲°C	۳۵
۳ دقیقه	۴۵ ثانیه	۴۵ ثانیه	۱ دقیقه	۱ دقیقه	

شد، تعداد ۵۰ ایزوله بالینی اسپیتوباکتر بومانی که شامل خون ۱۹ نمونه (۳۸٪)، خلط ۱۵ نمونه (۳۰٪)، ادرار ۷ نمونه (۱۴٪)، زخم و تراشه ۸ نمونه (۱۶٪) و پلور ۱ نمونه (۲٪) از بیماران بستری در بیمارستان عالی‌نسب تبریز جداسازی شدند. (تعیین هویت باکتری اسپیتوباکتر بومانی با استفاده از نتایج تست‌های افتراقی که شامل تست‌های اکسیداز (منفی)، کاتالاز (مثبت)، همولیز (منفی)، SIM (منفی)، سیمون سترات (مثبت)، رشد در EMB آگار (مثبت)، رشد در ۴۴ درجه سانتی‌گراد (مثبت)، ژلاتین (منفی)، KIA (Alk/Alk) و OF (OXI) انجام گردید و سویه 25922 Escherichia coli ATCC به عنوان سویه کیفی در این مطالعه استفاده گردید. میانگین سنی در گروه سنی مونث ۱۵/۸۰۸±۴۰/۰۳ و واریانس ۲۴۹/۸۹۹ و در گروه سنی مذکر ۱۸/۰۹۳±۴۶/۱۶ و واریانس ۳۲۷/۳۶۳ قرار داشتند. در زنان گروه‌های سنی ۲۰-۳۹ و ۴۰-۵۹ سال و در مردان گروه سنی ۴۰-۵۹ سال به عنوان گروه سنی پرخطر مشاهده شدند (جدول ۴). نمونه‌های اخذ شده از بخش‌های ICU داخلی ۱۳ نمونه (۲۶٪)، جراحی عمومی ۷ نمونه (۱۴٪)، سوختگی ۹ نمونه (۱۸٪)، ۹ CCU نمونه (۱۸٪)، بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان ۱۲ نمونه (۲۴٪) کشت مثبت اسپیتوباکتر بومانی را داشتند.

به عنوان کنترل مثبت و از سویه استاندارد باکتری اشریشیا کلی (ATCC=35922) به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

### بررسی محصولات PCR

بررسی محصولات حاصله در برنامه PCR هم از روش الکتروفورز در ژل استفاده شد. بدین منظور مقدار ۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۱ میکرولیتر از بافر سنگین کننده (6× Loading buffer) مخلوط گردیده سپس با استفاده از سمپلر به داخل چاهک‌هایی که در داخل ژل آگارز ۱ درصد تعبیه شده بود، منتقل گردید. از نشانگر مولکولی ۵۰ جفت بازی شرکت سیناکلون ایران نیز جهت بررسی اندازه DNA و اثبات حضور محصول مورد نظر بر روی ژل استفاده شد. محصولات PCR با ولتاژ ۱۰۰ و شدت جریان ۶۵ میلی آمپر به مدت ۱ ساعت الکتروفورز شدند. پس از اتمام زمان الکتروفورز، ژل از تانک خارج و توسط دستگاه Gel-Doc در طول موج ماورا بنفش (UV) مشاهده و بررسی شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه که به مدت سه ماه از فروردین تا خرداد ۱۴۰۱ انجام

جدول ۴. گروه سنی افراد مثبت از نظر آلودگی به اسپیتوباکتر بومانی

گروه سنی	زن	مرد	فراوانی (درصد)
۰-۱۹	۴	۱	۱۰
۲۰-۳۹	۱۱	۶	۳۴
۴۰-۵۹	۱۱	۷	۳۶
۶۰-۸۹	۵	۵	۲۰
جمع	۳۱	۱۹	۱۰۰

جدول ۵. حساسیت و مقاومت جدایه های اسپیتوباکتر بومانی نسبت به آنتی بیوتیک ها

آنتی بیوتیک	حساس تعداد (درصد)	بینابینی تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)
ایمی پنم	۷(۱۴)	۰	۴۳(۸۶)
مروپنم	۸(۱۶)	۱(۲)	۴۱(۸۲)
سفتازیدیم	۰	۱(۲)	۴۹(۹۸)

جدول ۶. فراوانی ژن های OXA-48 و OXA-23 در سویه های مقاوم

تعداد	نام ژن	فراوانی ژن های OXA-۴۸ و OXA-۲۳ در کلیه سویه های مقاوم (n=۴۹)
۳۸/۴۹ ۳۸(n=۴۹; ۷۷/۵۵% CI: ۶۴/۱۲% to ۸۶/۹۷%)	OXA-۲۳	
۴۸/۴۹ ۴۸(n=۴۹; ۹۷/۹۶% CI: ۸۹/۳۱% to ۹۹/۶۴%)	OXA-۴۸	

### ارزیابی نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اسپیتوباکتر بومانی به روش دیسک دیفیوژن آگار

با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار حساسیت و مقاومت جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک ها تعیین شد. در این مطالعه از دیسک های ایمی پنم، سفتازیدیم و مروپنم استفاده شد که در جدول ۵ به طور کامل نشان داده شده است که بیشترین فراوانی مقاومت در این مطالعه به آنتی بیوتیک سفتازیدیم با ۹۸ درصد و بیشترین فراوانی حساسیت به آنتی بیوتیک مروپنم با ۱۶ درصد مشاهده گردید.

### ارزیابی نتایج تست آنتی بیوگرام بر حسب ژن های بررسی شده OXA-۴۸ و OXA-۲۳

از ۴۹ سویه مقاوم، فراوانی ژن OXA-۲۳ در ۳۸ عدد (۷۷/۵۵٪) و فراوانی ژن OXA-۴۸ به میزان تعداد ۴۸ عدد (۹۷/۹۵٪) گزارش گردید (جدول ۶).

بر اساس این مطالعه وجود ژن OXA-48 در نمونه های اسپیتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی بیوتیکی دارای ارتباط معناداری بود ( $P < 0/001$ )، در حالی که وجود ژن OXA-23 در نمونه های اسپیتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی بیوتیکی ارتباط معناداری را نشان نداد ( $P = 0/75$ ).

### نتایج PCR

در این مطالعه از روش مولکولی PCR، از ۵۰ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی جهت بررسی وجود ژن های OXA-48 و OXA-23 استفاده گردید. ۴۸ ایزوله (۹۷/۹۵٪) حاوی ژن OXA-48 با باندی به اندازه 744bp بودند (شکل ۱) و ۳۸ ایزوله (۷۷/۵۵٪) دارای ژن OXA-23 باندی به اندازه 501bp را تشکیل دادند (شکل ۲).

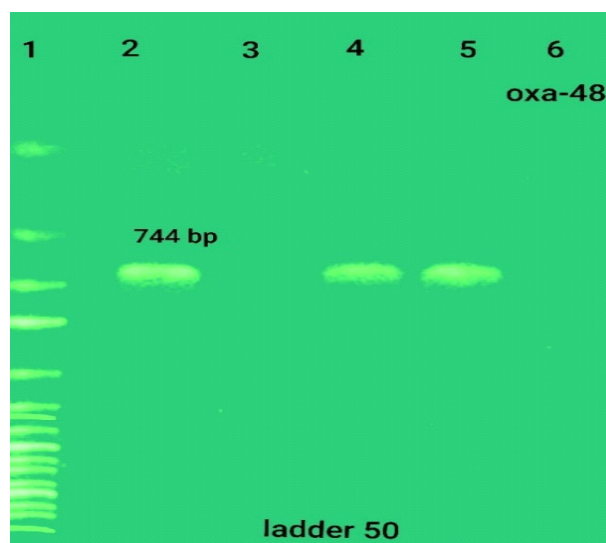
### بحث

در مطالعه حاضر از مجموع ۵۰ نمونه کشت مثبت اسپیتوباکتر بومانی ۱۹ مورد مرد، ۳۰ مورد زن و ۱ مورد کودک بود. با نتایج آنتی بیوگرام دیسک دیفیوژن میزان فراوانی مقاومت به سفتازیدیم با ۴۹ مورد (۹۸٪)، ایمی پنم با ۴۳ مورد (۸۶٪) و مروپنم با ۴۱ مورد (۸۲٪) به عنوان آنتی بیوتیک های مقاوم در این مطالعه شناخته شدند.

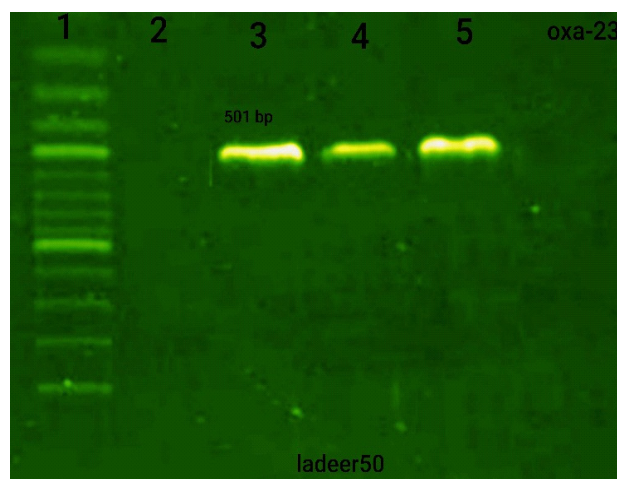
در مطالعه محمودی و همکاران، تعداد ۷۰ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی از بیماران بستری در بیمارستان جمع آوری گردید. با انجام آنتی بیوگرام به دو آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و ایمی پنم میزان فراوانی مقاومت به ترتیب ۹۷/۴٪ و ۹۴/۷٪ گزارش گردید که در مطالعه حاضر میزان فراوانی مقاومت به ایمی پنم ۸۶٪ گزارش شد (۱۸).

در پژوهش باقری جوشقانی و همکاران، تعداد ۴۰ ایزوله بالینی اسپیتوباکتر بومانی از بیماران بستری در بیمارستان جداسازی شدند. این ایزوله ها به تفکیک جنسیت ۲۱ مورد مرد و ۱۹ مورد زن بودند. میزان فراوانی مقاومت در بین آنتی بیوتیک های استفاده شده به ترتیب به پیراسیلین، پیراسیلین/تازوباکتام، سفتازیدیم، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، مروپنم، ایمی پنم، لووفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و تری متوپریم ۱۰۰٪ مقاوم بودند و به تتراسایکلین ۹۲/۵٪، آمپی سیلین/سولباکتام ۹۰٪، آمیکاسین و جنتامایسین به ترتیب ۸۷/۵٪ و ۸۲/۵٪ مقاومت نشان دادند. این مطالعه نشان داد که اسپیتوباکتر بومانی مقاوم به ابر آنتی بیوتیک ها می باشد که در مطالعه حاضر میزان فراوانی مقاومت به سفتازیدیم ۹۸٪، ایمی پنم ۸۶٪ و مروپنم با ۸۲٪ ثبت گردید که ارتباط مستقیمی با مطالعه باقری جوشقانی داشت (۱۹).

آینو و همکاران در یک مطالعه گذشته نگر که در اتیوپی بین سال های ۲۰۱۸-۲۰۱۴ انجام داده بودند، مجموعاً ۱۰۲ سویه از گونه های مختلف اسپیتوباکتر جدا شده از نمونه های بالینی را مورد بررسی قرار



شکل ۱. چاهک اول Ladder 50bp، چاهک دوم کنترل مثبت اسیتوباکتر بومانی ATCC 19606، چاهک سوم کنترل منفی اشريشیاکلی ATCC 25922، چاهک چهارم و پنجم جدایه آسیتوباکتر بومانی دارای ژن OXA-48 و چاهک ششم جدایه آسیتوباکتر بومانی بدون ژن OXA-48



شکل ۲. چاهک اول Ladder 50bp، چاهک دوم کنترل منفی اشريشیا کلی ATCC 25922، چاهک سوم کنترل مثبت اسیتوباکتر بومانی ATCC 19606، چاهک چهارم و پنجم جدایه آسیتوباکتر بومانی دارای ژن OXA-23

های اکثر کشورها می باشد (۲۱). در مطالعه توکل و ممتاز در تهران از بررسی ۵۰۰ نمونه بالینی از بیماران بستری در بیمارستان‌های پیامبر اکرم (ص) و بقیه الله (عج) طی سال‌های ۹۱ و ۹۲، مجموعاً تعداد ۱۲۱ نمونه مثبت اسیتوباکتر بومانی شناسایی شد که بیشترین موارد مثبت مربوط به نمونه های خون بود و بیشترین میزان فراوانی مقاومت به تتراسایکلین با ۹۰/۹۰٪، ایمی پنم ۷۸/۵٪ و سپس به تری متوپریم ۶۱/۹۸٪ و کوتریماکسازول ۵۱/۲۳٪ بود. در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی مقاومت در بین آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده به سفنازیدیم با ۹۸ درصد و ایمی پنم با ۸۶٪ بود که از لحاظ آنتی‌بیوتیک ایمی پنم وجه

دادند. روند صعودی قابل توجه مقاومت ضد میکروبی برای مروپنم ۱۲/۵ تا ۶۰/۷٪، سفنازیدیم ۸۲/۱ الی ۱۰۰٪، سیپروفلوکساسین ۵۹/۴ الی ۷۴/۴٪، سفتریاکسون ۸۷/۱ تا ۹۸/۶٪، سفپیم ۸۰/۰ تا ۹۳/۳٪ و پیراسیلین/تازوباکتام ۶۷/۸ تا ۹۶/۳٪ گزارش گردید (۲۰). افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به یک تهدید جهانی تبدیل شده است. خود درمانی با آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از شایع‌ترین علل بروز مقاومت های آنتی‌بیوتیکی می‌باشد که به دلیل وضعیت اقتصادی و اجتماعی پایین و عدم آگاهی از مسئله مقاومت‌های دارویی در بیماری‌های عفونی می‌باشد. علاوه بر این موارد انتخاب نادرست داروها و دوره های نامنظم درمانی از علل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جمعیت

بالینی جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ICU، ۴۷ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی را جداسازی کردند. با بررسی مولکولی ایزوله های اسپیتوباکتر بومانی فقط در یک ایزوله ژن OXA-48 و ۲ ایزوله ژن NDM شناسایی گردید. در مطالعه انجام شده حاضر از ۴۹ ایزوله ۴۸ ایزوله حاوی ژن OXA-48 بودند که با مطالعه مذکور همراستا نبود (۳۰).

شارما و همکاران در هند با بررسی ۱۵۰ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی جداسازی شده از نمونه های بالینی که بین سال های ۲۰۱۳ الی ۲۰۱۴ جمع آوری شده بود، نشان دادند که تمامی ایزوله ها (۱۰۰٪) حاوی ژن OXA-51 بودند و بقیه ژن ها به ترتیب OXA-23 (۹۸٪)، VIM (۴۹/۳٪)، NDM-1 (۱۸/۷٪) و OXA-58 (۲٪) و هیچ کدام از ایزوله ها OXA-48 را نداشتند. در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی ژن های OXA مربوط به OXA-48 با ۴۸ سویه (۹۷/۹۵٪) و به نسبت کمتر در OXA-23 با ۳۸ سویه (۷۷/۵۵٪) مشاهده گردید که این مطالعه نیز با مطالعه حاضر همراستا نبود (۳۱).

ابراهیم و همکاران در سودان ۱۰۰ نمونه بالینی را از بیماران بستری در ICU بیمارستان جمع آوری کردند که در تعداد ۳۸ سویه اسپیتوباکتر بومانی تایید شد. شایع ترین کارباپنماز مرتبط با مقاومت ژن  $bla_{OXA}$  و سپس جدایه های  $bla_{NDM}$  و  $bla_{GES}$  در اسپیتوباکتر بومانی بود. ژن های  $bla_{OXA-48}$ ،  $bla_{OXA-23}$ ،  $bla_{NDM}$  و  $bla_{OXA-51}$  در OXA-48، OXA-23 و OXA-51 به ترتیب در ۲۲/۷٪، ۱۸/۲٪ و ۴/۵٪ تشخیص داده شد. در مطالعه حاضر میزان فراوانی ژن OXA-48 (۹۷/۹۵٪) OXA-23 (۷۷/۵۵٪) مشاهده شد که این میزان فراوانی در این مطالعه نشان از مقاومت بالای اسپیتوباکتر بومانی می باشد (۳۲).

آنزیم OXA-48 برای اولین بار در سال ۲۰۰۷ در استانبول از کلبسیلا پنومونیه جداسازی و گزارش شد (۳۳). علاوه بر این، ژن  $bla_{OXA-48}$  در اشریشیا کلی و سیتروباکتر فروندی، دوباره برای اولین بار در ترکیه شناسایی شده است (۳۴). اخیراً شناسایی ژن  $bla_{OXA-48}$  در بسیاری از کشورها گزارش شده است که اغلب از جدایه های کلبسیلا پنومونیه است (۳۵). برخلاف OXA-40 و OXA-23، OXA-48 دارای خاصیت هیدروفوبیک نبوده و نشان می دهد مسئول هیدرولیز کارباپنم ها می باشد. خاصیت هیدروفوبیک بودن OXA-48 باعث می شود که گروه هیدروکسی اتیل مروپنم امکان تحرک بیشتر را داشته باشد و آنتی بیوتیک خاصیت خود را از دست دهد. این ویژگی ها نشان می دهند که OXA-48 یک مسیر تکاملی متفاوت از کارباپنمازهای نوع OXA رایج در گونه های اسپیتوباکتر را دنبال کرده است تا توانایی هیدرولیز کارباپنم ها را توسعه دهد (۳۶). با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر و ارتباط بین ژن های مذکور با مقاومت های آنتی بیوتیکی و افزایش روزافزون این مقاومت های آنتی بیوتیکی در باکتری ها و هم چنین افزایش مرگ و میر ناشی از عفونت های ایجاد شده توسط آن ها و مقایسه ی مطالعه

مشترکی در این دو مطالعه ملاحظه گردید (۲۲). یکی از مهم ترین کارایی ژنتیکی اسپیتوباکتر بومانی انعطاف پذیری ژنتیکی این باکتری می باشد که جهش ها و بازآرایی های سریع ژنتیکی را تسهیل می کند (۲۳). اسپیتوباکتر بومانی به دلیل توانایی شگفت انگیزش در به دست آوردن مقاومت ضد میکروبی به یکی از مهم ترین پاتوژن ها در مراقبت های بهداشتی مدرن تبدیل شده است (۲۴).

در مطالعه حاضر با بررسی ۵۰ سویه جداسازی شده از نمونه های بالینی، ۴۹ سویه اسپیتوباکتر بومانی مقاومت دارویی از خود نشان دادند. در این بررسی ۴۸ سویه (۹۷/۹۵٪) دارای ژن OXA-48 و ۳۸ سویه (۷۷/۵۵٪) دارای ژن OXA-23 بودند. سویه هایی که ژن OXA-48 را داشتند، ۹۷/۶۷٪ (۴۲ سویه) به ایمی پنم، ۱۰۰٪ (۴۱ سویه) به مروپنم و ۹۷/۹۵٪ (۴۸ سویه) به سفنازیدیم مقاومت نشان دادند همچنین سویه های دارای ژن OXA-23 به ایمی پنم ۷۶/۷۴٪ (۳۳ سویه)، به مروپنم ۸۵/۳۶٪ (۳۵ سویه) و به سفنازیدیم ۷۳/۴۲٪ (۳۶ سویه) مقاوم بودند.

مطالعه اظهاری و همکاران از ۷۹ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی برای بررسی وجود ژن های OXA-48، OXA-23 و NDM انجام شد و همه ۷۹ سویه (۱۰۰٪) دارای ژن OXA-48 بودند و ۷۸ سویه (۹۸/۷۳٪) ژن OXA-23 را نشان دادند. در مطالعه حاضر حضور ژن OXA-48 در ۹۷/۹۵٪ و ژن OXA-23 در ۷۷/۵۵٪ سویه ها مشاهده گردید که نتایج این دو مطالعه با یکدیگر هم خوانی داشت (۲۵).

در مطالعه ژائو و همکاران در چین مجموعاً ۲۲۲ سویه اسپیتوباکتر بومانی شناسایی شد که همه ایزوله ها ۱۰۰٪ دارای ژن های OXA-23، OXA-51 و OXA-24 بودند. اما در مطالعه حاضر میزان بروز ژن OXA-23 ۷۷/۵۵٪ گزارش گردید که با توجه به تعداد نمونه ها ارتباط مستقیمی بین دو مطالعه وجود نداشت (۲۶).

در میان کارباپنم ها، ژن OXA-23 دارای شیوع بسیار بالاتری برای آنتی بیوتیک ایمی پنم نسبت به مروپنم، ارتاپنم یا دوری پنم می باشد (۲۷). علیرغم گردش نسبتاً پایین برای کارباپنم ها که توسط این آنزیم ها نشان داده می شود، به نظر می رسد که آنها با وجود یک پل آب گریز در بالای محل فعال، که توسط فنیل آلانین ۱۱۰ و متیونین ۲۲۱ تشکیل شده است، با این مشکل مقابله می کنند (۲۸). تولید OXA-23 توسط سویه اسپیتوباکتر بومانی برای ایجاد مقاومت در برابر کارباپنم ها کافی می باشد. برخلاف برخی دیگر از کارباپنمازهای نوع OXA، سویه ها به مکانیسم های مقاومت دیگری برای کار با OXA-23 برای مقاوم شدن به کارباپنم نیاز ندارند، اگرچه سطوح بالایی از مقاومت تنها زمانی به دست می آیند که مکانیسم های دیگری وجود داشته باشد (۲۹).

ال مکی و همکاران در خارطوم در مطالعه خود بر روی ۵۰ نمونه

آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت پیدا کرده، اسیتوباکتر بومانی است. مطالعه حاضر به بررسی علل ایجاد این مقاومت و همچنین رابطه‌ی فراوانی ژن های OXA-23 و OXA-48 با مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های ایمپنم، مروپنم و سفنازیدیم می‌پردازد که در این مطالعه از ۴۹ ایزوله اسیتوباکتر بومانی ۴۸ ایزوله (۹۷/۹۵٪) دارای ژن OXA-48 و ۳۸ ایزوله (۷۷/۵۵٪) دارای ژن OXA-23 بودند و همچنین میزان مقاومت به سه آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم، ایمپنم و مروپنم به ترتیب ۹۸٪، ۸۶٪ و ۸۲٪ گزارش گردید.

## تشکر و قدردانی

اطلاعات مقاله حاضر، برگرفته از پایان نامه خانم درنا رفیقی فارغ التحصیل دوره کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز است که با کد اخلاق ۱۰۲۲۹۰۰۴۰۱۶۶۴۳۰۱۴۰۰۱۶۲۵۸۰۷۳۴ شده و بدینوسیله نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از همه مسئولین و کارشناسان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و بیمارستان دولتی عالی نسب تبریز مخصوصاً جناب آقای دکتر شهبازی تشکر و قدردانی نمایند.

حاضر با مطالعات پژوهشگران پیشین، بررسی حضور ژن های ایجاد کننده و به طور کلی بررسی علل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار کارآمد و پراهمیت است. لذا پیشنهاد می‌شود در هر بیمارستان سنجش حساسیت ضد میکروبی انجام شده و نتایج آن مورد بررسی مولکولی و ژنتیکی قرار گیرد و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به طور سالیانه به پزشکان و مراکز کنترل عفونت ارائه گردد. علاوه بر آن آگاه‌سازی عموم مردم و آموزش‌های همگانی در راستای کاهش خطرات استفاده بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها انجام گیرد.

## نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر در دوران پاندمی کووید-۱۹ شروع شد، بنابراین شیوع آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در بیماران بستری در بیمارستان به دلیل استفاده توسط بیماران و مصرف ناآگاهانه توسط عموم مردم سبب افزایش مقاومت در باکتری‌های مقاوم به دارو گردید و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی را به یک معضل جهانی تبدیل کرد. یکی از مهم‌ترین باکتری‌هایی که می‌تواند عفونت بیمارستانی ایجاد کند و همچنین نسبت به طیف وسیعی از

## منابع

- Clark NM, Zhanel GG, Lynch III JP. Emergence of antimicrobial resistance among Acinetobacter species: a global threat. *Current opinion in critical care*. 2016 Oct 1;22(5):491-9.
- Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, Cha CJ, Jeong BC, Lee SH. Biology of Acinetobacter baumannii: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017 Mar 13;7:55.
- Rafighi D, Taghinejad J. Review on Pathogenicity and Drug-Resistance Mechanisms at Acinetobacter Baumannii. *Paramedical Sciences and Military Health*. 2022 Dec 10;17(3):65-75.
- Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D. Insights into Acinetobacter baumannii: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*. 2020 Mar 12;9(3):119.
- Bianco A, Quirino A, Giordano M, Marano V, Rizzo C, Libertò MC, Focà A, Pavia M. Control of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital in Southern Italy. *BMC infectious diseases*. 2016 Dec;16:1-7.
- WHO Publishes List of Bacteria for Which New Antibiotics Are Urgently Needed. [(Accessed on 21 August 2019)]; Available online: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. *Clinical microbiology reviews*. 2008 Jul;21(3):538-82.
- Ritchie DJ, Garavaglia-Wilson A. A review of intravenous minocycline for treatment of multidrug-resistant Acinetobacter infections. *Clinical infectious diseases*. 2014 Dec 1;59(suppl\_6):S374-80.
- Superti SV, Martins DD, Caierão J, Soares FD, Prochnow T, Zavascki AP. Indications of carbapenem resistance evolution through heteroresistance as an intermediate stage in Acinetobacter baumannii after carbapenem administration. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2009;51:111-3.
- Taghinejad J, Barati B, Sadeghi A. A study of the drug resistance pattern of Group B Streptococcus isolated from urinary samples in the city of Salmas during the year 2015.
- Evans BA, Amyes SG. OXA  $\beta$ -lactamases. *Clinical microbiology reviews*. 2014 Apr;27(2):241-63.
- Yousefi Nojookambari N, Sadredinamin M, Dehbanipour R, Ghalavand Z, Eslami G, Vaezjalali M, Nikmanesh B, Yazdansetad S. Prevalence of  $\beta$ -lactamase-encoding genes and molecular typing of Acinetobacter baumannii isolates carrying carbapenemase OXA-24 in children. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2021 Dec;20:1-8.
- Ranjbar R, Zayeri S, Afshar D, Farshad S. Detection of OXA Beta Lactamases Among Clinical Isolates of Isolated from Tehran Hospitals, Iran. *The Open Microbiology Journal*. 2019 Mar 26;13(1).
- 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. *Medical journal of mashhad university of medical sciences*. 2016 Mar 20;59(1):1-8.
- Nourmohammadi Z, Zamanzad B, Shavarzi A, Kiani P. Evaluation antimicrobial resistance of Acinetobacter baumannii isolated from Shahrekord teaching hospitals in 2013. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2015 Feb 1;16(6).
- <https://www.treata.academy/wp-content/uploads/2023/03/CLSI-31-2023.pdf>.

17. Senkyrikova M, Husickova V, Chroma M, Sauer P, Bardon J, Kolar M. *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 detected in the Czech Republic. *SpringerPlus*. 2013 Dec;2:1-6.
18. 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. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2020 Mar 10;14(1):44-54.
19. Bagheri-Josheghani S, Moniri R, Firoozeh F, Sehhat M, Ghenaat Ghamsari E. Emergence of multidrug resistant, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and metallo- $\beta$ -lactamase strain of *Acinetobacter baumannii* in ICU ward of Kashan Beheshti Hospital during 2013-14. *Fez Medical Sciences Journal*. 2016 Apr 10;20(1):49-56.
20. Ayenew Z, Tigabu E, Syoum E, Ebrahim S, Assefa D, Tsige E. Multidrug resistance pattern of *Acinetobacter* species isolated from hospital specimens referred to the Ethiopian Public Health Institute: 2014 to 2018 trend analysis. *PloS one*. 2021 Apr 29;16(4):e0250896.
21. Mogharab V, Esmaeelpour N, Kalani N, Rahmanian E. Evaluation of mothers' knowledge, attitude and practice of antibiotic use in children under 7 years old referred to Jahrom children's clinic. *Pars Journal of Medical Sciences*. 2022 Dec 25;18(2):65-73.
22. Tavakol M, Momtaz H. Detection of the most prevalent antibiotic resistance genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospital infections and determination of their antibiotic resistance pattern. *Journal of Microbial Biology*. 2015 Aug 23;4(14):71-82.
23. Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D. Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*. 2020 Mar 12;9(3):119.
24. Lin MF, Lin YY, Yeh HW, Lan CY. Role of the BaeSR two-component system in the regulation of *Acinetobacter baumannii* ade-AB genes and its correlation with tigecycline susceptibility. *BMC microbiology*. 2014 Dec;14:1-2.
25. Azhari B, Noorbakhsh F, Eidi M. FREQUENCY OF CARBAPENEMASE AND METALLO-BETA-LACTAMASE RESISTANCE AND OXA-48, OXA-23, AND NDM GENES IN CLINICAL ISOLATES OF ACINETOBACTER BAUMANNII IN 2017. *Studies in Medical Sciences*. 2021 Apr 10;32(2):92-104.
26. Zhao Y, Hu K, Zhang J, Guo Y, Fan X, Wang Y, Mensah SD, Zhang X. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying the carbapenemase OXA-23 in ICU of the eastern Heilongjiang Province, China. *BMC Infectious Diseases*. 2019 Dec;19:1-7.
27. Smith CA, Antunes NT, Stewart NK, Toth M, Kumarasiri M, Chang M, Mobashery S, Vakulenko SB. Structural basis for carbapenemase activity of the OXA-23  $\beta$ -lactamase from *Acinetobacter baumannii*. *Chemistry & biology*. 2013 Sep 19;20(9):1107-15.
28. Kaitany KC, Klinger NV, June CM, Ramey ME, Bonomo RA, Powers RA, Leonard DA. Structures of the class D carbapenemases OXA-23 and OXA-146: mechanistic basis of activity against carbapenems, extended-spectrum cephalosporins, and aztreonam. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013 Oct;57(10):4848-55.
29. Héritier C, Poirel L, Lambert T, Nordmann P. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005 Aug;49(8):3198-202.
30. El-Makki GE, Ali AH, Gorish BM, Kaddam LA. Detection of NDM and OXA-48 Resistant Genes in *Acinetobacter Baumannii* Isolated From Intensive Care Units' Patients Clinical Samples in Khartoum State.
31. Sharma M, Singhal L, Gautam V, Ray P. Distribution of carbapenemase genes in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* & a comparison of MALDI-TOF mass spectrometry-based detection of carbapenemase production with other phenotypic methods. *Indian Journal of Medical Research*. 2020 Jun 1;151(6):585-91.
32. Ibrahim SM, Ibrahim EM, Ibrahim OA, Hamid OM, Alaziz HA. Molecular detection of carbapenemase genes in extensive drug resistant *acinetobacter baumannii* clinical isolates from ICU patients, khartoum. *Open Journal of Medical Microbiology*. 2022 Feb 18;12(1):38-48.
33. Carrér A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2008 Aug;52(8):2950-4.
34. Gülmez D, Woodford N, Palepou MF, Mushtaq S, Metan G, Yakupogullari Y, Kocagoz S, Uzun O, Hascelik G, Livermore DM. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *International journal of antimicrobial agents*. 2008 Jun 1;31(6):523-6.
35. Nazik H, Öngen B, Mete Bİ, Aydın S, Yemişen M, Keleşoğlu FM, Ergül Y, Tabak F. Coexistence of blaOXA48 and aac (6)-Ib-cr Genes in *Klebsiella Pneumoniae* Isolates from Istanbul, Turkey. *Journal of International Medical Research*. 2011 Oct;39(5):1932-40.