Journal of Medical Council of Iran, Volume 42, Issue 3, 2024
https://doi.org/10.22034/42.3.22

Original

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[1], Younes Anzabi[2,3]*

[1] Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[3] 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.

Copyright 2024, Journal of Medical Council of Iran.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution–NonCommercial 4.0 International License.

مقـــاله پژوهشی
Journal of Medical Council of Iran, Volume 42, Issue 3, 2024
https://doi.org/10.22034/42.3.22

بررســی فراوانی ژن‌هــای OXA-48 و OXA-23 در سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین ها و کارباپنم ها در اسینتوباکتر بومانی جدا شده از یکی از بیمارستان‌های دولتی شهر تبریز

درنا رفیقی[1]، یونس انزابی[3,2*]

[1] دانشجوی دکتری تخصصی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[2] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[3] 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

چکیده

زمینه: اسینتوباکتر 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 اسینتوباکتر بومانی، به یک چالش جهانی تبدیل شده است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که شیوع ژن‌های OXA-48 و OXA-23، 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 سفالوسپورین ها و کارباپنم ها در اسینتوباکتر بومانی، به روش مولکولی PCR می باشد.

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 اسینتوباکتر بومانی شناسایی گردید. پس از انجام آزمون آنتی‌بیوگرام و تعیین مقاومت دارویی جدایه‌ها، جهت تشخیص حضور ژن‌های OXA-48 و OXA-23، از روش مولکولی PCR استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۴۹۷ نمونه بالینی، تعداد ۵۰ جدایه اسینتوباکتر بومانی شناسائی 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 اسینتوباکتر بومانی را داشتند. بیشترین میزان مقاومت هم نسبت به آنتی بیوتیک سفتازیدیم 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 آنتی بیوتیکی ارتباط معنی‌دار بود ($p<0/001$) و بین فراوانی وجود ژن OXA-23 و مقامت آنتی بیوتیکی ارتباط معنی داری وجود نداشت (0.075)

نتیجه‌گیری: شیوع بالای مقاومت به سفتازیدیم و ژن‌های OXA-48 و OXA-23 در اسینتوباکتر 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 اسینتوباکتر بومانی همخوانی دارد و بر اهمیت کنترل عفونت‌های بیمارستانی و مصرف منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها تأکید می‌کند.

واژگان کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، بتالاکتامازها، مقاومت دارویی، شناسایی مولکولی PCR

Copyright 2024, Journal of Medical Council of Iran.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution–NonCommercial 4.0 International License.

مقدمه

در سال‌های اخیر اسینتوباکتر بومانی به عنوان عامل پاتوژن بیمارستانی در سطح جهان شناخته شده و غالبا به دلیل مقاومت به چندین دارو Multi Drug Resistance (MDR) 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 (۳و۲). گزارش شده که این باکتری ضمن داشتن مقاومت بالا، دارای مکانیسم های متعددی برای بقا در محیط‌های بیمارستانی می‌باشد (۴). میزان مرگ و میر توسط اسینتوباکتربومانی در بخش‌های مختلف بیمارستان متغیر است. این ارگانیسم مسبب ۵۴ درصد از عفونت های پنومونی مرتبط با ونتیلاتور در بخش مراقبت‌های ویژه بوده و در سایر بخش‌های بیمارستانی نیز موجب ۵ درصد از عفونت‌های بیماران بستری می باشد (۵).

سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۹ با توجه به گزارشات از وجود مقاومت آنتی بیوتیکی بالا در سویه های MDR اسینتوباکتربومانی، این ارگانیسم را به عنوان تهدیدی بزرگ برای سلامتی انسان‌ها مطرح کرده و طی بیانیه‌ای به عنوان یک اولویت، تولید و ساخت آنتی بیوتیک‌های جدید را ضروری اعلام نموده است (۶). از طرف دیگر نشان داده شده که اسینتوباکتر 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 آنتی بیوتیک‌های رایج مانند پنی سیلین ها و سفالوسپورین های نسل اول و دوم مقاوم می باشد (۷).

دستورالعمل‌های کنونی درمان عفونت‌های اسینتوباکتر بومانی به طور جدی تحت تأثیر چنین تمایل مقاومتی قرار گرفته و گزینه‌های درمانی با آنتی بیوتیک را نسبتاً محدود می کند (۸). در این راستا اعلام شده که درمان بالینی با ایمی پنم برای پنومونی ونتیلاتوری ناشی از اسینتوباکتر 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 پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها، کارباپنم ها و مونوباکتام ها) به طور تجربی در درمان عفونت های ناشی از اسینتوباکتربومانی تجویز می شوند (۱۱).

اما با توجه به اینکه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک انواع باکتری‌ها روز به روز در حال افزایش می‌باشند، لذا انتخاب آنتی بیوتیک مناسب در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های 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 کارباپنم از نوع OXA که در اسینتوباکتربومانی 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 استانبول جداسازی شده بود (۱۲). مطالعات انجام شده در ایران هم نشان می‌دهد که ژن bla OXA-51 در بسیاری از سویه‌های اسینتوباکتربومانی شناسایی گردیده است (۱۲و۱۳). 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 آنتی بیوتیک‌های گروه سفالوسپورین ها و کارباپنم‌ها در اسینتوباکتر 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 میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز منتقل گردید.

کشت میکروبی نمونه ها جهت جداسازی اسینتوباکتر بومانی

ابتدا نمونه‌ها بطور جداگانه، بر روی محیط‌های کشت بلاداگار و ائوزین 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

مذکور، گرمخانه‌گذاری 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 اسینتوباکتر 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 سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم) و ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) (شرکت Rosco، دانمارک) مطابق با آخرین به‌روزرسانی CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) در سال ۲۰۲۲ انجام شد (۱۶). برای انجام آنتی‌بیوگرام ابتدا یک کلنی خالص از باکتری اسینتوباکتر 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 سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. سپس با خط‌کش مدرج دقیق، قطر منطقه عدم رشد در اطراف هر دیسک، جداگانه اندازه‌گیری شد. سویه ATCC=25922 باکتری اشریشیا کلی هم به منظور کنترل کیفی آزمون انتخاب گردید. انتخاب آنتی بیوتیک مناسب در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها می‌بایست پس از انجام تست سنجش حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک صورت بگیرد (۱۰).

استخراج DNA

ابتدا از کشت خالص ۲۴ ساعته جدایه ها و با استفاده از کیت استخراج DNA باکتری‌های گرم منفی (شرکت ویراژن–ایران) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده، DNA کروموزومی جدایه‌های باکتری اسینتوباکتربومانی استخراج شده و برای استفاده در بررسی مولکولی، در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره شدند. به منظور بررسی کیفی DNA استخراج شده، عمل الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد، انجام شد. DNA استخراج شده با کمیت مطلوب، بر روی ژل، بصورت یک تک باند قوی دیده شد. همچنین جهت اطمینان از کیفیت DNA استخراج شده، جذب نوری آن در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و نسبت جذب نوری DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر به جذب نوری در طول موج ۲۸۰ نانومتر، معادل ۱/۲ تا ۱/۸ نشان دهند، مقدار DNA استخراجی، کافی برای انجام واکنش PCR بود.

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 ۱۰۰pmol/µl بدست آید. سپس از این محلول اولیه، محلولی با غلظت ۱۰pmol/ µl برای هر پرایمر بدست آمد که برای انجام واکنش PCR استفاده شد (جدول۱).

تایید مولکولی جدایه‌های اسینتوباکتر 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. (جدول۳و۲)

به منظور بررسی عملکرد بهینه واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR)، از سویه استاندارد باکتری اسینتوباکتربومانی (ATCC=19606)

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن‌های OXA-23 و OXA-48 اسینتوباکتر 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	

جدول۲. برنامه PCR برای ژن OXA-23

دناتوراسیون اولیه	دناتوراسیون 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	

جدول۳. برنامه PCR برای ژن OXA-48

دناتوراسیون اولیه	دناتوراسیون 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	

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 (Loading buffer 6×) 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 شد، تعداد ۵۰ ایزوله بالینی اسینتوباکتر 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 اسینتوباکتر بومانی با استفاده از نتایج تست‌های افتراقی که شامل تست‌های اکسیداز (منفی)، کاتالاز (مثبت)، همولیز (منفی)، SIM (منفی)، سیمون سیترات (مثبت)، رشد در EMB آگار (مثبت)، رشد در ۴۴ درجه سانتی‌گراد (مثبت)، ژلاتین (منفی)، KIA (Alk/Alk) و OF (OXI) انجام گردید و سویه ATCC 25922 Escherichia coli به عنوان سویه کیفی در این مطالعه استفاده گردید. میانگین سنی در گروه سنی مونث ۱۵/۸۰۸±۴۰/۰۳ با واریانس ۲۴۹/۸۹۹ و در گروه سنی مذکر ۱۸/۰۹۳±۴۶/۱۶ با واریانس ۳۲۷/۳۶۳ قرار داشتند. در زنان گروه های سنی ۳۹-۲۰ و ۵۹-۴۰ سال و در مردان گروه سنی ۵۹-۴۰ سال به عنوان گروه سنی پرخطر مشاهده شدند (جدول ۴). نمونه‌های اخذ شده از بخش‌های ICU داخلی ۱۳ نمونه (۲۶٪)، جراحی‌عمومی ۷ نمونه (۱۴٪)، سوختگی ۹ نمونه (۱۸٪)، CCU ۹ نمونه (۱۸٪)، بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان ۱۲ نمونه (۲۴٪) کشت مثبت اسینتوباکتر بومانی را داشتند.

جدول ۴. گروه سنی افراد مثبت از نظر آلودگی به اسینتوباکتر 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 اسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی بیوتیک ها

آنتی‌بیوتیک	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-23 و OXA-48 در سویه‌های مقاوم

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

ارزیابی نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی به روش دیسک دیفیوژن آگار

با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار حساسیت و مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها تعیین شد. در این مطالعه از دیسک‌های ایمی‌پنم، سفتازیدیم و مروپنم استفاده شد که در جدول ۵ بطور کامل نشان داده شده است که بیشترین فراوانی مقاومت در این مطالعه به آنتی بیوتیک سفتازیدیم با ۹۸ درصد و بیشترین فراوانی حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌مروپنم با ۱۶ درصد مشاهده گردید.

ارزیابی نتایج تست آنتی‌بیوگرام برحسب ژن‌های 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 (جدول۶).

بر اساس این مطالعه وجود ژن OXA-48 در نمونه های اسینتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارای ارتباط معناداری بود (P<0/001)، در حالی‌که وجود ژن OXA-23 در نمونه های اسینتوباکتر بومانی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارتباط معنا داری را نشان نداد (P=0/75).

نتایج PCR

در این مطالعه از روش مولکولی PCR، از ۵۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی جهت بررسی وجود ژن‌های 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 (شکل۲).

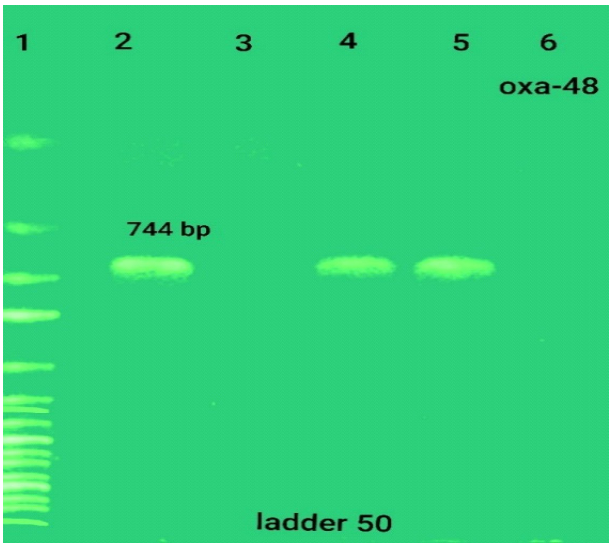
بحث

در مطالعه حاضر از مجموع ۵۰ نمونه کشت مثبت اسینتوباکتر 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٪)، ایمی‌پنم با ۴۳ مورد (۸۶٪) و مروپنم با ۴۱ مورد (۸۲٪) به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم در این مطالعه شناخته شدند.

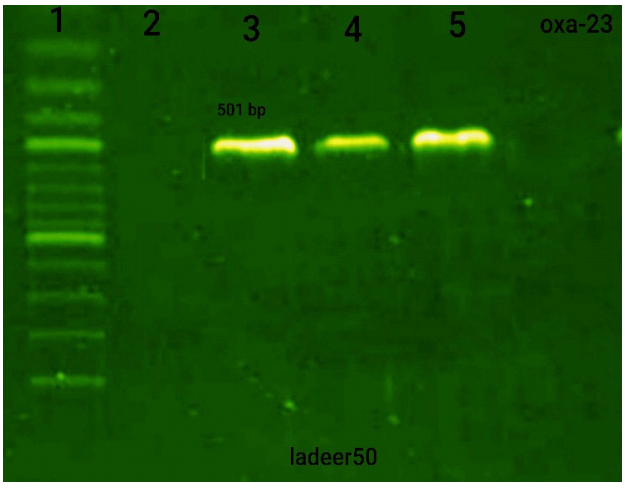
در مطالعه محمودی و همکاران، تعداد ۷۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی از بیماران بستری در بیمارستان جمع‌آوری گردید. با انجام آنتی بیوگرام به دو آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم میزان فراوانی مقاومت به ترتیب ۹۷/۴٪ و ۹۴/۷٪ گزارش گردید که در مطالعه حاضر میزان فراوانی مقاومت به ایمی‌پنم ۸۶٪ گزارش شد (۱۸).

در پژوهش باقری جوشقانی و همکاران، تعداد ۴۰ ایزوله بالینی اسینتوباکتر 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 پیپراسیلین، پیپراسیلین/تازوباکتام،سفتازیدیم، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، مروپنم، ایمی‌پنم، 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 اسینتوباکتر بومانی مقاوم به ابر آنتی بیوتیک ها می باشد که در مطالعه حاضر میزان فراوانی مقاومت به سفتازیدیم ۹۸٪، ایمی‌پنم ۸۶٪ و مروپنم با ۸۲٪ ثبت گردید که ارتباط مستقیمی با مطالعه باقری جوشقانی داشت (۱۹).

آینیو و همکاران در یک مطالعه گذشته‌نگر که در اتیوپی بین سال‌های ۲۰۱۸-۲۰۱۴ انجام داده بودند، مجموعا ۱۰۲ سویه از گونه‌های مختلف اسینتوباکتر جدا شده از نمونه‌های بالینی را مورد بررسی قرار



شکل ۱ . چاهک اول Ladder50bp، چاهک دوم کنترل مثبت اسینتوباکتر بومانی ATCC 19606، چاهک سوم کنترل منفی اشریشیاکلی 35922ATCC، چاهک چهارم و پنجم جدایه آسینتوباکتربومانی دارای ژن OXA-48 و چاهک ششم جدایه آسینتوباکتربومانی بدون ژن OXA-48



شکل 2. چاهک اول Ladder50bp، چاهک دوم کنترل منفی اشریشیا کلی ATCC25922، چاهک سوم کنترل مثبت اسینتوباکتر بومانی ATCC19606، چاهک چهارم و پنجم جدایه آسینتوباکتربومانی دارای ژن OXA-23

دادند. روند صعودی قابل توجه مقاومت ضد میکروبی برای مروپنم ۱۲/۵ تا ۶۰/۷٪، سفتازیدیم۸۲/۱ الی ۱۰۰٪، سیپروفلوکساسین۵۹/۴ الی ۷۴/۴٪، سفتریاکسون ۸۷/۱ تا ۹۸/۶٪، سفپیم ۸۰/۰ تا ۹۳/۳٪ و پیپراسیلین/تازوباکتام ۶۷/۸ تا ۹۶/۳٪ گزارش گردید (۲۰). افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به یک تهدید جهانی تبدیل شده است. خود درمانی با آنتی بیوتیک‌ها یکی از شایع ترین علل بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی 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 آنتی بیوتیکی در جمعیت های اکثر کشور ها 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 سال های ۹۱ و ۹۲ ،مجموعا تعداد ۱۲۱ نمونه مثبت اسینتوباکتر 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 سفتازیدیم با ۹۸ درصد و ایمی پنم با ۸۶٪ بود که از لحاظ آنتی بیوتیک ایمی پنم وجه

مشترکی در این دو مطالعه ملاحظه گردید (۲۲).
یکی از مهم‌ترین کارایی ژنتیکی اسینتوباکتر بومانی انعطاف پذیری ژنتیکی این باکتری می‌باشد که جهش ها و بازآرایی های سریع ژنتیکی را تسهیل می‌کند (۲۳). اسینتوباکتر بومانی به دلیل توانایی شگفت انگیزش در به دست آوردن مقاومت ضد میکروبی به یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌ها در مراقبت‌های بهداشتی مدرن تبدیل شده است (۲۴).
در مطالعه حاضر با بررسی ۵۰ سویه جداسازی شده از نمونه‌های بالینی، ۴۹ سویه اسینتوباکتر 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 ایمی‌پنم، ۱۰۰٪ (۴۱ سویه) به مروپنم و ۹۷/۹۵٪ (۴۸ سویه) به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند همچنین سویه‌های دارای ژن OXA-23 به ایمی پنم ۷۶/۷۴٪ (۳۳ سویه)، به مروپنم ۸۵/۳۶٪ (۳۵ سویه) و به سفتازیدیم ۷۳/۴۲٪ (۳۶ سویه) مقاوم بودند.
مطالعه اظهری و همکاران از ۷۹ ایزوله اسینتوباکتر بومانی برای بررسی وجود ژن‌های 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 مجموعا ۲۲۲ سویه اسینتوباکتر بومانی شناسایی شد که همه ایزوله ها ۱۰۰٪ دارای ژن‌های 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 نمونه‌ها ارتباط مستقیمی بین دو مطالعه وجود نداشت (۲۶).
در میان کاربانپم‌ها، ژن OXA-23 دارای شیوع بسیار بالاتری برای آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم نسبت به مروپنم، ارتاپنم یا دوری پنم می باشد (۲۷). علیرغم گردش نسبتاً پایین برای کاربانپم‌ها که توسط این آنزیم‌ها نشان داده می‌شود، به نظر می‌رسد 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 می‌کنند (۲۸). تولید OXA-23 توسط سویه اسینتوباکتر بومانی برای ایجاد مقاومت در برابر کاربانپم‌ها کافی می‌باشد. برخلاف برخی دیگر از کاربانپنمازهای نوع OXA، سویه‌ها به مکانیسم‌های مقاومت دیگری برای کار با OXA-23 برای مقاوم شدن به کاربانپم نیاز ندارند، اگرچه سطوح بالایی از مقاومت تنها زمانی به دست می‌آیند که مکانیسم‌های دیگری وجود داشته باشد (۲۹).
ال مکی و همکاران در خارطوم در مطالعه خود بر روی ۵۰ نمونه بالینی جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت هـایICU، ۴۷ ایزوله اسینتوباکتر بومانی را جداسازی کردند. با بررسی مولکولی ایزوله‌های اسینتوباکتر 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 اسینتوباکتر بومانی جداسازی شده از نمونه‌های بالینی که بین سال‌های ۲۰۱۳ الی ۲۰۱۴ جمع آوری شده بود، نشان دادند که تمامی ایزوله ها (۱۰۰٪) حاوی ژن OXA-51 بودند و بقیه ژن‌هـا به ترتیب OXA-23 (۹۸٪)، VIM (۴۹/۳٪)، NDM-1 (۱۸/۷٪)، OXA-58 (۲٪) و هیچ کدام از ایزوله‌ها 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 جمع‌آوری کردند که در تعداد ۳۸ سویه اسینتوباکتر بومانی تایید شد. شایع‌ترین کاربانپماز مرتبط با مقاومت ژن bla_{OXA} و سپس جدایه های bla_{NDM} و bla_{GES} در اسینتوباکتر بومانی بود. ژن های bla_{OXA-48} و bla_{OXA-23}، bla_{NDM} و bla_{OXA-51} bla_{NDM-1} و bla_{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٪) ۷۷/۵۵٪) OXA-23، مشاهده شد که این میزان فراوانی در این مطالعه نشان از مقاومت بالای اسینتوباکتر بومانی می‌باشد (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، ژن OXA-48 دارای خاصیت هیدروفوبیک نبوده و نشان می‌دهد مسئول هیدرولیز کاربانپم ها می‌باشد. 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 ویژگی‌ها نشان می‌دهند که OXA-48 یک مسیر تکاملی متفاوت از کاربانپنمازهای نوع OXA رایج در گونه‌های اسینتوباکتر را دنبال کرده است تا توانایی هیدرولیز کاربانپم‌ها را توسعه دهد (۳۶).
با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر و ارتباط بین ژن های مذکور با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و افزایش روزافزون این مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری ها و هم چنین افزایش مرگ و میر ناشی از عفونت های ایجاد شده توسط آن ها و مقایسه‌ی مطالعه

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 ضدمیکروبی 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 آنتی‌بیوتیک ها انجام گیرد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر در دوران پاندمی کووید-۱۹ شروع شد، بنابراین شیوع آنزیم‌های 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 آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت پیدا کرده، اسینتوباکتر 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 ایمی‌پنم، مروپنم و سفتازیدیم می‌پردازد که در این مطالعه از ۴۹ ایزوله اسینتوباکتر 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 آنتی بیوتیک سفتازیدیم، ایمی پنم 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 IR.IAU.TABRIZ.REC.1402.034 در سامانه پژوهشیار ثبت شده و بدینوسیله نویسندگان بر خود لازم می دانند تا از همه مسئولین و کارشناسان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و بیمارستان دولتی عالی نسب تبریز مخصوصا جناب اقای دکترشهبازی تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. 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.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. Bianco A, Quirino A, Giordano M, Marano V, Rizzo C, Liberto 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.

6. 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.

7. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clinical microbiology reviews. 2008 Jul;21(3):538-82.

8. 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.

9. 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.

10. 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.

11. Evans BA, Amyes SG. OXA β-lactamases. Clinical microbiology reviews. 2014 Apr;27(2):241-63.

12. Yousefi Nojookambari N, Sadredinamin M, Dehbanipour R, Ghalavand Z, Eslami G, Vaezjalali M, Nikmanesh B, Yazdansetad S. Prevalence of β-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.

13. 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).

14. 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.

15. 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).

16.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 β-lactamase and metallo-β-lactamase strain of Acinetobacter baumannii in ICU ward of Kashan Beheshti Hospital during 2013-14. Feyz 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 clinical specimens referred to the Ethiopian Public Health Institute: 2014 to 2018 trend anaylsis. PloS one. 2021 Apr 29;16(4):e0250896.

21. Mogharab V, Esmaealpour 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 adeAB 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 BAUMANNI 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 β-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 FromIntensive 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. Carrër 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, Aydin S, Yemişen M, Keleşoğlu FM, Ergul 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.