

## Research Paper

# Molecular Investigation of Resistance to Disinfectants in *Acinetobacter Baumannii* Isolates Collected From Qazvin Hospitals, Iran (2017)



Samaneh Keshavarz-Hedayati<sup>1</sup>, Reza Shapouri<sup>1</sup>, Narges Habibollah-Pourzeshki<sup>2</sup>, Reza Bigverdi<sup>3</sup>, Amir Peymani<sup>2\*</sup>

1. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
2. Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.
3. Department of Medical Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.



**Citation** Keshavarz-Hedayati S, Shapouri R, Habibollah-Pourzeshki N, Bigverdi R, Peymani A. Molecular Investigation of Resistance to Disinfectants in *A. cinetobacter Baumannii* Isolates Collected From Qazvin Hospitals, Iran (2017). The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2019; 23(1):2-13. <https://doi.org/10.32598/JQUMS.23.1.2>

**doi** <https://doi.org/10.32598/JQUMS.23.1.2>



Received: 26 Sep 2018

Accepted: 11 Mar 2019

Available Online: 01 Apr 2019

### Keywords:

*A. cinetobacter baumannii*, Disinfectants, Multidrug resistance, *qacE*, *qacEΔ1*

## ABSTRACT

**Background** *A. cinetobacter baumannii* is an important agent of nosocomial infections. There are several reports on the presence of disinfectants-resistant *A. cinetobacter baumannii* developed by *qacE* and *qacEΔ1* genes in medical centers.

**Objective** The current study aimed to assess the relevant antimicrobial susceptibility and to determine the frequency of genes encoding resistance to disinfectants in *A. baumannii* isolates.

**Methods** In the current cross-sectional study, 141 *A. baumannii* were collected from hospitals in Qazvin Province, Iran. All bacterial isolates were identified using standard laboratory methods and by the presence of the *bla*<sub>OXA-51-like</sub> gene. The antimicrobial susceptibility was determined by the standard Kirby-Bauer Test. Furthermore, the presence of *qacE* and *qacEΔ1* genes was investigated using polymerase chain reaction and sequencing techniques.

**Findings** In total, 133 (94.32%) isolates suggested a Multidrug Resistance (MDR) pattern; 84 (59%) and 24 (17%) isolates harbored *qacEΔ1* and *qacE* genes, respectively. There was a significant association between the presence of resistance genes and MDR patterns (P=0.001).

**Conclusion** The obtained results indicated a significant rate of resistance against disinfectants in *A. cinetobacter baumannii* isolates among the studied hospitals; thus, more attention should be paid to the infection control committees of medical centers.

## Extended Abstract

### 1. Introduction

**A** *cinetobacter baumannii* is one of the major causes of hospital infections. The important feature of this organism is its intrinsic drug resistance or high tendency to obtain various resistance factors against the antibiotics used in the hospital [4]. According to studies, the resistance

of this organism to antimicrobials and antiseptic agents is increasing as we see the emergence of *A. cinetobacter* species with multidrug resistance (MDR) patterns in health care centers which simultaneously exhibit resistance to at least three important antibiotic classes of  $\beta$ -lactam, aminoglycoside, and fluoroquinolone [2, 3].

The effective use of disinfectants, such as the quaternary ammonium compounds is a major contributor to the prevention of hospital infections. These compounds are salts

\* Corresponding Author:

Amir Peymani

Address: Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Tel: +98 (28) 33337006

E-Mail: a.peymani@gmail.com

containing nitrogen atom and four free radicals with antimicrobial activity and can lose their activity in  $\text{pH} < 3$  [5]. In recent years, there have been numerous reports of the presence of *A. baumannii* isolates resistant to common disinfectants in treatment centers, which is determined by *qacE* and *qacEΔ1* genes. The *qacEΔ1* gene is a mutant version of the *qacE* gene that is widely distributed throughout Gram-negative bacteria as it is located on 3'-conserved area of the class 1 integrons and acts as one of the genes that cause multiple drug resistance [9, 10].

About half of the class 1 integrons contain a gene resistant to quaternary ammonium compounds as a factor involved in resistance to disinfectants [7, 8]. This study, while analyzing the antibiotic susceptibility pattern, investigates the frequency of *qacE* and *qacEΔ1* genes as disinfectant resistance genes in *A. baumannii* isolates collected from hospitalized patients in different departments of hospitals in Qazvin, Iran.

## 2. Materials and Methods

This descriptive study with the cross-sectional design was conducted during 2016-2017. A total of 141 *A. baumannii* isolates were collected from patients hospitalized in different hospitals in Qazvin. All isolates were identified by standard biochemical and microbiological tests. Identification of *A. baumannii* was confirmed by amplification of the *bla*<sub>OXA-51-like</sub> gene using Polymerase Chain Reaction (PCR).

The antibiotic susceptibility patterns of all isolates were analyzed by using Kirby-Bauer test based on the instructions of Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) and using the antibiotics of amoxicillin-clavulanic acid, ceftazidime, gentamicin, amikacin, imipenem, cefotaxime, ciprofloxacin, and tetracycline antibiotics [13]. We used *A. baumannii* strain ATCC 19606 to control the susceptibility test.

For examining the presence of *qacE* and *qacEΔ1* genes using PCR method, first, the DNA was extracted using the relevant kits based on instructions in a final volume of 20 mL. To identify sequences of isolated genes to confirm their presence, PCR products were sent to MacroGen, Inc. (Seoul, Korea). Then, a possible relationship between the presence of resistance genes and MDR patterns was evaluated using the Chi-squared Test at a significance level of 0.05.

## 3. Results

The antibiotic susceptibility test results showed that most of the isolates were resistant to amoxicillin-clavulanic acid ( $n=127$ , 89.2%) followed by gentamicin and cefotaxime

( $n=126$ , 88.3%). Moreover, most of them were susceptible to amikacin ( $n=17$ , 12.6%) and ceftazidime ( $n=11$ , 8.3%). In total, 133 (94.32%) isolates were resistant simultaneously to the three antibiotic classes. Also, their MDR pattern showed that out of 133 isolates, 84 (59%) harbored *qacEΔ1* and 24 (17%) *qacE* genes, while 49 (40%) and 109 (82%) isolates did not harbor *qacEΔ1* and *qacE* genes, respectively. There was a significant association between the presence of resistance genes and MDR patterns ( $P=0.001$ ).

## 4. Conclusion

Based on the results, 94.32% of *A. baumannii* isolates showed MDR patterns. It seems that the inappropriate and excessive use of broad-spectrum antibiotics and the lack of proper infection control strategy are the main reasons for the emergence of MDR isolates in different healthcare centers [15]. The highest drug resistance was reported for amoxicillin-clavulanic acid, cefotaxime, and gentamicin antibiotics, respectively, while amikacin and ceftazidime were the most effective drugs against *A. baumannii* isolates. Moreover, *qacE* and *qacEΔ1* genes were highly present in *A. baumannii* isolates of the studied treatment centers. Obviously, these microorganisms contribute to the development of various infections and the increase in mortality rates, especially in hospitalized patients. Therefore, the identification of these isolates is of particular importance.

To control the resistance of this bacterium to the antiseptic compounds, we recommend the proper use of these disinfectants in the standard concentrations by the authorities and manufacturing companies.

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

In all stages of the study, ethical guidelines and confidentiality of the received information were observed. The Research Ethics Committee of Qazvin University of Medical Sciences approved this study (Ethical Code: 10371).

### Funding

This paper was extracted from an MS of Samaneh Keshavarz-Hedayati, Department of Microbiology, School of Basic Science, Zanzan Branch, Islamic Azad University.

### Authors' contributions

Formal analysis and project administration: Amir Peymani; Data collection, microbiology and molecular tests, and draft

preparation: Samaneh Keshavarz-Hedayati; Data curation and writing: Narges Habibollah-Pourzereshki; Project management consultancy: Reza Shapouri and Reza Bigverdi; Final draft preparation: all authors.

#### Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Acknowledgements

The authors would like to thank the management and staff of Medical Microbiology Research Center of Qazvin University of Medical Sciences for their valuable cooperation.

## بررسی مولکولی مقاومت نسبت به عوامل ضد عفونی کننده در ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های شهر قزوین (۱۳۹۶)

سمانه کشاورز هدایتی<sup>۱</sup>، رضا شاپوری<sup>۱</sup>، نرگس حبیب‌اله پورزرشکی<sup>۲</sup>، رضا بیگ‌وردی<sup>۳</sup>، \*امیر پیمانی<sup>۲</sup>

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۲- مرکز تحقیقات میکروپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

۳- گروه میکروپزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

### چکیده

تاریخ دریافت: ۰۵ دی ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: ۲۰ اسفند ۱۳۹۷

تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۳۹۸

**زمینه/اسینتوباکتر بومانی** یکی از عوامل مهم ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی است. در سال‌های اخیر، گزارشات فراوانی مبنی بر حضور ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم در برابر مواد ضد عفونی کننده در مراکز درمانی داده شده است که با ژن‌های *qacEΔ1* و *qacE* صورت می‌گیرد.

**هدف** مطالعه حاضر ضمن بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، به تعیین فراوانی ژن‌های کدکننده مقاومت نسبت به ترکیبات ضد عفونی کننده در جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* می‌پردازد.

**مواد و روش‌ها** در این مطالعه توصیفی مقطعی، ۱۴۱ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* از بیمارستان‌های شهر قزوین جمع‌آوری شدند. تمام جدایه‌ها با استفاده از آزمون‌های استاندارد آزمایشگاهی و حضور ژن *bla<sub>OXA-51-like</sub>* تأیید هویت شدند. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با انجام آزمون استاندارد کربی بائر سنجیده شد. سپس ایزوله‌ها از نظر حضور ژن‌های *qacE* و *qacEΔ1* با استفاده از آزمون‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و تعیین توالی بررسی شدند.

**یافته‌ها** در این مطالعه، ۱۳۳ (۹۴/۳۲ درصد)، الگوی مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند که ۲۴ (۱۷ درصد) ژن *qacE* و ۸۴ (۵۹ درصد) ژن *qacEΔ1* داشتند. در این مطالعه، بین حضور ژن‌های مقاومت مطالعه‌شده و الگوهای مقاومت دارویی چندگانه ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ( $P=0/001$ ).

**نتیجه‌گیری** نتایج حاصل از این مطالعه، حاکی از حضور قابل توجه مقاومت نسبت به ترکیبات ضد عفونی کننده در جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* بیمارستان‌های مطالعه‌شده است که توجه ویژه به آن در کمیته‌های کنترل عفونت مراکز درمانی ضروری است.

### کلیدواژه‌ها:

*اسینتوباکتر بومانی*،  
مواد ضد عفونی کننده،  
مقاومت دارویی  
چندگانه، *qacE*  
*qacEΔ1*

### مقدمه

مقاومت دارویی چندگانه<sup>۱</sup> منجر شده است، که به طور هم‌زمان نسبت به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی از جمله داروهای بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها و فلوکینولون‌ها مقاومت نشان می‌دهند [۳].

مقاومت ذاتی دارویی یا تمایل زیاد آن در کسب عوامل مختلف مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی در بیمارستان از ویژگی‌های قابل توجه این ارگانیزم است [۴]. ترکیبات چهارگانه آمونیومی<sup>۲</sup> نمک‌هایی حاوی اتم ازت و چهار رادیکال آزاد هستند

*اسینتوباکتر بومانی* یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های فرصت طلب مرتبط با عفونت‌های بیمارستانی است [۱]. این ارگانیزم در بین افراد بستری در بخش مراقبت‌های ویژه شایع است و در ایجاد عفونت‌های دستگاه تنفس، مجاری ادراری، مننژیت، باکتری می و سپتیسمی نقش دارد [۲]. در سال‌های اخیر گونه‌های *اسینتوباکتر* نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند. استفاده بیش از حد از مواد ضد میکروبی به پدید آمدن سویه‌هایی با الگوی

1. Multiple Drug Resistance (MDR)  
2. Quaternary ammonium compounds

### \* نویسنده مسئول:

امیر پیمانی

نشانی: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات میکروپزشکی

تلفن: +۹۸ ۳۳۳۳۷۰۰۶ (۲۸)

رایانامه: a.peymani@gmail.com

برای جلوگیری از گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی ضروری است. بنابراین، این مطالعه ضمن بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، به تعیین فراوانی ژن‌های *qacE* و *qacEΔ1* به عنوان ژن‌های مقاومت در برابر مواد ضد عفونی کننده از جمله ترکیبات چهارگانه آمونیومی در جدایه‌های اسپیتوباکتر بومانی جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های آموزشی شهر قزوین می‌پردازد.

### مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به صورت توصیفی مقطعی از مهر ماه سال ۹۵ تا مهر ماه سال ۹۶ انجام شد. در مجموع، تعداد ۱۴۱ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی، از بخش‌های مختلف برخی بیمارستان‌های آموزشی شهر قزوین (ولایت و بوعلی) و از نمونه‌های بالینی مختلف از جمله ادرار، خون، تراشه و زخم جمع‌آوری شدند.

جدایه‌ها با استفاده از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبی‌شناسی شامل رنگ آمیزی گرم، بررسی میکروسکوپی، کشت روی محیط مکانیکی آگار، ناتوانی تخمیر لاکتوز، اکسیداز منفی، تولید نشدن پیگمان، ایجاد نشدن تحرک روی محیط SIM<sup>۳</sup> و الگوی قلیایی/قلیایی روی محیط TSI<sup>۴</sup> (ساخت شرکت مرک آلمان) تا حد جنس، تعیین هویت شدند. سپس برای تأیید گونه اسپیتوباکتر بومانی، از تکثیر ژن *bla*<sub>OXA51-like</sub> از طریق آزمون PCR استفاده شد. جدایه‌های اسپیتوباکتر بومانی در محیط TSB<sup>۵</sup> با ۲۰ درصد گلیسرول در دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد ذخیره شدند.

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی تمامی جدایه‌ها بر اساس دستورالعمل مؤسسه استانداردهای آزمایشگاه بالینی و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی، کوآموکسی کلاو، سفنازیدیم، جنتامایسین، آمیکاسین، ایمی پنم، سفوتاکسیم، سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین (شرکت Mast، انگلستان) انجام شد [۱۳].

جدایه‌های باکتریایی که همزمان به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی بتالاکتام، آمینوگلیکوزید و کینولون مقاوم بودند، به عنوان

3. Sulfide Indole Motility
4. Triple Sugar Iron
5. Trypticase Soy Broth

که فعالیت ضد میکروبی، بدون بو و رنگ دارند. این ترکیبات در محیط خنثی و قلیایی فعال ترند و در pH کمتر از ۳ فعالیت خود را از دست می‌دهند [۵].

بسیاری از مواد ضد عفونی کننده در بیمارستان‌ها و مراکز پزشکی استفاده می‌شود که مقاومت به این ترکیبات با ژن‌های *qacA*، *qacE* و *smr* کد می‌شود [۵]. این ژن‌ها عامل مقاومت به رنگ‌های آلکیل کننده مانند اتیدیوم بروماید و ترکیبات چهارگانه آمونیومی مانند بنزالکونیوم کلراید هستند. ژن‌های مقاومت نسبت به مواد ضد عفونی کننده مانند *qac B*، *qacA*، *smr* و *qacF* اغلب از باکتری‌های گرم مثبت جدا شده‌اند، اما سه ژن *qacEΔ1*، *qacE* و *emrE* با باکتری‌های گرم منفی کد می‌شوند [۶]. کلاس‌های اینتگرونی ۱، ۲ و ۳ اهمیت زیادی در انتقال ژن‌های مقاومت دارند. حدود نیمی از اینتگرئون‌های کلاس ۱، ژن مقاومت در برابر ترکیبات چهارگانه آمونیومی را حمل می‌کنند که به عنوان عامل مهم مقاومت در برابر این ترکیبات شناخته شده است [۷، ۸].

ژن *qacEΔ1* یک نسخه جهش یافته از ژن *qacE* است که به علت قرار گرفتن در ناحیه محافظت شده<sup>۳</sup> اینتگرئون کلاس یک به طور گسترده در باکتری‌های گرم منفی توزیع شده است و به عنوان ژن انتقال دهنده مقاومت دارویی چندگانه عمل می‌کند. [۹، ۱۰].

مطالعات نشان می‌دهند ارتباط نزدیکی بین افزایش مقاومت نسبت به ترکیبات چهارگانه آمونیومی و حضور ژن *qac* وجود دارد. در واقع علت اصلی مقاومت در برابر بیشتر مواد آنتی‌سپتیک به خاطر حضور ژن *qac* است [۱۱]. استفاده مداوم و نامناسب از این ترکیبات در مراکز درمانی، باعث القای هرچه بیشتر ژن‌های مقاومت به مواد بیوسایدی در باکتری‌ها و ایجاد مقاومت در آن‌ها شده است. بنابراین با توجه به مقاومت بالای جدایه‌های اسپیتوباکتر بومانی به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین افزایش مقاومت به ترکیبات ضد عفونی کننده در آن‌ها، درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری امروزه با مشکل جدی مواجه شده است [۱۲].

به این دلیل، شناسایی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های جمع‌آوری شده از مراکز درمانی در هر منطقه جغرافیایی

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده برای جداسازی ژن‌های *qacE* و *qacEΔ1* در جدایه‌های اسپیتوباکتر بومانی

ژن	توالی پرایمر	سایز (bp)*
<i>qacE</i>	F: ATGAAAGGCTGGCTT R: TCACCATGGCGTCGG	۳۰۰
<i>qacEΔ1</i>	F: TAGCGAGGGCTTACTAAGC R: ATTCGAAATGCCGAACACCG	۳۲۵

\* Base pair

ژن‌های مطالعه شده با استفاده از نسخه ۱۸ نرم افزار SPSS انجام شد. ارتباط احتمالی بین حضور ژن‌های مقاومت و الگوی مقاومت دارویی چندگانه با استفاده از آزمون استاندارد مجذور کای انجام شد که با قبول سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

در این مطالعه، جدایه‌های *اسیتوباکتر بومانی* به ترتیب از نمونه‌های تراشه، ۵۸ درصد؛ ادرار، ۱۶ درصد؛ خون، ۹ درصد؛ خلط، ۹ درصد و زخم، ۶ درصد و از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، ۶۰ درصد؛ داخلی، ۱۸ درصد؛ عفونی، ۱۲ درصد؛ جراحی اعصاب، ۴ درصد و جراحی، ۲ درصد جمع‌آوری شدند. در مجموع ۶۳ درصد از زنان و ۳۶ درصد از مردان جداسازی شدند.

محدوده سنی بیماران ۲۹ تا ۷۹ سال بود که میانگین سنی آن‌ها  $54 \pm 11$  سال تعیین شد. بررسی نتایج الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن آگار<sup>۷</sup> نشان داد بیشترین میزان مقاومت در ایزوله‌های *اسیتوباکتر بومانی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین / کلانولیک اسید ۱۲۷ جدایه (۸۸/۲) درصد) و سفوتاکسیم و جنتامیسین ۱۲۶ جدایه (۸۸/۳) درصد) و بیشترین میزان حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین ۱۷ جدایه (۱۲/۶) درصد) و سفتازیدیم ۱۱ جدایه (۸/۳) درصد) بود (جدول شماره ۲).

در مجموع ۱۳۳ جدایه (۹۴/۳۲) درصد، همزمان نسبت به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند و الگوی مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند که از این تعداد ۲۴ جدایه (۱۷) درصد از نظر حضور

ایزوله‌هایی با الگوی مقاومت دارویی چندگانه در نظر گرفته شدند. در این آزمون از سویه استاندارد *اسیتوباکتر بومانی* ATCC 19606 برای کنترل انجام آزمون استفاده شد.

در ادامه تمام جدایه‌ها از نظر حضور ژن‌های *qacE* و *qacEΔ1* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به روش PCR بررسی شدند (جدول شماره ۱). ابتدا استخراج DNA با استفاده از کیت (شرکت Bioneer، کره جنوبی) و بر اساس دستورالعمل مربوطه انجام شد. سپس واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، شامل ۸ میکرولیتر Master Mix (آمپلیکون، شرکت ادنسه دانمارک)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر فوروارد و ریورس، ۱۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱ میکرولیتر DNA الگو انجام شد [۱۱].

تکثیر ژن‌های *qacE* و *qacEΔ1* جداگانه و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystems، ساخت کشور آمریکا) و تحت شرایط زیر انجام شد:

دمای واسرشت<sup>۸</sup> اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل حرارتی شامل دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال اختصاصی هر پرایمر به مدت ۱ دقیقه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در پایان دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. محصولات PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز (۱ درصد) و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با دستگاه ژل داگ (UVtec، ساخت شرکت انگلستان) مشاهده و بررسی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری با تعیین میانگین فراوانی و درصد

### 7. Disk agar diffusion

### 6. Denatoration

جدول ۲. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اسیتوباکتر بومانی* مطالعه شده

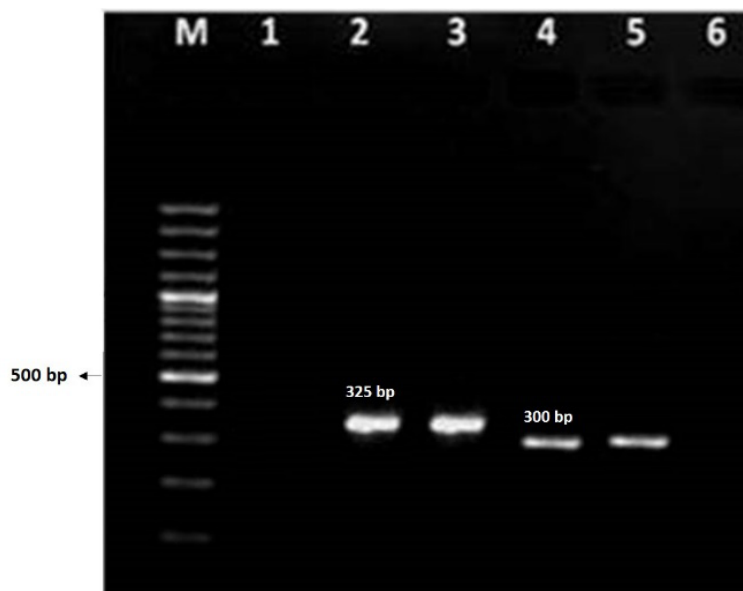
آنتی‌بیوتیک	تعداد (درصد)		
	مقاوم	مقاومت حد واسط	حساس
سیپروفلوکساسین	۱۲۲(۸۵/۴)	۱۲(۹/۲)	۷(۵/۳)
تتراسایکلین	۱۲۵(۸۷/۶)	۸(۶/۲)	۸(۶/۲)
جنتامیسین	۱۲۶(۸۸/۳)	۸(۶/۲)	۷(۵/۳)
سفتازیدیم	۱۲۰(۸۴)	۱۰(۷/۷)	۱۱(۸/۳)
آمیکاسین	۱۰۹(۷۶/۲)	۱۵(۱۱/۵)	۱۷(۱۲/۶)
آموکسی‌سیلین / کلانولیک اسید	۱۲۷(۸۹/۲)	۶(۴/۶)	۸(۶/۲)
ایمی پنم	۱۲۲(۸۵/۴)	۹(۶/۸)	۱۰(۷/۷)
سفوتاکسیم	۱۲۶(۸۸/۳)	۷(۵/۳۲)	۸(۶/۲)

جدول ۳. فراوانی ژن های *qacE* و *qacEΔ1* در میان ۱۴۱ ایزوله/سینتوباکتر بومانی بر حسب نمونه های بالینی و بخش های بیمارستان های مطالعه شده

تعداد (درصد)		بخش های بیمارستانی
<i>qacE</i>	<i>qacEΔ1</i>	
۱۴(۵۸)	۵۰(۵۹)	مراقبت های ویژه
۵(۲۰)	۱۶(۱۹)	داخلی
۳(۱۲)	۱۱(۱۳/۱)	عفونی
۱(۴)	۳(۳)	جراحی اعصاب
۱(۴)	۳(۳)	جراحی
نمونه های بالینی		
۱۳(۵۴)	۴۹(۵۸)	تراشه
۷(۲۹)	۱۶(۱۹)	ادرار
۲(۸)	۷(۸)	خون
۱(۴)	۷(۸)	خلط
۱(۴)	۵(۵)	زخم

(شکل شماره ۱). همان طور که در جدول شماره ۳ آمده است، هر دو ژن مطالعه شده اغلب از نمونه های تراشه و ادرار و از بخش های مراقبت های ویژه و داخلی جداسازی شدند. در ادامه با انجام آزمون آماری، ارتباط معنی داری بین حضور ژن های مقاومت و الگوی

ژن *qacE* و ۸۴ جدایه (۵۹ درصد) از نظر حضور ژن *qacEΔ1* مثبت بودند. این در حالی است که ۱۰۹ جدایه (۸۲ درصد) با الگوی مقاومت دارویی چندگانه از نظر حضور ژن *qacE* و ۴۹ جدایه (۴۰ درصد) از نظر حضور ژن *qacEΔ1* منفی گزارش شدند



شکل ۱. نتایج مربوط به الکتروفورز ژن های *qacE* و *qacEΔ1* ستون M مارکر (۱۰۰ bp)، ستون ۱: کنترل منفی (سینتوباکتر بومانی ATCC 19606)، ستون های شماره ۲ و ۳: نمونه بالینی حاوی ژن *qacEΔ1*. ستون های شماره ۴ و ۵: نمونه های بالینی حاوی ژن *qacE* و ستون شماره ۶: کنترل آزمون (بدون DNA الگو)

مقاومت دارویی چندگانه مشاهده شد ( $P=0/001$ ).

## بحث و نتیجه گیری

در سال‌های اخیر به سبب افزایش روزافزون مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف شاهد حضور سویه‌هایی از *اسینتویاکتر بومانی* با الگوی مقاومت دارویی چندگانه هستیم که از اقصی نقاط جهان گزارش می‌شود [۱۴].

استفاده بیش از حد و تجویز نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از مهم‌ترین دلایل افزایش شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه در این ارگانیزم است که متعاقب آن سبب افزایش مرگ‌ومیر بیماران می‌شود [۱۵].

افزایش مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی و محدودیت گزینه‌های درمانی، مشکلی جدی در مراکز درمانی به‌ویژه در بخش‌های مراقبت ویژه است که سلامت و اقتصاد کشور را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۶]. مطالعات اپیدمیولوژیک و مقایسه نتایج آنتی‌بیوگرام نشان می‌دهد مقاومت دارویی در ایزوله‌های بالینی در نقاط مختلف دنیا و یا حتی بین بیمارستان‌های مختلف یک ناحیه متفاوت است و عوامل محیطی، الگوهای مختلف تجویز و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در ایجاد و تنوع این تفاوت‌ها نقش بسزایی دارد [۱۷].

با توجه به حضور و انتشار این ارگانیزم مقاوم در مراکز درمانی، ترکیبات چهارگانه آمونیومی به عنوان مؤثرترین ترکیبات آنتی‌سپتیک برای ضد عفونی استفاده می‌شوند. همزمان با افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها در مراکز درمانی، شیوع باکتری‌های مقاوم به ترکیبات ضد عفونی‌کننده نیز در حال افزایش است. در کشور ما مطالعات اندکی درباره اثربخشی ترکیبات چهارگانه آمونیومی در مراکز درمانی انجام شده است [۱۸، ۱۹].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد ۹۴ درصد از جدایه‌های *اسینتویاکتر بومانی* الگوی مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند. حضور جدایه‌های *اسینتویاکتر بومانی* با الگوی مقاومت دارویی چندگانه در دیگر مطالعات انجام شده در ایران نیز گزارش شده است. صالحی و همکاران فراوانی جدایه‌های *اسینتویاکتر بومانی* با الگوی مقاومت دارویی چندگانه را ۹۷ درصد گزارش کردند [۲۰]. در مطالعه حاتمی و همکاران، ۸۴ درصد از جدایه‌های *اسینتویاکتر بومانی* مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند [۲۱].

در دیگر نقاط جهان، در مطالعه ماراکی<sup>۸</sup> و همکاران در یونان، ۹۲/۸۹ درصد از جدایه‌های بالینی *اسینتویاکتر بومانی* الگوی مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند که با مطالعه ما همخوانی دارد [۲۲]. ژانگ<sup>۹</sup> و همکاران در چین فراوانی جدایه‌های

*اسینتویاکتر بومانی* با الگوی مقاومت دارویی چندگانه را ۳۳ درصد گزارش کردند که شیوع بسیار پایین‌تری نسبت به مطالعه ما دارد [۲۳]. به نظر می‌رسد که استفاده نامناسب و بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌های با طیف گسترده و استفاده از راهکار مناسب کنترل عفونت، دلایل اصلی ظهور جدایه‌های الگوی مقاومت دارویی چندگانه در بخش‌های مختلف درمانی است.

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد بیشترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی سیلین / کلاروتیک اسید (۸۹/۲ درصد)، سفوتاکسیم و جنتامایسین (۸۸/۳ درصد) بود. ملایری و همکاران در تهران گزارش دادند که ۱۰۰ درصد و ۹۴ درصد از جدایه‌های *اسینتویاکتر بومانی* در نمونه‌های بیماران مبتلا به عفونت بیمارستانی به ترتیب به سفوتاکسیم و جنتامایسین مقاوم بود [۲۴]. در مطالعه دیگری در اراک، ژاپنی‌نژاد و همکاران نشان دادند ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها به ترتیب به آموکسی سیلین / کلاروتیک اسید و سفوتاکسیم و ۹۰ درصد نسبت به جنتامایسین مقاوم بودند [۲۵].

در سایر کشورها، در دو مطالعه ای که در مصر توسط عبدالزهره و همکاران و الاقامی و همکاران انجام گرفت، ۱۰۰ درصد از ایزوله‌های *اسینتویاکتر بومانی* به آموکسی سیلین / کلاروتیک اسید و سفوتاکسیم مقاوم بودند [۲۶، ۲۷]. در یونان ماراکی و همکاران میزان مقاومت به سفوتاکسیم و جنتامایسین را در بین ایزوله‌های *اسینتویاکتر بومانی* به ترتیب ۹۶/۲ درصد و ۹۱/۵ درصد گزارش کردند [۲۲]. به نظر می‌رسد، دلیل اصلی تفاوت در میزان مقاومت در مناطق جغرافیایی مختلف در یک کشور به دلیل تنوع و گستردگی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با طیف گسترده در مراکز درمانی است. البته، عواملی مانند سن، شدت عفونت، پاسخ ایمنی مناسب بیمار، مدت‌زمان بستری در بیمارستان نیز بر حضور و بیماری‌زایی این میکروارگانیزم‌های مقاوم تأثیر گذار است.

در این مطالعه، آمیکاسین با ۱۲/۶ درصد، سفنازیدیم با ۸/۳ درصد، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در برابر ایزوله‌های *اسینتویاکتر بومانی* بودند. شریفی مقدم و همکاران در مشهد میزان حساسیت به آمیکاسین و سفنازیدیم را ۴۱/۳ و ۱۰/۸۷ درصد گزارش کردند [۲۸]. همچنین در مطالعه منیری و همکاران در کاشان، ۳ درصد از جدایه‌ها به آمیکاسین و سفنازیدیم حساسیت نشان دادند [۲۹]. حساسیت بالا به آمیکاسین در جدایه‌های *اسینتویاکتر بومانی* در مطالعات ماراکی و همکاران در یونان، آلتون<sup>۱۰</sup> و همکاران در ترکیه، کارلوسکی<sup>۱۱</sup> و همکاران در ایالات متحده آمریکا نیز گزارش شده است [۳۰، ۳۱].

در مطالعه حاضر ۱۷ درصد جدایه‌ها ژن *qacE* و ۶۳/۴ درصد جدایه‌ها ژن *qacEΔ1* داشتند. در مطالعه‌ای که محزونیه و همکاران در سال ۲۰۱۳ در شهر کرد بر روی جدایه‌های بالینی

10. Altun  
11. Karlowsky

8. Maraki  
9. Zhang



هدایتی در رشته میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان است.

### مشارکت نویسندگان

مدیریت و طراحی پروژه، تجزیه و تحلیل داده‌ها: امیر پیمانی؛ جمع‌آوری داده‌ها و آزمایش‌های میکروبیولوژی و مولکولی، نگارش پیش‌نویس مقاله: سمانه کشاورز هدایتی؛ کنترل داده‌ها، نگارش و کمک به تهیه پیش‌نویس مقاله: نرگس حبیب‌اله پورزرشکی؛ مشاوره پروژه: رضا شاپوری و رضا بیگ‌وردی؛ تأیید پیش‌نویس نهایی: همه نویسندگان.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

### سپاسگزاری

از کلیه مدیران و کارکنان مرکز تحقیقات میکروبیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین بخاطر همکاری ارزشمندشان تشکر می‌کنیم.

اسیتوباکتر بومانی جدا شده از بیمارستان سوختگی در استان اصفهان و تهران انجام دادند، ۴۰ درصد جدایه‌ها حامل ژن *qacE* و ۸۰ درصد جدایه‌ها حامل ژن *qacΔE1* بودند که فراوانی بیشتری را نسبت به مطالعه حاضر نشان داد [۱۱]. همچنین، در پژوهشی که بابایی و همکاران در سال ۲۰۱۵ برای تعیین شیوع ژن‌های مقاومت در برابر ترکیبات چهارگانه آمونیومی در میان ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی در کشور مالزی انجام دادند، ۷۳ درصد ایزوله‌ها حامل ژن *qacE* بودند [۳۲]. در دیگر کشورها، در مطالعه‌ای که کی یان<sup>۱۲</sup> و همکاران در سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴ در بیمارستانی در چین انجام دادند، ۶۱/۲ درصد از ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی حامل ژن *qacEΔ1* بودند [۳۳].

در مطالعه حاضر اکثر جدایه‌های مقاوم حاوی ژن‌های *qacE* و *qacEΔ1*، از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، داخلی و عفونی و از نمونه‌های تراشه و ادرار جداسازی شدند. به نظر می‌رسد شرایط خاص بخش‌های مراقبت‌های ویژه و به‌کارگیری ابزارهای تهاجمی از جمله کاتترهای ادراری در این بیماران زمینه‌ساز عفونت با این ارگانیزم‌های مقاوم باشد. همچنین تنوع در نحوه به‌کارگیری ابزارهای کنترل عفونت، نوع، میزان و غلظت مواد ضدعفونی‌کننده استفاده‌شده در بخش‌های مختلف بیمارستانی از دلایل دیگر مقاومت نسبت به این عوامل در محیط‌های درمانی است.

نتایج حاصل از این مطالعه، حاکی از حضور قابل توجه ژن‌های مقاومت نسبت به ترکیبات چهارگانه آمونیومی در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی در مراکز درمانی مطالعه‌شده است. با توجه به نقش مهم این میکروارگانیزم در ایجاد انواع عفونت‌ها و همچنین افزایش میزان مرگ‌ومیر خصوصاً در بیماران بستری در بخش‌های ویژه بیمارستانی، شناسایی این جدایه‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد. همچنین برای کنترل آلودگی و ایجاد مقاومت از طریق این باکتری، استفاده صحیح از ترکیبات بیوسایدی و در غلظت‌های توصیه‌شده از سوی شرکت‌های تولیدکننده و همچنین خودداری از مصرف بی‌رویه از این ترکیبات ضروری به نظر می‌رسد.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در تمام مراحل مطالعه، ملاحظات اخلاقی و حفظ محرمانه‌بودن اطلاعات گرفته‌شده رعایت شد. این مطالعه با شماره ۱۰۳۷۱ در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی قزوین مورد تأیید قرار گرفت.

#### حامی مالی

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم سمانه کشاورز

## References

- [1] Almaghribi MK, Joseph MR, Assiry MM, Hamid ME. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: An emerging health threat in Aseer Region, Kingdom of Saudi Arabia. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2018; 2018(9182747):1-4. [DOI:10.1155/2018/9182747] [PMID] [PMCID]
- [2] Ntusi NB, Badri M, Khalifeh H, Whitelaw A, Oliver S, Piercy J, et al. ICU-associated *Acinetobacter baumannii* colonisation/infection in a high HIV-prevalence resource-poor setting. *PLOS One*. 2012; 7(12):e52452. [DOI:10.1371/journal.pone.0052452] [PMID] [PMCID]
- [3] Dent LL, Marshall DR, Pratap S, Hulette RB. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: A descriptive study in a city hospital. *BMC Infect Dis*. 2010; 10:196. [DOI:10.1186/1471-2334-10-196] [PMID] [PMCID]
- [4] Wybo I, Blommaert L, De Beer T, Soetens O, De Regt J, et al. Outbreak of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in a Belgian university hospital after transfer of patients from Greece. *J Hosp Infect*. 2007; 67(4):374-80. [DOI:10.1016/j.jhin.2007.09.012] [PMID]
- [5] Gerba CP. Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application. *Appl Environ Microbiol*. 2015; 81(2):464-9. [DOI:10.1128/AEM.02633-14] [PMID] [PMCID]
- [6] Jiang X, Yu T, Liu L, Li Y, Zhang K, Wang H, et al. Examination of quaternary ammonium compound resistance in proteus mirabilis isolated from cooked meat products in China. *Front Microbiol*. 2017; 8:2417. [DOI:10.3389/fmicb.2017.02417] [PMID] [PMCID]
- [7] Gillings MR, Xuejun D, Hardwick SA, Holley MP, Stokes HW. Gene cassettes encoding resistance to quaternary ammonium compounds: a role in the origin of clinical class 1 integrons? *ISME J*. 2009; 3(2):209-215. [DOI:10.1038/ismej.2008.98] [PMID]
- [8] Fereshteh Eftekhari, Fatemeh Altayar, Hannan Khidaii, Plasmid-mediated class 1 and 2 integron carriage in drug-resistant nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Arch Clin Infect Dis*. 2018; 13(1):e57813. [DOI:10.5812/archcid.57813]
- [9] Kim CK, Lee Y, Lee H, Woo GJ, Song W, Kim MN, et al. Prevalence and diversity of carbapenemases among imipenem-nonsusceptible *Acinetobacter* isolates in Korea: Emergence of a novel OXA-182. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 68(4):432-8. [DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.014] [PMID]
- [10] Paulsen IT, Brown MH, Skurray RA. Proton-dependent multidrug efflux systems. *Microbiol Rev*. 1996; 60(4):575-608. [PMID] [PMCID]
- [11] Mahzounieh M, Khoshnood S, Ebrahimi A, Habibian S, Yaghoobian M. Detection of antiseptic-resistance genes in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* spp. isolated from burn patients. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. 2014; 9(2):e15402. [DOI:10.17795/jjnpp-15402] [PMID] [PMCID]
- [12] Fei Lin, Ying Xu, Yaowen Chang, Chao Liu, Xu Jia. Molecular Characterization of Reduced Susceptibility to Biocides in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol*. 2017; 8:1836. [DOI: 10.3389/fmicb.2017.01836] [PMID] [PMCID]
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2013.
- [14] Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist*. 2018; 11:1249-60. [DOI:10.2147/IDR.S166750] [PMID] [PMCID]
- [15] Ghafouri, M., Hashemi, S. A., Azimian, A., Garevani, T., Seyed Sharifi, SH. Evaluation of antibiotic resistance to bacteria isolated from patients with nosocomial infections hospitalized in Imam Reza in Bojnurd City in 2013. *Rafsanjan Univ Med Sci*, 14(7):599-610. [In Persian]
- [16] Huang Y, Zhou Q, Wang W, Huang Q, Liao J, Li J, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: Clinical efficacy of combined antimicrobial therapy and in vitro drug sensitivity test results. *Front Pharmacol*. 2019; 10:92. [DOI:10.3389/fphar.2019.00092] [PMID] [PMCID]
- [17] Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(8):1254-63. [DOI:10.1086/529198] [PMID]
- [18] Oggioni MR, Furi L, Coelho JR, Maillard JY, Martínez JL. Recent advances in the potential interconnection between antimicrobial resistance to biocides and antibiotics. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013; 11(4):363-6. [DOI:10.1586/eri.13.16] [PMID]
- [19] Shafaati M, Boroumand M, Nowroozi J, Amiri P, Kazemian H. Correlation between *qacE* and *qacEΔ1* efflux pump genes, antibiotic and disinfectant resistance among clinical isolates of *E. coli*. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*. 2016; 11(2):189-95. [DOI:10.2174/1574891X11666160815094718] [PMID]
- [20] Salehi B, Goudarzi H, Nikmanesh B, Hourri H, Alavi-Moghaddam M, Ghalavand Z. Emergence and characterization of nosocomial multidrug-resistant and extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Tehran, Iran. *J Infect Chemother*. 2018; 24(7):515-23. [DOI:10.1016/j.jiac.2018.02.009] [PMID]
- [21] Hatami R. The frequency of multidrug-resistance and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in west of Iran. *J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018; 1(1):4-8.
- [22] Maraki S, Mantadakis E, Mavromanolaki VE, Kofteridis DP, Samonis G. A 5-year surveillance study on antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from a tertiary Greek hospital. *J Infect Chemother*. 2016; 48(3):190-8. [DOI:10.3947/ic.2016.48.3.190] [PMID] [PMCID]
- [23] Zeng J, Zhang L, Gao M, Wu J, Wu H, Chen J, et al. Tigecycline treatment in an infant with extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Int J Infect Dis*. 2017; 61:23-26. [DOI:10.3947/ic.2016.48.3.190] [PMID] [PMCID]
- [24] Ostad Asadolah-Malayeri H, Hakemi-Vala M, Davari K. Role of *adrs* and *OXA23* genes among imipenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from two hospitals of Tehran, Iran. *Iran J Pathol*. 2016; 11(4):345-53. [PMID] [PMCID]
- [25] Japoni-Nejad A, Sofian M, Van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. Nosocomial outbreak of extensively and pan drug-resistant *Acineto-*

- bacter baumannii* in tertiary hospital in central part of Iran 2012. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6(8):e9892. [DOI:10.5812/jjm.9892]
- [26] Abdulzahra AT, Khalil MAF, Elkhatib WF. First report of colistin resistance among carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from hospitalized patients in Egypt. New Microbes New Infect. 2018; 26:53-8. [DOI:10.1016/j.nmni.2018.08.007] [PMID] [PMCID]
- [27] Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibl AM, El Kholy A. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. Int J Infect Dis. 2014; 22:49-54. [DOI:10.1016/j.ijid.2013.12.004] [PMID]
- [28] Abbasi Shaye M, Sharifmoghadam MR Bahreini M, Ghazvini K, Mafinezhad A, Amiri G. Study of the role of efflux pumps in amikacin-resistant *Acinetobacter* isolates from teaching hospitals of Mashhad, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2018; 11(4):1-7. [DOI:10.5812/jjm.12754]
- [29] Moniri R, Farahani RK, Shajari G, Shirazi MN, Ghasemi A. Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance in *acinetobacter* spp. with emergence of multidrug-resistant strains. Iran J Pub Health. 2010; 39(2):63-8. [PMID] [PMCID]
- [30] Altun HU, Yagci S, Bulut C, Sahin H, Kinikli S, Adiloglu AK, et al. Antimicrobial susceptibilities of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates with different genotypes. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(12):e13347. [DOI:10.5812/jjm.13347] [PMID] [PMCID]
- [31] Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahm DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47(5):1681-8. [DOI:10.1128/AAC.47.5.1681-1688.2003]
- [32] Babaei MR, Sulong A, Hamat RA, Nordin SA, Neela VK. Extremely high prevalence of antiseptic resistant Quaternary Ammonium Compound E gene among clinical isolates of multiple drug resistant *Acinetobacter baumannii* in Malaysia. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2015; 14:11. [DOI:10.1186/s12941-015-0071-7] [PMID] [PMCID]
- [33] Qian Y, Dong X, Wang Z, Yang G, Liu Q. Distributions and types of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in different departments of a general hospital. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(9):e22935. [DOI:10.5812/jjm.22935] [PMID] [PMCID]

---

This Page Intentionally Left Blank

---