

## Trabzon Fatih Devlet Hastanesinden İzole Edilen Klinik *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Araştırılması

Investigation of Antibiotic Resistance Genes in Clinical *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas.aeruginosa* Strains Isolated From Trabzon Fatih State Hospital

Esma AKYILDIZ<sup>1</sup>, Ayşegül SARAL SARIYER<sup>2</sup>, Tuba KÖSE<sup>3</sup>, Fatih Şaban BERİŞ<sup>4</sup>, Azer ÖZAD DÜZGÜN<sup>5</sup>

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilini araştırmak ve bu izolatlarda direnç genlerinin varlığını belirlemektir. Direnç genlerinin tespiti PCR yöntemi ile değerlendirildi. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında imipenem ve meropenem direnci sırasıyla %93,2 ve %91 olduğu görüldü. *P. aeruginosa* izolatlarında imipenem direnç oranı %53,9 ve meropenem direnç oranı %38,5 olarak belirlendi. *Pseudomonas aeruginosa* izolatları arasında aranan genlerden bir izolatta sadece OXA-23 tespit edildi. *Acinetobacter baumannii* izolatlarından bir izolatta OXA-24, 40 izolatta OXA-23 saptandı. Bu çalışma, CRPA (Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa*) ve CRAB (Karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii*) izolatlarında karbapenem direncinden OXA-23'ün sorumlu olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, Karbapenem, OXA-23, *Pseudomonas-aeruginosa*

### ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the antibiotic susceptibility profile of *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* isolates and to determine the presence of resistance genes in these isolates. The determination of resistance genes was assessed using the PCR method. Imipenem and meropenem resistance in *Acinetobacter baumannii* isolates were 93.2% and 91%, respectively. The imipenem resistance rate was 53.9% and meropenem resistance rate was 38.5% in *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Of the genes sought among *Pseudomonas aeruginosa* isolates, only OXA-23 was detected in one isolate. Among *Acinetobacter baumannii* isolates, OXA-24 was detected in one isolate and OXA-23 in 40 isolates. This study demonstrates that OXA-23 is responsible for carbapenem resistance in CRPA (carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*) and CRAB (carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*) isolates.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, Carbapenem, OXA-23, *Pseudomonas-aeruginosa*

Ethics committee decision no:23618724, This work is supported by the Scientific Research Project Fund of Gümüşhane University under the project number 18.F5119.03.02.

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Esma AKYILDIZ, Department of Nursing, Faculty of Health Sciences, Gumushane University, esma179541@hotmail.com, ORCID: 0000-0001-7175-5257

<sup>2</sup> Dr Öğr. Üyesi, Ayşegül SARAL SARIYER, Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Artvin Coruh University, asaral@artvin.edu.tr ORCID: 0000-0002-7757-6812

<sup>3</sup> Uzm. Dr., Tuba KÖSE, Microbiology Laboratory, Fatih State Hospital, dr.tubakose@hotmail.com, ORCID: 0000-0003-0267-8758

<sup>4</sup> Doç. Dr., Fatih Şaban BERİŞ, Department of Biology, Faculty of Art and Sciences, Recep Tayyip Erdoğan University, fatihberis@gmail.com, ORCID: 0000-0002-0535-943X

<sup>5</sup> Doç. Dr., Azer ÖZAD DÜZGÜN, Department of Occupational Health and Safety, Faculty of Health Sciences, Gumushane University, azerozad@windowslive.com, ORCID: 0000-0002-6301-611X

**İletişim / Corresponding Author:** Azer ÖZAD DÜZGÜN  
**e-posta/e-mail:** azerozad@windowslive.com

**Geliş Tarihi / Received:** 26.06.2022

**Kabul Tarihi/Accepted:** 18.03.2023

## GİRİŞ

*Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunan Gram negatif bir kokobasildir. *A. baumannii* laktozu fermente edemez ve güçlü çevresel uyumu ve ilaç direnci nedeniyle zatürre, endokardit, menenjit, cilt ve yara enfeksiyonları, peritonit ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere enfeksiyonlara neden olan başlıca patojenlerden biridir.<sup>1,2</sup> *A. baumannii*, birden fazla antibiyotik sınıfına direnç geliştirmede farklı mekanizmalar izler. Bu mekanizmalar,  $\beta$ -laktamazları, aminoglikozit değiştirici enzimleri, akış pompalarını, geçirgenlik kusurlarını ve hedef bölgelerin modifikasyonlarını içerir.<sup>3</sup> Hem oksasilinaz (OXA) tipi karbapenemazların hem de enzimatik olmayan mekanizmaların sentezindeki artış, karbapenemlere karşı direncin moleküler temelini oluşturmaktadır. OXA tipi karbapenemazlar OXA-51, OXA-23, OXA-24 ve OXA-58, *A. baumannii*'de karbapenem direncinde öne çıkmaktadır.<sup>4</sup> Ayrıca metallo- $\beta$ -laktamazlar (MBL'ler), *A. baumannii*'de yeni nesil sefalosporinlere ve karbapenemlere karşı dirence neden olur.<sup>5</sup> Çalışmalar, *A. baumannii*'de VIM, IMP ve GIM tipi MBL'lerin ortaya çıktığını ve NDM tipi beta laktamazların insidansında artış olduğunu bildirmiştir.<sup>6</sup>

Gram negatif, aerobik, çubuk şekilli bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda solunum sistemi, üriner sistem, dolaşım sistemi, dış kulak yolu, göz ve yara

enfeksiyonları gibi ciddi enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı bir patojendir. Birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir ve reçete edilen antibiyotiklere hızla direnç geliştirme yeteneği *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştırır.<sup>7,8</sup> *P. aeruginosa*'da görülen antimikrobiyal direnç mekanizmaları, kromozomal AmpC sefalosporinaz derepresyonu, plazmid veya integron aracılı  $\beta$ -laktamaz üretimi, azalmış dış membran geçirgenliği, aktif akış pompalarının aşırı ekspresyonu, aminoglikozit değiştirici enzimlerin sentezi, ve topoizomerez II ve IV'ün yapısal değişiklikleridir.<sup>9</sup> OXA-23, OXA-24, OXA-58 ve OXA-51, *A. baumannii*'de karbapenem direncinin önde gelen nedenleri<sup>10</sup> olmasına rağmen, dış membran protein kaybı, akış pompalarının aşırı ekspresyonu VIM ve IMP, *P. aeruginosa*'da karbapenem direncinin başlıca nedenleri arasındadır.<sup>10</sup> *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* gibi Gram negatif patojenler ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olurken, artan antibiyotik direnci tedavide zorluklara sebep olmaktadır. Bu nedenle bu patojenlerdeki direnç paternlerinin ortaya çıkarılması önemlidir.

Bu çalışma, Mart 2017-Mart 2018 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'nın antibiyotik duyarlılık profillerini araştırmak ve bu izolatlarda *bla*<sub>OXA-24</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-51</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> ve *qnrB* genlerinin varlığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Bakteriyel Suşlar ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Bakteriyel suşlar Mart 2017 ile Mart 2018 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nde klinik örneklerden (45 *A. baumannii* ve 26 *P. aeruginosa*) izole edilmiştir. İzolatların identifikasyonu klasik yöntemler kullanılarak ve VITEK 2 Compact

otomatik sistem (Biomeriux, Fransa) ile yapılmıştır.

İmipenem, meropenem, amikasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, siprofloksasin ve levofloksasin antibiyotikleri kullanılarak VITEK tarafından antimikrobiyal duyarlılık belirlenmiştir. Sonuçlar, Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'ne göre değerlendirilmiştir (EUCAST).<sup>11</sup>

## DNA İzolasyonu

Bakterilerden DNA izolasyonu, DNA kaynatma yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Bakteri kültürü, 3 mL Luria-Bertani besiyerinde üretildi ve 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi. Pelete 1 mL steril su ilave edildi ve süspansiyon ısı bloğunda 100 °C de 10 dakika kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 10 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlendi. Süpernatantlar PCR da kullanılmak üzere stoklandı.

## PCR İle Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti

PCR reaksiyonunda *bla<sub>OXA-51</sub>*, *bla<sub>OXA-23</sub>*, *bla<sub>OXA-24</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>GIM</sub>* ve *qnrB* primerleri (Tablo 1) kullanıldı. Reaksiyonlar, 5 uL reaksiyon tamponu, 3 uL 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 uL dNTP, her primerden 20 pM,

5 uL genomik DNA ve 1 U Taq DNA Polimeraz (GeneON) içeren 50 uL'lik son hacimde gerçekleştirildi. Tüm PCR ürünleri, 0,5 mg/mL etidyum bromür içeren %1 agaroz üzerinde analiz edildi ve ardından UV ışığı altında görüntülendi.

## Araştırmanın Etik Yönü

Bu araştırma Trabzon Kamu Hastaneler Birliği Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar etik Kurulu yönergesi kapsamında değerlendirilmiş, 08.11.2017 tarih ve 23618724 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır. Buna ek olarak çalışmanın yürütülebilmesi adına Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesinden ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinden gerekli izinler alınmıştır.

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Primerler

| Primer | 5'-3'  | Amplikon büyüklüğü | T <sub>m</sub> | Kaynaklar |
|--------|--|--------------------|----------------|-----------|
| OXA-23 | F: GATCGGATTGGAGAACCAGA<br>R: TTTCTGACCGCATTTCCAT              | 501                | 52             |           |
| OXA-24 | F: GGTTAGTTGGCCCCCTAAA<br>R: AGTTGAGCGAAAAGGGGATT              | 246                | 52             | 12        |
| OXA-51 | F: TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG<br>R: TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG | 353                | 52             |           |
| VIM    | F: ATTGGTCTATTTGACCGCGTC<br>R: TGCTACTCAACGACTGAGCG            | 780                | 58             | 13        |
| OXA-48 | F: TTGGTGGCATCGATTATCGG<br>R: AGCACTTCTTTTGATGATGCG            | 743                | 57             |           |
| GIM    | F: TCGACACACCTTGGTCTGAA<br>R: AACTTCCAACCTTGGCCATGC            | 477                | 52             | 14        |
| qnrB   | F: GGMATHGAAAATTCGCCACTG<br>R: TTTGCGYGYCGCCAGTCGAA            | 264                | 55             | 15        |

(Araştırılan genlerin primer sıraları, amplikon büyüklüğü ve T<sub>m</sub>'leri (primer erime sıcaklığı) Tablo 1 de gösterilmiştir.)

## BULGULAR VE TARTIŞMA

2017-2018 yılları arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden toplam 71 suş (26 *P. aeruginosa*, 45 *A. baumannii*) temin edilmiştir. Suşların antibiyotiklere karşı direnç profili VITEK sistemi kullanılarak belirlenmiş ve EUCAST'a (2017) göre değerlendirilmiştir. Amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, levofloksasin, meropenem, netilmisin ve tobramisin olmak üzere sekiz farklı antibiyotik kullanılmıştır.

*A. baumannii* izolatları arasında meropenem (41/45), netilmisin (42/45) tobramisin (20/45), amikasin (21/45), siprofloksasin (41/45), gentamisin (25/45), imipenem (42/45) ve levofloksasine (43/45) dirençlilik olduğu bulundu. *P. aeruginosa* izolatlarının tobramisine (4/26), amikasin (4/26), siprofloksasin (12/26), gentamisin (6/26), imipenem (14/26), levofloksasin (13/26), meropenem (10/26) ve netilmisin (10/26) karşı direnç gösterdiği gözlemlendi.

Şekil 1'de görüldüğü gibi *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç oranları *P. aeruginosa* izolatlarından daha yüksektir. *P. aeruginosa* izolatlarında imipenem antibiyotiğine karşı en yüksek direnç oranı gözlenirken, *A. baumannii* izolatları arasında en yüksek direnç oranı levofloksasine karşı olmuştur.

*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatlarında *bla*<sub>OXA-24</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> ve kinolon grubu antibiyotiklere dirençli suşlarda *qnrB* genlerinin varlığı PCR ile araştırıldı. *P. aeruginosa* izolatları arasında araştırılan genlerden bir izolatta sadece *bla*<sub>OXA-23</sub> tespit edildi. *bla*<sub>OXA-24</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>GIM</sub> ve

*qnrB* tipi β-laktamaz kodlayan genler saptanmadı. *A. baumannii* izolatlarından bir izolatta *bla*<sub>OXA-24</sub>, 40 izolatta ise *bla*<sub>OXA-23</sub> saptanmıştır.

*A. baumannii*, sağlık kurumlarında birçok antimikrobiyal sınıfa direnç geliştiren, çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) olmak üzere dünya genelinde hastane kaynaklı patojenlerin başında gelmektedir. Antibiyotiğe dirençli *A. baumannii* salgınları, ventilatör cihazlarından veya sağlık çalışanlarından çapraz enfeksiyon gibi bilinen kontaminasyon kaynaklarının bir sonucu olarak ortaya çıkar.<sup>2</sup> Karbapenem dirençli (CRAB) *A. baumannii*, *A. baumannii* izolatlarının önemli bir bölümünü oluşturur.

**Tablo 2. B-laktamaz Taşıyan İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri**

| İzolat numaraları   | Antibiyotik direnç profili           | Tanımlanan Beta laktamazlar |
|---|--------------------------------------|-----------------------------|
| P13   | IPM, MEM, AK, CN, NET, TOB, CIP, LEV | OXA-23                      |
| A9  | IPM, MEM, AK, CN, NET, TOB, CIP, LEV | OXA-24                      |
| A4, A25, A26, A14, A34, A18, A50, A51, A55, A68, A73, A77 | IPM, MEM, AK, CN, NET, TOB, CIP, LEV | OXA-23                      |
| A10   | IPM, MEM, CIP, LEV                   | OXA-23                      |
| A54   | MEM, AK, CIP                         | OXA-23                      |
| A6, A69   | IPM, MEM, AK, CIP                    | OXA-23                      |
| A7, A65   | MEM, CN, CIP                         | OXA-23                      |
| A72   | MEM, CIP                             | OXA-23                      |
| A2  | IPM, MEM, CN, NET, CIP, LEV          | OXA-23                      |
| A13, A58  | IPM, MEM, AK, CN, CIP                | OXA-23                      |
| A8, A16, A63  | MEM, AK, CN, CIP                     | OXA-23                      |
| A24, A29, A1, A36, A5, A47, A49, A57, A62, A70            | IPM, MEM, NET, CIP, LEV              | OXA-23                      |
| A15, A20, A31, A42, A48                                   | IPM, MEM, CN, NET, TOB, CIP, LEV     | OXA-23                      |

IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, CN: Gentamisin, NET: Netilmisin, TOB: Tobramisin, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, P: *P. aeruginosa* and A: *A. baumannii*

*A. baumannii*'de görülen karbapenem direnç oranları dünyanın bazı bölgelerinde %90'ı aşmaktadır. En yaygın CRAB enfeksiyonları olan hastane kaynaklı

pnömoni (HAP) ve kan dolaşımı enfeksiyonları (BSI) için ölüm oranları %60'a ulaşabilir.<sup>16</sup> *A. baumannii* gibi, *P. aeruginosa* da dünya çapında önde gelen

hastane kaynaklı patojenlerden biridir. Bu organizmanın neden olduğu enfeksiyonların tedavisi antibiyotik direnci nedeniyle zordur.<sup>9</sup>

Bu çalışmada, *A. baumannii* izolatlarının imipenem ve meropenem direnç oranları sırasıyla %93,2 ve %91 olarak belirlendi. Tüm izolatların %88,8'inde *bla*<sub>OXA-23</sub> pozitifliği saptandı ve bu izolatların %82,5'i imipenem ve meropenem dirençli olduğu görüldü (Tablo 2).

Zagazig Üniversite Hastaneleri yoğun bakım ünitesinde karbapenem dirençli (CR) *A. baumannii* izolatlarında karbapenemaz genleri karakterize edilmiş ve OXA-23 CR *A. baumannii* izolatlarının %66,7'sinde saptandığı bildirilmiştir.<sup>17</sup> Hindistan'da *A. baumannii* suşlarında karbapenem direnç oranlarının, OXA enzimleri *A. baumannii*'deki baskın karbapenemazlar olmak üzere, tüm ülke genelinde genel olarak %40'ı aştığı görülmüştür.<sup>18</sup> Pakistan'daki bir çalışmada *A. baumannii* izolatları arasında karbapenem direnci prevalansının %62 ile %100 arasında olduğu rapor edilmiştir.<sup>15</sup>

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi YBÜ'lerinde tanımlanan *A. baumannii* enfeksiyonlarının değerlendirildiği bir çalışmada imipenem direnci %98,9, meropenem direnci ise %98,9 olarak gözlenmiştir.<sup>20</sup> Türkiye'de 10 tıp merkezinde

yapılan çok merkezli prospektif bir çalışmada, altı ay boyunca, çalışmaya dahil edilen *A. baumannii* izolatlarının %99,4'ünün imipenem dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 172 izolatın 166'sının (%96,5) *bla*<sub>OXA-23</sub> pozitif olduğu bulunmuştur.<sup>21</sup>

*P. aeruginosa* izolatlarında *bla*<sub>OXA23</sub> ve *bla*<sub>OXA51</sub> genlerinin varlığı literatürde karşılaşılmayan bir bulgudur. Ambler sınıf D oksasilinaz (OXA) benzeri karbapenemazı kodlayan bu genler sıklıkla *A. baumannii*'de saptanır ve oksasilinlere, sefalosporinlere ve karbapenemlere karşı dirençle ilişkilidir.<sup>22-24</sup>

*bla*<sub>OXA-23</sub> genin *P. aeruginosa*'da varlığı 2021 yılında Nitz ve ark. tarafından ilk kez rapor edilmiştir. Bu çalışmada incelenen *P. aeruginosa* izolatları arasında *bla*<sub>OXA-23</sub> geni bulunduran suş (P13) tespit edilmiştir.<sup>22</sup>

Karbapenem dirençli *P. aeruginosa* (CRPA) ve karbapenem dirençli *A. baumannii* (CRAB) ülkemizde ve tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bakteriler, en yaygın olanı karbapenemaz üretimi olmak üzere çeşitli mekanizmalar aracılığıyla direnç kazanabilmektedir. Yapılan bu çalışma OXA-23'ün CRAB izolatlarında karbapenem direncinden sorumlu olduğunu göstermektedir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünyada ve ülkemizde özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere hastane kökenli enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkan *A. baumannii* ve yine dünya genelinde önemli bir patojen olan *P. aeruginosa*'nın antibiyotik direnç duyarlılık fenotiplerinin belirlenmesi ulusal sörveyans çalışmalarına katkı sağlayacaktır. Ulusal bağlamda elde edilen veriler akılcı antibiyotik kullanımı noktasında da önem arz etmektedir. Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar *A. baumannii* izolatlarının enfeksiyonların tedavisinde önemli olan karbapenem grubu antibiyotiklere karşı dirençli olduğunu ve bu

direncin özellikle sınıf A β-laktamaz grubuna dahil oksasilinazlardan OXA-23 tipi β-laktamazın neden olduğunu göstermektedir. Bu dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların üstesinden gelmek için antibiyotik direncinin paterni ve mekanizmalarının araştırılması tanı ve tedavide daha doğru uygulamaların yapılmasını kolaylaştırabilir. Gelecekteki çalışmalarda örnek sayısı artırılarak, farklı lokasyonlardan örnek toplayarak antibiyotik direnç paterni ile ilgili daha geniş kapsamlı sonuçlar ortaya konulabilir.



#### KAYNAKLAR

1. Wang, X. and Qin, L.J. (2019). "A review on *Acinetobacter baumannii*". *Journal of Acute Disease*, 8 (1), 16-20.
2. Özsoy, M, Sönmezer, M. and Kınıklı, S. (2019). "A recent problem at hospitals: treatment of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections". *Anadolu Güncel Tıp Dergisi*, 1 (2),37-41. <https://doi.org/10.38053/agt.526530>
3. Lee, C.R, Lee, J.H, Park, M, Park, K.S, Bae, I.K, Kim, Y.B, Cha, C.J, Jeong, B.C. and Lee, S.h. (2017). "Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options". *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*,13 (7), 55.
4. Demirci, M, Yigin, A, Demir, C. (2019). "Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında OXA Tipi Karbapenemaz Genlerinin Dağılımının Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemiyle İncelenmesi". *KLİMİK Journal*, 32, 123-126.
5. Davoodi, S, Boroumand, M.A, Sepehriseresht, S. and Pourgholi, L. (2015). "Detection of VIM-and IMP-type metallo-beta-lactamase genes in *Acinetobacter baumannii* isolates from patients in two hospitals in Tehran". *Iranian Journal of Biotechnology*, 13(1), 63-67.
6. Girija, S.A, Jayaseelan, V.P and Arumugam, P. (2018). "Prevalence of VIM-and GIM-producing *Acinetobacter baumannii* from patients with severe urinary tract infection". *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 65(4), 539-550.
7. Kal Çakmakhoğulları, E. and Kuru, C. (2019). "Antimicrobial Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* Strains: Evaluation in Different Sample Types". *ANKEM Journal*, 33 (2), 37-42.
8. Rocha, A.J, Barsottini, M.R.D.O, Rocha. R.R, Laurindo, V.M, Laurindo de Moraes, F.L and Rocha, S.L. (2019). "Pseudomonas aeruginosa: Virulence Factors and Antibiotic Resistance Genes". *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62, e19180503.
9. Strateva, T. and Yordanov, D. (2009). "*Pseudomonas aeruginosa*—a phenomenon of bacterial resistance". *Journal of Medical Microbiology*, 58(9), 1133-1148.
10. Petrova, A.P, Stanimirova, I.D, Ivanov. I.N, Petrov, M.M, Miteva-Katrandzhieva, T.M, Grivnev, V.I, Kardjeva, V.S, Kantardzhiev, T.V. and Murdjeva, M.A. (2017). "Carbapenemase production of clinical isolates *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from a Bulgarian University hospital". *Folia Medica*, 59 (4), 413-422.
11. EUCAST. (2017). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. In. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* Basel.
12. Woodford, N, Ellington, M.J, Coelho, J.M, Turton, J.F, Ward, M.E, Brown, S, Amyes, S.G.B. and Livermore, D.M. (2006). "Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter spp.*". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27 (4), 351-353.
13. Iraz, M, Özad Düzgün, A, Sandallı, C, Doymaz, M.Z, Akkoyunlu, Y, Saral, A, Peleg, A.Y, Özgümüş, O.B, Beriş, F.Ş, Karaoğlu, H. and Çopur Çiçek, A. (2015). "Distribution of  $\beta$ -lactamase genes among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients in Turkey". *Annals of Laboratory Medicine*, 35 (6), 595-601.
14. Ellington, M.J, Kistler, J, Livermore, D.M. and Woodford, N. (2007). "Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- $\beta$ -lactamases". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59 (2), 321-322
15. El-Badawy, M.F, Tawakol, W.M, El-Far, S.W, Maghrabi, I.A, Al-Ghamdi, S.A, Mansy, M.S, Ashour, M.S. and Shohayeb, M.M. (2017). "Molecular Identification of Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates Recovered from Egyptian Patients". *International Journal of Microbiology*, 2017, 8050432.
16. Isler, B, Doi, Y, Bonomo, R.A. and Paterson, D.L. (2019). "New treatment options against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63 (1), e01110-18.
17. Ramadan, R.A, Gebriel, M.G, Kadry, H.M. and Mosallem, A. (2018). "Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: characterization of carbapenemase genes and E-test evaluation of colistin-based combinations". *Infection and Drug Res*, 11, 1261-1269.
18. Kazi, M, Nikam, C, Shetty, A, Rodrigues, C. (2015). Dual-tubed multiplexPCR for molecular characterization of carbapenemases isolated among *Acinetobacter spp.* and *Pseudomonas spp.* *J Appl Microbiol* 118 (5), 1096-1102.
19. Hsu, L-Y, Apisarnthanarak, A, Khan, E, Suwantararat, N, Ghafur, A. and Tambyah, P.A. (2017). "Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae in south and southeast Asia". *Clinical Microbiology Reviews*, 30 (1), 1-22.
20. Güven, T, Yılmaz, G, Güner, H.R, Kalem, A.K, Eser, F. and Taşyaran, M.A. (2014). "Increasing resistance of nosocomial *Acinetobacter baumannii*: are we going to be defeated?" *Turkish Journal of Medical Science*, 44(1), 73-8.
21. Boral, B, Unaldi, Ö, Ergin, A, Durmaz, R, Eser, Ö.K. and *Acinetobacter* Study Group. (2019). "A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features". *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 18 (1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0319-8>
22. Nitz, F, de Melo, B.O, da Silva, L.C.N, de Souza Monteiro, A, Marques, S.G, Monteiro-Neto, V, de Jesus Gomes Turri, R, Junior, A.D.S, Conceição, P.C.R, Magalhães, H.J.C, Zagnignan, A, Ferro, T.A.F, Bomfim, M.R.Q. (2021). "Molecular Detection of Drug-Resistance Genes of blaOXA-23-blaOXA-51 and mcr-1 in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*". *Microorganisms*, 9 (4), 786.
23. Xiao, S.Z, Chu, H.Q, Han, L.Z, Zhang, Z.M, Li, B, Zhao, L, Xu, L. (2016). "Resistant mechanisms and molecular epidemiology of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*". *Molecular Medicine Reports*, 14 (3), 2483-8.
24. Castilho, S.R.A, Godoy, C.S.M, Guilarde, A.O, Cardoso, J.L, Andre, M.C.P, Junqueira-Kipnis, A.P, Kipnis, A. (2017). "Acinetobacter baumannii strains isolated from patients in intensive care units in Goiania, Brazil: Molecular and drug susceptibility profiles". *Plos One*, 12 (5), e0176790.