بررسی کلاس‌های مختلف اینتگرون و ژن‌های کد کننده مقاومت به کارباپنم در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه‌های زخم سوختگی

سمانه سعیدی[1]، محمدرضا عبدالصالحی[2]، محمود خدابنده[2]، آزاده الوندی منش[3]، اباذر پور نجف[4]، رمضان رجب نیا [5*]

[1] دپارتمان میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
[2] دپارتمان بیماری‌های عفونی کودکان، مرکز طبی کودکان، قطب علمی اطفال کشور، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[3] دپارتمان پاتولوژی، بیمارستان شفا، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
[4] دپارتمان میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
[5] مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۷/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۸

چکیده

مقدمه: اسینتوباکتر بومانی یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی بویژه در بیماران سوخته می‌باشد. در سال‌های اخیر، کارباپنم‌ها به‌عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی در درمان عفونت‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو موردتوجه قرارگرفته‌اند، اما ظهور سریع اسینتوباکتر بومانی‌های مقاوم به کارباپنم از سراسر دنیا گزارش گردید. هدف از مطالعه حاضر، بررسی کلاس‌های مختلف اینتگرون و ژن‌های کد کننده مقاومت به کارباپنم در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جداشده از نمونه‌های زخم سوختگی در بیمارستان شهید مطهری تهران می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، تعداد ۷۰ نمونه اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های زخم بیماران سوخته مراجعه‌کننده به بیمارستان مطهری جمع‌آوری شد. پس از شناسایی و تائید سویه‌ها، تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از آزمون انتشار از دیسک انجام شد. همچنین سویه‌های مولد متالوبتالاکتاماز با استفاده از تست‌های دیسک ترکیبی و E-test انجام شد. سویه‌های مولد blaKPC نیز با استفاده از تست تغییریافته هاج شناسایی شدند. درنهایت، به‌منظور بررسی ژنومی سویه‌ها، پس از استخراج DNA با استفاده از روش جوشاندن، واکنش PCR برای ژن‌های intI، intII، intIII، IMP، VIM، NDM، OXA-23-like، OXA-24-like، OXA-85-like، OXA-51-like و KPC انجام شد.

نتایج: در این مطالعه، تمامی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی به سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، پیپراسیلین و تریموتریم - سولفامتوکسازول مقاوم بودند. از میان ۶۷ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم، به ترتیب ۵۷ (۸۵/۱٪) و ۶۱ (۹۱٪) ایزوله در تست‌های فنوتیپی دیسک ترکیبی و E-test به‌عنوان مولد MBL در نظر گرفته شدند. ۴۴ (۶۵/۶٪)، ۲۱ (۳۱/۳٪) و ۱ (۱/۵٪) ایزوله به ترتیب برای ژن‌های blaVIM، blaIMP و blaNDM مثبت بودند. همچنین، ۵۲ (۷۷/۶٪) و ۲۷ (۴۰/۳٪) حامل ژن‌های OXA-23 و OXA-24 بودند. ۱۱ (۱۵/۷٪) ایزوله برای تولید KPC در تست هاج تغییریافته مثبت بودند اما تنها ۲۷/۳٪ (۳ سویه از ۱۱ ایزوله) سویه از حامل ژن blaKPC بود. همچنین، ۱۲ (۱۷/۱٪)، ۵۴ (۷۷/۱ ٪) و ۳ (۴/۳٪) ایزوله به ترتیب حامل ژن‌های intI، intII و intIII بودند.

نتیجه گیری: افزایش فراوانی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم در بیماران مبتلابه سوختگی نشان‌دهنده انتخاب یک رژیم مناسب آنتی‌بیوتیکی بر اساس الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها است. شناسایی سریع ایزوله‌های تولیدکننده کارباپنماز به‌منظور انتخاب گزینه‌های درمان آنتی‌بیوتیکی صحیح و جلوگیری از گسترش بیشتر این ژن‌ها کمک‌کننده است.

کلمات کلیدی: اینتگرون، ژن‌های کارباپنماز، اسینتوباکتر بومانی، تست تغییریافته هاج، سوختگی.

*نویسنده مسئول:
گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۰۹۱۱-۲۱۷۹۴۳۴
E-mail: ramazan69@yahoo.com

مقدمه

پوست اولین خط دفاع ذاتی در برابر تهاجم میکروبی و بزرگ‌ترین اندام خارجی بدن می‌باشد. سوختگی خسارت زیادی به پوست و عروق وارد کرده و همچنین می‌تواند باعث اختلال در سیستم ایمنی بدن شود.[۱] در ضایعات ناشی از سوختگی، عفونت‌ها از عوامل مهم مرگ‌ومیر محسوب می‌شوند به‌طوری‌که عفونت زخم سوختگی مسئول ۵۰ تا ۷۵ درصد مرگ‌ومیر است. علاوه بر این در بعضی موارد سبب بروز اسکار (جوشگاه)، افزایش نکروز بافتی، جلوگیری از پیوند عضو و در مواردی هم دبریدمان (قطع) عضو رخ می‌دهد.[۲]

اسینتوباکتر بومانی (*Acinetobacter baumannii*) یکی از پاتوژن‌های بااهمیت در مراکز بهداشتی است که باعث عفونت‌های متعدد شامل باکتریمی، پنومونی، مننژیت، عفونت‌های ادراری و زخم می‌شود.[۳] توانایی زنده ماندن در رنج گسترده‌ای از شرایط محیطی این پاتوژن را به یکی از عوامل شایع ایجاد عفونت در بیمارستان‌ها تبدیل کرده است. به همین دلیل، امروزه *اسینتوباکتر بومانی* تبدیل به یک پاتوژن مهم فرصت‌طلب در بیماران سوختگی در سراسر جهان تبدیل‌شده است. این باکتری دومین علت شایع بروز عفونت‌های بیمارستانی (HAIs) (Healthcare-associated infections) در بیماران سوخته در ایران است.[۴] در سال‌های اخیر، افزایش مقاومت در این ارگانیسم‌ها به‌ویژه بروز سویه‌های با مقاومت چند دارویی (MDR)(Multi drug resistance)، انتخاب درمان مناسب را در عفونت‌های شدید مانند آسیب‌های زخم سوختگی پیچیده نموده است.[۳] در سال‌های اخیر، کارباپنم‌ها به‌عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی در درمان عفونت‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو (MR-AB) (Multi-drug-resistant Acinetobacter baumannii) موردتوجه قرارگرفته‌اند، اما به‌سرعت ظهور و گسترش سریع *اسینتوباکتر بومانی‌های* مقاوم به کارباپنم از سراسر دنیا گزارش شد.[۵] در کشورهای درحال‌توسعه، مانند ایران، شیوع CR-AB (Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii) در بیماران بستری به‌ویژه در بخش سوختگی به‌عنوان یک مشکل فزاینده‌ای مطرح است.[۳و۴] مقاومت به کارباپنم‌ها (Carbapenems) در *اسینتوباکتر بومانی* می‌تواند درنتیجه ترکیبی از مکانیسم‌ها شامل؛ β-لاکتامازها، AmpC، کاهش نفوذپذیری غشای خارجی، جهش در پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین (PBP) و پمپ افلاکس باشد، اما مهم‌ترین آن‌ها شامل متالوبتالاکتامازها (کلاس B آمبلر) (Ambler class B)و β-لاکتامازهای نوع OXA (کلاس D آمبلر) (Ambler class D) هستند. متالوبتالاکتامازها (MBL) (Metallo-β-lactamase) که کارباپنمازهای وابسته به روی هستند شامل IMP، VIM، SPM، GIM، SIM، AIM، FIM، و NDM، توسط EDTA مهار می‌شوند. اگزاسیلینازها (OXAs) که توسط کلاوولانیک اسید یا EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) مهار نمی‌شوند، به شش خانواده تقسیم می‌شوند: OXA-23، OXA-24/40-like، OXA-51-like، OXA-58-like، OXA-143 و خانواده‌های OXA-182. به‌جز OXA-51 که بر روی کروموزوم کد می‌شود، مابقی آن‌ها پلاسمیدی هستند.[۶و۷]

کارباپنمازها دارای ظرفیت بالایی برای گسترش هستند، زیرا ژن‌های کد کننده آن‌ها معمولاً در پلاسمیدهای قابل‌انتقال حاوی اینتگرون‌ها و عناصر الحاقی (IS) یافت می‌شوند.[۵] اینتگرون‌ها (Integron)، قطعاتی از DNA هستند که می‌توانند کاست‌های ژنی حاوی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک را از طریق نوترکیب در مکان خاص به دست آورند و درنتیجه نقش کلیدی در پدیده‌های مقاومت چند دارویی در میان گونه‌های گرم منفی را بازی می‌کنند. این عناصر ژنتیکی با حضور سه جزء ضروری شناخته می‌شوند که شامل؛ یک اینتگراز (ژن *intI*)(Integras) ، *attI* (سایت نوترکیب) (Recombinant site) و *Pc* (پروموتر)(Promoter). شایع‌ترین نوع اینتگرون‌ها، کلاس I هستند و به دنبال آن اینتگرون‌های کلاس II و III می‌باشند.[۱۸] در سال‌های اخیر، گونه‌های *اسینتوباکتر بومانی* تولیدکننده MBL، OXA و KPC در ایران به‌طور چشمگیری افزایش‌یافته است که این امر منجر به افزایش نرخ مرگ‌ومیر، شکست درمانی، هزینه بالا و افزایش مدت‌زمان بستری بیماران می‌گردد.[۹] لذا هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی کلاس‌های مختلف اینتگرون (کلاس I، II و III) و ژن‌های کد کننده مقاومت به کارباپنم (MBLs، KPC و OXA) در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه‌های زخم سوختگی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و جداسازی باکتری

در این مطالعه توصیفی-مقطعی (Cross-sectional study) که در یک بازه زمانی ۷ ماهه از ابتدای بهمن ۱۳۹۵ لغایت انتهای مرداد ۱۳۹۶ در بیمارستان شهید مطهری (تهران) انجام شد، تعداد ۷۰ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری گردید. پس از انتقال پلیت‌های میکروبی به آزمایشگاه میکروب‌شناسی، تمامی نمونه‌ها با استفاده از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی ازجمله رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز و کاتالاز، اکسیداسیون گلوکز، دکربوکسیلاسیون لیزین، هیدرولیز آرژنین، سیمون سیترات، اکسیداسیون/تخمیر (O/F)، TSI، SIM و اوره شناسایی شدند. برای تائید *اسینتوباکتر بومانی* از PCR برای ژن bla_{OXA-51} استفاده شد. تمام جدایه‌ها در لوریا-برتانی براث (Merck، Frankfurt، Germany) حاوی ۲۰٪ گلیسرول (v/v) در دمای ۸۰°C- برای استفاده بیشتر نگهداری شدند. از سویه استاندارد *اسینتوباکتر بومانی* ATCC 19606 به‌عنوان یک کنترل مثبت در این مطالعه استفاده شد.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی

آزمون حساسیت به آنتی‌بیوتیک با استفاده از روش انتشار از دیسک (DAD) (Disk agar diffusion method) و مطابق با استانداردهای موسسه بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) (M100-S14 (Clinical and Laboratory Standards Institute))،[10] بر روی محیط مولر-هینتون آگار (Merck Co.، Germany) برای ۱۲ مورد از عامل ضد میکروبی: لووفلوکساسین (LEV؛ ۵ میکروگرم)؛ سفتازیدیم (CAZ؛ ۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (CTX؛ ۳۰ میکروگرم)، پیپراسیلین/تازوباکتام (TZP؛ ۱۰/۱۰۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (IPM، 10 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (CIP؛ ۵ میکروگرم)، کلیستین (CL، 10 میکروگرم)، توبرامایسین (TOB؛ ۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (GM؛ ۱۰ میکروگرم)، پیپراسیلین (PIP؛ ۱۰۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (TET؛ ۳۰ میکروگرم) و تریموتریم-سولفامتوکسازول (SXT؛ ۵ میکروگرم) (MAST Diagnostics، Merseyside، UK) انجام شد. سویه‌های MDR (مقاوم در برابر داروهای چندگانه)، XDR (مقاوم در برابر داروهای وسیع الطیف) (Extensively drug-resistance) و PDR (مقاوم به همه آنتی‌بیوتیکی‌ها) (Pandrug-resistant) بر اساس دستورالعمل‌های مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC) (Centers for Disease Control and Prevention) شناسایی شدند.[11] کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) (minimum inhibitory concentration) برای ایزوله‌های مقاوم به کلستین، پلی‌میکسین B و ایمی‌پنم با آزمون E-test و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده (Liofilchem SRL، ایتالیا) تعیین گردید.

شناسایی فنوتیپی متالوبتالاکتاماز

برای شناسایی سویه های مولد MBL، آزمون فنوتیپی دیسک ترکیبی (CDDT) (Combine disk diffusion test) انجام شد. به‌طور خلاصه، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند بر روی محیط مولر-هینتون آگار (Merck، CO، Germany) کشت داده شد. سپس، دو دیسک IPM بر روی محیط مولر-هینتون آگار قرار داده شد و ۱۰ میکرولیتر محلول بازدارنده MBL (0.5M EDTA) به یک دیسک اضافه شد تا غلظت دلخواه ۷۵۰ میلی‌گرم حاصل شود. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۵ درجه سلسیوس، قطر هر هاله در اطراف دو دیسک اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه شد. اگر تفاوت ناحیه مهاری بین دیسک IPM و دیسک IPM-EDTA بیشتر یا مساوی با ۷ میلی‌متر باشد، آن ایزوله به‌عنوان مولد MBL در نظر گرفته می‌شود. همچنین تست E-test برای سویه های مولد MBL با استفاده از نوارهای IPM (غلظت بین ۴ تا ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و نوار IPM/EDTA (IMD) (غلظت از ۱ تا ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) (Liofilchem SRL، Roseto degli Abruzzi، ایتالیا) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام می‌شود. این آزمون زمانی که نسبت IPM/IMD ≥ 8 μg/L باشد مثبت در نظر گرفته می‌شود.[12]

تست تغییریافته هاج (MHT)

برای شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده کارباپنماز مطابق با دستورالعمل CLSI آزمون هاج تغییریافته (Modified Hodge test) انجام شد. در این روش، ابتدا سوسپانسیونی از باکتری استاندارد اشرشیا کلی ATCC25922 که معادل غلظت 0/5 مک

فارلند بود، تهیه گشت و به کمک نرمال سالین به غلظت 0/1 مک فارلند رسانیده شد. سپس با استفاده از سواب استریل در سطح محیط مولر هینتون آگار به‌صورت چمنی کشت داده شد و دیسک آنتی‌بیوتیکی ارتاپنم ۱۰ µg در مرکز محیط قرار داده شد.در مرحله بعد، از باکتری‌های جداشده‌ی مشکوک به وجود آنزیم کارباپنماز، به کمک سواب از لبه‌ی پلیت به‌صورت یک خط مستقیم کشیده شد و درنهایت، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند. سویه های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز باعث می‌شوند که هاله عدم رشد اطراف دیسک مرکزی به‌صورت برگ شبدری شکل درآید؛ درحالی‌که سویه های منفی تغییری در این هاله به وجود نمی‌آورند.[۱۲]

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

استخراج DNA با استفاده از روش جوشاندن (Boiling method) انجام شد. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در این مطالعه در جدول ۱ ذکرشده است. پس از (Basic Local BLAST Alignment Search Tool) پرایمرهای انتخاب‌شده در سایت NCBI (National Center for Biotechnology Information)، واکنش PCR(Polymerase chain reaction) به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵/۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/µl)، MgCl2(3 mM) و dNTPs (0.4mM)، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۱ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱۰/۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) برای ۳۰ سیکل به صورت زیر انجام گرفت؛ با انتخاب برنامه مرتبط به‌صورت ذیل عمل گردید: گام اول واسرشت (Denaturation) ثانویه ۹۴ درجه سانتی گراد ۵۰ ثانیه، گام دوم اتصال آغازگر (Annealing) ۵۶ درجه برای ۳۰ ثانیه، گام سوم بسط اولیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۲ دقیقه و یک بسط(Extension) نهایی ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. برای مشاهده نتیجه تکثیر هر یک از ژن‌های موردمطالعه، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ در شرایط ۱۵۰ ولت در بافر TBE×10 تجاری (Fermentase) انجام شد.

جدول ۱: آغازگرهای مورداستفاده در این پژوهش

Genes	Primer sequences (5′→3′)	Product size (bp)	References
intI	F=5′-GGTGTGGCGGGCTTCGTG-3′ R=5′-GCATCCTCGGTTTTCTGG-3′	457	۱۳
intII	F=5′CACGGATATGCGACAAAAAGGT -3′ R=5′-GTAGCAAACGAGTGACGAAATG -3′	789	۱۴
intIII	F=5′-GCCTCCGGCAGCGACTTTCAG -3′ R=5′-ACGGATCTGCCAAACCTGACT -3′	980	
IMP	F=5′- TGAGCAAGTTATCTGTATTC-3′ R=5′- TTAGTTGCTTGGTTTTGATG-3′	740	۱۵
VIM	F=5′- AAAGTTATGCCGCACTCACC-3′ R=5′- TGCAACTTCATGTTATGCCG-3′	815	
NDM	F=5′- GGTTTGGCGATCTGGTTTTC-3′ R=5′- CGGAATGGCTCATCACGATC-3′	627	۱۶
OXA-23-like	F=5′- GATCGGATTGGAGAACCAGA-3′ R=5′- ATTTCTGACCGCATTTCCAT-3′	501	
OXA-24-like	F=5′- GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA-3′ R=5′- AGTTGAGCGAAAAGGGGATT-3′	246	
OXA-85-like	F=5′- AAGTATTGGGGCTTGTGCTG-3′ R=5′- CCCCTCTGCGCTCTACATAC-3′	599	
OXA-51-like	F=5′- TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3′ F=5′- TGG ATTGCACTTCATCTTGG-3′	353	۱۷
KPC	F=5′- CTTGCTGCCGCTGTGCTG -3′ R=5′- GCAGGTTCCGGTTTTGTCTC -3′	489	۱۸

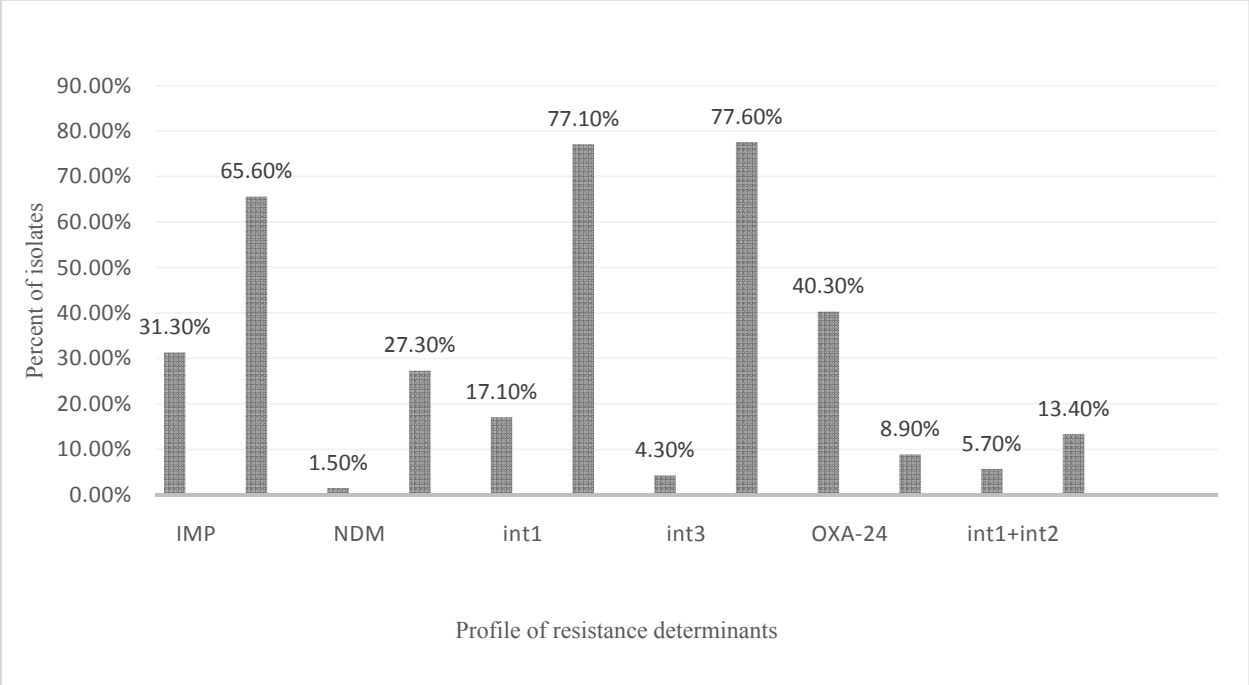
نتایج

به‌طورکلی، ۷۰ نمونه غیرتکراری از زخم سوختگی ۳۲ (۴۵/۷٪) بیمار زن و ۳۸ (۵۴/۳٪) بیمار مرد بستری در مرکز درمانی شهید مطهری تهران جمع‌آوری گردید. میانگین سنی بیماران مطالعات انجام‌شده ۸/۵ سال و با دامنه‌ای بین ۱۵ تا ۶۸ سال بود. نتایج آزمایش‌های حساسیت ضد میکروبی ۷۰ جدایه در جدول ۲ نشان داده‌شده است. همه ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* به سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، پیپراسیلین و تریموتریم – سولفامتوکسازول مقاوم بودند. تعداد ۶۸ ایزوله (۹۷/۱٪) و ۱۱ ایزوله (۱۵/۷٪) به ترتیب به‌عنوان MDR و XDR در نظر گرفته شدند و هیچ سویه‌ای از PDR در این مطالعه جدا نشد. علاوه بر این ۶۷ ایزوله (۹۵/۷٪) در هر دو روش انتشار از دیسک و E-test به ایمی‌پنم مقاوم بودند. نتایج نشان داد که کلیستین (از خانواده لیپوپپتیدها) دارای بهترین اثر ضد میکروبی بر روی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* هستند.

از میان ۶۷ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم، به ترتیب ۵۷ (۸۵/۱٪) و ۶۱ (۹۱٪) ایزوله در تست‌های فنوتیپی دیسک ترکیبی (CDDT) و E-test به‌عنوان مولد MBL در نظر گرفته شدند. همه ایزوله‌های مولد MBL دارای فنوتیپ MDR بودند. ۴۴ (۶۵/۶٪)، ۲۱ (۳۱/۳٪) و ۱ (۱/۵٪) ایزوله به ترتیب برای ژن‌های *blaVIM*، *blaIMP* و *blaNDM* مثبت بودند. همچنین، حضور هم‌زمان ژن‌های *blaIMP* و *blaVIM* در ۶ (۸/۹٪) ایزوله به اثبات رسید. تنها ۶ ایزوله که در تست دیسک دیفیوژن آگار به ایمی‌پنم مقاوم بودند، ازنظر تولید فنوتایپ MBL هر دو روش CDDT و E-test منفی بودند. در این مطالعه، تمام ایزوله‌ها دارای β–لاکتاماز *OXA-51* بودند. از ۶۷ جدایه مقاوم به کارباپنم، ۵۲ (۷۷/۶٪) و ۲۷ (۴۰/۳٪) حامل ژن‌های *OXA-23* و *OXA-24* بودند. ۹ (۱۳/۴٪) ایزوله به‌طور هم‌زمان برای ژن‌های *OXA-23* و *OXA-24* مثبت بودند. تمامی *اسینتوباکتر بومانی*‌های مقاوم به کارباپنم برای OXA-58 منفی بودند. ۱۱ (۱۵/۷٪) ایزوله برای تولید KPC در تست هاج تغییریافته مثبت بودند و مولد هاله برگ شبدری بودند، اما تنها ۲۷/۳٪ (۳ سویه از ۱۱ ایزوله) سویه از حامل ژن *blaKPC* بود. به‌طورکلی ۶۷ (۹۵/۷٪) ایزوله حامل ژن اینتگرون بودند. آنالیز مولکولی کلاس‌های مختلف اینتگرون نشان داد که ۱۲ (۱۷/۱٪)، ۵۴ (۷۷/۱) و ۳ (۴/۳٪) ایزوله به ترتیب حامل ژن‌های *intI*، *intII* و *intIII* بودند. همچنین، ۴ (۵/۷٪) ایزوله به‌طور هم‌زمان حامل اینتگرون‌های کلاس I و II بودند (نمودار ۱).

جدول ۲: پروفایل حساسیتی سویه‌های تحت مطالعه

عامل ضد میکروبی	تعداد (٪) پروفایل حساسیت ضد میکروبی		
	حساس	نیمه حساس	مقاوم
سیپروفلوکساسین	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۷۰ (۱۰۰)
سفوتاکسیم	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۷۰ (۱۰۰)
سفتازیدیم	۱(۱/۴)	۰(۰/۰)	۶۹ (۹۸/۶)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۱(۱/۴)	۱(۱/۴)	۶۸ (۹۷/۱)
ایمی‌پنم	۳ (۴/۳)	۰(۰/۰)	۶۷ (۹۵/۷)
پیپراسیلین	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۷۰ (۱۰۰)
توبرامایسین	۱(۱/۴)	۴ (۵/۷)	۶۵ (۹۲/۸)
تتراسیکلین	۲ (۲/۸)	۳ (۴/۳)	۶۵ (۹۲/۸)
کلیستین	۶۹ (۹۸/۶)	۰(۰/۰)	۱(۱/۴)
جنتامایسین	۲ (۲/۸)	۰(۰/۰)	۶۸ (۹۷/۱)
لووفلوکساسین	۴ (۵/۷)	۲ (۲/۸)	۶۴ (۹۱/۴)
کوتریموکسازول	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۷۰ (۱۰۰)



نمودار ۱: پروفایل ژن‌های تحت مطالعه

بحث

در مطالعه پیش‌رو، تمامی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* به سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، پیپراسیلین و تریمتوریم-سولفامتوکسازول مقاوم بودند. علاوه بر این ۹۵/۷٪ ایزوله‌ها در هر دو روش انتشار از دیسک و E-test به ایمی‌پنم مقاوم بودند. در مطالعه جعفری و همکاران مقاومت ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* به سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم به ترتیب ۷۷/۷٪ و ۴۰/۹٪ بود.[۱۹] در مطالعه‌ای از کاشان در سال ۱۳۸۶ مقاومت به ایمی‌پنم ۲۵٪ گزارش شد.[۲۰] همچنین، مقاومت به کارباپنم‌ها در مصر ۷۰ ٪ [۲۱] و در نیجریه ۶۴/۳٪ [۲۲] گزارش‌شده است. به‌طورکلی بر اساس مطالعات انجام‌گرفته شده، به دلیل تفاوت در سطح کیفی برنامه‌های حساسیت ضد میکروبی، الگوی مصرفی آنتی‌بیوتیکی، موقعیت جغرافیایی و عوامل محیطی، مقاومت ضد میکروبی متفاوت در بین سویه های *اسینتوباکتر بومانی* در هر کشور و یا مناطق جغرافیایی مختلف و حتی بیمارستان‌های مختلف یک کشور وجود دارد و از طرف دیگر این الگوهای مقاومتی به‌طور دائم در حال تغییر می‌باشند که باید موردتوجه قرار گیرد. از سوی دیگر، ظهور سویه‌های MDR و XDR *اسینتوباکتر بومانی* در سال‌های اخیر می‌تواند تهدیدی برای سلامت انسان بخصوص در عفونت‌های بیمارستانی باشد.[۹] در مطالعه ما ۹۷/۱٪ و ۱۵/۷٪ ایزوله‌ها به ترتیب به‌عنوان MDR و XDR شناخته شدند و هیچ سویه‌ای از PDR در این مطالعه جدا نشد. در مطالعه میرنژاد و همکاران در سال ۱۳۹۰ فنوتیپ مقاومت به چند دارو در ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* ۸۲ ٪ گزارش گردیده است.[۲۳] در مطالعه منیری و همکاران در سال ۱۳۸۶ روی نمونه‌های *اسینتوباکتر* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان، ایزوله‌های MDR ۱۵ ٪ گزارش گردید.[۲۰] تفاوتی که در میزان و نوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در انواع مطالعات وجود دارد می‌تواند از فاکتورهای محیطی و الگوهای مختلف استفاده از عوامل ضد میکروبی منشأ گرفته باشد. نتایج ما نشان داد که ۹۸/۶٪ ایزوله‌ها حساس به کلیستین بودند که بامطالعه شاهچراغی (۹۵/۸٪) همخوانی دارد.[۲۴] در مطالعه‌ای که توسط رضوی نیکو و همکاران انجام شد [۲۹] ۱۰۰-۷۷ ٪ ایزوله‌ها حساس به کلیستین بودند. در مطالعه مشابهی که توسط مهاجرانی و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد میزان حساسیت به کلیستین و

پلی‌میکسین به ترتیب ۸۹/۴٪ و ۸۶/۵٪ بود [۲۵]. این نتایج نشان می‌دهد که کلیستین آخرین انتخاب درمانی برای عفونت های ایجادشده توسط سویه های MDR این باکتری می‌باشد.

نتایج آنالیز مولکولی نشان داد که از میان ۶۷ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم، به ترتیب ۸۵/۱٪ و ۹۱ ٪ ایزوله‌ها در تست‌های فنوتیپی دیسک ترکیبی و E-test به‌عنوان مولد MBL در نظر گرفته شدند. همه ایزوله‌های مولد MBL دارای فنوتیپ MDR بودند. ۶۵/۶٪، ۳۱/۳ ٪و ۱/۵ ٪ ایزوله‌ها به ترتیب حامل ژن‌های *blaVIM*، *blaIMP* و *blaNDM* بودند. همچنین، حضور هم‌زمان ژن‌های *blaIMP* و *blaVIM* در ۸/۹٪ ایزوله‌ها گزارش شد. تنها ۶ ایزوله که در تست دیسک دیفیوژن آگار به ایمی‌پنم مقاوم بودند، ازنظر تولید فنوتایپ MBL در هر دو روش CDDT و E-test منفی بودند. این نتایج حاکی از گسترش شیوع این نوع مقاومت در این منطقه است. در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۹ توسط پیمانی و همکاران در تبریز انجام شد، ۴۹٪ از ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه‌های کلینیکی متالوبتالاکتاماز تولید می‌کردند.[۲۶] در سال ۲۰۱۰ Anwar و همکاران گزارش نمودند ۴۴/۸٪ ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه‌های بیماران بستری در بنگلادش، متالوبتالاکتاماز مثبت بودند.[۲۷] به نظر می‌رسد افزایش این نوع مقاومت به دلیل تجویز بیش‌ازاندازه ایمی‌پنم برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری باشد. در مطالعه فلاح و همکاران[۲۸]، شیوع bla_{VIM} و bla_{IMP} به ترتیب ۱۷/۴٪ و ۳/۵٪ گزارش شد. میزان شیوع bla_{NDM} در این مطالعه حائز اهمیت می‌باشد، زیرا که این آنزیم اول‌بار از هند و کشورهای دیگر مانند پاکستان گزارش شد.[۲۸] احتمالاً جابجایی، مهاجرت و مسافرت‌های بین کشورمان و این کشورها باعث انتشار این ژن‌ها بین ایزوله‌های کشور شده است. این مطالعات جهت جلوگیری از انتشار سویه های مقاوم به دیگر قسمت‌های جهان می‌تواند ارزشمند باشد.

کاربپنمازهای گروه OXA نقش مهمی در مقاومت به کاربپنم‌ها در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* دارند. طغیان‌هایی از سویه های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربپنم دارای ژن bla_{OXA-23} به میزان ۱۰۰-۷۱درصد در جهان گزارش‌شده است.[۷] در مطالعه حاضر، شیوع ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} به ترتیب ۷۷/۶ ٪و ۴۰/۳ ٪ می‌باشد. در مطالعه پیش رو ۱۳/۴٪ ایزوله‌ها به‌طور هم‌زمان برای ژن‌های *OXA-23* و *OXA-24* مثبت بودند و همچنین، تمامی *اسینتوباکتر بومانی*های مقاوم به کاربپنم برای ژن *OXA-58* منفی بودند. طبق گزارش Quiñones و همکاران شیوع ژن‌های bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-58} در ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربپنم به ترتیب ۳٪، ۱۸٪ و ۷۳٪ است.[۲۹] فرشاد زاده و همکاران نشان دادند گسترش ژن bla_{OXA-23} دلیل اصلی افزایش مقاومت سویه های *اسینتوباکتر بومانی* به کاربپنم مخصوصاً در بیماران دچار سوختگی در ایران می‌باشد.[۳۰] در مطالعه حاضر ۱۵/۷٪ ایزوله‌ها برای تولید KPC در تست هاج تغییریافته مثبت بودند اما تنها ۲۷/۳٪ سویه‌ها حامل ژن *blaKPC* بودند که می‌تواند به دلیل دخالت سایر مکانیسم‌های مقاومتی مانند، افزایش نفوذپذیری، افلاکس پمپ، بتالاکتاماز نوع AMP-C و سایر مکانیسم‌ها باشد. در مطالعه ما ۹۵/۷٪ ایزوله‌ها حامل اینتگرون بودند. آنالیز مولکولی کلاس‌های مختلف اینتگرون نشان داد که ۱۷/۱٪، ۷۷/۱٪ و ۴/۳٪ ایزوله‌ها به ترتیب حامل ژن‌های *intI*، *intII* و *intIII* بودند. همچنین، ۵/۷٪ ایزوله‌ها به‌طور هم‌زمان حامل اینتگرون‌های کلاس I و II بودند. به‌صورت موافق بامطالعه دیلم صالحی و همکاران[۳۱]، میرنژاد و همکاران[۲۳]، و در تضاد با Lin و همکاران[۳۲] و طاهری کلانی و همکاران[۳۳]، در مطالعه پیش رو، فراوان‌ترین کلاس اینتگرون مربوط به کلاس II اینتگرون‌ها بود. مغایرت با دو مطالعه ذکرشده اخیر ممکن است درنتیجه اختلاف ژئوگرافیکی، استراتژی‌های مراقبتی، تجویز خودسرانه آنتی‌بیوتیکی و استفاده کنترل نشده از آنتی‌بیوتیک‌ها در زنجیره غذایی دام‌ها باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه ما شیوع بالایی از سویه های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربپنم با توانایی تولید کاربپنماز و انتقال این ژن‌ها را نشان می‌دهد. دقت در شناسایی سریع ایزوله‌های تولیدکننده کاربپنماز می‌تواند در انتخاب مناسب برای درمان آنتی‌بیوتیکی و کنترل انتشار بیمارستانی این سویه‌ها و کاهش میزان عفونت مخصوصاً در بیماران دچار سوختگی مفید باشد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله تمامی نویسندگان این مطالعه از کارکنان محترم بیمارستان مطهری تهران و بخش میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل که ما را در انجام پروژه حاضر یاری رساندند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

References

1. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. Clinical microbiology reviews. 2006; 19(2):403-34.

2. Mayhall CG. The epidemiology of burn wound infections: then and now. Clinical Infectious Diseases. 2003:543-50.

3. Gholami M, Hashemi A, Hakemi-Vala M, Goudarzi H, Hallajzadeh M. Efflux pump inhibitor phenylalanine-arginine B-naphthylamide effect on the minimum inhibitory concentration of imipenem in Acinetobacter baumannii strains isolated from hospitalized patients in Shahid Motahari Burn Hospital, Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(10).

4. Morovat T, Bahram F, Mohammad E, Setareh S, Mohamad Mehdi F. Distribution of different carbapenem resistant clones of *Acinetobacter baumannii* in Tehran hospitals. New Microbiol. 2009; 32(3):265.

5. Hsu L-Y, Apisarnthanarak A, Khan E, Suwantarat N, Ghafur A, Tambyah PA. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae in South and Southeast Asia. Clin Microbiol Rev. 2017; 30(1):1-22.

6. Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, Dabos ML, Zavala A, Dortet L, et al. Beta-lactamase database (BLDB)–structure and function. J Enzyme Inhib Med Chem. 2017; 32(1):917-9.

7. Medeiros M, Lincopan N. Oxacillinase (OXA)-producing *Acinetobacter baumannii* in Brazil: clinical and environmental impact and therapeutic options. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2013; 49(6):391-405.

8. Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution. Nat Rev Microbiol. 2006; 4(8):608.

9. Azimi L, Talebi M, Pourshafie M-R, Owlia P, Lari AR. Characterization of carbapenemases in extensively drug resistance *Acinetobacter baumannii* in a burn care center in Iran. Int J Mol Cell Med. 2015; 4(1):46.

10. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017.

11. Control CDC, Prevention. Revised definition of extensively drug-resistant tuberculosis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2006; *55*(1176):1.

12. Anwar M, Ejaz H, Zafar A, Hamid H. Phenotypic detection of Metallo-beta-lactamases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatric patients in Pakistan. J Pathog.2016.

13. Yousefi S, Farajnia S, Nahaei MR, Akhi MT, Ghotaslou R, Soroush MH, et al. Detection of metallo-β-lactamase–encoding genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in northwest of Iran. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010; 68(3):322-5.

14. Odumosu BT, Adeniyi BA, Chandra R. Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa from Southwest Nigeria. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2013; 12(1):29.

15. Moosavian M, Rahimzadeh M. Molecular detection of metallo-β-lactamase genes, blaIMP-1, blaVIM-2 and blaSPM-1 in imipenem resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical specimens in teaching hospitals of Ahvaz, Iran. Iran J Microbiol. 2015; 7(1):2.

16. Shoja S, Moosavian M, Rostami S, Farahani A, Peymani A, Ahmadi K, et al. Dissemination of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with burn injuries. J Chin Med Assoc. 2017; 80(4):245-52.

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

18. Vali P, Shahcheraghi F, Seyfipour M, Zamani MA, Allahyar MR, Feizabadi MM. Phenotypic and genetic characterization of carbapenemase and ESBLs producing gram-negative bacteria (GNB) isolated from patients with cystic fibrosis (CF) in Tehran hospitals. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 2014; 8(1):26.

19. Jafari S, Najafipour S, Kargar M, Abdollahi A, Mardaneh J, Fasihy Ramandy M, et al . Phenotypical Evaluation of Multi-Drug Resistant *Acinetobacter Baumannii*. J Fasa Univ Med Sci. 2013; 2 (4): 254-258.[In Persian]

20. 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 Public Health 2010; 39(2): 63-8.

21. Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibl AM, Kholy AE. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. Int J Infect Dis 2014; 22: 49-54.

22. Mordi RM, Erah PO. Susceptibility of common urinary isolates to the commonly used antibiotics in a tertiary hospital in southern Nigeria. Afr J Biotechnol 2006; 5(11): 1067-71.

23. Mirnejad R, Mostofi S, Masjedian F. Antibiotic resistance and carriage class 1 and 2 integrons in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Tehran, Iran. Asian Pac J Trop Biomed 2013; 3(2): 140-5.

24. Shahcheraghi F, Akbari Shahmirzadi N, Abbas Alipour Bashash M, Jabbari H, Amir Mozafari N. Detection of blaCTX, blaTEM beta-lactamase genes in clinical isolates of acinetobacter spp. from selected Tehran hospitals. Iran J Med Microbiol 2009; 3(1): 1-9. [In Persian]

25. Mohajeri P, Farahani A, Feizabadi MM, Ketabi H, Abiri R, Najafi F. Antimicrobial Susceptibility Profiling and Genomic Diversity of *Acinetobacter baumannii* isolates: A study in western Iran. Iran J Microbiol 2013; 5(3): 195-202.

26. Peymani A, Farajnia S, Mohammad R, Nasrollah sohrabi L, Abbasi KA, Azhari F. Prevalence of class 1 integron among multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in Tabriz, Northwest of Iran. Pol J Microbiol 2012; 61(1): 57-60.

27. Anwar S, Amin R. Phenotype detection of metallo – beta – lactamase among the imipenem resistant *psudomonas* and *asintobacter* in the tertiary care hospitals of Dhaka city. *BMC proc* 2011; 5 Suppl 1: 92.

28. Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimanesh S, et al. Prevalence of *blaNDM*, *blaPER*, *blaVEB*, *blaIMP*, and *blaVIM* genes among Acinetobacter baumannii isolated from two hospitals of Tehran, Iran. Scientifica. 2014; 2014.

29. Quiñones D, Carvajal I, Perez Y, Hart M, Perez J, Garcia S, et al. High prevalence of bla OXA-23 in *Acinetobacter* spp. and detection of bla NDM-1 in A. soli in Cuba: report from National Surveillance Program (2010–2012). New Microbes New Infect. 2015; 7:52-6.

30. Farshadzadeh Z, Hashemi FB, Rahimi S, Pourakbari B, Esmaeili D, Haghighi MA, et al. Wide distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in burns patients in Iran. Front Microbiol. 2015; 6.

31. Deylam Salehi M, Ferdosi-Shahandashti E, Yahyapour Y, Khafri S, Pournajaf A, Rajabnia R. Integron-Mediated Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Intensive Care Unit Patients, Babol, North of Iran. Biomed Res Int. 2017; 2017.

32. Lin M-F, Chang K-C, Yang C-Y, Yang C-M, Xiao C-C, Kuo H-Y, et al. Role of integrons in antimicrobial susceptibility patterns of *Acinetobacter baumannii*. Jpn J Infect Dis. 2010; 63(6):440-3.

33. Taherikalani M, Maleki A, Sadeghifard N, Mohammadzadeh D, Soroush S, Asadollahi P, et al. Dissemination of class 1, 2 and 3 integrons among different multidrug resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Tehran hospitals, Iran. Iran Pol J Microbiol. 2011; 60(2):169-74.

AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences

Alborz University of Medical Sciences Journal, November 2018, Vol. 7, No. 4: 323-332 *Original Article*

Samaneh Saeedi[1], Mohammad Reza Abdolsalehi[2], Mahmoud Khodabandeh[2], Azadeh Alvandimanesh[3], Abazar Pournajaf [4], Ramazan Rajabnia [5*]

[1] *Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran*
[2] *Department of Infectious Diseases, Pediatric's Center of Excellence, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[3] *Department of Pathology, Shafa Hospital, Qhazvin University of Medical Sciences, Qhazvin, Iran*
[4] *Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran*
[5] *Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran*

Survey of Integron Types and Carbapenem Resistance Encoding Genes in *Acinetobacter Baumannii* Isolated from Burn Wound Samples

Received: 30 Sep. 2017 ; Accepted: 30 Nov. 2017

Abstract

Introduction: *Acinetobacter baumannii* is one of the most important pathogenic bacteria that causes nosocomial infections, especially in burned patients. In recent years, Carbapenems have been considered as a selective antibiotic in the treatment of multi-drug resistant *A. baumannii*, but the rapid appearance of carbapenem-resistant *A. baumannii* has been reported worldwide. The purpose of this study was to investigate different classes of integron and Carbapenem-resistance encoding genes in *A. baumannii* isolated from burn wound samples in Shahid Motahari Hospital in Tehran.

Material and Methods: In this descriptive cross-sectional study, 70 samples of *A. baumannii* were collected from burn injured patients referred to the Motahari Hospital. After identification and confirmation of strains, an antibiotic susceptibility test was performed using disk diffusion agar test. Also, metallo-β-lactamases producing isolates were identified using combined disk and E-test. BlaKPC producing strains were also identified using modified Hodge test. Finally, in order to evaluate genomic strains, after DNA extraction using boiling method, the PCR reaction for *intI*, *intII*, *intIII*, *IMP*, *VIM*, *NDM*, *OXA-23-like*, *OXA-24-like*, *OXA genes -85-like*, *OXA-51-like* and *KPC*.

Results: In this study, all *A. baumannii* isolates were resistant to ciprofloxacin, cefotaxime, piperacillin and Trimethoprim/sulfamethoxazole. Out of 67 imipenem-resistant isolates, 57 (85.1%) and 61 (91%) isolates were considered as MBL producing in combination phenotypic tests and E-test. 44 (65.6%), 21 (31.3%) and 1 (1.5%) isolates were positive for *blaVIM*, *blaIMP* and *blaNDM* genes, respectively. So, 52 (77.6%) and 27 (40.3%) had OXA-23 and OXA-24 genes. 11 (15.7%) isolates were positive for KPC production in the Modified Hodge Test, but only 27.3% (3 strains out of 11 isolates) were carrying *blaKPC* gene. Also, 12 (17.1%), 54 (77.1) and 3 (4.3%) isolates, were carrying *intI*, *intII* and *intIII* genes, respectively.

Conclusion: The increased frequency of carbapenem-resistant *A. baumannii* in burn patients suggests choosing an appropriate antibiotic regimen based on the antibiotic susceptibility pattern of the isolates. The rapid identification of carbapenemase-producing strains is helpful to select suitable options for antimicrobial therapy and prevent the further spread of their encoding genes.

Keywords: Integrone, carbapenemase genes, *A. baumannii*, Modified Hodge Test, burn.

***Corresponding Author:**
Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Tel: 0911-2179434
E-mail: ramazan69@yahoo.com