مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد العشرون - المجلد الأول - علوم الحياة - تشرين أول 2022 م
doi.org/10.52866/esj.2022.01.20.08

التحري الجزيئي للعزلات البكتيرية السريرية *Acinetobacter bumannii* المقاومة لمضادات الحياة والمعزولة من محافظة ديالى

منى جميل لطيف ، أ.د.علي صالح حسين ، أ.م.د.علياء معن عبد الحميد
الجامعة العراقية / كلية التربية -قسم علوم الحياة

مستخلص:

تعد بكتريا *A. baumannii* ممرضة انتهازية سببا للأمراض ومقاومة للادوية المتعددة (MDR) للانسان، والعامل الاخطر لاكتساب هذه البكتريا صفة (MDR) هو الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية . شملت هذه الدراسة (120) عينة جمعت من مصادر سريرية مختلفة (حروق، دم، جروح، قشع) . تم الحصول على (25) عزلة من بكتريا *A. baumannii* بعد اجراء الاختبارات المجهرية والكيموحيوية، تضمنت العزلات (48 ٪) 12 حروق، (32 ٪) 8 دم، (16 ٪) 4 جروح، (4 ٪) 1 قشع . اختلفت العزلات في استجابتها للمضادات الحيوية، اظهرت النتائج ان ة 25 عزلة كانت حساسة للكولستين في حين انها كانت (18) عزلة حساسة Minocyline وبنسبة (72٪)، و(11)عزلة حساسة، Tigecyline وبنسبة (44٪) اللذان ينتميان لمجموعة Tetracyclines . ونسبة مقاومة المضاد الحيوي Levofloxacin كانت (60 ٪)، وبلغت نسبة الحساسية ، 2 (8٪) Gentamicin 4 (16٪) Tobramycin ، وكانت نسبة المقاومة (0 ٪) لكل من(Amikacin , Ampicillin , Piperacillin , Ceftazidime , Cephazolin , Ceftriaxone).

واظهرت نتائج البحث الجيني باستخدام تقنية (PCR) امتلاك (8) عزلات من بكتريا *A. baumannii* من اصل (10) لجين (*gyrA*) المشفر لمقاومة مجموعة الكوينولونات و عدم امتلاك جميع العزلات لجين (*aacC1*) الذي يشفر لانتاج الانزيمات المحورة (AMEs).

Molecular Identification of Drug Resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Diyala Province

Muna Jamel latef ، and Ali Salah Hasen ، and Alyaa Maan Abdelhameed

Abstract :

A. baumannii is an opportunistic pathogen and multidrug-resistant (MDR), and the most dangerous factor for acquiring this bacterium (MDR) is previous use of antibiotics. This study included (120) samples collected from different clinical sources (burns, blood, wounds, sputum). (25) isolates of *A. baumannii* were obtained after conducting microscopic and biochemical tests, the isolates included (48%) 12 burns, (32%) 8 blood, (16%) 4 wounds, (4%) 1 sputum. The isolates differed in their response to the antibiotics. The results showed that the isolates were sensitive by (100%) 25 to colistin, while they were sensitive to (72%) 18 Minocyline, (44%), 11 Tigecyline, which belong to the group of Tetracyclines. And the percentage of resistance to the antibiotic Levofloxacin was (60%), and the percentage of sensitivity was Gentamicin 2 (8%), 4 (16%) Tobramycin, and the resistance rate was (0%) for each of (Amikacin, Ampicillin, Piperacillin, Ceftazidime, Cephazolin, Ceftriaxone). The results of genetic research using PCR technique showed that 8 out of 10 isolates of *A. baumannii* possessed the (*gyrA*) gene encoding resistance to the quinolones group, and not all isolates possessed the (*aacC1*) gene that codes for the production of modified enzymes (AMEs).

المقدمة Interoducation

تعتبر بكتريا *Acinetobacter baumannii* سالبة لصبغة كرام كروية الشكل غير مخمرة للاكتوز هوائية اجبارية تنمو في درجات حرارة تتراوح بين 37 ^{0}C إلى 44 ^{0}C وبشكل عصيات مكورة (Coccobacillus-). وبسبب تحملها هذه الدرجات الحرارية على مدى واسع فأنها تنتشر بكثرة وفي البيئات المختلفة [4].

تمتلك هذه البكتريا عوامل ضراوة متعددة مكنتها من مقاومة الظروف البيئية المختلفة ومقاومة المضادات الحيوية ومنها تكوين الاغشية الحيوية وانتاج انزيم Lapaes وانزيم ,Gelatinase و وتكوين المحفظة مما جعلها اكثر خطورة لاحداث الاصابة والانتشار في البيئات المختلفة [5-6].

ظهرت هذه البكتريا في الآونة الاخيرة عالميا كمسبب للعديد من الاصابات المكتسبة من المستشفيات والمجتمع. ادت مقاومة مضادات الميكروبات أو المضادات الحيوية (AMR) زيادة تكاليف انظمة الرعاية الصحية في جميع انحاء العالم في السنوات الاخيرة. وعلى الرغم اكتشاف وتصنيع العديد من المضادات الحيوية للميكروبات في العقود الماضية الا ان المقاومة المكتسبة خاصة في المستشفيات تتزايد مع زيادة اعداد المرضى بصورة عامة والمرضى من كبار السن الذين يعانون من نقص في المناعة[7] .

يعود سبب المقاومة المتعددة لعزلات (MDRAB) الى امتلاكها آليات مختلفة تمكنها من ذلك منها انتاج الانزيمات كأنزيمات البيتالاكتاميز (β-lactamases) والانزيمات المحورة لمجموعة مضادات الامينوكلايكوسيدات (Aminoglycoside)، ومضخات الدفق (Efflux Pumps)، وتغير النفاذية (Permeability)، وتبديل موقع الهدف (Alterna-tion of target) site ، فضلاً عن امتلاكها لجينات المقاومة مثل جينات المقاومة للتتراسكلين (Tetracy-clin-) ، والفلوروكينولينات (Fluoroquinolones) والامينوكلايكوسيدات (Aminoglycosides) [7-8] وغالبا ماترتبط مقاومة بكتريا *A. baumannii* بقطع متحركة من الترانسبوزونات موجودة على ال (DNA) [9]. نظراً للاهمية السريرية للممرض هدفت الدراسة الحالية الى معرفة فعالية بعض جينات المقاومة المتواجدة في بكتريا *A.baumannii* من خلال عزل بكتريا *A.baumannii* من عينات سريرية مختلفة وتشخيصها باستخدام الطرق الزرعية والكيموحيوية والجزيئية من خلال الكشف عن وجود جيني (*16S rRNA*) اجراء اختبار الحساسية لعزلات *A.baumannii* ضد العديد من مجاميع المضادات الحيوية المستخدمة بطريقة التركيز المثبط الادنى. الكشف الجزيئي باستخدام تقنية الـ(PCR) التقليدية عن بعض جينات المقاومة لعزلات *A.baumannii* والتي شملت جيني (*gyrA*, *aacC1*) .

المواد وطرائق العمل

1. جمع العينات

تم جمع (120) عينة من مصادر مختلفة شملت (الدم والجروح والحروق والقشع) من مستشفى بعقوبة التعليمي وعياداته الاستشارية في محافظة ديالى جمهورية العراق . جمعت العينات من المرضى الراقدين وغير الراقدين في المستشفى ومن فترة (بداية تشرين الثاني / نوفمبر-2020) ولغاية (شباط/ فبراير - 2022) لكلا الجنسين وبأعمار مختلفة .

تم الحصول على مجموع (25) عزلة من بكتريا *A. baumannii* شملت (12) عزلة من الحروق، (8) عزلات اخذت من الدم، (4) عزلات من الجروح

وعزلة واحدة من القشع .

2. تشخيص العزلات

تم تشخيص جميع العزلات بالفحص المجهري والتشخيص الزرعي واختبارات الكيموحيوية وباستخدام تقنية (PCR) والجزيئية من خلال الكشف عن وجود جين (*16S rRNA*) وكذلك تم اجراء اختبار الحساسية لعزلات *A.baumannii* باستخدام العديد من مجاميع المضادات الحيوية وبطريقة التركيز المثبط الادنى .

3. استخلاص الدنا

استخلص الحامض النووي (DNA) لعزلات *A.baumanni* على حسب ماذكر من تعليمات الشركة المصنعة وباستخدام عدة الاستخلاص (Genomic DNA extraction) والتي جهزت من قبل الشركة الامريكية (Promega) الخاصة باستخلاص (DNA) للبكتيريا السالبة لصبغة كرام.

4. فحص PCR والترحيل الكهربائي

الكشف الجزيئي باستخدام تقنية الـ(PCR) التقليدية تم التحري عن بعض جينات المقاومة لعزلات *A.baumannii* والتي شملت جيني (*aacC1, gyrA*). بعد ان تم استخلاص (DNA) للعزلات البكتيرية المراد دراستها والكشف عن وجود الجينات المذكورة في الجدول (1) وكان الحجم النهائي لخليط التفاعل (PCR) هو (20) مايكروليتر يتضمن

a- (Master Mix) 10 مايكروليتر
b- مايكروليتر واحد من البادئ الامامي
c- مايكروليتر واحد من البادئ الخلفي
d- (3) مايكروليتر من قالب (DNA)
e – (5) مايكروليتر من (NFW)

مزجت جميع المكونات داخل انابيب (PCR) باستخدام المازج (Vortex) ومن ثم تم وضعها في جهاز (Thermal cycle system) والذي تم برمجته لكل بادئ بشكل فردي اعتمادا على مصدره كما هو مبين في الجدول (1)، ومن بعدها اخذ (5) مايكروليتر من ناتج التضاعف ونقل الى هلام الاكاروز لغرض الترحيل الكهربائي.

الجدول (1) برنامج تفاعل ال PCR المستخدم في الدراسة

Genes	Denaturation	Anneling	Extension	N.Cycle
16r RNA	C/30 sec° 95	C/30sec° 55	C/40sec° 72	30
GyrA	C/45 sec° 95	C/60 sec° 58	C/45 sec° 72	*30
aacC1	C/60 sec° 94	52°C/60 sec	C/45 sec° 72	30

*** استخدمت دورة واحدة لجميع الجينات ولمدة 5 دقائق وعندة درجة حرارة (95م°) للمسخ الاولي** (Initial Denaturation) **ودورة واحدة لمدة سبع دقائق بدرجة حرارة (72)م° لغرض الاستطالة النهائية** (Final extension)

5. اختبارات الحساسية

استخدمت طريقة نشر قرص Kirby-Bauer لمعرفة مدى حساسية بكتريا *A. baumannii* للمضادات الحيوية[10] تم استخدام وسط اجار مولر- هنتون لهذا الاختبار، تمت تنمية ثلاث الى خمس مستعمرات على اجار المغذي وبعدها نقلت الى انابيب تحتوي على محلول ملحي عادي حتى تحقق التعكر القياسي MacFarland (1.5×10^8 CFU / ml). استخدامت مسحة معقمة وادخالها في انبوب يحتوي على معلق بكتيري ويتم تدويرها وضغطها على الجدران

الداخلية للانبوب لازالة العلق الزائد ثم يتم توزيعها عبر اطباق بتري المحتوية على اجار مولر- هنتون وفي اتجاهات مختلفة لضمان نمو متجانس وضعت اقراص المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة المذكورة في الجدول (2) على سطح الاوساط المزروعة وعلى مسافة متساوية من بعضها البعض والضغط عليها باستخدام ملقط معقم وتم تخزينها عند درجة حرارة (37)م° ولمدة (24) ساعة .

تمت قراءة النتائج عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حول اقراص المضادات الحيوية ثم مقارنتها بالمعايير المذكورة في [11] .

الجدول (2) المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة ورمز كل مضاد حيوي وتركيزه

ت	اسم المضاد الحيوي	رمز المضاد الحيوي	تركيز المضاد مايكروغرام/ القرص	الشركة المجهزة(بلد المنشأ)
1	Ampicillin	AM	10	Mast Group (U.K)
2	Piperacillin	TPZ	10	
3	Ceftazidime	CAZ	25	
4	Ceftriaxone	CRO	30	
5	Meropenem	MEM	25	
6	Gentamycin	CN	110	
7	Tobramycin	Tob	30	
8	Amikacin	AK	10	
9	Tigecyline	TGC	10	
10	Minocyline	MH	15	
11	Levofloxacin	LE	30	Mast Group (U.K)
12	Trimethoprim	TMP	5	
13	Colistin	CO	10	
14	Cephazolin	KZ	30	

النتائج والمناقشة

1. تشخيص البكتريا

تم التعرف على البكتريا من خلال التشخيص المجهري حيث كانت (25) عزلة سالبة لصبغة الكرام وبشكل مكورات ثنائية تتخذ شكل العصيات[12]، اما التشخيص المظهري فتم عن طريق زراعة ال (25) عزلة على وسط الماكونكي واظهرت اشكال صغيرة مخاطية بيضاء غير مخمرة لسكر اللاكتوز، اما على وسط اكار الدم كانت ذات اشكال وردية اللون شاحبة ليست محللة للدم [13]وتم انماء جميع العزلات في درجة حرارة (44)م° واظهرت هذه العزلات المقدرة على النمو في هذه الدرجات لانها خاصية تتمتع بها بكتريا *A. bau-mannii* عن باقي الانواع الاخرى [13] .

الشكل رقم (1) يوضح شكل المستعمرات لبكتريا *A.baumannii* على وسط المكاونكي

2. اختبارات الحساسية

تم اجراء اختبارات الحساسية ضد بكتريا *A. baumannii* وباستخدام المضادات الحيوية الموضحة في الجدول (3) . جميع العزلات اظهرت مقاومة لمضاد واحد او اكثر على الاقل لثلاث مجاميع من المضادات الحيوية واعتبرت جميع العزلات (25) مقاومة متعددة للمضادات (MDR ٪100). وكما موضح في الجدول (3)

من الجدير بالذكر ان جميع العزلات التابعة لبكتريا *A. baumannii* كانت حساسة بنسبة (100 ٪) للكولستين. يعرف الكولستين على انه مضاد بكتيري متعدد الببتيد من ضمن مجموعة (Polymyxin) وهو اخر طريقة يلجئ اليها لمعالجة البكتريا المتعددة المقاومة والسالبة لصبغة كرام ومن ضمنها (MDRAB) [14].

كما اظهرت النتائج ان بكتريا *A. baumannii* كانت مقاومة بنسبة (100 ٪) للامبسلين، و Piper-acillin الذي يعود لعائلة B-lactam inhibitors وكذلك كانت مقاومتها لعائلة Cephalosporins بنسبة (100 ٪) وشملت هذه العائلة (Ceftazidime , Cephazolin, Ceftriaxone) . تعد المقاومة المتعددة من المخاطر الصحية لبكتريا A. baumannii، ويعتقد ان سبب هذه المقاومة وتطويرها للمضادات الحيوية هو انتقال الافقي والعمودي لجينات المقاومة[15]. جميع العزلات ابدت مقاومة بنسبة (100 ٪) للمضاد (Meropenem)، ويرجح سبب المقاومة هو انتاج بكتريا *A. baumannii* انزيمات بيتالاكتام ومن ظمنها انزيم كاربينيميز [16] .

اظهرت عزلات *A. baumannii* مقاومة مختلفة لمجموعة التراسايلين والتي شملت (Ticecylin , Minocylin) حيث كانت نسبة المقاومة Ticecylin (52 ٪) حيث اظهرت (13) عزلة مقاومة لهذا المضاد الحيوي وان سبب مقاومة البكتيريا هو امتلاك البكتيريا مضخات تدفق من نوع (tetA) .كما ان وجود جين من نوع (*tetM*) يشفر لانتاج بروتين يحمي الرايبوسوم (Almasaudi)، 2018، اما المضاد الحيوي Mino-cylin)) فكانت نسبة المقاومة له (20 ٪) حيث ابدت (5) عزلات مقاومة لهذا المضاد الحيوي.

اظهرت عزلات *A. baumannii* مقاومة ضد Aminoglycosids وشملت كل من (Amikasin , Gentamicin , Tobramycin) حيث اظهرت المقاومة بنسب (96 ٪، 92 ٪، 84 ٪).

تمتلك بكتريا *A. baumannii* مقاومة لمضاد (Levofloxacin) الذي ينتمي لمجموعة Fluro-quinolone) اذ ظهرت نسبة المقاومة لهذا المضاد (40 ٪)، وان الالية الرئيسية لمقاومة الكينولينات هما جيني (gyrA , ParC) واللذان يسببان تغيرات النمط الظاهري في الحامض النووي (gyrase DNA

و topoisomerase IV) يؤديان الى تقليل تقارب المضادات (Ugolotti وآخرون، 2016).

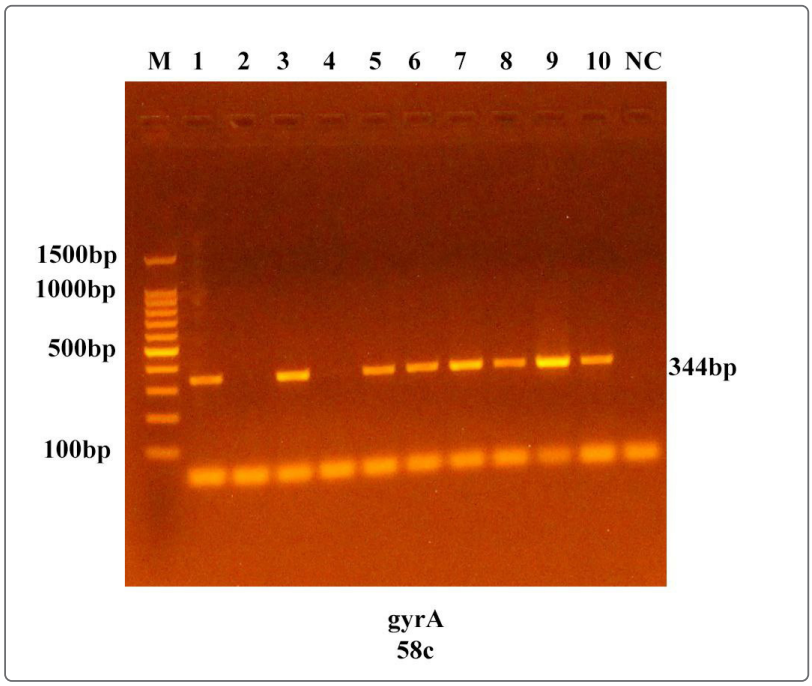
الجدول (3) يوضح مقاومة بكتريا *A.baumannii* اتجاه بعض المضادات الحيوية

Antibiotics Family	Antibiotics Type	Sensitive Isolates	Resistant Isolates	Intermediate Isolates
		No.and%	٪No.and	No.and%
Penicillin	Ampicillin	(0%) 0	25(100%)	0(0%)
B-lactam inhibitors	Piperacillin	0(0%)	25(100%)	0(0%)
Cephalosporins	Ceftazidime	0(0%)	25(100%)	0(0%)
	Cephazolin	0(0%)	25(100%)	0(0%)
	Ceftriaxone	0(0%)	25(100%)	0(0%)
Carbapenems	Meropenem	0(0%)	25(100%)	0(0%)
Aminoglyco-sides	Gentamicin	2(8%)	23(92%)	0(0%)
	Tobramycin	4(16%)	21(84%)	0(0%)
	Amikacin	0(0%)	24(96%)	1(4%)
Tetracylines	Tigecyline	11(44%)	13(52%)	1(4%)
	Minocyline	18(72%)	5(20%)	2(8%)
Fluroquinolones	Levofloxacin	15(60%)	10(40%)	0(0%)
Folate Pathway antagonists	Trimethoprim	3(12%)	22(88%)	0(0%)
Lipopeptides	Colistin	25(100%)	0(0%)	0(0%)

3. الكشف الجزيئي لجينات المقاومة في بكتريا *A.baumannii* (*gyrA , aacC1*)

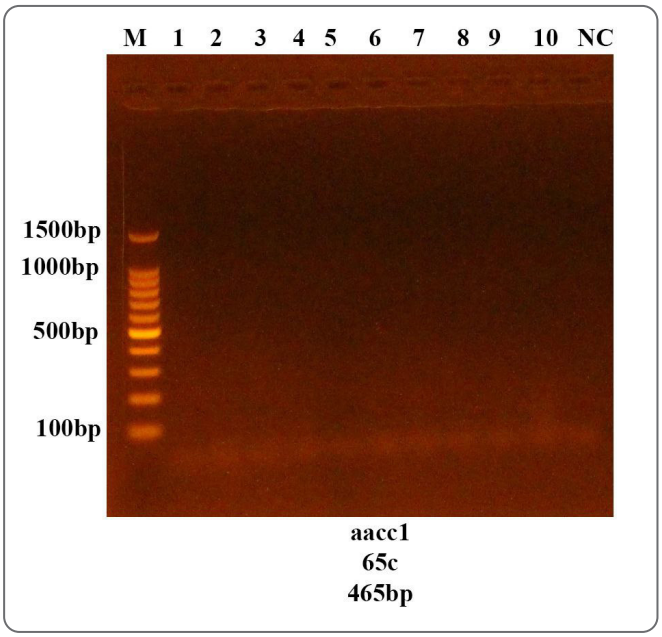
اظهرت النتائج الكشف الجزيئي باستخدام تقنية (PCR) تواجد جين gyrA المشفر لمقاومة الكينولينات، حيث اظهرت امتلاك (8) عزلات من بكتريا *A.baumannii* لهذا الجين من مجموع (10) عزلات .

يحمل هذا الجين على الكروموسوم ويشفر عن مقاومة مجموعة البيتالاكتام من صنف (D) والتي تشمل مجموعة الكاربنيم، وهذه الالية هي الاكثر انتشارا بين عزلات *A.baumannii* لمقاومة هذه المجموعة[19].



الشكل (2)
يوضح نتائج الترحيل الكهربائي بتقنية PCR لجين (*gyrA*)

واظهرت نتائج البحث عدم امتلاك جميع العزلات لجين (aacC1) الذي يسبب مقاومة العزلات للامينوكلايكوسيدات، ويعود السبب الى اشتراك جينات اخرى في العزلات تعمل على تشفير انزيم (AMEs) الذي بدوره يسبب مقاومة العزلات لمجموعة الامينوكلايكوسيدات[20] وجد ان الجينات التي تعمل على تشفير انتاج انزيم (AMEs) تقع ضمن الصنف الاول من الانتكرون، البلازميد في عزلات (MDR AB) وان وجودها في هذا الموقع يقلل نسبة بقائها[21].



الشكل (3)
يوضح نتائج الترحيل الكهربائي بتقنية PCR لجين (*aacC1*)

المصادر

4.Doughari , H. J .; Ndakidemi , P. A .; Human , I. S. , and Benade , S. (2011) . The ecology , biology and pathogenesis of Acinetobacter spp .: an overview . Microbes and Environments , 26 (2) : 101-112

5.Clark , N. M .; Zhanel , G. G. and Lynch III , J. P. (2016) . Emergence of antimicrobial resistance among Acinetobacter species : a global threat . Current opinion in critical care . 22 (5) : 491-499

6.Qi , L .; Li , H .; Zhang , C .; Liang , B .; Li , J .; Wang , L .; Du , X .; Liu , X.Qiu , S. and Song , H. (2016) . Relationship between antibiotic resistance , biofilm formation , and biofilm - specific resistance in *Acinetobacter baumannii* . Frontiers in Microbiology 7 : 483 .

7.Ayoub Moubareck, C.; Hammoudi Halat, D (2020). Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. Antibiotics, 9, 119.

8.Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. Pathogens. 2021;10(3):373

9.Shahin Najar Peerayeh, Afsaneh Karmostaj Jundishapur Journal of Microbiology 8 (7), 2015

10.Huijuan Yao, Jingxian Liu, Xueyan Jiang, Feng Chen, Xiaotong Lu, Jian Zhang Infection and Drug Resistance 14, 79,2021,

11.Susan Spitz, Yan Zhang, Sally Fischer, Kristina McGuire, Ulrike Sommer, Lakshmi Amaravadi, Abbas Bandukwala, Steven Eck, Fabio Garofolo, Rafiqul Islam, Gregor Jordan, Lindsay King, Yoshiro Saito, Giane Sumner, Linda Terry, Alessandra Vitaliti, Yow-Ming Wang, Christine Grimaldi, Alison Joyce, Rachel Palmer, Matthew Andisik, Marcela Araya, Mitra Azadeh, Daniel Baltrukonis, Rebecca Elliott, Sam Haidar, Seema Kumar, Andrew Mayer, Florian Neff, Nisha Palackal, Kun Peng, Mohsen Rajabi Abhari, Christina Satterwhite, Natasha Savoie, Catherine Soo, Stephen Vinter, Jan Welink, Weili Yan, Kevin Maher, David Lanham, Sylvie Bertholet, Naveen Dakappagari, Christèle Gonneau, Cherie Green, Fabian Junker, Sumit Kar, Lisa Patti-Diaz, Shyam Sarikonda, Megan McCausland, Priscila Camillo Teixeira, Vilma Decman, Jose Estevam, Michael Hedrick, Alberto Hidalgo Robert, Gregory Hopkins, Sandra Nuti, Shabnam Tangri, Richard Wnek, Suman Dandamudi, Arindam Dasgupta, Anna Edmison, Patrick Faustino, Michael McGuinness, Gustavo Mendes Lima Santos, Tahseen Mirza, Diaa Shakleya, Susan Stojdl, Nilufer Tampal, Jinhui Zhang, Elana Cherry, Isabelle Cludts, Andrew Exley, Akiko Ishii-Watabe, Susan Kirshner, Joao Pedras-Vasconcelos, Meiyu Shen, Richard Siggers, Therese Solstad, Daniela Verthelyi, Haoheng Yan, Lucia Zhang Bioanalysis 13 (5), 295-361, 2021

.12.Asif, M. ; Alvi, I. A. and Rehman, (2018). Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treat-

(2016). The whole genome sequencing of *Acinetobacter-calcoaceticus-baumannii* complex strains involved in suspected outbreak in an Intensive Care Unit of a pediatric hospital. Journal of Hospital Administration, 5(6): 81

19. Anane , Y. A .; Apalata , T .; Vasaikar , S .; Okuthe , G. E . and Songea , S. (2020) . Molecular Detection of Carbapenemase - Encoding Genes in Multidrug - Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in Antibiotics 9 (4), 205
20. Aliakbarzade , K .; Farajnia , S .; Karimi Nik , A .; Zarei , F. and Tanomand , A. (2014) . Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolates . Jundishapur Journal of Microbiology . 7 (10) : el 1924
21. Mortazavi S.M .; Farshadzadeh , Z .; Janabadi , S. ; Musavi , M . : Shahi , F .; Moradi , M. and Khoshnood , S. (2020) . Evaluating the frequency of carbapenem and aminoglycoside resistance genes among clinical

ment options, and alternative modalities. Infection and Drug Resistance. 11:1249-1260

13. AL-Dahlaki , S. M. M (2020).Molecular detection and gene expression for hep and blaoXA-51 genes in *Acinetobacter baumannii* isolatedfrom different elinical sources. M.SC. thesis. University of Diyala. College of Science.
14. Kamoshida, G.: Akaji, T.; Takemoto, N.; Suzuki, Y.: Sato, Y.: Kal, D. Hibino, T; Yamaguchi, D.; Kikuchi-Ueda, T.: Nishida, S.and Unno, Y.(2020) Lipopolysaccharide-deficient *Acinetobacter baumannii* due to colistin resistance is killed by neutrophil- produced lysozyme. Frontiers in Microbiology.11:573.
15. Shirmohammadlou, N.; Zeighami, H.; Haghi, F. and Kashefieh, M. (2018). Resistance pattern and distribution of carbapenemase and antiseptic resistance among multidrug-resistant *Acinetobacter* genes *baumannii* isolated from intensive care unit patients. Journal of medical microbiology.67(10):1467-73.
16. Moubareck , C.A and Halat , D.H. (2020) . Insights into *Acinetobacter baumannii* : A Review of Microbiological , Virulence , and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen . Antibiotics . 9 (3) : 119 .
17. Almasaudi , S. B. (2018) . Acinetobacter spp . as nosocomial pathogens : Epidemiology and resistance features . Saudi . Journal of biological sciences . 25 (3) : 586-596 ..
18. Ugolotti, E., Di Marco, E., Bandettini, R., Tripodi, G. and Biassoni, R.