

Investigation of Antimicrobial Effect of Berberine on Ciprofloxacin and Imipenem Resistance *Acinetobacter baumannii* Isolated from Hamadan Hospitals

Hassan Mahmoudi^{1,2}, Nayreh Zare Fahim¹, Mohammad Yousef Alikhani², Leili Shokohzadeh^{2*}

1. Students Research Committee, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
2. Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

doi [10.30699/ijmm.14.1.44](https://doi.org/10.30699/ijmm.14.1.44)



ABSTRACT

Background: *Acinetobacter baumannii* is one of the causes of nosocomial infections, especially in the intensive care unit. The emergence of multidrug-resistant strains of *A. baumannii* has caused many problems. One of the ways to handle the phenomenon of antibiotic resistance is the use of herbal medicines and their derivatives in place of or in combination with antibiotics. The aim of this study was to investigate the effect of inhibitory effects of berberine as a barberry derivative on clinical isolates of *A. baumannii*, resistant to ciprofloxacin and imipenem in Hamadan hospitals.

Materials & Methods: In this study, 70 clinical isolates of *A. baumannii* were identified and diagnosed using conventional microbiology. Resistance of isolates was detected against imipenem and ciprofloxacin by disk diffusion and broth microdilution method. Minimum inhibitory concentration (MIC) of berberine as well as its combined effect with antibiotics were performed using broth microdilution method.

Results: The results of this study showed that more than 90% of isolates are resistant to ciprofloxacin and imipenem. Imipenem and ciprofloxacin MICs were determined from 8 to 28 and 4 to 32 µg / mL, respectively. The berberine decreased the imipenem and ciprofloxacin MIC from zero to two fold and zero to one-fold, respectively.

Conclusion: High level resistance to imipenem and ciprofloxacin among *A. baumannii* isolates is cause of concern. Berberin, in combination with imipenem and ciprofloxacin, reduces MIC to a proper level, which can be used as an effective agent to reduce antibiotic resistance in bacteria.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Ciprofloxacin, Imipenem, Berberine

Received: 2019/08/18; Accepted: 2019/12/30; Published Online: 2020/03/14

Corresponding Information: Leili Shokohzadeh, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. Email: Leilishokohzadeh@gmail.com



Copyright © 2020, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online



Mahmoudi H, Zare Fahim N, Alikhani M Y, Shokohzadeh L. Investigation of Antimicrobial Effect of Berberine on Ciprofloxacin and Imipenem Resistance *Acinetobacter baumannii* Isolated from Hamadan Hospitals. Iran J Med Microbiol. 2020; 14 (1) :44-54

Download citation: [BibTeX](#) | [RIS](#) | [EndNote](#) | [Medlars](#) | [ProCite](#) | [Reference Manager](#) | [RefWorks](#)

Send citation to:  [Mendeley](#)  [Zotero](#)  [RefWorks](#)

Introduction

Acinetobacter baumannii, is a crucial opportunistic bacterium and common cause of various nosocomial infections such as pneumonia, bacteremia, surgical wound infections, secondary meningitis, and urinary tract infections. One of the problems with *A. baumannii* is the emergence of multidrug resistance (MDR) strains (1). Different mechanisms cause

antibiotic resistance of *A. baumannii*, including the production of beta-lactamase enzymes, aminoglycoside-modifying enzymes, and increased expression of efflux pumps. One way to deal with the antibiotic resistance in bacteria is to use medicinal herbs instead of antibiotics. Among the benefits of using medicinal herbs are fewer side effects as well as

reduced risk of resistance to these compounds. Many studies have investigated the therapeutic and useful effects of medicinal plants and their derivatives on bacteria. Berberine has antibacterial properties against many bacteria, including *Escherichia coli*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and some fungi. Berberine, as a plant derivative, is a natural alkaloid found in the roots, and rhizomes of Barberry (*Berberis vulgaris*) and studies have shown that it has therapeutic and antioxidant properties (2, 3). Given the importance of treatment for nosocomial infections caused by *A. baumannii*, the availability of *Berberis vulgaris* and its oral and therapeutic use, this study aimed to evaluate the antibacterial effect of berberine on imipenem and ciprofloxacin-resistant isolates of *A. baumannii*.

Material and Methods

Collection of Clinical Isolates

This research was approved by the Ethics Committee in Research of Hamadan University of Medical Sciences under the specific code of ID IR.UMSHA.REC.1397.238. A total of 70 clinical isolates of *A. baumannii* were collected from sputum, bronchoalveolar lavage, and endotracheal aspirate specimens of patients admitted to ICU for nine months in 2018, from three educational hospitals of Hamadan University of Medical Sciences. *A. baumannii* isolates were detected using various biochemical and microbiological tests (4).

Antimicrobial Susceptibility of Acinetobacter baumannii Isolates to Berberine

Berberine was prepared as berberine hydrochloride powder (Sigma Co., Germany). Berberine solution was made in a 1 mg/mL initial solution in dimethyl sulfoxide (DMSO). Ten microliters of this solution were inoculated on Blank paper disks and then placed on a fresh culture of *A. baumannii* comparable to 0.5 McFarland standard, and incubated at 37°C for 24 h and the effect of berberine was investigated as growth inhibition zones around disks (5).

Antimicrobial Susceptibility Testing

Antimicrobial susceptibility of *A. baumannii* isolates to imipenem (10 µg) and ciprofloxacin (5 µg) (Mast Co, UK) was determined, by disk diffusion method according to Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI 2017).

Determination of MICs of Berberine and Imipenem and Ciprofloxacin

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of imipenem and ciprofloxacin was determined by broth micro-dilution method in 96-well microplates according to standard CLSI protocol (6). Dilution serials

of 0.125 µg/mL to 256 µg/mL were prepared from berberine, imipenem, and ciprofloxacin. 100 µL of bacterial suspension was added to the wells. The microplates were then incubated at 37°C for 24 h. Standard strains of *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *E. coli* ATCC 25922 were used as control strains.

Results

Frequency of *A. baumannii* Isolates

In this study, 70 (28.1%) *A. baumannii* isolates were isolated from 249 positive cultures of respiratory tracts of patients in ICUs. The highest rate of isolation of *A. baumannii* was from endotracheal aspirate samples (57.14%, n=40) and the lowest rate was from Bronchoalveolar Lavage samples (17.14%, n=12).

Ciprofloxacin and Imipenem Resistance Rates

Antibiogram results showed that high level resistance to ciprofloxacin and imipenem; 97.4% and 94.7%, respectively.

Imipenem and Ciprofloxacin MICs

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined for all clinical isolates (70 isolates) resistant to imipenem and ciprofloxacin by broth microdilution. The MIC values of the strains were committed from 8 to 28 µg/mL. Results showed 94.7% of clinical isolates were resistant to imipenem. MIC values of ciprofloxacin-resistant isolates were 4 to 32 µg/mL and 97.4% of isolates were resistant to ciprofloxacin (Table 1).

Antibacterial Effect of Berberine

The antibacterial effect of berberine was evaluated by the disk diffusion method, and the mean inhibition zone around the berberine disks showed the antibacterial effect of berberine on *A. baumannii* isolates.

MIC of Imipenem in Combination with Berberine

The MIC of Berberine and imipenem alone and in combination with berberine (50% imipenem and 50% berberine) was performed on imipenem-resistant strains by broth microdilution method. The combination of berberine and imipenem reduced the MIC levels of imipenem in (60%, n=42) of isolates and decreased the MIC between zero to 2-fold (Table 2).

MIC of Ciprofloxacin in Combination with Berberine

The MIC of Berberine and ciprofloxacin alone and in combination (50% berberine and 50% ciprofloxacin) were determined by broth microdilution on ciprofloxacin-resistant isolates. The combination of berberine and ciprofloxacin decreased the MIC levels of ciprofloxacin in (31.4%, n=22) *A. baumannii* isolates and decreased the MIC between zero to 1-fold (Table 3).

Table 1. Frequency MICs ($\mu\text{g/mL}$) of imipenem and ciprofloxacin of *Acinetobacter baumannii* isolates

MIC ($\mu\text{g/mL}$)	2	4	8	16	32	64	128
Imipenem	-	-	5(7.14%)	2 (2.8)	35(50)	12(17.1)	16(22.8)
Ciprofloxacin	-	31 (44.2)	10 (14.2)	17(24.2)	12 (17.1)	-	-

Table 2. MIC levels of imipenem in combination with berberine

MIC Imipenem ($\mu\text{g/mL}$)	MIC Berberine ($\mu\text{g/mL}$)	MIC Imipenem + Berberine	decrease MIC Imipenem+ Berberine	No(%) Frequency
8	0.5	1	0-1	5(7.1)
16	1	2	0-1	2(2.8)
32	1	4	0-1	35(50)
64	4	8	0-1	12(17.1)
128	8	16	0-2	16 (22.8)

Table 3. MIC levels of ciprofloxacin in combination with berberine

MIC ciprofloxacin ($\mu\text{g/mL}$)	MIC Berberine ($\mu\text{g/mL}$)	MIC Ciprofloxacin + Berberine	MIC decrease Ciprofloxacin+ Berberine	Frequency No(%)
4	2	2	0-1	10(14.2)
8	4	2	0-1	17(24.2)
16	8	8	0-1	31(44.2)
32	16	16	0-1	12(17.44)

Discussion

In the present study, 70 (28.1%) of cultures of respiratory tract samples were positive for *A. baumannii*. Similarly, Ebrahimi *et al.* reported that *A. baumannii* isolates were the most common (35%, n=56) bacterial pathogen isolated from respiratory tract samples collected from ICUs in Arak hospitals (10).

In a study by El-Saed *et al.*, 2013 in Saudi Arabia, 457 cultures were collected from the respiratory tract of ICU patients, the most common isolate was *A. baumannii* (26.5%, n=121). These results indicated a high prevalence of *A. baumannii* is in ICUs (9).

In the present study, the results of disk diffusion and broth microdilution tests showed high-level resistance (more than 90%) to ciprofloxacin and imipenem

antibiotics. In a study conducted in Turkey, resistance to piperacillin, piperacillin-tazobactam, ciprofloxacin and ceftazidime were 100%, 92.4%, 83.3%, and 74.2%, respectively, and high levels of resistance to other antibiotics were detected (15). Consistent with our study in the study of Vazirizadeh *et al.*, the rates of antibiotic resistance to ciprofloxacin, and imipenem were 96% and 98%, respectively, in Isfahan hospitals (16).

In our study, berberine was found to be active on *A. baumannii* and inhibition zone was observed around the disks containing berberine and berberine in combination with imipenem and ciprofloxacin reduced the MIC of these antibiotics. Consistent with the present study, in 2017, Aghayan *et al.* showed that palmatine and berberine had decreased the MIC and MBC levels of ciprofloxacin in ciprofloxacin-resistant

isolates of *P. aeruginosa* and there was no significant difference between the effect of palmatine and berberine (17).

In a study by Musumeci *et al.* from Italy, the bactericidal effect of the methanolic extract of Barberry (*Berberis aetnensis*) on *S. aureus* was investigated. The results showed that MIC decreased considerably when using the combination of extract and antibiotic compared to ciprofloxacin alone and the plant extract. Barberry and ciprofloxacin antibiotics showed a synergistic effect (18).

In 2014, Wojtyczka *et al.* in Poland reported the antimicrobial effect as well as the synergistic effect of berberine and some of antibiotics on coagulase-negative Staphylococci including *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus hominis* and *Staphylococcus intermedius* (19).

The results of this study and other studies showed that berberine has antibacterial properties and can be used as a cheap and available source for therapeutic use in some bacterial infections. In other words, berberine can be considered as a suitable alternative or supplement to synthetic antibiotics against *A. baumannii* isolates.

Conclusion

The findings of this study showed the antibacterial effects of berberine, and that it can increase the effectiveness of antibiotics against imipenem and ciprofloxacin-resistant isolates of *A. baumannii*. Berberine can be used in the future by optimizing the methods for the treatment of infectious diseases caused by *A. baumannii*.

Acknowledgment

This article is taken from a student research project No. 9704192213 approved by the Student Research Committee of Hamadan University of Medical Sciences. The authors of this article would like to extend their gratitude to Hamadan University of Medical Sciences for their financial support as well as to the staff of intensive care units in Besat, Sina and, Shahid Beheshti hospitals in Hamadan.

Conflict of Interest

Authors declared no conflict of interests.



بررسی تاثیر ضد باکتریایی بربرین بر ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به سیپروفلوکساسین و ایمی پنم جدا شده از بیمارستان های همدان

حسن محمودی^۱، نیره زارع فهیم^۱، محمدیوسف علیخانی^۲، لیلی شکوهی زاده^{۲*}

۱. مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۲. گروه میکروبیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۲۷

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۹

انتشار آنلاین: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴

موضوع:

مواد ضد میکروبی

نویسنده مسئول:

لیلی شکوهی زاده، گروه میکروبیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران

ایمیل: leilishokohizadeh@gmail.com

زمینه و اهداف: *اسینتوباکتریومانی* یکی از عوامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی به خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه است. ظهور سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی *اسینتوباکتریومانی* مشکلات زیادی را ایجاد کرده است. از جمله راه‌های مقابله با پدیده مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده از داروهای گیاهی و مشتقات آنها به جای آنتی‌بیوتیک‌ها و یا در ترکیب با آنها است. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر مهارکنندگی بربرین به عنوان یکی از مشتقات زرشک، بر ایزوله‌های بالینی *اسینتوباکتریومانی* مقاوم به سیپروفلوکساسین و ایمی پنم است.

مواد و روش کار: در این مطالعه ۷۰ ایزوله بالینی *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری و با روش‌های متداول میکروبیولوژی تشخیص داده شدند. مقاومت ایزوله‌ها در برابر ایمی پنم و سیپروفلوکساسین به روش دیسک دیفیوژن و میکرو برات دایلوژن سنجیده شد. حداقل غلظت مهار بربرین و نیز اثر ترکیبی آن با آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از روش میکرو برات دایلوژن بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد بیش از ۹۰ درصد ایزوله‌ها نسبت به سیپروفلوکساسین و ایمی پنم مقاوم بودند. میزان حداقل غلظت مهار (MIC) ایمی پنم از ۸ تا ۲۸ و MIC سیپروفلوکساسین از ۴ تا ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. بربرین، MIC ایمی پنم و سیپروفلوکساسین را به طور میانگین صفر تا دو برابر و بین صفر تا ۱ برابر به ترتیب کاهش داد.

نتیجه‌گیری: مقاومت سطح بالا به ایمی پنم و سیپروفلوکساسین در میان ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* موجب نگرانی است. بربرین به صورت ترکیب با ایمی پنم و سیپروفلوکساسین MIC را به میزان مناسبی کاهش می‌دهد که می‌توان از آن به عنوان ماده موثری جهت کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: *اسینتوباکتر بومانی*، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم، بربرین

کپی‌رایت © مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

اسینتوباکتر بومانی به عنوان یک باکتری پاتوژن فرصت طلب مهم، عامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مختلفی از قبیل پنومونی، باکتریی، عفونت‌های زخم‌های جراحی، مننژیت ثانویه و عفونت‌های مجاری ادراری است. یکی از مشکلات موجود در مورد *اسینتوباکتر بومانی* ظهور سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی (MDR) است (۱). مکانیسم‌های مختلفی موجب مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اسینتوباکتر بومانی* می‌شود که شامل تولید آنزیم‌های بتا لاکتاماز، آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها و افزایش بیان پمپ‌های تراوشی (افلاکس پمپ‌ها) است. یکی از راه‌های مقابله با پدیده

اسینتوباکتر بومانی به عنوان یک باکتری پاتوژن فرصت طلب مهم، عامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مختلفی از قبیل پنومونی، باکتریی، عفونت‌های زخم‌های جراحی، مننژیت ثانویه و عفونت‌های مجاری ادراری است. یکی از مشکلات موجود در مورد *اسینتوباکتر بومانی* ظهور سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی (MDR) است (۱). مکانیسم‌های مختلفی موجب مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اسینتوباکتر بومانی* می‌شود که شامل تولید آنزیم‌های بتا لاکتاماز، آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها و افزایش بیان پمپ‌های تراوشی (افلاکس پمپ‌ها) است. یکی از راه‌های مقابله با پدیده

همراه یک دیسک دیگر (به‌عنوان شاهد که فقط حاوی DMSO است) بر روی کشت تازه/سینتوباکتر بومانی با غلظت نیم مک فارلند قرار داده شد و پس از یک شبانه‌روز انکوباسیون تاثیر دیسک‌های حاوی بربرین به‌صورت تشکیل هاله عدم رشد بررسی شد (۵).

تعیین میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های ایممی‌پنم و سیپروفلوکساسین

میزان حساسیت ضد میکروبی و یا مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی به آنتی‌بیوتیک‌های ایممی‌پنم (۱۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) تهیه شده از شرکت Mast کشور انگلستان به روش دیسک دیفیوژن براساس پروتکل استاندارد Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI 2017) تعیین شد (۶).

تعیین میزان MIC بربرین و آنتی‌بیوتیک‌های ایممی‌پنم و سیپروفلوکساسین

حداقل غلظت مهاری (MIC) به روش میکرو برات دایلووشن در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای براساس پروتکل استاندارد CLSI; 2017 برای همه ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی تعیین شد (۶). بدین منظور ابتدا ایزوله‌های باکتریایی مورد نظر، در محیط مولر هینتون برات به مدت ۱۸-۲۴ ساعت کشت داده و در طول موج ۶۲۵nm سوسپانسیونی با جذب ۰/۰۸ تا ۱ تهیه شد، سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی به ۹۹۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون برات اضافه شد. سریال‌های رقت معادل ۰/۱۲۵ $\mu\text{g/mL}$ تا ۰/۱ $\mu\text{g/mL}$ از محلول بربرین، سیپروفلوکساسین و ایممی‌پنم در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تهیه شده و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به چاهک‌ها اضافه شد. سپس آزمایشات مشابه برای کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری و بدون آنتی‌بیوتیک) و کنترل منفی (محیط کشت بدون باکتری) نیز انجام شد. سپس میکروپلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سوش‌های استاندارد سودموناس آئروژینوزا ATCC 27853 و اشرشیاکلی ATCC 25922 به عنوان سوش کنترل مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه شماره ۱۶ (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) استفاده شد. و با استفاده از روش کای اسکور، نتایج تجزیه و تحلیل شدند. سطح معناداری آزمون ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

ریزوم‌های گیاه زرشک (بربریس ولگاریس) یافت می‌شود و مطالعات نشان داده که دارای خواص درمانی و آنتی‌اکسیدانی است (۲،۳). مطالعات نشان داده از جمله ویژگی‌های مهم این ماده خاصیت آبگریزی اجزاء تشکیل دهنده آن است که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری‌ها می‌شود و در نتیجه سبب اختلال در ساختمان آنها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌گردد که این مساله موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی به خارج از سلول می‌شود. با توجه به اهمیت درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسینتوباکتر بومانی، فراوانی و در دسترس بودن گیاه بربریس ولگاریس (زرشک) و مصرف خوراکی و درمانی آن و محدود بودن مطالعات در زمینه اثر بربرین بر این باکتری، هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی بربرین به‌عنوان یکی از مشتقات گیاه بربریس ولگاریس بر ایزوله‌های مقاوم به ایممی‌پنم و سیپروفلوکساسین/اسینتوباکتر بومانی است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ایزوله‌های بالینی

در مطالعه حاضر که از نوع تجربی است در مجموع ۷۰ ایزوله بالینی اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های خلط، برونکوالولار، لاواژ و آسپیره اندوتراشیاال بیماران بستری در ICU در طی ۹ ماه از اردیبهشت تا دی سال ۱۳۹۷ از سه مرکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی همدان (بیمارستان بعثت، بیمارستان شهید بهشتی و بیمارستان سینا) جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی منتقل و سپس ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مختلف نظیر رشد بر روی محیط مک کانکی آگار، رشد در دمای ۴۴ درجه سلسیوس، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های کاتالاز، اکسیداز و اوره‌آز، سیمون سترات، Kliglers Iron Agar (KIA)، (OF)، Oxidative/fermentative Sulfide Indole Motility (SIM) و تشخیص داده شدند (۴).

تعیین حساسیت ضد میکروبی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی در برابر بربرین

بربرین به‌صورت پودر بربرین هیدروکلراید (شرکت سیگما، کشور آلمان) تهیه شد. محلول بربرین با غلظت اولیه یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حلال دی متیل سولفوکساید Dimethyl sulfoxide (DMSO) تهیه شد. ۱۰ میکرولیتر از این محلول بر روی دیسک‌های کاغذی بلانک تلقیح شده و سپس این دیسک‌ها به

اثر ضدباکتریایی بربرین

یافته‌ها

میزان حساسیت ایزوله‌های بالینی اسپینتوباکتر بومانی نسبت به بربرین به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت و میانگین هاله عدم رشد باکتری‌ها در اطراف دیسک بربرین حاکی از اثر ضد باکتریایی بربرین بود.

فراوانی ایزوله‌های بالینی اسپینتوباکتر بومانی

در این مطالعه از میان ۲۴۹ کشت مثبت که از مجاری تنفسی بیماران بستری در بخش ICU بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان جمع‌آوری شد (۲۸/۱٪) ۷۰ ایزوله اسپینتوباکتر بومانی جداسازی شد که بیشترین میزان جداسازی ایزوله‌های اسپینتوباکتر بومانی از اسپیره اندوتراشیا ۴۰ (۵۷/۱۴) و کمترین میزان از لاواژ برنکوالوئولار ۱۲ (۱۷/۱۴) بود.

میزان MIC ایمی‌پنم به صورت ترکیب با بربرین

حداقل غلظت مهاری (MIC) بربرین و ایمی‌پنم، به‌تنهایی و به‌صورت ترکیب با هم بر اساس پروتکل استاندارد CLSI به روش میکروبراث دایلوژن در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه ای بر روی ۷۰ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم انجام شد. سریال‌های رقت معادل $\mu\text{g/mL}$ ۰/۰۶۵ تا ۱۲۸ $\mu\text{g/mL}$ از بربرین و ایمی‌پنم به صورت (۵۰٪/۵۰٪ ایمی‌پنم و ۵۰٪/۵۰٪ بربرین) در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تهیه شد. اضافه کردن بربرین به صورت ترکیب با ایمی‌پنم باعث شد که میزان MIC ایمی‌پنم در (۶۰٪) ۴۲ ایزوله کاهش یابد و میزان کاهش MIC بین صفر تا ۲ برابر مشاهده شد (جدول ۲).

میزان مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های اسپینتوباکتر بومانی به سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم

نتایج آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن بر روی ۷۰ ایزوله بالینی اسپینتوباکتر بومانی نشان داد که میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم به ترتیب ۹۷/۴٪، ۹۴/۷٪ است.

تعیین میزان MIC ایمی‌پنم و سیپروفلوکساسین

ایزوله‌های اسپینتوباکتر بومانی

میزان MIC سیپروفلوکساسین به صورت ترکیب با بربرین

حداقل غلظت مهاری (MIC) بربرین و سیپروفلوکساسین، به‌تنهایی و به‌صورت ترکیب با هم بر اساس پروتکل استاندارد CLSI به روش میکرودایلوژن براث در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای بر روی ۷۰ ایزوله مقاوم به سیپروفلوکساسین انجام شد. سریال‌های رقت معادل $\mu\text{g/mL}$ ۰/۰۶۵ تا ۱۲۸ $\mu\text{g/mL}$ از بربرین و سیپروفلوکساسین به صورت (۵۰٪/۵۰٪ بربرین و ۵۰٪/۵۰٪ سیپروفلوکساسین) در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تهیه شد. اضافه کردن بربرین به صورت ترکیب با سیپروفلوکساسین باعث شد که میزان MIC نسبت به سیپروفلوکساسین در ۲۲ ایزوله (۳۱/۴٪)، کاهش یابد و میزان کاهش MIC بین صفر تا ۱ برابر مشاهده شد (جدول ۳)

حداقل غلظت مهاری (MIC) برای همه ایزوله‌های بالینی (۷۰ ایزوله)

در ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم و سیپروفلوکساسین به روش میکرودایلوژن براث تعیین شد. دامنه مقادیر MIC ایزوله‌ها، ۸ تا ۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد (جدول ۱). نتایج به دست آمده نشان داد که ۹۴/۷ درصد از ایزوله‌های بالینی نسبت به ایمی‌پنم مقاوم بودند. نتایج MIC نسبت به سیپروفلوکساسین نشان می‌دهد که دامنه مقادیر MIC سیپروفلوکساسین ایزوله‌ها، ۴ تا ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است و ۹۷/۴ درصد ایزوله نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند (جدول ۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی (MIC $\mu\text{g/mL}$) ایمی‌پنم و سیپروفلوکساسین ایزوله‌های اسپینتوباکتر بومانی بر اساس تعداد و درصد

آنتی‌بیوتیک	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۲
ایمی‌پنم	۱۶ (۲۲/۸)	۱۲ (۱۷/۱)	۳۵ (۵۰)	۲ (۲/۸)	۵ (۷/۱۴)	-	-
سیپروفلوکساسین	-	-	۱۲ (۱۷/۱)	۱۷ (۲۴/۲)	۱۰ (۱۴/۲)	۳۱ (۴۴/۲)	-

جدول ۲. میزان MIC ایمی‌پنم به صورت ترکیب با بربرین

MIC ایمپی پنم (میکروگرم بر میلی لیتر)	MIC بربرین	MIC ایمپی پنم + بربرین	کاهش MIC ایمپی پنم + بربرین	فراوانی (درصد)
۸	۰/۵	۱	۱-۰	۵ (۷/۱۵)
۱۶	۱	۲	۱-۰	۲ (۲/۸۵)
۳۲	۱	۴	۱-۰	۳۵ (۵۰)
۶۴	۴	۸	۱-۰	۱۲ (۱۷/۱۵)
۱۲۸	۸	۱۶	۲-۰	۱۶ (۲۲/۸۵)

جدول ۳. میزان MIC سیپروفلوکساسین به صورت ترکیب با بربرین

MIC سیپروفلوکساسین (میکروگرم/میلی لیتر)	MIC بربرین	MIC سیپروفلوکساسین + بربرین	کاهش MIC سیپروفلوکساسین + بربرین	فراوانی (درصد)
۴	۴	۲	۱-۰	۱۰ (۱۴/۲)
۸	۴	۴	۱-۰	۱۷ (۲۴/۲)
۱۶	۸	۸	۱-۰	۳۱ (۴۴/۲)
۳۲	۱۶	۱۶	۱-۰	۱۲ (۱۷/۴۴)

بحث

تنفسی بیماران بستری در بخش ICU، ۲۳ (۳۲/۸) ایزوله از خلط، ۱۲ (۱۷/۱۴) ایزوله از لاواژ برونکوالوئولار و ۴۰ (۵۷/۱۴) ایزوله از آسپیره آندوتراشیاال جدا شده است. در همین راستا، در مطالعه‌ای که توسط Ebrahimi و همکاران در سال ۲۰۱۵ در ایران بر روی ۱۶۱ کشت مثبت که از مجاری تنفسی بیماران بستری در بخش ICU جمع‌آوری شد شایع‌ترین باکتری جدا شده/سینتوباکتر بومانی با ۵۶ (۳۵)٪ ایزوله گزارش شده است (۱۰). در مطالعه‌ای که توسط El-Saed و همکاران در سال ۲۰۱۳ در عربستان بر روی ۴۵۷ کشت مثبت که از مجاری تنفسی بیماران بستری در بخش ICU جمع‌آوری شد، انجام شد شایع‌ترین باکتری جدا شده/سینتوباکتر بومانی با ۱۲۱ (۲۶/۵)٪ ایزوله است که این نتایج نشان می‌دهد شیوع/سینتوباکتر بومانی در بخش ICU بیمارستان‌ها در حد بالایی است (۱۱). در مطالعه Safari و همکاران در سال ۲۰۱۴ در همدان ۱۰۰ ایزوله/سینتوباکتر بومانی جدا شده از مجاری تنفسی بیماران بستری در بخش ICU جمع‌آوری شده بود که شایع‌ترین مکان جداسازی ایزوله‌ها از آسپیره آندوتراشیاال ۷۴٪ بوده است (۱۲). همچنین در مطالعه Vahdani و همکاران در سال ۲۰۱۱ تهران، ۱۰۱ ایزوله/سینتوباکتر بومانی جدا شده از مجاری تنفسی بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه و بخش‌های جراحی جمع‌آوری شده بود، شایع‌ترین مکان جداسازی ایزوله‌ها از آسپیره آندوتراشیاال (۳۱/۳)٪

سینتوباکتر بومانی به‌عنوان یکی از مهمترین باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود، که توانایی ایجاد طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی نظیر باکتری‌می، عفونت مجاری ادراری و مننژیت ثانویه در بیماران بستری در بیمارستان را دارد (۷)، ولی اهمیت زیاد این باکتری در ایجاد پنومونی بیمارستانی به‌ویژه پنومونی ایجاد شده در دستگاه تنفس فوقانی بیماران بستری شده در بخش‌های مراقبت ویژه است (۸). یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد این باکتری توانایی مقاومت ذاتی و اکتسابی نسبت به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در محیط بیمارستان است، که افزایش روز افزون مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در پی داشته است. در حال حاضر شاهد حضور سویه‌هایی از این ارگانیسم با الگوی مقاومت دارویی چندگانه (MDR)، مقاومت دارویی گسترده (XDR) و نیز مقاومت دارویی به همه داروها (PDR) را شاهد هستیم. این امر در حال حاضر نیز مشکلات فراوانی را برای پزشکان در درمان بیماران آلوده به این ارگانیسم‌های مقاوم ایجاد کرده است (۹). در مطالعه حاضر، از میان ۲۴۹ کشت مثبت که از مجاری تنفسی بیماران بستری در بخش ICU جمع‌آوری شد (۲۸/۱)٪، ۷۰ ایزوله/سینتوباکتر بومانی جداسازی شد. که با مطالعات انجام شده قبلی مشابه بود. در این مطالعه از میان ۷۰ ایزوله/سینتوباکتر بومانی جدا شده از مجاری

مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک دیفیوژن و همچنین حداقل غلظت مهاري (MIC)، حداقل غلظت کشنده (MBC) و همچنین اثر سینرژیستی بربرین، پالمیتین و سیپروفلوکساسین را در ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین سودوموناس آئروژینوزا به روش میکروبراث دایلوژن بررسی کردند. نتایج نشان داد که پالمیتین و بربرین میزان MIC و MBC سیپروفلوکساسین را کاهش داده‌اند و تفاوت معناداری بین اثر پالمیتین و بربرین وجود ندارد (۱۷). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ توسط Musumeci و همکاران در ایتالیا انجام شد، اثر باکتری‌کشی عصاره متانولی گیاه زرشک (Berberis aetnensis) بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. در این مطالعه تاثیر این عصاره را در ترکیب با سیپروفلوکساسین بر استافیلوکوکوس اورئوس به روش میکروبراث دایلوژن بررسی کردند که نتایج مطالعه نشان داد که میزان MIC در زمان استفاده از ترکیب عصاره و آنتی‌بیوتیک در مقایسه با استفاده تنها از سیپروفلوکساسین به‌طور چشمگیری کاهش داشته است و عصاره گیاه زرشک و آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین دارای اثر سینرژیستی بودند (۱۸).

در سال ۲۰۱۴، Wojtyczka و همکاران در لهستان، اثر ضد میکروبی و همچنین اثر سینرژیستی بربرین و تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها بر گونه‌های استافیلوکوکوس کواگولاز منفی را به روش میکروبراث دایلوژن بررسی کردند که مشخص شد، بربرین دارای اثر ضد میکروبی چشمگیری علیه گونه‌های استافیلوکوکوس همولیتیکوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، کاپیتیس، گالیناریوم، هومینیس و انترمیدیوس است. حداقل غلظت مهاري بربرین ۱۶ تا ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. همچنین مشخص شد که بربرین دارای اثر سینرژیستی با آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین، اریتر و مایسین و لینزولاید است (۱۹).

هم چنین در بررسی‌های آنتی‌باکتریال بربرین، کمترین غلظتی از بربرین که باعث مهار رشد باکتری‌ها شد در محدوده ۰/۶۲۵ تا ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد که بیشترین فراوانی MIC در غلظت ۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ با ۵۶ درصد بوده است.

در این مطالعه محدودیت‌هایی نیز وجود داشت از جمله اینکه اسانس و عصاره گیاه مورد مطالعه نیز بایستی بررسی می‌شد و همچنین تاثیر این عوامل بر بیان فاکتورهای ویروالانس و ژن‌های مقاومتی اسینتوباکتر بومانی با روش‌های مولکولی از قبیل Real-time PCR مورد ارزیابی قرار می‌گرفت، که با توجه به محدودیت‌های شدید مالی طرح‌های دانشجویی امکان دستیابی به چنین اهدافی فراهم نشد.

بود (۱۳). شیوع ایزوله‌های مقاوم اسینتوباکتر بومانی در بیشتر نقاط دنیا رو به افزایش است و این مطالعات نشان می‌دهد، مقاومت نه تنها به بتالاکتام‌ها و کارباپنم‌ها وجود دارد، همچنین به دیگر خانواده دارویی شامل آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها نیز گسترش پیدا کرده است که موجب محدودیت درمانی در این ایزوله‌ها شده است (۱۴). در مطالعه حاضر نتایج حاصل از تست مقاومت میکروبی به روش دیسک دیفیوژن و میکرودايلوژن براث نشان می‌دهد که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و ایمپنم بالای ۹۰ درصد است. بر همین اساس، در مطالعه‌ای در ترکیه، در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی، میزان مقاومت نسبت به پپراسیلین، پپراسیلین-تازوباکتام، سیپروفلوکساسین و سفنازیدیم به ترتیب ۱۰۰ درصد، ۹۲/۴ درصد، ۸۳/۳ درصد و ۷۴/۲ درصد بوده است و مقاومت سطح بالایی نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها داشته‌اند (۱۵). همسو با مطالعه ما در مطالعه Vazirizadeh و همکاران در بیمارستان‌های شهر اصفهان، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سیپروفلوکساسین و ایمپنم را به ترتیب ۹۶٪ و ۹۸٪ گزارش کردند (۱۶).

باتوجه به اهمیت بالینی باکتری اسینتوباکتر بومانی و محدود بودن مطالعات در زمینه اثر بربرین بر این باکتری، هدف از این مطالعه علاوه بر بررسی میزان مقاومت به ایمپنم و سیپروفلوکساسین در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از ICU بررسی اثر ضد باکتریایی بربرین به‌عنوان یک مشتق گیاهی در دسترس بر سویه‌های مقاوم به ایمپنم و سیپروفلوکساسین اسینتوباکتر بومانی بود. در مطالعه حاضر مشخص شد که بربرین بر باکتری اسینتوباکتر بومانی موثر بوده و باعث تشکیل هاله عدم رشد در اطراف دیسک حاوی بربرین می‌شود و از طرفی بربرین در ترکیب با ایمپنم و سیپروفلوکساسین باعث کاهش میزان MIC این آنتی‌بیوتیک‌ها شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که اضافه کردن بربرین به صورت ترکیب با ایمپنم باعث شد که میزان MIC نسبت به ایمپنم در ۵۰٪ ایزوله‌ها، و نسبت به سیپروفلوکساسین در حدود ۴۵ درصد ایزوله‌ها کاهش یابد و میزان کاهش MIC بین صفر تا یک برابر بوده است. همچنین بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، بربرین به صورت ترکیب با ایمپنم MIC را ۲-۰ فولد (برابر) به صورت ترکیب با سیپروفلوکساسین MIC را ۱-۰ فولد (برابر) کاهش داد. همسو با مطالعه حاضر، در سال ۲۰۱۷ Aghayan و همکاران در تهران اثر ضد میکروبی بربرین و پالمیتین (مشتقات زرشک) را به‌عنوان مهارکننده‌های پمپ‌های ایفلاکس سیپروفلوکساسین بر روی سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران سوختگی بررسی کردند. پس از تعیین الگوهای

روش‌های استفاده از بربرین برای درمان بیماری‌های ناشی از عفونت‌های ناشی از سویه‌های/اسینتوباکتر بومانی استفاده نمود.

سیاسگزاری

این مقاله برگرفته از یک طرح تحقیقاتی دانشجویی به شماره ۹۷۰۴۱۹۲۲۱۳ مصوب در کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی همدان است. همین‌طور این تحقیق در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه اختصاصی IR.UMSHA.REC.1397.238 تصویب شد. نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان به دلیل حمایت مالی و همچنین از کارکنان بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌های بعثت، سینا و شهید بهشتی همدان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض در منافع

در انجام مطالعه حاضر، نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی نداشته‌اند.

نتایج مطالعات مختلف که با استفاده از ماده بربرین و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر روی باکتری‌های متفاوتی انجام شد نشان داد که بربرین دارای خاصیت ضد باکتریایی است و می‌تواند به‌عنوان یک منبع ارزان و در دسترس برای استفاده درمانی در برخی از عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار بگیرند. به عبارتی می‌توان از بربرین به‌عنوان جایگزین و یا مکمل مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های صنعتی جهت مقابله با ایزوله‌های مورد آزمایش در نظر گرفت. البته، در این خصوص مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان اثرات ضد میکروبی بربرین را دقیق‌تر بررسی کرد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه مشخص نمود که بربرین دارای اثرات باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی است. مقایسه نتایج به دست آمده در این مطالعه با دیگر مطالعات نشان داد که بربرین دارای خاصیت ضد باکتریایی بوده و می‌تواند باعث افزایش تاثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌های مقاوم شود. بر این اساس، تحقیقات بر روی بربرین ارزش تحقیقی و صنعتی زیادی دارد و می‌توان در آینده با بهینه‌سازی

Referance

1. Navidinia M. The clinical importance of emerging ESKAPE pathogens in nosocomial infections. Archives of Advanced in Bioscience. 2016;7(3):43-57.
2. Gao WW, Gopala L, Bheemanaboina RRY, Zhang GB, Li S, Zhou CH. Discovery of 2-aminothiazolyl berberine derivatives as effectively antibacterial agents toward clinically drug-resistant Gram-negative Acinetobacter baumannii. European journal of medicinal chemistry. 2018;146:15-37. [DOI:10.1016/j.ejmech.2018.01.038] [PMID]
3. Jung J, Park W. Acinetobacter species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. Applied microbiology and biotechnology. 2015;99(6):2533-48. [DOI:10.1007/s00253-015-6439-y] [PMID]
4. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, et al. Taxonomy, biochemical characteristics and clinical significance of medically important nonfermenters. In: Darcy P, Peterson N, editors. Koneman's Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. pp. 353-5
5. Makvandi M, Shokoohizadeh L. Antibacterial and Drug Synergistic Activities of Mentha longifolia Essential Oil Against Shigella flexneri and Shigella sonnei. Int J Enteric Pathog. 2017;5(3):92-5. [DOI:10.15171/ijep.2017.21]
6. Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI] CaL, Standards Institute. : Twenty seventh Informational Supplement M100eS27 CLSI C, Wayne P. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility
7. Oddo A, Thomsen TT, Kjelstrup S, Gorey C, Franzky H, Fridmodt-Møller N, et al. An amphipathic undecapeptide with all d-amino acids shows promising activity against colistin-resistant strains of acinetobacter baumannii and a dual mode of action. 2016;60(1):592-9. [DOI:10.1128/AAC.01966-15] [PMID] [PMCID]
8. Cherkaoui A, Emonet S, Renzi G, Schrenzel J. Characteristics of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii strains isolated in Geneva during colonization or infection. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2015;14:42-. [DOI:10.1186/s12941-015-0103-3] [PMID] [PMCID]
9. El-Saed A, Balkhy HH, Al-Dorzi HM, Khan R, Rishu AH, Arabi YM. Acinetobacter is the most common pathogen associated with late-onset and recurrent ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit in Saudi Arabia. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. 2013;17(9):e696-701. [DOI:10.1016/j.ijid.2013.02.004] [PMID]
10. Ebrahimi M, Khansari-nejad B, Ghaznavi-Rad E. High Frequency of Ventilator Associated Pneumonia Nosocomial Co-Infection Causedby Methicillin

- Resistant *Staphylococcus aureus* and Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* in Intensive Care Unit. *JOURNAL OF IRANIAN CLINICAL RESEARCH*. 2015;1:67-71.
11. El-Saed A, Balkhy HH, Al-Dorzi HM, Khan R, Rishu AH, Arabi YM. *J Infect Dis*. Acinetobacter is the most common pathogen associated with late-onset and recurrent ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit in Saudi Arabia. 2013;17(9):e696-e701. [DOI:10.1016/j.ijid.2013.02.004] [PMID]
 12. Safari M, Mozaffari Nejad AS, 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 journal of biological sciences*. 2015;22(4):424-9. [DOI:10.1016/j.sjbs.2015.01.004] [PMID] [PMCID]
 13. Vahdani P, Yaghoubi T, Aminzadeh Z. Hospital acquired antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in a 400-bed hospital in Tehran, Iran. *International journal of preventive medicine*. 2011 Jul;2(3):127.
 14. Shahcheraghi F, Abbasalipour M, Feizabadi MM, Ebrahimpour GH, Akbari N. Isolation and genetic characterization of metallo- β -lactamase and carbapenamase producing strains of *Acinetobacter baumannii* from patients at Tehran hospitals. *Iranian journal of microbiology*. 2011 Jun;3(2):68.
 15. Baran G, Erbay A, Bodur H, Öngürü P, Akıncı E, Balaban N, Çevik MA. Risk factors for nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *International Journal of Infectious Diseases*. 2008;12(1):16-21. [DOI:10.1016/j.ijid.2007.03.005] [PMID]
 16. Vazirzadeh J, Behshood P, Heidari L, Ghajav H. Frequency of metallo- β -lactamase and antimicrobial resistance patterns of *Acinetobacter baumannii* in carbapenem-resistant isolates in intensive care units. *Journal of Isfahan Medical School*. 2015;32(312):2094-103.
 17. Aghayan SS, Mogadam HK, Fazli M, Darban-Sarokhalil D, Khoramrooz SS, Jabalameli F, Yaslianifard S, Mirzaii M. The effects of berberine and palmatine on efflux pumps inhibition with different gene patterns in *Pseudomonas Aeruginosa* isolated from burn infections. *Avicenna journal of medical biotechnology*. 2017 Jan;9(1):2.
 18. Musumeci R, Speciale A, Costanzo R, Annino A, Ragusa S, Rapisarda A, Pappalardo MS, Iauk L. Berberis aetnensis C. Presl. extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin. *International journal of antimicrobial agents*. 2003 Jul 1;22(1):48-53. [DOI:10.1016/S0924-8579(03)00085-2]
 19. Wojtyczka R, Dziedzic A, Kępa M, Kubina R, Kabała-Dzik A, Mularz T, Idzik D. Berberine enhances the antibacterial activity of selected antibiotics against coagulase-negative *Staphylococcus* strains in vitro. *Molecules*. 2014;19(5):6583-96. [DOI:10.3390/molecules19056583] [PMID] [PMCID]