Iraqi Journal of Science
ISSN: 0067-2904
GIF: 0.851

دراسة آلية المقاومة المتعددة للأدوية في بكتريا *Acinetobacterbaumannii* المعزولة من حالات مرضية مختلفة فيمستشفى الرمادي التعليمي

عمر محمد حسن*[١] ، ثائر عبدالقادر صالح[١]،عبد الخالق علوان محيميد [٢]

[١]قسم علوم الحياة، كلية العلوم ، جامعة الانبار، العراق

[٢]قسم علوم الحياة، كلية التربية ، جامعة تكريت، العراق

الخلاصـــة

في هذه الدراسة جمعت320 عينة سريرية من عدة مرضى مقيمين في وحدات العناية المركزة والجراحة والحروق في مستشفى الرمادي التعليمي. أدى إثراء وعزل بكتيريا *Acinetobacterbaumannii* من العينات التي جمعت إلى عزل 30 سلالة بكتيرية سريريةمن مجموع337 عزلة بكتيريةوبنسبة (8.9%)، وقد كانت متشابهة مظهريا للسلالة النمطية. حيث كانت نسبةبكتريا *A. baumannii*المعزولة من إصابات الحروق (80%)، والجروح (13.33%)،والقشع (6.67%). كشفت الدراسة مقاومة سلالات *A. baumannii* المعزولة للمضادات الحيوية المختلفة، إذ أظهرت جميع العزلات مقاومة بنسبة (100%) للمضادات الحيوية Ampicillin و Cefazolin و Cefotaxime و Cefoxitin و Cloxacillin وColistin و Trimethoprim، بينما أظهرت العزلات مقاومة تجاه مضادات الكاربابينيم بنسبة 80%، في حين كانتمقاومتها منخفضة بنسبة 20% تجاه مضادLevofloxacin. كما تبين أن جميع عزلات *A. baumannii*(n=30) منتجة لإنزيمات AmpC بيتالاكتاميز المحللة لطيف واسع من السيفالوسبورينات، وان 60% من العزلات (n=18) كانت منتجة لإنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية Metallo-β-Lactamases (MBLs) المحللة لمدى واسع من المضادات المتضمنة الكاربابينيم.

Study of Multi-drug Resistant Mechanism in*Acinetobacterbaumannii* Isolated From Nosocomial Infections in Educational Ramadi Hospital

Omar M. Hassan*[1] ,Thaer A. Saleh[1] and Abdulkhaliq A. Mohaemeed[2]

[1]Department of Biology,College of Science,Anbar University,Iraq

[2]Department of Biology, College of Education ,TikritUniversity,Iraq

Abstract

In this study, A 320 clinical specimens were collected fromIntensiveCareUnits, Surgery and burn units in educational Ramadi hospital. The enrichment and isolation of *A. baumannii* from collected specimens led to isolate 30 bacterial strains from 337 bacterial isolates with rate (8.9%), which similar in morphology for that standard strains. The rate of *A. baumannii* isolated from burn specimens was 80%, the wound

*E mail: omaralajili@yahoo.com

specimens (13.33%), and sputum (6.67% The study detect resistance of *A. baumannii*for different antibiotics, All isolates showed multidrug resistant, the isolates was 100% resistant for Ampicillin, Cefazolin, Cefotaxime, Cloxacillin, Colistin and Trimethoprim, as showed high resistance to carbapenems reached to 80%, but it showed low resistance (20%) against Levofloxacin. So 100% of *A. baumannii*isolates (n=30) were produced AmpC β-Lactamases which hydrolyze a broad-spectrum of cephalosporins, and 60% from isolates (n=18) were producedMetalo β-Lactamases (MBL) which hydrolyze a broad array of antimicrobial agents, including carbapenems.

Keywords:Multi-drug Resistant,*Acinetobacterbaumannii*,Nosocomial Infections

المقدمة

بكتريا ***Acinetobacterbaumannii*** هي ممرض بشري انتهازي مهم يسبب عدوى المستشفيات [1]. وقد جرى في الآونة الأخيرة التبليغ عن إصابات كثيرة يسببها هذا النوع البكتيري اهمها الالتهاب الرئوي والتهابات المجاري البولية والتهاب السحايا والتهاب الشغاف والتهابات الجروح والحروق [2].

إن الأنواع التابعة لجنس Acinetobacter تكون مترممة، وتوجد في الطبيعة وفي بيئة المستشفيات[3]، هذه الأنواع قد تصبح إحدى أنواع الفلورا الطبيعية الموجودة في الجلد والجهاز التنفسي للمرضى الراقدين في المستشفيات لفترات طويلة، مما يجعل بيئة المستشفى أو المرضى المصابين والموظفين مصدرا لهذه السلالات. وان انتقال العدوى إلى المرضى الراقدين في المستشفيات بوساطة هذه البكتريا قد ينتج من عوامل بيئية أو من الأدوات الطبية كالقسطرة البولية أو الحقن الوريدية [4].

السمة الرئيسية لبكتريا *A. baumannii* تكمن في قابليتها على البقاء في بيئة المستشفيات لفترات طويلة، وتحملها لمدى واسع من الظروف البيئية مما جعلها تتسبب في تكرار تفشي العدوى المكتسبة في المستشفيات خاصة في وحدات العناية المركزة [5]، ولقد وجد إن الالتهابات التي تسببها Acinetobacter كإلتهاب الجروح والشغاف والصفاق والجلد هي اقل تأثيرا وان الإصابات البالغة في مرضى الحروق هي المشكلة الاكثر اهمية وذلك لان مرضى الحروق الشديدة لديهم مخاطر للإصابة ناجمة عن المقاومة المتعددة للأدوية [6].إن معدلات تأثير المضادات الحيوية ضد سلالات Acinetobacterالمعزولة من العينات السريرية بدأت تتناقص تدريجيا منذ عام 1975، حيث بينت الكثير من الدراسات زيادة المقاومة في سلالات Acinetobacter السريرية، ووجد أن الـ Aminoglycosides، Monobactams، Cephalosporins، Extended spectrum penicillins، Fluoroquinolones لا تبدي تأثيرا على البكتريا. إن مقاومتها الواسعة للعديد من المضادات الحيوية المختلفة اوجد اشكالية في معالجة بكتريا *A. baumannii*[7].

ويعد الكاربابينيم هو الأكثر فعالية في معالجة التهابات الأسينتوباكتر من العوامل الميكروبية، ومع ذلك، فقد أشارت الأبحاث إلى ارتفاع مستوى مقاومة Imepenem وMeropenem في بعض الدراسات، وعند تفشي العدوى فإن سلالات *A. baumannii*تتحسس فقط للمضادات الحيوية Tagicycline و Colistin [8].

تمتلك *A. baumannii* أنواع مختلفة من آليات المقاومة لجميع أصناف المضادات الحيوية المستخدمة، فهي تحتوي على جينات مشفرة مختلفة لإنزيمات بيتا-لاكتام، وان مقاومة هذه البكتريا لمضادات Carbapenem قد تكون ناتجة عن الإنزيمات المسماة Metallo-β-Lactamases (MBLs) ، هذه الانزيمات لها القدرة على التحلل المائي لوحدات مجموعة المضادات الحيوية المتضمنة Imepenem وMeropenem. وتقع هذه الإنزيمات المكتسبة في صنف B لإنزيمات أمبلر [9].

تهدف الدراسة إلى تحديد نسبة انتشار بكتيريا *A. baumannii* في مستشفى الرمادي التعليمي ودراسة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية والتحري عن أهم الإنزيمات المسؤولة عن هذه المقاومة.

المواد وطرائق البحث

جمع العينات:

جمعت 320 عينة من المرضىالراقدين في مستشفى الرمادي التعليمي شملت مسحات من حالات الجروح (74عينة) والحروق (52عينة) وعينات إدرار (88عينة) وخروج (43عينة) بالإضافة إلى القشع (البلغم) (37عينة) والدم (26عينة) للمدة من 1 \ 4 \ 2013 ولغاية 1 \ 10 \2013.

العزل والتشخيص:

زرعت العينات على وسط اكار الماكونكي ووسط اكار الدم وبمدة حضن 24 ساعة في ظروف هوائية وبدرجة حرارة 37°م.
اجري التشخيص الأولي للعزلات بالاعتماد على الصفات الشكلية للمستعمرات النامية على الطبق ولونها وتحدبها وقوامها وتم تحضير مسحات من هذه المستعمرات بعد إعادة تنقيتها على وسط اكار الماكونكي وصبغت بصبغة غرام وفحصت تحت المجهر باستخدام العدسة الزيتية للتعرف على شكل البكتريا وحجمها وطرق تجمعها ونوع تفاعلها مع صبغة كرام.
اعتمد نظام الفايتيك المجهز من شركة بايوميريكس في التشخيص الدقيق للعزلات والذي يعتمد على الفحوصات الكيموحيوية القياسية في تشخيص العزلات السريرية ذات الاهمية الطبية.

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

لمعرفة حساسية *A. baumannii* تجاه المضادات الحيوية استخدمت طريقة الانتشار حول الاقراص (Disk Diffusion) تبعا لطريقة Kirby Bauer [10] المحورة من قبل منظمة الصحة العالمية [11].
حددت قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) لعوامل المضادات باستخدام شريحة آلة الفايتيك، هذه الآلة تتضمن استخدام مؤشر الاكسدة والاختزال بكشف النمو باستخدام قياس العكارة لتراكيز المضادات الحيوية. فسرت النتائج النهائية اعتمادا على CLSI [12].
المضادات الحيوية المستعملة شملت:

amikacin (30 µg), ampicillin (10 µg), aztreonam (30 µg), cefepime (30 µg), cefazolin (10 µg),cefotaxime (30 µg), ceftazidime (30 µg), cefoxitin (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), cloxacillin (10 µg), colistin (10 µg), doxycycline (10 µg), gentamicin (15 µg), imipenem (10 µg), levofloxacin (5 µg), meropenem (10 µg), nitrofurantoin (10 µg), piperacillin/tazobactam (100/10 µg), trimethoprim (30 µg), and Tobramycin (10 µg).

عرفت عزلات بكتريا *A. baumannii* على أنها سلالات مقاومة للأدوية المتعددة MDR عند إظهارها مقاومة على الأقل لثلاثة مضادات حيوية مختلفة الأصناف [13].

الكشف عن إنزيمات AmpC بيتالاكتاميز

اختبرت جميع عزلات ***A. baumannii*** المقاومة للمضاد الحيوي Cefoxitin للكشف عن إنتاج إنزيمات AmpC بيتالاكتاميز بإجراء اختبار تثبيط إنزيمات الـ AmpC بيتالاكتاميز باستخدام عقار الكلوكساسلين وبطريقة انتشار الأقراص [14].

حضر العالق البكتيري للعزلات (بكثافة قياسية مقدارها ٠.٥ مكفرلاند) ونشر على سطح وسط المولر هنتون باستخدام المسحة القطنية. وضع قرص السفوكستين بمسافة تبعد 2–3 ملم عن قرص الكلوكساسلين على سطح الوسط الزرعي، حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 37°م ولمدة 18–24 ساعة. عدت النتيجة موجبة عند حدوث امتداد لمنطقة التثبيط حول مضاد السفوكستين باتجاه قرص الكلوكساسلين واعتبرت سالبة عند عدم حدوث الامتداد.

الكشف عن إنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية

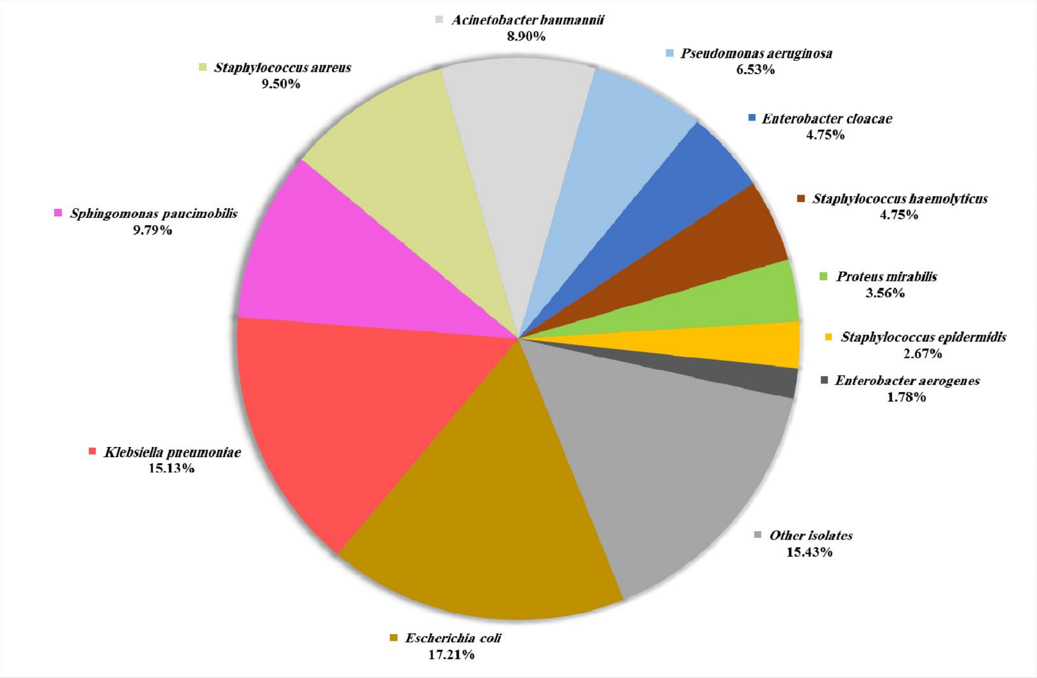
اختبرت عزلات *A. baumannii* المقاومة للمضاد الحيوي (imipenem) للكشف عن إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية (MBLs) بإجراء اختبار القرص المشترك الاميبينيم مع EDTA[15].

حضر عالق حديث من عزلات *A. baumannii* (بكثافة قياسية مقدارها 0.5 مكفرلاند) ، نشر العالق البكتيري على أطباق مولر هنتون ، ثم وضع قرصي اميبينيم لكل طبق بمسافة 20 ملم من المركز إلى المركز. أضيف 10 مايكروليتر من EDTA بتركيز 0.5M إلى احد قرصي الاميبينيم وحضنت طوال الليل. عدت العزلات التي اظهرت زيادة في قطر منطقة التثبيط من 7 ملم فأكثر لقرص Imipenem–EDTA مقارنة بقرص الاميبينيم بمفرده منتجة لإنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية.

النتـائج والمناقشـة

العـزل والتشـخيص:

بينت نتائج زراعة 320 عينة منماة على وسطي أكار الماكونكي وأكار الدم وبعد مدة حضن 24 ساعة ظهور 337 مستعمرة ذات صفات مختلفة، إذ إن 19 عينة كانت تحتوي مستعمرات مختلفة ومتعددة. وعينتان لم تعطي أي نمو بكتيري حتى بعد فترة حضن 48 ساعة وقد يعود ذلك إلى وجود بكتريا لاهوائية تحتاج إلى ظروف حضن لاهوائية أو لعدم كفاية فترة الحضن او عدم ملائمة هذين الوسطين لنمو اجناس بكتيرية توجد في العينة. وبالاعتماد على نتائج الفحص المجهري للعزلات المصبغة بصبغة كرام والاختبارات الكيموحيوية المنجزة بوساطة جهاز الفايتك المجهز من شركة بايوميروكس، شخصت 30 عزلة على إنها بكتريا *A.baumannii* من أصل 337 مستعمرة نامية وبنسبة ظهور بلغت (8.9%) بينما شكلت كل من بكتريا *E. coli* و *Klebsiellapneumoniae* و *Sphingomonaspaucimobilis* و *Staphylococcusspp.* اكثر العزلات انتشارا في العينات المفحوصة في هذه الدراسة وكما مبين في الشكل (١).

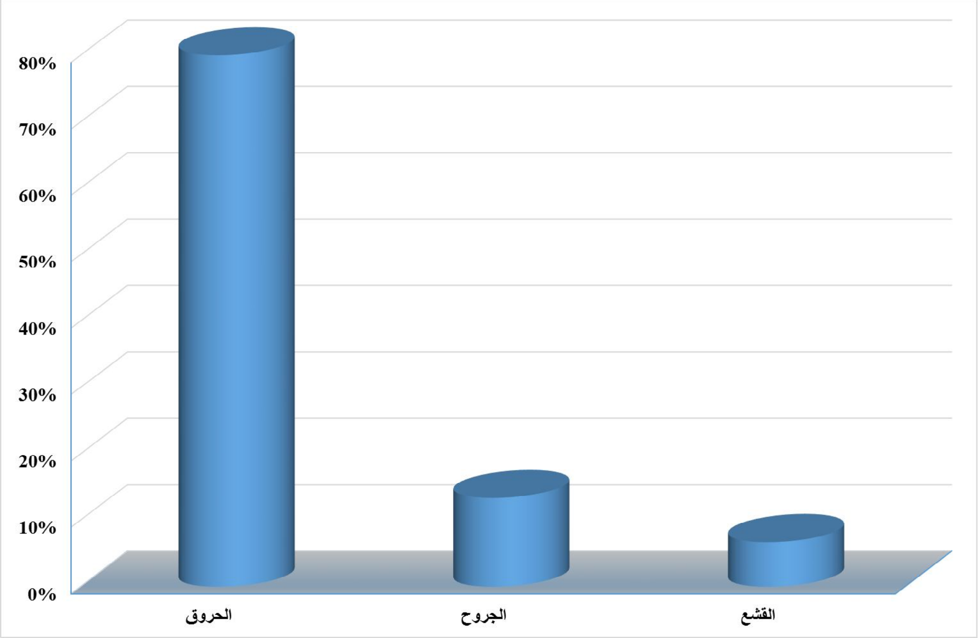


شكل (1) نسب انتشار البكتريا المعزولة من مرضى مستشفى الرمادي التعليمي

توزيععزلاتبكتريا *A. baumannii* حسبنوعالخمج:

يبينالشكل (2) توزيععزلاتبكتريا*A. baumannii*حسبنوعالخمج ،إذ يلاحظ أنأعلىمعدل لهذه البكترياظهر فيعيناتالحروق بنسبة 80%، أمامعدل عزلها من الجروح فقد بلغ 13.33% ، وبلغ معدل العزل منالخمجفيالمسالكالتنفسيةمنخلالعينات القشع 6.67% ، فيما لم تظهر حالات إصابة بهذه البكتريا في العينات السريرية الأخرى (الدم والإدرار والخروج).

إن العوامل المشجعة على إحداث الإصابة في المرضى هي مدة الرقود الطويلة في المستشفى وضعف الجهاز المناعي في الأطفال الحديثي الولادة وفي كبار السن والعامل الأهم هو التعرض للمضادات الحيوية [16]. وهذا يوضح نسبة الظهور العالية لـ Acinetobacter في عينات الحروق مقارنة مع عينات الجروح والقشع، إذ إن طبيعة الأنسجة التالفة بسبب الحرق تمثل وسطا مثاليا لنمو هذه البكتريا الانتهازية وكثرة استخدام المضادات الحيوية وبالأخص سيفالوسبورينات الجيل الثالث التي تكون ذات تأثير سلبي على الأجناس البكتيرية الأخرى وتشجع الاستيطان بجنس Acinetobacter وكما ان المضادات قد تقضي على السلالات البرية (غير الطافرة) الحساسة للمضادات الحيوية وتنتخب الخلايا الطافرة المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية ولعدم قدرة الآليات الدفاعية لجسم المريض على التخلص من هذه الخلايا الطافرة نتيجة لما يفقده المريض من سوائل وبروتينات مناعية أثناء الحرق بالإضافة إلى قلة الخلايا الحيوية وقلة ضخ الدم وبالنتيجة تتكاثر تلك الخلايا الطافرة المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية وتسود لأحداث الإصابة [17].



الشكل (2)توزيععزلاتبكتريا*Acinetobacterbaumannii*حسبنوعالخمج

حساسية بكتريا*A. baumannii* للمضادات الحيوية:

اختبرت حساسية العزلات البكتيرية تُجاه (20) مضاد حيوي واستعملتطريقة انتشار الاقراص على الوسط الصلب، وحُددت مقاومتها للمضادات الحيوية اعتمادا على قياس قطر منطقة التثبيط(بالمليمتر).

بينت النتائج أن بكتريا *A. baumannii* حساسة للمضاد الحيوي Levofloxacin بنسبة 80% وللمضاد الحيوي Doxycycline بنسبة 66.67% وللمضاد الحيوي Ciprofloxacin بنسبة 26.67% وللمضاد الحيوي Ceftazidime بنسبة 23.33% وللمضادات الحيوية Meropenem و Amikacin و Imipenem و Gentamicin بنسبة 20% وللمضادات الحيوية Aztreonamو Tobramycin بنسبة 16.67% وللمضاد الحيوي Ampicillin/sulbactamبنسبة 13.33% وسجلت المضادات الحيوية Nitrofurantoin و Piperacillin/ tazobactamو Cefepimeنسبة بلغت 6.67%، بينما كانت عزلات *A. baumannii* مقاومة بنسبة 100% لكل من مضادات Ampicillin، Cefazolin، Cefotaxime، Cefoxitin، Cloxacillin، Colistin و Trimethoprim. كما مبين في الجدول (1).

أظهرت جميع سلالات *A. baumannii* المعزولة (n=30) مقاومة متعددة للأدوية، إذ ابدت العزلات مقاومة للعديد من المضادات الحيوية المنتمية إلى أكثر من ثلاثة أصناف مختلفة منها البنسلينات والسيفالوسبورينات بالإضافة إلى مقاومتها للكاربابينيم.

إن مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحيوية ترك خيارات قليلة من المواد العلاجية للإصابات المتسببة عنها ونظرا لكون الكاربابينيم العلاج الرئيسي لهذه البكتريا أصبح غير فعال بسبب المقاومة العالية لهذه البكتريا في حين اشارت بعض الدراسات إلى أن Acenitobacter تكون حساسة للكوليستين وانه العلاج البديل[1]. وهو عكس ما ظهر في نتائج الدراسة الحالية من أن عزلات *A. baumannii* في هذه الدراسة أبدت مقاومة بنسبة (100%) للكوليستين مما يعني نشوء جيل أكثر مقاومة لهذا المضاد، وبينت الدراسة أن المضاد الأكفأ في معالجة هذه البكتريا هو Levofloxacin الذي أبدت 80% من عزلات هذه الدراسة حساسية تجاهه.

تعزى مقاومة هذه البكتريا إلى الانتشار الواسع لها في البيئة خصوصا بيئة المستشفيات وقابليتها في تحمل مدى واسع من الظروف البيئية،كما تعد من الجراثيم الانتهازية التي تحتاج إلى مغذيات قليلة في نموها فضلاً عن الاستعمال العشوائي الواسع للمضادات الحيوية الذي ساعد على ظهور سلالات مقاومةفقد لوحظ تحول البكتريا المرضية من بكتريا حساسة للمضادات إلى بكتريا مقاومة

للعديد من المضادات،كما يعزى ظهور السلالات المقاومة إلى حدوث الطفرات التي تزداد عندما يؤثر المضاد على واحد من الأهداف الحيوية في الخلية البكتيرية مثل عملية تثبيط عمل الجدار الخلوي أو تثبيط تصنيع البروتين وغيرها، والتي تزداد عن طريق البلازميد الذي يحمل صفة المقاومة المتعددة لمجموعة من المضادات الحيوية [18].

جدول (1) نتائج تحسس بكتريا*A. Baumannii* للمضادات الحيوية Antibiotics

ت	اسم المضاد الحيوي	التركيز (µg)	Sensitive %	Resistance %
1	Amikacin	30	20	80
2	Ampicillin	10	0	100
3	Aztreonam	30	16.67	83.33
4	Cefazolin	10	0	100
5	Cefepime	30	6.67	93.33
6	Cefotaxime	30	0	100
7	Cefoxitin	30	0	100
8	Ceftazidime	30	23.33	76.67
9	Ciprofloxacin	5	26.67	73.33
10	Cloxacillin	10	0	100
11	Colistin	10	0	100
12	Doxycycline	10	66.67	33.33
13	Gentamicin	15	20	80
14	Imipenem	10	20	80
15	Levofloxacin	5	80	20
16	Meropenem	10	20	80
17	Nitrofurantoin	10	6.67	93.33
18	Piperacillin/tazobactam	100/10	6.67	93.33
19	Tobramycin	10	16.67	83.33
20	Trimethoprim	30	0	100

يظهر من الجدول (1) أن جميع سلالات *A. baumannii* المعزولة كانت مقاومة للمضاد السفوكستين، وقد استعمل اختبار تثبيط الإنزيم باستخدام الكلوكساسلين لتأكيد إنتاج إنزيمات الـ AmpC بيتالاكتاميز. وقد أعطت جميع عزلات *A. baumannii* نتيجة موجبة لاختبار التثبيط الذي أكد أنها كانت منتجة لإنزيمات AmpC بيتالاكتاميز وبذلك فان المقاومة للسفوكستين في هذه العزلة لا تعود إلى النقصان في نفاذية الغلاف الخارجي وا نما تعود الى وجود انزيمات الـAmpC بيتالاكتاميز المشفرة على الكروموسوم والتي تجعلها مقاومة لطيف واسع من السيفالوسبورينات [19]. وقد استخدم عقار الكلوكساسلين كوسيلة للكشف عن وجود الإنزيم في العزلات بطريقة انتشار الأقراص وكفعل اتحادي مع مضاد السفوكستين الذي يتحلل بفعل إنزيمات AmpC بيتالاكتاميز [18].

أظهرت ٢٤ عزلة مقاومة للمضاد الحيوي الميروبينيم من أصل 30 عزلة (الجدول 1) فيما أظهرت 18 عزلة *A. baumannii* (60%) قابلية على إنتاج إنزيمات بيتالاكتاميز المعدنية حيث زاد قطر التثبيط عند إضافة المادة المانعة للتخثر EDTA أكثر من 7 ملم، فيما لم تعطي 6 عزلات (40%) نتيجة ايجابية للكشف.

مقاومة بكتريا *A. baumannii* لمضادات الكاربابينيم قد تكون ناتجة عن الإنزيمات المسماةبيتالاكتاميز المعدنية (MBL)، والتي لها القدرة على تحليل وحدات مجموعة المضاد الحيوي المتضمنة الإميبينيم والميروبينيم. وتتثبط إنزيمات بيتالاكتاميز المعدنية عند تعرضها لمادة مانعة للتخثر مثل EDTA، هذه الخاصية استخدمت في الكشف المختبري عن أنتاج هذه الانزيمات [18].

المصادر

1. Owlia, P., Azimi L., Gholami A., Asghari B., and Lari A.R. **2012**: ESBL- and MBL-mediated resistance in *Acinetobacterbaumannii*: a global threat to burn patients. *Le Infezioni in Medicina*, 3: 182-187.
2. Queenan, A.M., and Bush K. **2007**. Carbapenemases: the Verstile β-Lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 20 (3): 440-458.
3. Gales, AC., Reis AO., and Jones RN. **2001**. Contemporary assessment of antimicrobialsusceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of availableinterpretative criteria and quality control guidelines. *J. Clinical Microbiology.*, 39: 183-190.
4. Forbes,BA.,Sahm DF., and Alice W. **2002**. *Bailey and Scott'sDiagnostic Microbiology*, 11th ed. Mosby, St. Louis, MO.
5. Shivaprasad, A., Antony B., and Shenoy P. **2014**. Compartiveevaluation of four phenotypic tests for detection of Metallo- β-Lactamases and carbapenems production in Acinetobacterbaumannii. *Journal of clinical and diagnostic research*, 8(5): 5-8.
6. Ferreira, ACB, Gobara S., and Costa SF. **2004**. Emergence of resistance in*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacterbaumannii* species after the use ofantimicrobials for burned patients. *Infection Control and Hospital Epidemiology*,25(10): 868-872.
7. Srinivasan, S., Shashiala, and Devi S. **2014**. Mechanisms of resistance to carbapenems among Acinetobacter isolates. *International Journal of Biomedical Research*. 5: 4-6.
8. Celik,C., Gzel MG., Dayi F., Bakici MZ., Elaldi N., and Gulturk E. **2014**. Increasing antimicrobial resistance in nosocomial pathogens; multidrug-resistant extensively drug-resistant and pandrug-resistant Acinetobacterbaumannii. *Journal of Microbiology and infectious diseases*, 4(1): 7-12.
9. Ambler, R.P.,**1980**. The structure of beta-lactamases. Philos. *Trans R. Soc. Lond.* B289: 321-331.
10. Bauer,AW., Kirby WAM., Sherrris JS., and Turk M. **1966**. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.*American Journal of Pathology*, 45: 493-496.
11. Vandepitte, J., Engbaek K., Piot P., and Heuck CC. **1991**. Basic laboratory procedures in Clinical Bacteriology.*World Health Organization Geneva*.
12. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). **2010**. Performance standards forantimicrobial susceptibility testing 18th. Information supplement (M100-S20).

13. Falagas, ME., Koletsi PK., and Bliziotis IA. **2006**. The diversity ofdefinitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacterbaumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Medical Microbiology*, 55: 1619-1629.
14. Coudron,PE.,**2005**. Inhibitor-based methods for detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in *Klebsiella spp*., *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*. *J. Clinical Microbiology*, 43: 4163-4167.
15. Yong, D., Lee K., Yum JH., Shin HB., Rossolini GM., and Chong Y. **2002**. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-β-lactamases producing clinicalisolates of *Pseudomonas spp* and *Acinetobacter spp*. *J. Clinical Microbiology*, 40: 3798-3801.
16. Zarrilli, R., Maria G., Federica T., Maria T. andAthanassios T. **2009**. Carbapenem resistance in *Acinetobacterbaumannii*: themolecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J. Infect. Developing Countries*, 3(5): 335-3341.
17. Church, D., Elsayed S., Reid O., Winston B., and Lindsay R. **2006**. Burn and wound infections.*Clinical Microbiology Reviews*, 19: 403- 434.
18. Guclu, AU. **2011**. Molecular analysis of beta lactamases in clinical*Acinetobacterbaumannii* isolates from intensive care units. Doctoral thesis*,* Middle East Technical University, Turkey.
19. Maragakis,LL., and Perl TM. **2008**. *Acinetobacterbaumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance and treatment options. *Clinical Infect. Dis*eases, 46: 1254-1263.