

## KARBAPENEMLERE DİRENÇLİ ACINETOBACTER BAUMANNII SUŞLARINDA METALLO-BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Hatice TÜRK DAĞI, Halit KUŞ, Şerafettin KEYİK, Uğur ARSLAN, İnci TUNCER, Duygu FINDIK

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

### ÖZET

*Acinetobacter türleri antibiyotiklere karşı çoğul direnç geliştirmeleri nedeniyle önemli hastane infeksiyonu etkenleridir. Acinetobacter kökenlerinde beta-laktam antibiyotiklere karşı olan direnç büyük oranda beta-laktamaz üretimine bağlıdır. Metallo-beta-laktamaz (MBL) aktivitesi gösteren IMP ve VIM enzimleri aztreonam dışındaki tüm beta-laktam antibiyotikleri hidroliz edebilme yeteneğindedir. Bu çalışmanın amacı, karbapenemlere dirençli A.baumannii suşlarında MBL enzimlerinin varlığının araştırılmasıdır.*

*Çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenemlere dirençli A.baumannii suşları çalışmaya alınmıştır. Bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler, Phoenix 100 BD (Becton Dickinson, Sparks) ve VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemleri kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi Clinical Laboratory Standards Institute önerileri dikkate alınarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. MBL varlığını araştırmak için kombine disk yöntemi (KDY) uygulanmıştır. KDY ile MBL ürettiği saptanan suşlarda blaIMP ve blaVIM genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılmıştır.*

*Karbapenem dirençli 202 A.baumannii suşunun 139'unda (% 69) KDY ile MBL üretimi saptanmıştır. PCR ile 139 suşun hiçbirinde blaIMP ve blaVIM genleri tespit edilmemiştir.*

*Bu sonuçlar hastanemizdeki A.baumannii suşlarında karbapenem direncinden sorumlu enzimlerin IMP ve VIM olmadığını göstermiştir. MBL üreten bakterilerin aztreonam dışında tüm beta-laktamlara dirençli olması ve tedavide kullanılabilen bir MBL inhibitörünün bulunmaması epidemiyolojik açıdan MBL varlığının tespit edilmesini önemli kılmaktadır. Bundan sonraki amacımız diğer MBL enzimlerinin varlığını araştırmak olacaktır.*

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter baumannii, kombine disk yöntemi, metallo-beta-laktamaz*

### SUMMARY

#### Investigation of Metallo-beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* Strains Resistant to Carbapenems

*Acinetobacter species are important agents of nosocomial infections as they develop multiple resistance to antibiotics. Resistance to beta-lactam antibiotics in Acinetobacter strains depends largely on the production of beta-lactamases. IMP and VIM enzymes indicating metallo-beta-lactamase (MBL) activity are able to hydrolyze all beta-lactam antibiotics except aztreonam. The aim of this study was to investigate the presence of MBL enzymes in A.baumannii strains resistant to carbapenems.*

*A.baumannii strains isolated from various clinical specimens resistant to carbapenems were included in this study. The isolates were identified by conventional methods, Phoenix 100 BD (Becton Dickinson, Sparks) and VITEK 2 (bioMérieux, France) automated systems. Antibiotic susceptibility test was performed by Kirby-Bauer disk-diffusion method according to the standards of Clinical and Laboratory Standards Institute. Combined disc method (CDM) was applied to investigate the presence of MBL. The presence of blaIMP and blaVIM genes were investigated by polymerase chain reaction (PCR) in strains detected MBL production by CDM.*

*MBL production was detected by CDM in 139 (69 %) of 202 A.baumannii strains resistant to carbapenems. blaIMP and blaVIM genes were not identified in any of the 139 strains tested by PCR.*

*These results showed that the IMP and VIM enzymes are not responsible for carbapenem resistance in A.baumannii strains in our hospital. MBL-producing bacteria are resistant to all beta-lactams except aztreonam and absence of MBL inhibitor that may be used for treatment, determination of the presence of MBL is an important epidemiological point of view. Our next goal will be the investigation of other MBL enzymes.*

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii, combined disc method, metallo-beta-lactamase*

**İletişim adresi:** Hatice Türk Dağı, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

Tel: (0332) 224 47 46, GSM: (0505) 253 36 38

e-posta: haticeturkdagi@yahoo.com

Alındığı tarih: 03.10.2012, Yayına kabul: 22.10.2012

## GİRİŞ

*Acinetobacter* türleri her yerde bulunabilen saprofit bakterilerdir<sup>(20)</sup>. Doğada toprak, su, atık sularında ve hastane ortamı florasında bulunmaktadırlar<sup>(13)</sup>. *Acinetobacter* türlerinin sağlıklı insanların derisinde, ağız florasında, solunum yollarında, genitoüriner sistem ve alt gastrointestinal sistemlerinde bulunduğu gösterilmiştir<sup>(3)</sup>. *Acinetobacter* türleri kuruluğa dayanıklı olmaları, farklı ısı ve pH değerlerinde yaşayabilmeleri ve antibiyotiklere karşı çoğul direnç geliştirmeleri nedeniyle önemli hastane infeksiyonu etkenleridir<sup>(24,28)</sup>. Sağlıklı insanlar için patojen olmayan ancak bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda infeksiyonlara neden olabilen fırsatçı bakterilerdir<sup>(32)</sup>. İnsanlardan en sık izole edilen tür *Acinetobacter baumannii*'dir<sup>(16)</sup>.

*Acinetobacter* kökenlerinde beta-laktam antibiyotiklere karşı olan direnç büyük oranda beta-laktamaz üretimine bağlıdır<sup>(19)</sup>. Karbapenemler *A.baumannii*'nin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde sık kullanılmalarına karşın imipenem direncinin ilk kez belirlendiği tarihten bu yana bu bileşiklere direnç oranı tüm dünyada hızla artmaktadır<sup>(4,11)</sup>. *A.baumannii* suşlarında karbapenem direnci, beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktamaz enzimleri ile hidrolizi, dış membran proteinleri ve penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklikler ve eflüks pompasının artmış aktivitesi gibi mekanizmaların çeşitli kombinasyonları ile ortaya çıkar<sup>(24,31)</sup>.

Metallo-beta-laktamazlar (MBL) 1980'de ilk olarak Ambler'in sınıflandırmasına göre kategorize edilmişlerdir. Ambler B sınıfında yer alan, MBL aktivitesi gösteren ve plazmid aracılı karbapenemazlardan olan IMP ve VIM, aztreonam dışındaki tüm beta-laktam antibiyotikleri hidroliz edebilme yeteneğindedir<sup>(12,25)</sup>. Bu çalışmanın amacı, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A.baumannii* suşlarında karbapenem direncinden sorumlu MBL enzimlerinin varlığının araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenemlere dirençli 202 *A.baumannii* suşu çalış-

maya alınmıştır. Bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler, Phoenix 100 BD (Becton Dickinson, Sparks) ve VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemleri kullanılarak yapılmıştır. Bakterilerin antibiyotik duyarlılık testi Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri dikkate alınarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır<sup>(5)</sup>. Kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

MBL varlığını fenotipik olarak test etmek için kombine disk yöntemi (KDY) uygulanmıştır. Bu amaçla *A.baumannii* suşlarından 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak Mueller-Hinton Agara (MHA) eküvyonla yayılmıştır. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra aralarında 22 mm olacak şekilde iki imipenem (10 µg) diski yerleştirilerek imipenem disklerinden birinin üzerine 10 µl EDTA (0.5M, pH 8) eklenmiştir. Plaklar 35°C'da 18 saat inkübe edilmiş, imipenem-EDTA diskinin inhibisyon zon çapı imipenem diskinin inhibisyon zon çapından 7 mm daha geniş ise test sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

KDY ile MBL ürettiği saptanan suşlarda *blaIMP* ve *blaVIM* genlerinin varlığı PCR ile araştırılmıştır. DNA ekstraksiyonu, Qiagen DNA ekstraksiyon kiti (QIAGEN, United Kingdom) kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmıştır. IMP ve VIM genlerinin varlığını araştırmak için IMP-F (5'GTTTATGTTCA TACWTCG3'), IMP-R (5'GGTTTAAAYAAAACAA CCAC3'), VIM-F (5'TTTGGTCGCATATGCCA ACG3') ve VIM-R (5'CCATTCAGCCAGATCG GCAT3') primerleri kullanılarak PCR analizi gerçekleştirilmiştir. PCR döngüsü 94°C'de 5 dk.'lık başlangıç denatürasyonu sonrasında; 95°C'de 30 s, bağlanma VIM için 66°C'de 1 dk. ve IMP için 45°C'de 1 dk. ve uzama 72°C'de 1 dk.'dan oluşan 30 siklusu takiben 72°C'de 10 dk.'lık son uzama şeklinde uygulanmıştır<sup>(2)</sup>. PCR ürünleri % 2 agaroz jelde 100 V'da 2 saat yürütüldükten sonra etidyum bromid ile boyanan jeldeki 500 bp (*blaVIM*) and 432 bp (*blaIMP*) bantlar UV ışık altında GelDoc sistemi yardımıyla görüntülenmiştir. PCR analizinde pozitif kontrol olarak daha önceden *blaIMP* ve *blaVIM* genleri saptanmış *P. aeruginosa* suşları kullanılmıştır.

## BULGULAR

Laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve çalışmaya alınan karbapenemlere dirençli 202 *A.baumannii* suşundan 139'unun (% 69) KDY ile MBL ürettiği saptanmıştır. KDY ile MBL ürettiği saptanan suşların 102'si (% 73) kan, 20'si (% 14) trakeal aspirat, 9'u (% 6) yara, 5'i (% 4) idrar ve 3'ü (% 2) balgam kültüründen izole edilmiştir. PCR ile *blaIMP* ve *blaVIM* genleri tespit edilmemiştir.

## TARTIŞMA

*A.baumannii* son yıllarda antibiyotiklere artmış bir direnç göstermekte, hastanelerde ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde çoklu ilaca dirençli infeksiyonlara ve inatçı nozokomiyal salgınlara neden olmaktadır<sup>(8,15)</sup>. Hastane ortamında sık ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı çoklu dirençli suşların yayılımını kolaylaştırmakta ve tedaviyi güçleştirmektedir<sup>(8,14)</sup>.

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de *A.baumannii* türlerinin birçok ilaca artan direnci nedeniyle tedavide karbapenemler ilk seçenek olarak düşünülmekteydi. Son zamanlarda *A. baumannii* izolatlarında karbapenemaz üretimindeki artış, bu antibiyotiklere karşı direnci de beraberinde getirmiştir<sup>(7,9)</sup>.

*A.baumannii* türlerinde karbapenemleri de içeren beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin temel mekanizması ya kromozom ya da plazmid tarafından kodlanan beta-laktamaz üretiminin sonucudur. Beta-laktamazlara ek olarak porin değişimi ve penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) modifikasyonu sonucu da direnç oluşabilir<sup>(7,27)</sup>. *A.baumannii* suşlarında MBL türü enzimler OXA tipi karbapenemazlardan daha az görülmesine rağmen MBL'lerin karbapenemaz aktivitesi önemli ölçüde daha potenttir (100-1000 kat). IMP ve VIM varyantları karbapenem ve diğer beta-laktam antibiyotiklere (aztreonam hariç) karşı güçlü hidrolitik etkinliğe sahip olup yüksek düzeyde dirence neden olur<sup>(24)</sup>.

Son yıllarda özellikle MBL'lerin yol açtığı karbapenem direncinin sıklığındaki artış hem ülkemizde hem de dünyada izlenmektedir. Plazmid kökenli IMP-1 tipi MBL ilk olarak

Japonya'da 1988'de *P.aeruginosa*'da tanımlandıktan sonra diğer Gram negatifler arasında da yayılmaya başlamış, 1996-1997 yıllarında *Serratia marcescens* kökenlerinde de gösterilmiştir. Avrupa'da ilk olarak İtalya'da *A.baumannii* kökenlerinden IMP-2 izole edilmiş, daha sonra yeni bir sınıf B MBL'ler olan VIM ailesi Avrupa'da *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerinde tanımlanmıştır. Sırasıyla VIM-3, VIM-4, VIM-5, VIM-6 İtalya, Fransa, Yunanistan, İspanya, Portekiz ve Türkiye'de bulunmuştur<sup>(21,22,26)</sup>. Avrupa'da, özellikle Akdeniz çevresi ülkelerde bu enzimleri kodlayan genleri taşıyan *Acinetobacter* izolatları için sınırlı bildirim söz konusu iken, bazı Asya ülkeleri bu genleri taşıyan izolatlar için endemik gibi görünmektedir<sup>(7)</sup>.

Ülkemizde MBL genlerinin saptandığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Özgümüş ve ark.<sup>(23)</sup>, tarafından 2007 yılında yapılan çalışmada 100 *P.aeruginosa* izolatının birinde VIM tipi, 9'unda IMP-1 tipi MBL geni saptanmıştır. Mersin Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada 29 *P.aeruginosa* izolatından 11 tanesinde VIM-1 geni pozitif bulunmuş, IMP-1, IMP-2 ve VIM-2 genleri saptanmamıştır<sup>(27)</sup>. Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada 110 *P.aeruginosa* izolatından 11 tanesi *blaVIM* geni açısından pozitif bulunmuş fakat *blaIMP-1* geni açısından pozitiflik bulunmamıştır<sup>(6)</sup>. Aktaş ve ark.<sup>(1)</sup>, E test ile MBL pozitif bulunan *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında IMP ve VIM geni tespit etmemişlerdir.

Bugüne kadar dünyada ve ülkemizde yapılan araştırmalarda MBL enziminin tespitine yönelik çeşitli fenotipik testler uygulanmış, en yüksek özgüllük ve duyarlılık E test yöntemi ile bildirilmiştir. Walsh ve ark.<sup>(30)</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, E testin MBL'nin fenotipik tayinindeki duyarlılığı % 94 ve özgüllüğü % 95 olarak belirlenmiştir. 2004 yılında Kore'de yapılan bir çalışmada, *blaIMP-1* geni pozitif bulunan *A.baumannii* izolatlarının hepsi, *blaIMP-2* geni pozitif *A.baumannii* izolatlarının % 95'i E-test ile pozitif olarak tespit edilmiş, MBL negatif OXA-23 pozitif izolatların bir tanesi E-test ile yanlış pozitif sonuç vermiştir<sup>(18)</sup>. B grubu MBL'lerin tespiti için EDTA ile inhibisyon esasına dayalı çift disk sinerji testleri fenotipik tanımlamada kullanılmaktadır. MBL'ler EDTA ve tiyol bazlı

bileşiklerle inhibe olmaktadır. Bu nedenle seftazidim ve imipenem gibi beta-laktamların EDTA veya 2-merkaptopropiyonik asit ile birlikte kullanımına dayalı disk difüzyon testleri MBL'leri saptayabilmektedir. MBL'lerin tespitinde son yıllarda Hodge Testi ve EDTA disk sinerji yöntemleri geliştirilmiştir. *Acinetobacter* türlerinde fenotipik olarak MBL tespiti için kombine disk difüzyon testi duyarlı ve pratik bir yöntemdir<sup>(17)</sup>. Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada imipenem-EDTA kombine disk difüzyon yöntemi ile *Acinetobacter* izolatlarının % 51.6'sında MBL fenotipi izlenmiş, ancak izolatlarda *blaIMP-1* ve *blaVIM-2* genleri negatif bulunmuştur<sup>(10)</sup>. Ankara'da yapılan başka bir çalışmada imipenem dirençli 79 *Acinetobacter* izolatının E test ile % 51.9'unun, kombine disk sinerji testi ile % 58.2'sinin, çift disk sinerji testi ile % 55.7'sinin, modifiye Hodge Testi ile % 69.6'sının MBL ürettiği saptanmış, PCR yöntemiyle *blaIMP-1* geni araştırılmış, ancak pozitiflik bulunamamıştır<sup>(29)</sup>.

Çalışmamızda, MBL'in fenotipik tayininde karbapenemlere dirençli izolatlar KZY uygulanmış, % 69 oranında pozitiflik saptanmıştır. Ancak direnç genlerinin gösterilememiş olması nedeniyle özgüllük ve duyarlılık yorumları yapılamamıştır. Yaptığımız fenotipik testle bulduğumuz MBL pozitiflik oranı oldukça yüksektir. Yalancı pozitiflik EDTA'nın bakterisidal etkisinden kaynaklanmış olabilir. PCR analizi ile MBL varlığını saptamak en güvenilir yöntemdir. Ancak çalışmamızda 139 *A.baumannii* izolatının hiçbirinde PCR ile *blaIMP* ve *blaVIM* genleri saptanamamıştır.

Sonuç olarak, hastanemizdeki *A.baumannii* suşlarında karbapenem direncinden sorumlu enzimlerin IMP ve VIM olmadığı görülmüştür. *Acinetobacter* cinsi bakterilerde, giderek artan karbapenem direncinin ve MBL üretiminin belirlenmesi, hem hastalara optimum tedavinin uygulanabilmesi hem de direnç genlerinin hastane ortamında diğer bakteri türlerine aktarılma olasılığının önlenmesi açısından önemlidir. MBL üreten bakterilerin aztreonam dışında tüm beta-laktamlara dirençli olmaları ve tedavide kullanılacak bir MBL inhibitörünün bulunmaması epidemiyolojik açıdan MBL varlığının tespit edilmesini önemli kılmaktadır. Bundan sonraki amacımız diğer MBL enzimlerini araştırmak olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Aktaş Z, Kayacan CB. Investigation of metallo-β-lactamase producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* by E test, disk synergy and PCR, *Scand J Infect Dis* 2008;40(4):320-5.  
<http://dx.doi.org/10.1080/00365540701704698>  
PMid:17934980
2. Amudhan SM, Sekar U, Arunagiri K, Sekar B. OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, *Indian J Med Microbiol* 2011;29(3):269-74.  
<http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.83911>  
PMid:21860108
3. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features, *Clin Microbiol Rev* 1996;9(2):148-65.  
PMid:8964033 PMCID:172888
4. Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment, *Clin Microbiol Infect* 2002;8(11):687-93.  
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00487.x>  
PMid:12445005
5. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement, CLSI Document M100-S21, CLSI, Wayne (2011).
6. Çakar A. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri'nde ayrıştırılan *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz enziminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması (Doktora tezi), Hacettepe Üniv Tıp Fak., Ankara (2005).  
PMCID:1739689
7. Çiftçi İH, Aşık G. *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları, *ANKEM Derg* 2011;25(3):196-207.
8. Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde direnç sorunu, *Kocatepe Tıp Derg* 2004;5(2):17-21.
9. Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. Non-fermentative Gram-negative bacteria, *Int J Antimicrob Agents* 2007;29(Suppl 3):S33-41.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(07\)72176-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(07)72176-3)
10. Eser ÖK, Ergin A, Haşçelik G. Erişkin hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı, *Mikrobiyol Bul* 2009;43:383-90.  
PMid:19795613
11. Fillaux J, Dubouix A, Conil JM, Laguerre J, Marty N. Retrospective analysis of multidrug-resistant

- Acinetobacter baumannii* strains isolated during a 4-year period in a University Hospital, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27(7):647-53.  
<http://dx.doi.org/10.1086/507082>  
 PMid:16807836
12. Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *Int J Antimicrob Agents* 2008;32(2):106-19.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.02.013>  
 PMid:18571905
  13. Graevenitz A. *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella* and other nonfermentative Gram-negative bacteria, "Murray RP (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed., Chapter 41, p.520-32, ASM Press, Washington (1995).
  14. Hasman H, Çetin DB. Nozokomiyal infeksiyon etkeni mikroorganizmalarda antibakteriyel direnç, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005;35(1):67-73.
  15. Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: Are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis* 2004;39(8):1182-9.  
<http://dx.doi.org/10.1086/424667>  
 PMid:15486843
  16. Koneman WE, Procop WG, Schreckenberger CP, Woods LG. Nonfermentative Gram negative bacilli. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 8th ed, Chapter 7, p.303-91, Lippincott Williams&Wilkins, Baltimore, Philadelphia (2006).
  17. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the Imipenem-EDTA double disk synergy test for differentiating metallo- $\beta$ -lactamase producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2003;41:4623-9.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.10.4623-4629.2003>  
 PMid:14532193 PMCid:254300
  18. Lee K, Yong D, Yum JH et al. Evaluation of Etest MBL for detection of blaIMP-1 and blaVIM-2 allele-positive clinical isolates of *Pseudomonas* species and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2005;43(2):942-4.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.2.942-944.2005>  
 PMid:15695713 PMCid:548058
  19. Lim SM, Webb SA. Nosocomial bacterial infections in intensive care units. I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance, *Anaesthesia* 2005;60(9):887-902.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2044.2005.04220.x>  
 PMid:16115251
  20. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Pseudomonas* and related organisms. *Medical Microbiology*, 5th ed, Chapter 34, p.357-67, Elsevier, Philadelphia (2005).
  21. Negri MC, Morrossini MI, Blazquez J, Bacquero F. Antibiotic resistance in hospital infections: the role of newer cephalosporins, *Clin Microb Infect* 2000;6(3):95-7.  
 PMid:11449667
  22. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in gram-negative aerobes, *Clin Microbiol Infect* 2002;8(6):321-31.  
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00401.x>  
 PMid:12084099
  23. Özgümüş OB, Ceylan R, Tosun I, Sandallı C, Aydın K, Köksal I. Molecular epidemiology of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates carrying IMP-1 metallo-beta-lactamase gene in a university hospital in Turkey, *Microbial Drug Resistance* 2007;13(3):191-8.  
<http://dx.doi.org/10.1089/mdr.2007.748>  
 PMid:17949306
  24. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen, *Clin Microbiol Rev* 2008;21(3):538-82.  
<http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00058-07>  
 PMid:18625687 PMCid:2493088
  25. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(10):3471-84.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01464-06>  
 PMid:17646423 PMCid:2043292
  26. Pournaras S, Tsakris A, Maniati M, Tzouveleki LS, Maniatis AN. Novel variant (bla(VIM-4)) of the metallo-beta-lactamase gene bla(VIM-1) in a clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(12):4026-8.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.12.4026-4028.2002>  
 PMid:12435718 PMCid:132756
  27. Saraç G. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında karbapenem direnci ve direncin moleküler olarak saptanması (Doktora tezi), Mersin Üniv Tıp Fak., Mersin (2011).
  28. Simor AE, Lee M, Vearncombe M et al. An outbreak due to multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: Risk factors for acquisition and management, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(5):261-7.  
<http://dx.doi.org/10.1086/502046>  
 PMid:12026151
  29. Ulusoy Al M, Mumcuoğlu İ, Aksu N ve ark.

- İmipenem dirençli *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2011;41(1):29-36.
30. Walsh TR, Bolmström A, Qvarnström A, Gales A. Evaluation of new E test for detecting metallo- $\beta$ -lactamases in routine clinical testing, *J Clin Microbiol* 2002;40(8):2755-9.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.8.2755-2759.2002>  
PMid:12149325 PMCID:120685
31. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases, *J Antimicrob Chemother* 2006;57(3):373-83.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki482>  
PMid:16446375
32. Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A et al. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy, *Clin Microbiol Infect* 2007;13(5):481-9.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01675.x>  
PMid:17430339