

Alicja Namysłowska<sup>1\*</sup>, Agnieszka E. Laudy<sup>1</sup>, Stefan Tyski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Antybiotyków i Mikrobiologii, Narodowy Instytut Leków

Wpłynęło w czerwcu 2015 r.

1. Wstęp. 2. Oporność na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe. 2.1. Enzymy CHDL. 2.2. Enzymy MBL. 2.3. Karbapenemazy należące do klasy A wg Amblera. 2.4. Nabyte enzymy ES $\beta$ L hamowane przez inhibitory  $\beta$ -laktamaz. 2.5. Enzymy AmpC. 3. Oporność na antybiotyki inne niż  $\beta$ -laktamy. 3.1. Oporność na chinolony i fluorochinolony. 3.2. Oporność na aminoglikozydy. 3.3. Oporność na kolistinę. 4. Aktywne usuwanie antybiotyków z komórki bakteryjnej przy udziale pomp błonowych – mechanizm efflux. 4.1. System pomp RND. 4.2. Inne systemy pomp błonowych. 5. Kanały błonowe – pory. 6. Biofilm i zjawisko *quorum sensing*. 7. Podsumowanie

#### *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of resistance to antibacterial agents

**Abstract:** *Acinetobacter baumannii* has become one of the most dangerous Gram-negative bacterial species, causing numerous infections over the last 20 years. *A. baumannii* is responsible for nosocomial ventilator-associated pneumonia (VAP), urinary tract infections, meningitis and bacteremia. Its remarkable ability to acquire resistance determinants against multiple antibiotics of different classes and to tolerate harsh environments resulted in the dissemination of multi-drug-resistant (MDR) strains. Diverse mechanisms of resistance limit therapeutic options and make the infections difficult to treat. The described resistance mechanisms include: production of  $\beta$ -lactamases, i.e. enzymes modifying structure of antibiotics, activity of efflux pumps, loss of membrane porins and formation of biofilm.

1. Introduction. 2. Resistance to  $\beta$ -lactams. 2.1. CHDLs. 2.2. MBLs. 2.3. Ambler class A carbapenemases. 2.4. Acquired ES $\beta$ Ls inhibited by clavulanic acid. 2.5. AmpC enzymes. 3. Resistance to antibiotics other than  $\beta$ -lactams. 3.1. Resistance to quinolones and fluoroquinolones. 3.2. Resistance to aminoglycosides. 3.3. Resistance to colistin. 4. Efflux systems. 4.1. RND efflux system. 4.2. Other efflux systems. 5. Outer membrane porins. 6. Biofilm and *quorum sensing* process. 7. Summary

**Słowa kluczowe:** *Acinetobacter baumannii*, biofilm, karbapenemazy, oporność na antybiotyki

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, biofilm, carbapenemases, antibiotic resistance

## 1. Wstęp

W 2008 roku akronimem ESKAPE określono 6 gatunków bakterii najczęściej wywołujących poważne zakażenia szpitalne: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* sp. Określenie ESKAPE, oznaczające w języku angielskim ucieczkę („escape”), w tym przypadku oznacza działanie związków przeciwbakteryjnych na wymienione wyżej gatunki drobnoustrojów [11]. Należący do tej grupy *A. baumannii* okazał się w ostatnich 20 latach jednym z najbardziej alarmujących patogenów wywołujących zakażenia trudne w leczeniu.

Rodzaj *Acinetobacter*, należący do rodziny *Moraxellaceae*, obejmuje bakterie Gram-ujemne, pałeczki (w fazie logarytmicznego wzrostu), tlenowe, niefermentujące, niewybredne, niewykazujące zdolności ruchu (gr. *akinetos* – nieruchliwy). Rodzaj ten obejmuje co najmniej 41 gatunków, z których większość nie stanowi zagrożenia dla zdrowia człowieka. Gatunki *Acinetobacter calcoaceticus* (gatunek genowy 1), *A. baumannii* (gatunek genowy 2), *Acinetobacter pittii* (gatunek genowy 3),

*Acinetobacter nosocomialis* (gatunek genowy 13TU) oraz dwa rzadko występujące gatunki genowe „pomiędzy 1 i 3” i „blisko spokrewniony z 13TU” wykazują tak duże podobieństwo fenotypowe, że określa się je wspólnie jako *Acinetobacter calcoaceticus* – *A. baumannii*-complex [33]. Spośród wymienionych gatunków najbardziej istotny z klinicznego punktu widzenia jest *A. baumannii*. Posiada on wiele naturalnych mechanizmów oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki, a ponadto wykazuje zdolność nabywania nowych determinantów oporności na związki przeciwdrobnoustrojowe.

Szczepy gatunku *A. baumannii* są naturalnie odporne na ampicylinę, amoksycylinę oraz jej połączenie z kwasem klawulanowym, cefazolinę, cefotaksym, ceftriaksone, ertapenem, trimetoprim, fosfomicynę (wg European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST). Warto zauważyć, że u opisywanych pałeczek może występować wrażliwość na ampicylinę w połączeniu z sulbaktamem. Sulbaktam, jako jedyny z inhibitorów  $\beta$ -laktamaz, wykazuje aktywność wobec szczepów z gatunku *A. baumannii*. Do naturalnych mechanizmów oporności na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe należy wytwarzanie  $\beta$ -laktamaz typu AmpC – ADC (*Acinetobacter*

\* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Oczki 3, 02-007 Warszawa; tel.: 22 628 08 22; tel/fax: 22 621 13 51; e-mail: a-namyslowska@wp.pl

derived cephalosporinase) [40] oraz  $\beta$ -laktamaz OXA-51-like [16]. Coraz częściej na całym świecie izoluje się wielolekooporne szczepy *A. baumannii* (MDRAB – multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*) [17, 28]. Determinanty oporności u szczepów MDRAB (wykazujących średnią bądź całkowitą oporność na co najmniej trzy klasy antybiotyków) są najczęściej umieszczone w obrębie integronów i transpozonów, co bardzo ułatwia ich rozprzestrzenianie się [86].

Leczenie zakażeń wywołanych wielolekoopornymi szczepami *A. baumannii* nie może ograniczać się do jednego antybiotyku lub chemioterapeutyku. Poszukuje się takich zestawień związków, które zapewnią skuteczną terapię, jednocześnie ograniczając ryzyko wytworzenia przez dany szczep mechanizmu oporności. Dotychczas wykazano działanie synergistyczne  $\beta$ -laktamów z aminoglikozydami i fluorochinolonami wobec szczepów *A. baumannii*. Jednak występująca coraz częściej u opisywanych pałeczek oporność na wymienione wyżej grupy antybiotyków i chemioterapeutyków, skłania do stosowania innych związków, najczęściej w terapii złożonej. W schematach leczenia zakażeń MDRAB, kluczowym lekiem są polimyksyny w zestawieniu z karbapenemami lub sulbaktamem lub tygecykliną lub ryfampicyną [109]. Wobec szczepów *A. baumannii* opornych na karbapenemy (imipenem i meropenem) proponowane są zestawienia kolistyny z tygecykliną lub cefoperazonem/sulbaktamem lub piperacyliną/tazobaktamem. W przypadku szpitalnych zapaleń płuc wywołanych przez szczepy odporne na imipenem i meropenem, zalecaną opcją terapeutyczną jest zestawienie kolistyny z ryfampicyną. Ryfampicyna nie powinna być stosowana w monoterapii, ze względu na bardzo szybkie narastanie oporności na ten lek [56]. Dla nowego leku z grupy karbapenemów – doripenemu, wykazano działanie synergistyczne z polimyksyną B i ryfampicyną oraz z amikacyną. Efekt ten zaobserwowano wobec szczepów *A. baumannii* opornych na inne karbapenemy (imipenem i meropenem) [20]. Terapia złożona z wykorzystaniem doripenemu może zatem stanowić nową opcję leczenia zakażeń wywołanych szczepami *A. baumannii* opornymi na dotychczas stosowane karbapenemy. Innym antybiotykiem, wykazującym *in vitro* działanie synergistyczne z cefoperazonem/sulbaktamem lub meropenemem lub kolistyną, wobec wielolekoopornych szczepów *A. baumannii*, jest należąca do grupy tetracyklin minocyklina. Jednak, mimo obiecujących wyników aktywności minocykliny *in vitro*, niewiele jest danych klinicznych potwierdzających skuteczność terapii z wykorzystaniem tego antybiotyku w przypadku zakażeń szczepami *A. baumannii* [109].

Metodami wykorzystywanymi do genotypowania szczepów klinicznych *A. baumannii* są: analiza makrorestrykcyjna fragmentów chromosomalnego DNA

po ich elektroforezie w zmiennym polu elektrycznym – REA-PFGE (restriction enzyme analysis pulsed field gel electrophoresis), traktowana jako „złoty standard” w badaniu podobieństwa genetycznego szczepów bakterii, reakcja PCR sekwencji powtarzalnych Rep-PCR (repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR) oraz MLST (multilocus sequence typing), polegająca na sekwencjonowaniu fragmentów wybranych genów i ustaleniu typu sekwencyjnego, który identyfikuje się z wykorzystaniem internetowej bazy danych. Metoda Rep-PCR służy również do określania przynależności badanego szczepu *A. baumannii* do danego klonu europejskiego I, II bądź III.

Bakterie z rodzaju *Acinetobacter* uważane są za wszechobecne. Szczepy *A. baumannii* izoluje się z próbek gleby, wód powierzchniowych i innych próbek środowiskowych. Wykrywa się także obecność tych pałeczek na ludzkiej skórze i w kale [46]. Był to najczęściej izolowany drobnoustrój z ran żołnierzy walczących na wojnie w Iraku i Afganistanie, występował w ranach osób poszkodowanych w trzęsieniu ziemi w Chinach i w wyniku tsunami z 2006 roku [71]. Co ciekawe, pałeczki z gatunku *A. baumannii* wykryto u wszy ludzkich pochodzących od ludzi bezdomnych z Francji [46]. Te pasożytujące owady mogą stanowić zatem ważny rezerwuuar opisywanych bakterii.

Pałeczki z gatunku *A. baumannii* są patogenami oportunistycznymi. Stwarzają ogromne ryzyko dla pacjentów, szczególnie leczonych na oddziałach intensywnej terapii, przewlekle chorych, z osłabionym układem odpornościowym. Bakterie te są przyczyną zapaleń płuc typu VAP (ventilator-associated pneumonia), zakażeń dróg moczowych, krwi, centralnego układu nerwowego, miejsca operowanego, oczu, także skomplikowanych zakażeń tkanek miękkich i skóry [46]. Pacjenci, którzy przebyli zakażenie bakteryjne o innej etiologii, w wyniku którego przyjmowali antybiotyki w przeciągu 90 dni, są szczególnie narażeni na zakażenie *A. baumannii*. Mechaniczna wentylacja czy założenie cewnika urologicznego stanowią dodatkowe zagrożenie, wynikające ze zdolności pałeczki do wytwarzania biofilmu [59].

## 2. Oporność na antybiotyki $\beta$ -laktamowe

Karbapenemy, należące do grupy antybiotyków  $\beta$ -laktamowych, uważa się za leki z wyboru w przypadku zakażeń wywołanych przez *A. baumannii*. Nadużywanie leków z tej grupy w ostatnich dwóch dekadach spowodowało wytworzenie nowych mechanizmów oporności wśród opisywanych pałeczek. U szczepów *A. baumannii* wykazujących całkowitą oporność na karbapenemy, zwykle wykrywa się współdziałanie kilku różnych mechanizmów oporności, przede wszystkim

wytwarzanie karbapenemaz [97], a ponadto obniżoną u pałeczek *Acinetobacter* przepuszczalność błony zewnętrznej wynikającą z utraty porów [30] oraz nadekspresję systemów pomp usuwających antybiotyki z komórek bakteryjnych – mechanizm efflux [21]. W tabeli I zestawiono  $\beta$ -laktamazy wytwarzane przez *A. baumannii*. Bakterie te wytwarzają karbapenemazy należące do klas A, B, C i D wg Amblera [5], z których najczęściej występują u tych szczepów enzymy klasy D, czyli enzymy CHDL (carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamases). Enzymy klasy B, metalo- $\beta$ -laktamazy MBL (metallo- $\beta$ -lactamase) występują u *A. baumannii* rzadziej niż CHDL. Natomiast należące do klasy A enzymy KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) stanowią największe zagrożenie dla osób w przypadku zakażenia szczepami KPC+, ze względu na zakres substratowy tych enzymów, obejmujący wszystkie antybiotyki  $\beta$ -laktamowe oraz zlokalizowanie genów je kodujących w ruchomych elementach genetycznych. Enzymy klasy C występujące u *A. baumannii* to naturalne cefalosporynazy, jedynie enzym ADC-68, ma zdolność do hydrolizy karbapenemów [42].

### 2.1. Enzymy CHDL

Każdy szczep *A. baumannii* posiada w chromosomie gen kodujący enzym CHDL z grupy OXA-51-like.  $\beta$ -laktamazy te posiadają niską aktywność w stosunku do karbapenemów. Jednakże, gdy gen  $bla_{OXA-51}$  poprzedza sekwencja insercyjna *ISAbal* lub *ISAb9*, zawierająca sekwencję silnego promotora, dochodzi do nadekspresji genu, zdolność do hydrolizy karbapenemów wzrasta i szczep *A. baumannii* staje się średnio wrażliwy na tę grupę antybiotyków [82].

U szczepów z gatunku *A. baumannii* wykazano obecność pięciu grup nabytych oksacylinaz CHDL: OXA-23-like [100], OXA-40-like [63], OXA-58-like [79], OXA-143-like [38], OXA-235-like [37]. Te enzymy CHDL, podobnie jak OXA-51-like, posiadają słabą aktywność karbapenemaz. Nie wykazują także znaczącej aktywności wobec cefalosporyn o szerokim zakresie substratowym. Do wykształcenia się oporności na wysokie stężenia karbapenemów u szczepu *A. baumannii* wytwarzającego powyższe enzymy CHDL, potrzebna jest jednoczesna nadekspresja systemów pomp typu efflux i/lub zmniejszona przepuszczalność błony zewnętrznej. Ponadto, ekspresja genów  $bla_{OXA}$  kodujących  $\beta$ -laktamazy CHDL może być regulowana przez sekwencje insercyjne (*ISAbal*, *ISAb2*, *ISAb3*, *ISAb18*) [83], które pełniąc rolę silnych promotorów, w efekcie nadają enzymowi aktywność karbapenemazy [108].

Pierwszy enzym CHDL wykryty u *A. baumannii* to OXA-23 (nazwany początkowo ARI-1, *Acinetobacter* resistant to imipenem) [100]. Enzym kodowany

był przez gen zlokalizowany w plazmidzie szczepu izolowanego w Szkocji. Grupa OXA-23 to najbardziej rozpowszechnione enzymy CHDL wśród pałeczek *A. baumannii* na świecie. Opisano występowanie szczepów wytwarzających te enzymy w wielu krajach: Polsce, Chorwacji, Francji, Grecji, Rumunii, Włoszech, Hiszpanii, Turcji, Niemiec, Bułgarii, Egipcie, Algierii, Tunezji, Izraelu, Tajwanie, Chinach, Korei Południowej, Singapurze, Stanach Zjednoczonych, Kolumbii, Brazylii, Australii [25, 56, 70]. Badania Mugnier i wsp. [65] wykazały obecność genów  $bla_{OXA-23}$  u *A. baumannii* poprzedzonych sekwencją *ISAbal*, w transpozonach Tn2006, Tn2007 i Tn2008. Wykazano, iż w szczepach klinicznych *A. baumannii* transpozon Tn2006 zawierający gen  $bla_{OXA-23}$  zlokalizowany był w chromosomie lub plazmidzie, co może znacząco ułatwić rozprzestrzenianie się tych genów. Do podgrupy enzymów OXA-23 zalicza się także OXA-27 [2] oraz OXA-49 [82]. Gen  $bla_{OXA-27}$  zidentyfikowano u opornego na karbapenemy szczepu *A. baumannii* wyizolowanego w Singapurze. W 2014 roku opublikowano pracę, w której opisano nowy enzym z rodziny OXA-23 i był to OXA-239 [104]. Szczepy wytwarzające OXA-239 izolowano w Meksyku w 2010 roku. Gen  $bla_{OXA-239}$  był poprzedzony sekwencją insercyjną *ISAbal*.

Do innej grupy nabytych przez *A. baumannii* karbapenemaz CHDL należą enzymy OXA-40-like (nazywane także OXA-24-like). Są one mniej rozpowszechnione niż OXA-23-like. Geny  $bla_{OXA-40}$  wykryto u szczepów *A. baumannii* zarówno w chromosomie, jak i w plazmidach [82]. Enzymy OXA-40 wytwarzały szczepy izolowane z Półwyspu Iberyjskiego [63], Bułgarii [106], Francji [36], Stanów Zjednoczonych [56]. Do grupy OXA-40-like należą także enzymy: OXA-25, OXA-26 [2] oraz OXA-72 [98]. Enzym OXA-25 wytwarzał szczep *A. baumannii* izolowany w Hiszpanii, a enzym OXA-26 szczep pochodzący z Belgii [2]. Lokalizacja genów kodujących oba enzymy nie została określona. Enzym OXA-72 wykryto u szczepów *A. baumannii* z Tajwanu [50], Kolumbii [98], Japonii, Brazylii, Chorwacji, Litwy [86]. Gen  $bla_{OXA-72}$  zlokalizowany był za każdym razem w plazmidach. Obecność genu  $bla_{OXA-72}$  warunkowała u szczepów *A. baumannii* wzrost wartości MIC sulbaktamu (16 mg/l), imipenemu i meropenemu (32 mg/l), ampicyliny (1024 mg/l), tykarcyliny (> 1024 mg/l) [38, 50].

Enzym OXA-58 razem z OXA-96 [48], OXA-97 [78] i OXA-164 [39] tworzą kolejną grupę enzymów CHDL. Gen kodujący enzym OXA-58, pierwszy raz został wykryty u szczepu MDRAB wyizolowanego we Francji [79]. Następnie opisywano występowanie szczepów wytwarzających ten enzym w Hiszpanii, we Włoszech, Belgii, Turcji, Grecji, Austrii, Wielkiej Brytanii [46], a także w Australii, Stanach Zjednoczonych, Kuwejcie, Pakistanie, Chinach [31] i w krajach

Tabela I  
Najbardziej istotne  $\beta$ -laktamazy wytwarzane przez szczepy *A. baumannii*

Klasa $\beta$ -laktamaz wg Amblera [5]	Rodzina $\beta$ -laktamaz	Enzym	Karba-penemaza	Lokalizacja genu	Piśmien-nictwo
A	ES $\beta$ L	KPC-2	+	Chromosom	[93]
		KPC-3			
		KPC-4			
		KPC-10			
		GES-11	+	Plazmid	[17]
		GES-14	+	Plazmid	[7]
		GES-12	-	Plazmid	[7]
		GES-22	-	?	[12]
		PER-1	-	Transpozon Tn1213	[77]
		PER-2		?	[15]
		PER-7		Chromosom	[10]
		VEB-1	-	Integron klasy I, chromosom	[80]
		CARB-10	-	Plazmid	[85]
B	MBL	IMP-1	+	Integron klasy I	[53]
		IMP-2		Integron klasy I	[92]
		IMP-4		Integron klasy I	[48]
		IMP-5		Integron klasy I	[23]
		IMP-6		Integron klasy I	[32]
		IMP-8		Integron klasy I	[110]
		IMP-11		Integron klasy I	[112]
		IMP-19			
		VIM-1	+	Integron klasy I	[107]
		VIM-2		Integron klasy I	[113]
		VIM-4		?	[29]
		VIM-6		?	[86]
		VIM-11		Integron klasy I	
		SIM-1		Integron klasy I	[54]
		NDM-1		Transpozon Tn125	[9]
		NDM-2			[43]
TMB-1	Integron klasy I	[45]			
C	cefalosporynazy	ADC-33	-	Chromosom	[95]
		ADC-56			[105]
		ADC-68	+	[42]	
D	oksacylinazy	OXA-23	+	Chromosom i plazmid	[65]
		OXA-27		?	[2]
		OXA-49		?	[82]
		OXA-239		?	[104]
		OXA-40		Chromosom i plazmid	[82]
		OXA-25		?	[2]
		OXA-26		Plazmid	[98]
		OXA-72			
		OXA-58		Plazmid	[79]
		OXA-96		Plazmid	[48]
		OXA-97			[78]
		OXA-164		?	[39]
		OXA-143		Plazmid	[38]
		OXA-182			[47]
		OXA-235		Chromosom i plazmid	[37]
OXA-236					
OXA-237					

„+” – enzym posiada aktywność karbapenemazy; „-” – enzym nie posiada aktywności karbapenemazy; „?” – brak danych

Ameryki Południowej: Argentynie [46], Wenezueli [99], Chile [73]. Gen *bla*<sub>OXA-58</sub> znajdował się w plazmidach. Enzym OXA-58 wykazuje słabą aktywność karbapenemaz, lecz w przypadku obecności sekwencji insercyjnych *ISAb1*, *ISAb2*, *ISAb3*, *IS18* poziom oporności na karbapenemy szczepów wytwarzających OXA-58 znacznie wzrasta [83]. Gen *bla*<sub>OXA-96</sub> wykryto u szczepu *A. baumannii* wyizolowanego w Singapurze [48], a gen *bla*<sub>OXA-97</sub> u szczepu z Tunezji [78].

W 2009 roku opisano nowy enzym CHDL występujący u *A. baumannii* – OXA-143 [38]. Szczep kliniczny, u którego wykryto OXA-143, wyizolowano w Brazylii. Enzym wykazuje 88% podobieństwa sekwencji aminokwasowej z OXA-40, 63% z OXA-23 i 52% z OXA-58. Gen *bla*<sub>OXA-143</sub> zlokalizowany był w plazmidzie, w którym jednak nie wykryto obecności integronów i sekwencji insercyjnych [38]. Zakres substratowy OXA-143 obejmuje penicyliny oraz karbapenemy, bez znacznej aktywności wobec cefalosporyn III i IV generacji. W 2010 roku badacze z Korei Południowej opisali inny enzym CHDL, OXA-182, wykazujący 93% podobieństwa sekwencji aminokwasowej z OXA-143 i 89% z OXA-40. Zaliczono go do grupy OXA-143-like. Warto zaznaczyć, że szczep wytwarzający ten enzym wyizolowano już w 2002 roku [47]. Gen *bla*<sub>OXA-182</sub> zlokalizowany był w plazmidzie. Wartość MIC imipenemu u pięciu z sześciu badanych szczepów *A. baumannii* posiadających *bla*<sub>OXA-182</sub> wynosiła powyżej 32 µg/ml [55].

Enzymy OXA-235, OXA-236, OXA-237 stanowią podgrupę β-laktamaz typu CHDL nazwaną OXA-235-like [37]. Enzymy te wykryto u 9 szczepów wyizolowanych w Stanach Zjednoczonych i jednego szczepu z Meksyku. U 8 szczepów występował gen *bla*<sub>OXA-235</sub>, natomiast *bla*<sub>OXA-236</sub> i *bla*<sub>OXA-237</sub> wykryto u pozostałych dwóch badanych izolatów. Sekwencja aminokwasowa tych karbapenemaz wykazywała 85% podobieństwa z sekwencją OXA-134, 54–57% podobieństwa z OXA-23, OXA-24, OXA-58 i OXA-143, oraz 56% podobieństwa z sekwencją OXA-51 [37]. Geny *bla*<sub>OXA-235</sub> zlokalizowane były w chromosomie i/lub plazmidzie, podobnie jak *bla*<sub>OXA-236</sub>, natomiast *bla*<sub>OXA-237</sub> występował tylko w plazmidzie. Geny wszystkich trzech enzymów należących do tej grupy były oflankowane sekwencjami *ISAb1*. Enzymy OXA-235-like hydrolizują penicyliny i karbapenemy, nie wykazują aktywności wobec cefalosporyn III i IV generacji [37].

## 2.2. Enzymy MBL

Metalo-β-laktamazy posiadają w swoim centrum aktywnym jon metalu dwuwartościowego. Ich zakres substratowy obejmuje wszystkie antybiotyki β-laktamowe za wyjątkiem monobaktamów, a ich aktywność nie jest hamowana przez inhibitory β-laktamaz, jakimi są kwas klawulanowy, sulbaktam i tazobaktam.

Występują one u szczepów *A. baumannii* znacznie rzadziej niż β-laktamazy serynowe. Obecnie opisano pięć rodzin enzymów MBL występujących u pałeczek *A. baumannii*: IMP (imipenem β-lactamase), VIM (Verona integron-encoded metallo-β-lactamase) [107], SIM (Seoul imipenemase) [54], NDM (New Delhi metallo-β-lactamase) [44] oraz TMB (Tripoli metallo-β-lactamase) [45].

W obrębie dużej rodziny enzymów IMP, u *A. baumannii* opisano występowanie dziewięciu z nich. Metaloenzym IMP-1 wykryto u szczepów *A. baumannii* wyizolowanych we Włoszech, Japonii [86], Korei Południowej [53], Indiach, Tajwanie i Kuwejcie [86]. Enzym IMP-2 wytwarzały szczepy z Włoch [92] i Japonii [86]. Enzym IMP-4 wykryto u szczepów *A. baumannii* wyizolowanych w Hong Kongu, Singapurze i Australii [18, 48, 86], IMP-5 w Portugalii [23], IMP-6 w Brazylii [32], a IMP-8 w Chinach [110]. Występowanie β-laktamaz IMP-11 i IMP-19 opisano w Japonii [112], IMP-14 w Tajlandii [86]. Geny kodujące enzymy IMP zlokalizowane były w obrębie integronów klasy I.

Pierwszy enzym typu VIM wykryto i opisano u szczepu z gatunku *A. baumannii* wyizolowanego w Korei Południowej [113]. Był to enzym VIM-2. Następnie opisano wytwarzanie tego enzymu przez szczep *A. baumannii* w Kuwejcie [86]. Gen *bla*<sub>VIM-2</sub> zlokalizowany był w obrębie integronu klasy I. Kolejno wykrywano u szczepów *A. baumannii* enzymy: VIM-1 w Grecji [107], VIM-4 we Włoszech [60], VIM-6 w Indiach [86] i VIM-11 w Tajwanie [86]. Geny kodujące metaloenzymy VIM-1 i VIM-11 zlokalizowane były w obrębie integronów klasy I. Warto zauważyć, że w Polsce również wykryto u *A. baumannii* enzym z rodziny VIM, nie określono jednak jego sekwencji [111].

Enzym SIM-1 jest jedyną β-laktamazą z rodziny SIM. Dotychczas opisano jej występowanie jedynie u szczepów *A. baumannii* wyizolowanych w Korei Południowej [54]. SIM-1 wykazuje największe podobieństwo do sekwencji aminokwasowej enzymów z rodziny IMP: do IMP-12 (69%) i do IMP-9 (64%). Gen *bla*<sub>SIM-1</sub> zlokalizowany był w obrębie integronu klasy I, gdzie stanowił pierwszą kasetę genową. Izolaty wytwarzające SIM-1 wykazywały względnie niskie wartości MIC imipenemu i meropenemu (dla obu antybiotyków 8–16 µg/ml) i posiadały fenotyp szczepów MDR [54]. Zakres substratowy tego enzymu obejmuje penicyliny, cefalosporyny i karbapenemy [54].

Szczepy *A. baumannii* wytwarzające metalo-β-laktamazę NDM-1 są coraz częściej izolowane w różnych częściach świata. Enzym, początkowo zidentyfikowany u *K. pneumoniae*, obecnie wykrywany jest u wielu gatunków bakterii Gram-ujemnych. U szczepów *A. baumannii* enzym NDM-1 wykryto w Europie: w Niemczech, Szwajcarii, Francji, Słowenii [9], Słowacji [49], w Afryce wschodniej [90], Algierii, Libanie

– gdzie izolowano szczepy od uchodźców z Syrii [87], także w Ameryce Południowej w Brazylii [76], w Azji w Chinach [114], Japonii [68] oraz w Indiach [44], gdzie wyizolowany był po raz pierwszy. W 2011 opisano szczep *A. baumannii* wytwarzający enzym NDM-2 (różniący się od NDM-1 w sekwencji aminokwasowej obecnością alaniny zamiast proliny w pozycji 28). Szczep wytwarzający ten enzym był wyizolowany od pacjenta narodowości niemieckiej, hospitalizowanego w Egipcie [43]. Szczepy *A. baumannii* wytwarzające enzym NDM-2 wyizolowano także w Izraelu i Zjednoczonych Emiratach Arabskich. Geny kodujące enzymy z grupy NDM, oflankowane z dwóch stron dwiema kopiami sekwencji insercyjnej IS*Aba125* zawierającej sekwencję promotorową, zlokalizowano w obrębie transpozonu Tn*125* [9]. Enzym NDM-1 może być kodowany zarówno chromosomalnie jak i plazmidowo, natomiast gen kodujący enzym NDM-2 występował dotychczas u szczepów *A. baumannii* tylko w chromosomie [86].

W kwietniu 2014 roku zespół badaczy z Japonii opisał szczep *A. baumannii* wytwarzający metalo- $\beta$ -laktamazę z rodziny TMB [45]. W zakres substratowy tych enzymów wchodzi wszystkie antybiotyki  $\beta$ -laktamowe, z wyłączeniem imipenemu. Z tego względu fenotyp taki nazywany jest paradoksalnym. Gen *bla*<sub>TMB-1</sub> zlokalizowano w obrębie integronu klasy I. Wytwarzanie enzymu TMB-2 wykryto w Japonii, u innych gatunków z rodzaju *Acinetobacter*: *A. pittii* i *Acinetobacter* gatunek genowy 14B], lecz nie u *A. baumannii* [45].

### 2.3. Karbapenemazy należące do klasy A wg Amblera

Do  $\beta$ -laktamaz serynowych klasy A, o aktywności karbapenemaz wytwarzanych przez *A. baumannii*, należą enzymy KPC oraz niektóre enzymy z rodziny GES (Guiana extended spectrum).  $\beta$ -laktamazy KPC stanowią zagrożenie przede wszystkim ze względu na obecność genów je kodujących w ruchomych elementach genetycznych, takich jak plazmidy koniugacyjne, a także ze względu na zakres substratowy, który obejmuje wszystkie antybiotyki  $\beta$ -laktamowe. Dotychczas szczepy z kompleksu *A. calcoaceticus* – *A. baumannii* wytwarzające enzymy KPC wykryto jedynie w Puerto Rico [93]. Spośród 10 izolatów enzym KPC-3 wytwarzało siedem, natomiast pozostałe 3 szczepy wytwarzały po jednym enzymie: KPC-2, KPC-4 oraz KPC-10 [93].

Coraz częściej izoluje się szczepy *A. baumannii* wytwarzające enzymy z rodziny GES. Wykryto izolaty wytwarzające aktywne wobec karbapenemów enzymy GES-11 i GES-14. Geny *bla*<sub>GES</sub> zlokalizowane były u szczepów *A. baumannii* w plazmidach w obrębie integronów klasy I [8, 64]. Opisano występowanie szczepów *A. baumannii* wytwarzających GES-11 w Turcji, Belgii, Egipcie, Kuwejcie, Gazie oraz Francji. GES-14 wykryto u szczepów izolowanych w Turcji,

Belgii i Kuwejcie [3]. Oporność na wysokie stężenia karbapenemów może wynikać przede wszystkim z wytwarzania przez dany szczep jednocześnie enzymów z rodziny GES oraz enzymów CHDL. Najczęściej opisywane jest działanie synergistyczne enzymu GES-11 i OXA-23 [17] lub OXA-40 [19].

### 2.4. Nabyte enzymy ES $\beta$ L hamowane przez inhibitory $\beta$ -laktamaz

Enzymy ES $\beta$ L (extended spectrum  $\beta$ -lactamase) występują u szczepów *A. baumannii* znacznie rzadziej niż oksacylinazy CHDL, a także nie stanowią tak dużego zagrożenia dla zdrowia publicznego ze względu na brak aktywności wobec karbapenemów. Szczepy *A. baumannii* wytwarzające enzymy głównie z rodziny PER (*Pseudomonas* extender resistant), VEB (Vietnam extender spectrum  $\beta$ -lactamase), GES oraz znacznie rzadziej CTX-M (cefotaxime hydrolyzing capabilities), TEM (Temoneira) i SHV (sulfhydryl variable) wykrywane są w wielu częściach świata [86].

Pierwszym enzymem ES $\beta$ L wykrytym u *A. baumannii* był PER-1 [77]. Enzym ten jest zdolny do hydrolizy penicylin, oksymino-cefalosporyn (III generacja) i aztreonamu. U *A. baumannii* gen *bla*<sub>PER-1</sub> był częścią transpozonu Tn*1213*. Oflankowany był dwiema różnymi sekwencjami insercyjnymi IS*Pa12* i IS*Pa13*, a ekspresja genu zachodziło przy udziale silnego promotora zlokalizowanego w IS*Pa12* [77]. Enzym PER-1 wytwarzały szczepy *A. baumannii* wyizolowane w Belgii [66], Turcji, Włoszech, Rosji, Korei Południowej, Indiach, Chinach, Japonii [6], Iranie [27]. U szczepów z gatunku *A. baumannii* stwierdzono także obecność enzymów PER-2 [15], PER-3 [4], PER-7 [10] i PER-8 [86]. Gen *bla*<sub>PER-2</sub>, w odróżnieniu od genu *bla*<sub>PER-1</sub>, poprzedzała jedna kopia sekwencji IS*Pa12*, lecz nie występowała sekwencja IS*Pa13*. Enzym PER-2 wytwarzały szczepy wyizolowane w Ameryce Południowej [15, 75]. Enzym PER-3 został opisany u gatunku *A. baumannii* w Egipcie [86], PER-7 wykryto we Francji i w Zjednoczonych Emiratach Arabskich [10, 74]. U szczepu wyizolowanego we Francji gen *bla*<sub>PER-7</sub> zlokalizowano w plazmidzie, w drugim przypadku enzym kodowany był chromosomalnie, jednak w obu przypadkach geny występowały w obrębie integronów klasy I, gdzie poprzedzała je sekwencja IS*CR1* zawierająca sekwencję promotorową. Oporność na wysokie stężenia karbapenemów występowała tylko w przypadku, gdy szczep wytwarzał jednocześnie enzymy PER-7 i OXA-23 [10].

Kolejną grupą enzymów ES $\beta$ L występujących u *A. baumannii* są enzymy VEB. Szczepy *A. baumannii* wytwarzające enzym VEB-1 były przyczyną zakażeń szpitalnych, które miały miejsce we Francji i trwały 9 miesięcy (od sierpnia 2001 do kwietnia 2002 roku) [80]. Gen kodujący tę  $\beta$ -laktamazę zlokalizowano

w obrębie integronów klasy I w chromosomach bakteryjnych [80]. W Argentynie w 2009 roku wyizolowano cztery szczepy *A. baumannii* wytwarzające enzym VEB-1a. Gen  $bla_{VEB-1}$  kodujący tę  $\beta$ -laktamazę był poprzedzony sekwencją ISCR2 [81]. Ponadto, szczepy *A. baumannii* posiadające gen  $bla_{VEB-1}$  wykryto w Belgii [66], Iranie, Tajwanie [27, 28] i Ameryce Południowej [75]. Gen  $bla_{VEB-3}$  opisano u pojedynczego szczepu *A. baumannii* z Tajwanu,  $bla_{VEB-7}$  u szczepu ze Stanów Zjednoczonych [86].

Enzymy z rodziny CTX-M, hydrolizujące cefotaksym i ceftriakson, zostały wykryte u szczepów *A. baumannii* w kilku regionach świata: CTX-M-2 w Japonii [67] i Stanach Zjednoczonych [86], CTX-M-43 w Boliwii i Stanach Zjednoczonych [1, 15], a CTX-M-15 na Haiti [84] i w Indiach [86]. Enzymy z tej grupy są rozpowszechnione wśród pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, natomiast u szczepów *A. baumannii* występują niezmiernie rzadko. Podejrzewa się, że wynika to z obecności genów kodujących tę  $\beta$ -laktamazę w plazmidach o wąskim zakresie gospodarzy, co uniemożliwia ich replikację u pałeczek niefermentujących [84]. U szczepu *A. baumannii* z Haiti gen  $bla_{CTX-M-15}$  z poprzedzającą gen sekwencją *ISEcp1*, zlokalizowano w obrębie transpozonu, w bakteryjnym chromosomie [84].

Enzymy typu ES $\beta$ L należące do rodziny GES, poza tymi o aktywności karbapenemazy, wykrywa się coraz częściej u szczepów *A. baumannii*.  $\beta$ -laktamaza GES-12, wytwarzana przez szczep wyizolowany w Belgii, w wyniku substytucji Thr237Ala (w porównaniu do GES-11) nabrała silnej aktywności hydrolitycznej wobec ceftazydymu [7]. Gen  $bla_{GES-12}$  zlokalizowano w obrębie integronu klasy I w plazmidzie [7]. Innym enzymem z tej rodziny wytwarzanym przez *A. baumannii* jest GES-22, który wykryto u dwóch szczepów z Turcji [12]. U obu szczepów gen  $bla_{GES-22}$  był zlokalizowany w plazmidzie, w obrębie integronu klasy I.

Nietypowym enzymem ES $\beta$ L wykrytym u *A. baumannii* jest karbapenemaza CARB-10, hydrolizująca cefepim i cefpirom, lecz nie wykazująca aktywności wobec ceftazydymu czy cefotaksymu. Szczep posiadający gen  $bla_{CARB-10}$  (zlokalizowany w plazmidzie, z poprzedzającą go sekwencją *ISAb9*) wyizolowano we Francji [85].

## 2.5. Enzymy AmpC

Szczepy *A. baumannii* posiadają w chromosomie geny kodujące cefalosporynazy typu AmpC. Enzymy tego typu występujące u *A. baumannii* określane są jako enzymy ADC. Geny kodujące te białka ulegają ekspresji na stałym, niskim poziomie, niewystarczającym dla wyrażania oporności na oksymino-cefalosporyny u pałeczek *Acinetobacter*. W przypadku obecności powyżej genu  $bla_{AmpC}$  sekwencji insercyjnej *ISAb1*,

zawierającej silny promotor, ekspresja genu wzrasta. Skutkuje to pojawieniem się oporności na cefalosporyny III generacji: ceftazydym i cefotaksym [95]. Enzymy AmpC, hydrolizujące także cefalosporyny IV generacji, nazywane są enzymami o rozszerzonym zakresie substratowym – ESAC (extended spectrum AmpC). Występują często u gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae* i *P. aeruginosa*, wykryto je również u *A. baumannii*. Aktywność enzymów ESAC jest warunkowana substytucjami, delecjami lub insercjami w sekwencji aminokwasowej w pobliżu centrum aktywnego enzymu. U szczepów *A. baumannii* wykryto należące do tej grupy enzymy ADC-33 i ADC-56. W sekwencji aminokwasowej ADC-33 nastąpiła substytucja Pro210Arg oraz duplikacja Ala w pozycji 215 (wewnątrz pętli omega). Co istotne, obie mutacje muszą mieć miejsce, aby enzym ADC-33 miał szeroki zakres substratowy. Wyizolowany od pacjenta z Gwadelupy szczep *A. baumannii* wytwarzający ADC-33, wykazywał oporność na cefalosporyny III i IV generacji [95]. Drugim enzymem należącym do ESAC i wytwarzanym przez *A. baumannii* jest ADC-56. Poszerzony zakres substratowy tego enzymu wynika z substytucji Arg148Glu. Szczepy, u których wykryto tę cefalosporynazę, pochodziły od dwóch pacjentów z miasta Pittsburgh w Stanach Zjednoczonych. Na podstawie analizy PFGE stwierdzono, że szczepy pochodzące od tych pacjentów były ze sobą spokrewnione i należą do europejskiego klonu 2, kompleks klonalny 92 [105].

W 2014 roku opisano enzym ADC-68, który jest pierwszą  $\beta$ -laktamazą typu AmpC wytwarzaną przez *A. baumannii* posiadającą aktywność karbapenemazy. Szczep pochodził od pacjenta z Korei Południowej i był odporny na penicyliny, cefalotynę, ceftazydym, cefotaksym, imipenem, meropenem i ertapenem. Gen  $bla_{ADC-68}$  zlokalizowany był w chromosomie [42].

## 3. Oporność na antybiotyki inne niż $\beta$ -laktamy

### 3.1. Oporność na chinolony i fluorochinolony

Działanie chinolonów i fluorochinolonów polega na hamowaniu replikacji bakteryjnego DNA poprzez oddziaływanie na gyrazę DNA (kodowaną przez geny *gyrA* i *gyrB*) oraz topoizomerazę IV (kodowaną przez geny *parA* i *parC*). Mutacje zachodzące w obrębie genów kodujących te enzymy, powodują brak możliwości przyłączenia się cząsteczki antybiotyku do kompleksu enzym-DNA, ze względu na zmiany strukturalne zachodzące w białku. Do mutacji dochodzi w obszarze warunkującym oporność na chinolony – QRDR (quinolone resistance-determining region). U szczepów *A. baumannii* mutacje odpowiedzialne za wzrost wartości MIC cyprofloksacyny to substy-

tucja Ser83Leu w przypadku GyrA oraz substytucja Ser80Leu w sekwencji ParC [41].

Innym mechanizmem oporności na chinolony są pompy błonowe, zlokalizowane w osłonach komórkowych bakterii, aktywnie usuwające antybiotyki z komórki. Systemy pomp występujące u szczepów *A. baumannii* obejmujące swoim zakresem substratowym tę grupę chemioterapeutyków to: AdeABC, AdeIJK [21], AdeFGH [22] (wszystkie trzy z rodziny RND) a także AbeS (z rodziny SMR) i AbeM (z rodziny MATE) [21]. Oporność szczepów *A. baumannii* na wysokie stężenia chinolonów najczęściej wiąże się ze współobecnością obu przedstawionych powyżej mechanizmów oporności, tj. mutacjami w genach *gyr/par* i działaniem pomp błonowych. Dotychczas nie wykryto u *A. baumannii* genów kodujących pompy błonowe zlokalizowanych w plazmidach warunkujących oporność na chinolony.

### 3.2. Oporność na aminoglikozydy

Antybiotyki aminoglikozydowe hamują syntezę białek wiążąc się głównie z podjednostką 30S rybosomów. Oporność na te antybiotyki wynika przede wszystkim z wytwarzania enzymów modyfikujących aminoglikozydy, określanych skrótem AME (aminoglycoside-modifying-enzyme). Enzymy AME obejmują O-fosfotransferazy APH (aminoglycoside phosphotransferase), O-adenylotransferazy ANT (aminoglycoside nucleotydylotransferase) i N-acetylotransferazy AAC (aminoglycoside acetylotransferase). Wszystkie trzy wymienione grupy enzymów wykryto również u szczepów *A. baumannii*. Geny kodujące te enzymy często są zlokalizowane w obrębie różnych ruchomych elementów genetycznych, jak: plazmidy, transpozony i integrony. W obrębie integronu, geny kodujące AME występują często z genami warunkującymi oporność na inne grupy antybiotyków np.  $\beta$ -laktamy, co prowadzi do wielolekooporności [8, 64]. Najważniejszymi AME w przypadku opisywanej pałeczki są enzymy: AAC(3')-I modyfikujący gentamycynę, APH(3')-VI modyfikujący amikacynę, kanamycynę i neomycynę oraz AAC(6')-Ib modyfikujący tobramycynę, netilmycynę i amikacynę. W 2014 roku w badaniu przeprowadzonym na 173 szczepach *A. baumannii*, odsetek szczepów opornych na aminoglikozydy, gdzie wartości MIC amikacyny i gentamycyny są wyższe niż 512  $\mu$ g/ml, osiągnął 59% [69]. Wśród wszystkich badanych szczepów wykryto 15 różnych enzymów AME [69]. Najczęściej występowały enzymy ANT(3'')-I (115 szczepów), AAC(3')-I (78 szczepów), APH(3')-I (59 szczepów) oraz AAC(6')-Ib (56 szczepów).

Innym mechanizmem oporności na aminoglikozydy jest metylacja miejsca aktywnego w rybosomie przez metylazy. U *A. baumannii* wykryto metylazy ArmA i RmtB. Wytwarzanie enzymu ArmA opisano

u szczepów *A. baumannii* izolowanych z wielu krajów: Chin, Korei Południowej, Wietnamu, Japonii, Stanów Zjednoczonych, Norwegii, Włoch, Bułgarii, Iranu i Algierii [86]. Doi i wsp. [26] wykryli u 5 badanych szczepów *A. baumannii* obecność genu *armA*. U jednego izolatu gen ten był zlokalizowany w obrębie transpozonu Tn1548, obecnego w plazmidzie. W innym badaniu gen *armA* został wykryty u 59,5% badanych szczepów *A. baumannii* i u 98% szczepów tego gatunku opornych na aminoglikozydy [69]. Metylazę RmtB wykryto u 9 szczepów *A. baumannii* wyizolowanych w Wietnamie [86].

Wpływ na oporność szczepów *A. baumannii* na aminoglikozydy ma również nadekspresja systemów pomp błonowych AdeABC i AdeFGH, z rodziny RND [21]. Antybiotyki aminoglikozydowe: kanamycyna i gentamycyna, są także substratami dla pompy AbeM z rodziny MATE, która występuje u szczepów *A. baumannii* [103].

### 3.3. Oporność na kolistynę

Kolistyna, inaczej polimyksyna E, należy do grupy polikationowych, antybiotyków peptydowych. Jej aktywność bakteriobójcza wiąże się z działaniem na lipid A powodując dezorganizację błony zewnętrznej bakterii. Istnieją dwie hipotezy dotyczące mechanizmu oporności *A. baumannii* na kolistynę. Pierwsza z nich sugeruje całkowitą utratę przez bakterię LPS. W wyniku mutacji w genach *lpxA*, *lpxC* lub *lpxD*, bądź obecności sekwencji insercyjnej IS*Aba11* inaktywującej te geny, dochodzi do przedwczesnej terminacji translacji białka katalizującego biosyntezę lipidu A i w konsekwencji do całkowitej utraty LPS [72]. Oznacza to brak punktu uchwytu dla kolistyny i oporność szczepu na ten związek.

Druga teoria dotyczy modyfikacji LPS. Mutacje w genach *pmrA* i/lub *pmrB*, kodujących system dwuskładnikowy PmrA/PmrB prowadzą do konstytutywnej ekspresji genu *pmrA*, który z kolei bierze udział w up-regulacji operonu *pmrCAB*. Reguluje on syntezę i transfer fosfoetanolaminy do lipidu A. Doprowadza to do obniżenia ładunku ujemnego lipidu A, co jednocześnie zmniejsza powinowactwo kolistyny do LPS. Niektóre szczepy *A. baumannii* posiadają gen *pmrC*-like, nazwany *eptA*, którego ekspresja jest wyższa u szczepów opornych na kolistynę [72].

Po raz pierwszy szczepy z rodzaju *Acinetobacter* odporne na kolistynę wyizolowano w Czechach w 1999 roku. W kolejnych latach stwierdzono ich obecność w Hiszpanii i Bułgarii, a także poza Europą – w Australii, Azji, Ameryce Północnej i Południowej. Najwyższy odsetek (40,6%) szczepów opornych na kolistynę notowano w Hiszpanii.

Kolistyna należy do antybiotyków ostatniej szansy w przypadku zakażeń wielolekoopornymi szczepami

*A. baumannii*. W leczeniu stosuje się mieszaninę siarczanów polimyksyny B i E. W latach 70. XX wieku zaprzestano podawania kolistyny chorym ze względu na silne działania niepożądane (nefro- i neurotoksyczność). Jednak najnowsze badania wskazują, iż toksyczność kolistyny okazała się niższa niż pierwotnie sądzono [58]. Nie ulega jednak wątpliwości, że monoterapia zwiększa prawdopodobieństwo wytworzenia oporności na podawany antybiotyk, natomiast leczenie skojarzone może prowadzić do kumulacji działań niepożądanych. Ponadto, monoterapia może przyczynić się do wykształcenia się heterooporności szczepów [58]. Liu i wsp. [58] przeprowadzili w 2014 roku analizę skuteczności i bezpieczeństwa stosowania mono- i politerapii polimyksynami. Uzyskane wyniki wskazywały na skuteczność kliniczną polimyksyn. Analiza wykazała również podobną nefrotoksyczność podawanej kolistyny i placebo. Mimo stosowania polimyksyn w połączeniu z innymi, potencjalnie uszkadzającymi nerki antybiotykami (np. aminoglikozydami), uszkodzenie nerek ujawniło się u zaledwie 11% pacjentów, a w przypadku dwóch innych badań, niewydolności nerek w ogóle nie stwierdzono [58].

#### 4. Aktywne usuwanie antybiotyków z komórki bakteryjnej przy udziale pomp błonowych – mechanizm efflux

Oporność szczepów *A. baumannii* na antybiotyki warunkują także mechanizmy nieenzymatyczne, takie jak: aktywność pomp błonowych usuwających antybiotyk z komórki bakteryjnej oraz modyfikacje/utrata

kanałów umożliwiających dotarcie substancji przeciwdrobnoustrojowej do wnętrza bakterii. Dotychczas poznano 5 systemów pomp MDR biorących udział w czynnym usuwaniu antybiotyków z komórki bakteryjnej. Pompy sklasyfikowano w rodziny lub superrodziny. U szczepów *A. baumannii* opisano występowanie systemów pomp: SMR (small multidrug resistance), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), MFS (major facilitator superfamily), RND (resistance nodulation cell division) [21] oraz PACE (proteobacterial antimicrobial compound efflux) [35]. Poza systemami pomp, których geny występują w chromosomie szczepów *A. baumannii* (do których zaliczają się pompy z rodziny RND, MATE, SMR, pompa AmvA i CraA z rodziny MFS) poznano również nabyte systemy efflux, o wąskim zakresie substratowym, które warunkują oporność szczepów na tetracykliny i chloramfenikol, czyli należące do rodziny MFS pompy TetA, TetB, CmlA i CmlA5. W tabeli II zestawiono informacje o pompach błonowych opisanych dotychczas u szczepów *A. baumannii*.

##### 4.1. Systemy pomp RND

Systemy pomp z rodziny RND są najbardziej rozpowszechnionymi wśród bakterii Gram-ujemnych pompami MDR. Mają największe znaczenie kliniczne i są zdolne usunąć z komórki wiele substancji o różnej budowie: antybiotyki, bromek etydyny, SDS (dodecylo siarczan sodu), triklosan oraz rozpuszczalniki organiczne. Systemy pomp z rodziny RND złożone są z trzech grup białek: białek RND, czyli transporterów w błonie cytoplazmatycznej, białek OMF (outer

Tabela II  
Pompy błonowe obecne w osłonach komórkowych *A. baumannii*

Rodzina pomp	Pompa MDR	Zakres substratowy	Piśmiennictwo
RND	System AdeABC	$\beta$ -laktamy, aminoglikozydy, makrolidy, fluorochinolony, tetracykliny, tygecyklina, chloramfenikol, trimetoprim	[21]
	System AdeIJK	cefalosporyny, tykarcylina, aztreonam, fluorochinolony, linkozamidy, tetracykliny, tygecyklina, ryfampicyna, chloramfenikol, kwas fusydowy, nowobiocyna	[96]
	System AdeFGH	fluorochinolony, klindamycyna, tetracykliny, tygecyklina, chloramfenikol, trimetoprim, sulfametoksazol	[22]
MFS	CraA	chloramfenikol	[94]
	AmvA	erytromycyna, bromek etydyny, parakwat	[88]
	TetA	tetracyklina	[91]
	TetB	tetracyklina, doksycyklina, minocyklina	
	CmlA, CmlA5	chloramfenikol	[57]
MATE	AbeM	gentamycyna, kanamycyna, fluorochinolony, chloramfenikol, trimetoprim, bromek etydyny, DAPI, triklosan, tryptoflawina, doksorubicyna, rodamina 6G, TPPCI	[103]
SMR	AbeS	erytromycyna, fluorochinolony, chloramfenikol, nowobiocyna, SDS, bromek etydyny, deoksycholan	[102]
PACE	AceI	chlorheksydyna, chlorek benzalkoniowy, chlorek dekwalinowy, aryflawina, proflawina	[35]

membrane factor) pełniących funkcję kanałów w błonie zewnętrznej oraz białek MFP (major fusion protein), które tworzą kanały łączące transportery RND z białkami OMF. Dzięki tej budowie, systemy pomp umożliwiają transport substancji poprzez obie błony (wewnętrzna i zewnętrzna). Geny kodujące białka pomp tworzą operony, w skład których wchodzi kolejno: promotor, gen kodujący białka MFP, gen kodujący białka transportera RND w błonie oraz gen kodujący białka OMF. Jedynie nadekspresja operonu nadaje szczepowi fenotyp wielolekooporności [51].

Pierwszym opisanym u pałeczek *A. baumannii* systemem z rodziny pomp RND był AdeABC (*Acinetobacter* drug efflux). Następnie odkryto u tego gatunku pałeczek kolejne dwa systemy pomp AdeFGH i AdeIJK [21]. Geny *adeA*, *adeB* i *adeC* tworzą operon *adeABC*, którego ekspresja jest ściśle regulowana przez dwuskładnikowy system regulatorowy AdeR-AdeS [61]. Zmiany w białkach *adeR* (substytucja Pro116Leu) i *adeS* (substytucja Thr153Met), a także obecność sekwencji *ISAbal* przed operonem *adeABC*, powoduje jego nadekspresję. System pomp AdeABC warunkuje oporność (przy nadekspresji) na szereg grup antybiotyków (tabela II) [21]. Udział systemu AdeABC w oporności na karbapenemy jest niejasny. Badania aktywności karbapenemów w obecności i bez użycia inhibitorów pomp nie wykazały różnic. Oporność na wysokie stężenia tych antybiotyków stwierdza się, gdy nadekspresja genów kodujących ten system pomp występuje jednocześnie z wytwarzaniem enzymów CHDL [36].

Innym systemem pomp z rodziny RND u szczepów *A. baumannii* jest system AdeIJK kodowany przez operon *adeIJK*. Warunkuje oporność na część antybiotyków usuwanych przez system AdeABC, a także na  $\beta$ -laktamy takie jak cefalosporyny, tykarcylina, i aztreonam oraz linkozamidy, ryfampicynę, kwas fusydowy, nowobiocynę (tabela II). Gen regulujący ekspresję operonu *adeIJK* określono w 2012 roku [96]. Był to gen *adeN*, kodujący białko *adeN* z rodziny białek TetR. Gen ten funkcjonował jako represor.

Kolejnym systemem pomp z rodziny RND opisanym u szczepów *A. baumannii* jest system AdeFGH. Geny kodujące ten system tworzą operon *adeFGH*. Otwarta ramka odczytu kodująca regulator transkrypcji typu LysR – gen *adeL*, zlokalizowana jest powyżej operonu *adeFHG*, a jej transkrypcja zachodzi w przeciwnym kierunku. Mutacje w obrębie genu *adeL* warunkują nadekspresję systemu pomp AdeFGH [22]. Podobnie, jak u pomp wymienionych wyżej, nadekspresja genów tworzących operon nadaje bakterii fenotyp wielolekooporności. Pompa nadaje szczepom oporność na fluorochinolony, klindamycynę, chloramfenikol, trimetoprim, a obniżoną wrażliwość na tetracyklinę, tygecyklinę, sulfametoksazol.

## 4.2. Inne systemy pomp błonowych

Poza systemami pomp z rodziny RND u *A. baumannii* wykryto także inne pompy, przyczyniające się do wzrostu oporności na określone antybiotyki (tabela II).

System odpowiedzialny za naturalną oporność na chloramfenikol, to pompa CraA (chloramphenicol resistance *Acinetobacter*) [94], należąca do rodziny MFS. Z rodziny pomp MFS, wykryto także pompę AmvA, odpowiedzialną głównie za usuwanie erytromycyny, bromku etydyny i parakwatu [88]. Kolejny system, AbeM, należący do rodziny MATE, odpowiada za co najmniej 4-krotny wzrost wartości MIC gentamycyny, fluorochinolonów, 4,6-diamino-2-fenylindolu (DAPI), triklosanu, trypoflawiny, doksorubicyny, rodaminy 6G i bromku etydyny oraz za 2-krotny wzrost MIC kanamycyny, chloramfenikolu, trimetoprimu i chlorku tetrafenylfosforowego (TPPCL) [103]. Należy zaznaczyć, iż badania dotyczące oporności warunkowanej obecnością pompy AbeM przeprowadzono na komórkach *Escherichia coli*. Pompa AbeS z rodziny SMR, kodowana przez znajdujący się w chromosomie gen *abeS*, warunkuje oporność niskiego stopnia (3–8-krotny spadek wartości MIC przy inaktywacji pompy) na erytromycynę, fluorochinolony, chloramfenikol, nowobiocynę, a także na SDS, bromek etydyny, deoksycholan [102].

Zdolność nabywania nowych genów oporności przez szczepy *A. baumannii* dotyczy także genów kodujących pompy MDR. Poza opisanymi wyżej genami znajdującymi się w chromosomie odkryto geny stanowiące części plazmidów czy transpozonów, nabytych przez bakterie. Do tej grupy należą pompy z rodziny MFS: TetA, TetB i CmlA, CmlA5. Najczęściej występującymi pompami u szczepów *A. baumannii* są TetA i TetB, które odpowiadają za usuwanie tetracykliny. Pompa TetB usuwa również minocyklinę i doksyceklinę. Geny *tetR* i *tetA* zlokalizowano w obrębie transpozonu Tn1721-like, natomiast gen *tetB* w plazmidach [91]. Oporność na chloramfenikol była warunkowana przez pompy CmlA i CmlA5 [57].

W 2013 roku Hassan i wsp. [35], opisali nową rodzinę pomp MDR – rodzinę PACE. Gen *aceI*, kodujący pompę AceI (*Acinetobacter* chlorhexidine efflux protein I), należąca do tej rodziny, zlokalizowany jest w chromosomie bakteryjnym. Badania wykazały, że nadekspresja genu zachodzi, gdy w środowisku bakterii znajdzie się chlorheksydyna w stężeniu poniżej wartości nadającej jej aktywność. Obecność białka AceI potwierdzono u *A. baumannii*, natomiast białka homologiczne do AceI znaleziono u *P. aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Burkholderia cenocepacia*, *Veillonella parvula* oraz *E. coli*. Substratem dla tej pompy u wszystkich przebadanych gatunków jest chlorheksydyna (stanowiąca składnik antybakteryjnych mydeł i płynów do

płukania ust). Niektóre białka AceI warunkują oporność także na inne substancje o działaniu dezynfekcyjnym i antyseptycznym (tabela II).

## 5. Kanały błonowe – pory

U bakterii Gram-ujemnych w skład osłon komórkowych, chroniących m.in. przed szkodliwymi czynnikami z zewnątrz, wchodzi błona zewnętrzna. Poza systemami pomp aktywnie usuwającymi szkodliwe substancje z komórki, istotnym pod względem oporności elementem błony, są kanały (pory) białkowe. Umożliwiają one transport cząsteczek poprzez podwójną warstwę lipidową budującą błonę zewnętrzną. Zmiany w strukturze lub zmiany w regulacji ekspresji genów kodujących te kanały mogą być dla bakterii mechanizmem obronnym przed działaniem środków przeciwdrobnoustrojowych. Szczepy *A. baumannii* posiadają względnie niską liczbę porów, i dodatkowo o niewielkich rozmiarach, co ogranicza naturalną przepuszczalność błony zewnętrznej i tym samym nadaje większą oporność na substancje przeciwbakteryjne. Odkryto trzy rodzaje kanałów błonowych, w przypadku których spadek ekspresji genów je kodujących ma znaczenie w oporności na antybiotyki u *A. baumannii*: CarO, Omp 33–36 oraz OprD.

Występujący u szczepów *A. baumannii* kanał białkowy CarO (carbapenem associated outer membrane protein) odpowiedzialny jest za transport do wnętrza komórki ornityny i innych aminokwasów, a także, ze względu na konformację strukturalną i miejsce wiązania, jest zdolny do transportu imipenemu (ale nie meropenemu) [13]. Warto podkreślić, iż jest to jedyne białko OMP u szczepów *A. baumannii*, które posiada miejsce wiązania dla imipenemu, co czyni je selektywnym kanałem pod względem wychwytu antybiotyków. Ze względu na różnice w budowie kanału wyróżnia się jego dwa rodzaje: CarOa i CarOb. Kanał CarOb wykazuje większe powinowactwo do imipenemu niż CarOa [13]. Mechanizm oporności na imipenem, w którym bierze udział białko CarO może dotyczyć (i) inaktywacji genu *carO*, co powoduje brak porów w błonie; (ii) zmiany w sekwencji aminokwasowej CarOa lub CarOb co może prowadzić do niskiego bądź znikomego powinowactwa do konkretnego antybiotyku; i/lub (iii) obniżenia ekspresji genów i niskiej liczby porów w błonie [30].

Kanał OprD-homolog, wykazujący 46–57% podobieństwa do specyficznego dla karbapenemów białka OprD, występującego u *P. aeruginosa*, wydawał się mieć duży wpływ na oporność na te antybiotyki również u pałeczek *A. baumannii*. Dokładniejsze badania nie wykazały jednak tej zależności [14, 101]. U szczepów *A. baumannii* białko OprD bierze udział w wychwycie jonów  $Fe^{3+}$  i  $Mg^{2+}$  [14].

Oporność szczepów *A. baumannii* na imipenem i meropenem może wynikać także ze zmniejszonej ekspresji kanałów błonowych Omp 33–36 [24].

Warto wspomnieć o białku OprA, które chociaż nie warunkuje oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki u szczepów *A. baumannii*, to jest czynnikiem zjadliwości tych bakterii poprzez pośredniczenie w adhezji i inwazji komórek nabłonkowych, w powstawaniu biofilmu oraz w indukcji apoptozy komórki [62].

## 6. Biofilm i zjawisko quorum sensing

Zdolność do tworzenia biofilmu jest istotnym czynnikiem wirulencji u pałeczek *A. baumannii*. Powszechnie wiadomo, że bakterie rosnące w formie biofilmu mają obniżoną wrażliwość na leki przeciwbakteryjne, środki dezynfekcyjne, a także trudno poddają się działaniu mechanizmów odpornościowych gospodarza. Biofilm bakteryjny może występować na powierzchniach wyrobów medycznych, jak cewniki urologiczne i sprzęt do intubacji. Wykazano, iż adhezja komórek *A. baumannii* do nabłonka jest pierwszym etapem w kolonizacji gospodarza, po której może dojść do rozwoju zakażenia [59].

Za wirulencję szczepów *A. baumannii* rosnących w postaci biofilmu odpowiedzialne są geny systemu CsuA/BABCDE (regulowane przez dwuskładnikowy system BfmS/BfmR). Produktem tych genów są: białka tworzące fimbrie, umożliwiające przyleganie komórek bakteryjnych do powierzchni, białko OmpA (38 kDa), białko błony zewnętrznej o wielkości 854 kDa (wykazujące duże podobieństwo do białka Bap – biofilm associated protein, występującego w rodzaju *Staphylococcus*), syntaza AbaI, będąca częścią systemu quorum sensing (QS) oraz locus *pgaABCD* kodujący białko biorące udział w syntezie poli- $\beta$ -(1,6)-N-acetylo-glukozaminy (PNAG) [59]. Przeprowadzone badania wykazały, że mutacje w obrębie genów *bap* hamują wzrost biofilmu i powodują spadek zdolności przylegania *A. baumannii* do komórek nabłonka [34]. Na powstawanie biofilmu ma wpływ stężenie żelaza zewnątrzkomórkowego (im niższe stężenie, tym mniejsza zdolność adhezji komórek bakteryjnych do powierzchni). Ponadto, została postawiona hipoteza, że obecność genów oporności na antybiotyki, np. genu *bla*<sub>PER-1</sub> ma silny związek z powstawaniem biofilmu u opisywanych pałeczek. Badania Lee i wsp. [52], wskazywały na silny związek obecności genu *bla*<sub>PER-1</sub> i tworzenia biofilmu, jednak inne badania przeczyły tym wynikom [89]. Kwestia ta nie została dotychczas rozstrzygnięta, jednak uważa się, iż opisywana korelacja dotyczy bardziej zdolności komórek do adhezji niż do formowania dojrzałego biofilmu [89]. Wpływ na powstawanie biofilmu innego rodzaju czynników, jak np. stan pacjenta, miejsce izo-

lacji szczepu klinicznego czy typ molekularny szczepu, wymaga prowadzenia dalszych badań.

Zjawisko *quorum sensing* (QS) jest mechanizmem komunikacji między komórkami bakteryjnymi, która polega na wytwarzaniu, odbieraniu i odpowiedzi bakterii na cząsteczki zwane autoinduktorami (AI). U szczepów *A. baumannii* rolę AI pełnią N-acylowane laktony homoseryny (AHL), syntetyzowane przez syntazę AHL (homolog LuxI). Laktony AHL wiążą się ze swoim receptorem (LuxR homolog), powstaje kompleks AHL-LuxR, który kontroluje ekspresję genów zależnych od systemu QS.

## 7. Podsumowanie

Zdolność szczepów *A. baumannii* do nabywania nowych determinantów oporności uczyniła z opisywanej pałeczki jeden z najbardziej niebezpiecznych patogenów szpitalnych ostatnich dwóch dekad. Szczepy *A. baumannii* posiadające geny oporności na karbapenemy, zlokalizowane w plazmidach, stanowią groźny rezerwuar mechanizmów oporności mogący zostać przekazany innym bakteriom. Rosnąca liczba izolowanych szczepów z gatunku *A. baumannii* opornych na karbapenemy ogranicza dostępne opcje terapeutyczne. Poza karbapenemazami występującymi również u pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* i *P. aeruginosa* (takimi jak NDM, KPC czy MBL), u szczepów *A. baumannii* występują swoiste enzymy CHDL. Dodatkowo, nadekspresja genów kodujących pompy MDR i zmniejszona przepuszczalność błony zewnętrznej, występujące jednocześnie z karbapenemazami mogą uczynić ze szczepów z gatunku *A. baumannii* bakterię wielolekooporną. W związku z tym niezbędne jest prowadzenie badań nad rozprzestrzenianiem się genów kodujących karbapenemazy, poszukiwaniem nowych enzymów oddziałujących na antybiotyki i analiza ich zakresu substratowego, tak aby zminimalizować ryzyko nieskutecznej terapii zakażeń wywołanych pałeczkami *A. baumannii*.

## Piśmiennictwo

- Adams-Haduch J.M., Paterson D.L., Sidjabat H.E., Pasculle A.W., Potoski B.A., Muto C.A., Harrison L.H., Doi Y.: Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **52**, 3837–3843 (2008)
- Afzal-Shah M., Woodford N., Livermore D.M.: Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D  $\beta$ -lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **45**, 583–588 (2001)
- Al-Agamy M.H., Khalaf N.G., Tawfik M.M., Shibl A.M., El Kholy A.: Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. *Int. J. Infect. Dis.* **22**, 49–54 (2014)
- Al-Hassan L., El Mahallawy H., Amyes S.G.: First report of *bla*(PER-3) in *Acinetobacter baumannii*. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **41**, 93–94 (2013)
- Ambler R.: The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philos. T. R. Soc. B.* **289**, 321–331 (1980)
- Bae I.K., Jang S.J., Kim J., Jeong S.H., Cho B., Lee K.: Interspecies dissemination of the *bla* gene encoding PER-1 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **55**, 1305–1307 (2011)
- Bogaerts P., Naas T., El Garch F., Cuzon G., Deplano A., Delaire T., Huang T.D., Lissou B., Nordmann P., Glupczynski Y.: GES extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Belgium. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **54**, 4872–4878 (2010)
- Bonnin R.A., Nordmann P., Potron A., Lecuyer H., Zahar J.R., Poirel L.: Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **55**, 349–354 (2011)
- Bonnin R.A., Poirel L., Naas T., Pirs M., Seme K., Schrenzel J., Nordmann P.: Dissemination of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* **18**, E362–365 (2012)
- Bonnin R.A., Potron A., Poirel L., Lecuyer H., Neri R., Nordmann P.: PER-7, an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase with increased activity toward broad-spectrum cephalosporins in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **55**, 2424–2427 (2011)
- Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S., Edwards J.E., Gilbert D., Rice L.B., Scheld M., Spellberg B., Bartlett J.: Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* **48**, 1–12 (2009)
- Castanheira M., Costello S.E., Woosley L.N., Deshpande L.M., Davies T.A., Jones R.N.: Evaluation of clonality and carbapenem resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex and *Enterobacteriaceae* isolates collected in European and Mediterranean countries and detection of two novel  $\beta$ -lactamases, GES-22 and VIM-35. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **58**, 7358–7366 (2014)
- Catel-Ferreira M., Coadou G., Molle V., Mugnier P., Nordmann P., Siroy A., Jouenne T., De E.: Structure-function relationships of CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 2053–2056 (2011)
- Catel-Ferreira M., Nehme R., Molle V., Aranda J., Bouffartigues E., Chevalier S., Bou G., Jouenne T., De E.: Deciphering the function of the outer membrane protein OprD homologue of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **56**, 3826–3832 (2012)
- Celenza G., Pellegrini C., Caccamo M., Segatore B., Amicosante G., Perilli M.: Spread of *bla*(CTX-M-type) and *bla*(PER-2)  $\beta$ -lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals. *J. Antimicrob. Chemother.* **57**, 975–978 (2006)
- Chagas T.P., Carvalho K.R., de Oliveira Santos I.C., Carvalho-Assef A.P., Asensi M.D.: Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil (2008–2011): country-wide spread of OXA-23-producing clones (CC15 and CC79). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **79**, 468–472 (2014)
- Charfi-Kessiss K., Mansour W., Ben Haj Khalifa A., Mastouri M., Nordmann P., Aouni M., Poirel L.: Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the *bla*(OXA-23) and the *bla*(GES-11) genes in a neonatology center in Tunisia. *Microb. Pathog.* **74**, 20–24 (2014)
- Chu Y.W., Afzal-Shah M., Houang E.T., Palepu M.I., Lyon D.J., Woodford N., Livermore D.M.: IMP-4, a novel metallo- $\beta$ -lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. collected in Hong

- Kong between 1994 and 1998. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **45**, 710–714 (2001)
19. Cicek A.C., Saral A., Iraz M., Ceylan A., Duzgun A.O., Peleg A.Y., Sandalli C.: OXA- and GES-type  $\beta$ -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin. Microbiol. Infect.* **20**, 410–415 (2014)
  20. Clock S.A., Tabibi S., Alba L., Kubin C.J., Whittier S., Saiman L.: *In vitro* activity of doripenem alone and in multi-agent combinations against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **76**, 343–346 (2013)
  21. Coyne S., Courvalin P., Perichon B.: Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 947–953 (2011)
  22. Coyne S., Rosenfeld N., Lambert T., Courvalin P., Perichon B.: Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 4389–4393 (2010)
  23. Da Silva G.J., Correia M., Vital C., Ribeiro G., Sousa J.C., Leitao R., Peixe L., Duarte A.: Molecular characterization of *bla*(IMP-5), a new integron-borne metallo- $\beta$ -lactamase gene from an *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolate in Portugal. *FEMS Microbiol. Lett.* **215**, 33–39 (2002)
  24. del Mar Tomas M., Beceiro A., Perez A., Velasco D., Moure R., Villanueva R., Martinez-Beltran J., Bou G.: Cloning and functional analysis of the gene encoding the 33- to 36-kilodalton outer membrane protein associated with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 5172–5175 (2005)
  25. Djahmi N., Dunyach-Remy C., Pantel A., Dekhil M., Sotto A., Lavigne J.P.: Epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *Biomed. Res. Int.* **2014**, 305784 (2014)
  26. Doi Y., Adams J.M., Yamane K., Paterson D.L.: Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**, 4209–4210 (2007)
  27. Fallah F., Noori M., Hashemi A., Goudarzi H., Karimi A., Erfanimanesh S., Alimehr S.: Prevalence of *bla*(NDM), *bla*(PER), *bla*(VEB), *bla*(IMP), and *bla*(VIM) genes among *Acinetobacter baumannii* isolated from two hospitals of Tehran, Iran. *Scientifica (Cairo)*. **2014**, 245162 (2014)
  28. Farajnia S., Azhari F., Alikhani M.Y., Hosseini M.K., Peymani A., Sohrabi N.: Prevalence of PER and VEB type extended spectrum  $\beta$ -lactamases among multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in north-west of Iran. *Iran. J. Basic. Med. Sci.* **16**, 751–755 (2013)
  29. Figueiredo S., Poirel L., Papa A., Koulourida V., Nordmann P.: First identification of VIM-4 metallo- $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter* spp. *Clin. Microbiol. Infect.* **14**, 289–290 (2008)
  30. Fonseca E.L., Scheidegger E., Freitas F.S., Cipriano R., Vicente A.C.: Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of *carO* alleles expression and *bla*(OXA-23) gene. *BMC Microbiol.* **13**, 245 (2013)
  31. Fu Y., Jiang J., Zhou H., Jiang Y., Fu Y., Yu Y., Zhou J.: Characterization of a novel plasmid type and various genetic contexts of *bla*(OXA-58) in *Acinetobacter* spp. from multiple cities in China. *PLoS One*. **9**, e84680 (2014)
  32. Gales A.C., Tognim M.C., Reis A.O., Jones R.N., Sader H.S.: Emergence of an IMP-like metallo-enzyme in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain from a Brazilian teaching hospital. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **45**, 77–79 (2003)
  33. Garrity G.M.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2: Proteobacteria. Springer, Nowy York, 2005
  34. Goh H.M., Beatson S.A., Totsika M., Moriel D.G., Phan M.D., Szubert J., Runnegar N., Sidjabat H.E., Paterson D.L., Nimmo G.R., Lipman J., Schembri M.A.: Molecular analysis of the *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. *Appl. Environ. Microbiol.* **79**, 6535–6543 (2013)
  35. Hassan K.A., Liu Q., Henderson P.J., Paulsen I.T.: Homologs of the *Acinetobacter baumannii* Acel transporter represent a new family of bacterial multidrug efflux systems. *MBio*, **6**, (2015)
  36. Heritier C., Poirel L., Lambert T., Nordmann P.: Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 3198–3202 (2005)
  37. Higgins P.G., Perez-Llarena F.J., Zander E., Fernandez A., Bou G., Seifert H.: OXA-235, a novel class D  $\beta$ -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 2121–2126 (2013)
  38. Higgins P.G., Poirel L., Lehmann M., Nordmann P., Seifert H.: OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **53**, 5035–5038 (2009)
  39. Higgins P.G., Schneiders T., Hamprecht A., Seifert H.: *In vivo* selection of a missense mutation in *adeR* and conversion of the novel *bla*(OXA-164) gene into *bla*(OXA-58) in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospitalized patient. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 5021–5027 (2010)
  40. Hujer K.M., Bonomo R.A. i wsp.: Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7  $\beta$ -lactamase: defining a unique family of class C enzymes. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **49**, 2941–2948 (2005)
  41. Hujer K.M., Bonomo R.A. i wsp.: Rapid determination of quinolone resistance in *Acinetobacter* spp. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 1436–1442 (2009)
  42. Jeon J.H., Lee S.H. i wsp.: Structure of ADC-68, a novel carbapenem-hydrolyzing class C extended-spectrum  $\beta$ -lactamase isolated from *Acinetobacter baumannii*. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* **70**, 2924–2936 (2014)
  43. Kaase M., Nordmann P., Wichelhaus T.A., Gatermann S.G., Bonnin R.A., Poirel L.: NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 1260–1262 (2011)
  44. Karthikeyan K., Thirunarayan M.A., Krishnan P.: Coexistence of *bla*(OXA-23) with *bla*(NDM-1) and *armA* in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 2253–2254 (2010)
  45. Kayama S., Shigemoto N., Shimizu W., Kuwahara R., Ikeda M., Ikebe K., Maeda K., Hisatsune J., Ohge H., Sugai M.: Tripoli metallo- $\beta$ -lactamase-1 (TMB-1)-producing *Acinetobacter* spp. with decreased resistance to imipenem in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 2477–2478 (2014)
  46. Kempf M., Rolain J.M.: Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int. J. Antimicrob. Ag.* **39**, 105–114 (2012)
  47. Kim C.K., Lee Y., Lee H., Woo G.J., Song W., Kim M.N., Lee W.G., Jeong S.H., Lee K., Chong Y.: Prevalence and diversity of carbapenemases among imipenem-nonsusceptible *Acinetobacter* isolates in Korea: emergence of a novel OXA-182. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **68**, 432–438 (2010)
  48. Koh T.H., Sng L.H., Wang G.C., Hsu L.Y., Zhao Y.: IMP-4 and OXA  $\beta$ -lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Singapore. *J. Antimicrob. Chemother.* **59**, 627–632 (2007)
  49. Kulkova N., Babalova M., Sokolova J., Krcmery V.: First report of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1-producing strains in Slovakia. *Microb. Drug Resist.*, (2014)
  50. Kuo S.C., Yang S.P., Lee Y.T., Chuang H.C., Chen C.P., Chang C.L., Chen T.L., Lu P.L., Hsueh P.R., Fung C.P.: Disse-

- mination of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with new plasmid-borne bla(OXA-72) in Taiwan. *BMC Infect. Dis.* **13**, 319 (2013)
51. Laudy A.E.: Systemy MDR – istotny mechanizm oporności pałczek Gram-ujemnych na antybiotyki i chemioterapeutyki. *Post. Mikrobiol.* **47**, 415–422 (2008)
  52. Lee H.W., Koh Y.M., Kim J., Lee J.C., Lee Y.C., Seol S.Y., Cho D.T., Kim J.: Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clin Microbiol Infect.* **14**, 49–54 (2008)
  53. Lee K., Lee W.G., Uh Y., Ha G.Y., Cho J., Chong Y.: VIM- and IMP-type metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg. Infect. Dis.* **9**, 868–871 (2003)
  54. Lee K., Yum J.H., Yong D., Lee H.M., Kim H.D., Docquier J.D., Rossolini G.M., Chong Y.: Novel acquired metallo- $\beta$ -lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 4485–4491 (2005)
  55. Lee Y., Chong Y. i wsp.: Increasing prevalence of blaOXA-23-carrying *Acinetobacter baumannii* and the emergence of blaOXA-182-carrying *Acinetobacter nosocomialis* in Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **77**, 160–163 (2013)
  56. Lin M.F., Lan C.Y.: Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World J. Clin. Cases.* **2**, 787–814 (2014)
  57. Liu F., Zhu Y., Yi Y., Lu N., Zhu B., Hu Y.: Comparative genomic analysis of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates reveals extensive genomic variation and diverse antibiotic resistance determinants. *BMC Genomics.* **15**, 1163 (2014)
  58. Liu Q., Li W., Feng Y., Tao C.: Efficacy and safety of polymyxins for the treatment of *Acinetobacter baumannii* infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, **9**, e98091 (2014)
  59. Longo F., Vuotto C., Donelli G.: Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol.* **37**, 119–127 (2014)
  60. Mammina C., Giammanco A. i wsp.: Characterization of *Acinetobacter baumannii* from intensive care units and home care patients in Palermo, Italy. *Clin. Microbiol. Infect.* **17**, E12–15 (2011)
  61. Marchand I., Damier-Piolle L., Courvalin P., Lambert T.: Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 3298–3304 (2004)
  62. Mortensen B.L., Skaar E.P.: The contribution of nutrient metal acquisition and metabolism to *Acinetobacter baumannii* survival within the host. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **3**, 95 (2013)
  63. Mosqueda N., Tomas M. i wsp.: Characterization of plasmids carrying the bla(OXA-24/40) carbapenemase gene and the genes encoding the AbkA/AbkB proteins of a toxin/antitoxin system. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 2629–2633 (2014)
  64. Moubareck C., Bremont S., Conroy M.C., Courvalin P., Lambert T.: GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 3579–3581 (2009)
  65. Mugnier P.D., Poirel L., Naas T., Nordmann P.: Worldwide dissemination of the bla(OXA-23) carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 35–40 (2010)
  66. Naas T., Bogaerts P., Bauraing C., Degheldre Y., Glupczynski Y., Nordmann P.: Emergence of PER and VEB extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J. Antimicrob. Chemother.* **58**, 178–182 (2006)
  67. Nagano N., Nagano Y., Cordevant C., Shibata N., Arakawa Y.: Nosocomial transmission of CTX-M-2  $\beta$ -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 3978–3984 (2004)
  68. Nakazawa Y., Tateda K. i wsp.: A case of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* transferred from India to Japan. *J. Infect. Chemother.* **19**, 330–332 (2013)
  69. Nie L., Lv Y., Yuan M., Hu X., Nie T., Yang X., Li G., Pang J., Zhang J., Li C.: Genetic basis of high level aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* from Beijing, China. *Acta Pharm. Sinic.* **4**, 295–300 (2014)
  70. Nowak P., Paluchowska P., Budak A.: Distribution of bla(OXA) genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial strains in Poland. *New Microbiol.* **35**, 317–325 (2012)
  71. O’Shea M.K.: *Acinetobacter* in modern warfare. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **39**, 363–375 (2012)
  72. Olaitan A.O., Morand S., Rolain J.M.: Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front. Microbiol.* **5**, 1–18 (2014)
  73. Opazo A., Dominguez M., Bello H., Amyes S.G., Gonzalez-Rocha G.: OXA-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in South America. *J. Infect. Dev. Ctries.* **6**, 311–316 (2012)
  74. Opazo A., Sonnevend A., Lopes B., Hamouda A., Ghazawi A., Pal T., Amyes S.G.: Plasmid-encoded PER-7  $\beta$ -lactamase responsible for ceftazidime resistance in *Acinetobacter baumannii* isolated in the United Arab Emirates. *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 1619–1622 (2012)
  75. Pasteran F., Rapoport M., Petroni A., Faccione D., Corso A., Galas M., Vazquez M., Procopio A., Tokumoto M., Cagnoni V.: Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* strains in the Americas. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **50**, 3222–3224 (2006)
  76. Pillonetto M., Arend L., Vespero E.C., Pelisson M., Chagas T.P., Carvalho-Assef A.P., Asensi M.D.: First report of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* sequence type 25 in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 7592–7594 (2014)
  77. Poirel L., Cabanne L., Vahaboglu H., Nordmann P.: Genetic environment and expression of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamase bla(PER-1) gene in gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 1708–1713 (2005)
  78. Poirel L., Mansour W., Bouallegue O., Nordmann P.: Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Tunisia producing the OXA-58-like carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-97. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 1613–1617 (2008)
  79. Poirel L., Marque S., Heritier C., Segonds C., Chabanon G., Nordmann P.: OXA-58, a novel class D  $\beta$ -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 202–208 (2005)
  80. Poirel L., Menuteau O., Agoli N., Cattoen C., Nordmann P.: Outbreak of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 3542–3547 (2003)
  81. Poirel L., Mugnier P.D., Toleman M.A., Walsh T.R., Rapoport M.J., Petroni A., Nordmann P.: ISCR2, another vehicle for bla(VEB) gene acquisition. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 4940–4943 (2009)
  82. Poirel L., Naas T., Nordmann P.: Diversity, epidemiology, and genetics of class D  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 24–38 (2010)
  83. Poirel L., Nordmann P.: Genetic structures at the origin of acquisition and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene bla(OXA-58) in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 1442–1448 (2006)
  84. Potron A., Munoz-Price L.S., Nordmann P., Cleary T., Poirel L.: Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 5946–5948 (2011)

85. Potron A., Poirel L., Croize J., Chantepedrix V., Nordmann P.: Genetic and biochemical characterization of the first extended-spectrum CARB-type  $\beta$ -lactamase, RTG-4, from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 3010–3016 (2009)
86. Potron A., Poirel L., Nordmann P.: Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **45**, 568–585 (2015)
87. Rafei R., Dabboussi F., Hamze M., Eveillard M., Lemarie C., Mallat H., Rolain J.M., Joly-Guillou M.L., Kempf M.: First report of bla(NDM-1)-producing *Acinetobacter baumannii* isolated in Lebanon from civilians wounded during the Syrian war. *Int. J. Infect. Dis.* **21**, 21–23 (2014)
88. Rajamohan G., Srinivasan V.B., Gebreyes W.A.: Molecular and functional characterization of a novel efflux pump, AmvA, mediating antimicrobial and disinfectant resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 1919–1925 (2010)
89. Rao R.S., Karthika R.U., Singh S.P., Shashikala P., Kanungo R., Jayachandran S., Prashanth K.: Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian J. Med. Microbiol.* **26**, 333–337 (2008)
90. Revathi G., Siu L.K., Lu P.L., Huang L.Y.: First report of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in East Africa. *Int. J. Infect. Dis.* **17**, e1255–1258 (2013)
91. Ribera A., Roca I., Ruiz J., Gibert I., Vila J.: Partial characterization of a transposon containing the tet(A) determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**, 477–480 (2003)
92. Riccio M.L., Franceschini N., Boschi L., Caravelli B., Cornaglia G., Fontana R., Amicosante G., Rossolini G.M.: Characterization of the metallo- $\beta$ -lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of bla(IMP) allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**, 1229–1235 (2000)
93. Robledo I.E., Aquino E.E., Sante M.I., Santana J.L., Otero D.M., Leon C.E., Vazquez G.J.: Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 1354–1357 (2010)
94. Roca I., Marti S., Espinal P., Martinez P., Gibert I., Vila J.: CraA, a major facilitator superfamily efflux pump associated with chloramphenicol resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 4013–4014 (2009)
95. Rodriguez-Martinez J.M., Nordmann P., Ronco E., Poirel L.: Extended-spectrum cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 3484–3488 (2010)
96. Rosenfeld N., Bouchier C., Courvalin P., Perichon B.: Expression of the resistance-nodulation-cell division pump AdeIJK in *Acinetobacter baumannii* is regulated by AdeN, a TetR-type regulator. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 2504–2510 (2012)
97. Rumbo C., Tomas M. i wsp.: Contribution of efflux pumps, porins, and  $\beta$ -lactamases to multidrug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 5247–5257 (2013)
98. Saavedra S.Y., Cayo R., Gales A.C., Leal A.L., Saavedra C.H.: Early dissemination of OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* strain in Colombia: a case report. *Braz. J. Infect. Dis.* **18**, 678–680 (2014)
99. Salazar De Vegas E.Z., Nievesm B., Ruiz M., Ruiz J., Vila J., Maria A., Elsa V.: Molecular epidemiology and characterization of resistance mechanisms to various antimicrobial agents in *Acinetobacter baumannii* isolated in Merida, Venezuela. *Med. Sci. Monit.* **13**, BR89–94 (2007)
100. Scaife W., Young H.K., Paton R.H., Amyes S.G.: Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source. *J. Antimicrob. Chemother.* **36**, 585–586 (1995)
101. Smani Y., Pachon J.: Loss of the OprD homologue protein in *Acinetobacter baumannii*: impact on carbapenem susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 677 (2013)
102. Srinivasan V.B., Rajamohan G., Gebreyes W.A.: Role of AbeS, a novel efflux pump of the SMR family of transporters, in resistance to antimicrobial agents in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 5312–5316 (2009)
103. Su X.Z., Chen J., Mizushima T., Kuroda T., Tsuchiya T.: AbeM, an H<sup>+</sup>-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 4362–4364 (2005)
104. Tamayo-Legorreta E.M., Garza-Ramos U., Barrios-Camacho H., Sanchez-Perez A., Galicia-Paredes A., Meza-Chavez A., Silva-Sanchez J.: Identification of OXA-23 carbapenemases: novel variant OXA-239 in *Acinetobacter baumannii* ST758 clinical isolates in Mexico. *New Microbes. New Infect.* **2**, 173–174 (2014)
105. Tian G.B., Adams-Haduch J.M., Taracila M., Bonomo R.A., Wang H.N., Doi Y.: Extended-spectrum AmpC cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*: ADC-56 confers resistance to cefepime. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 4922–4925 (2011)
106. Todorova B., Velinov T., Ivanov I., Dobrova E., Kantardjiev T.: First detection of OXA-24 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Bulgaria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **30**, 1427–1430 (2014)
107. Tsakris A., Ikonomidis A., Pournaras S., Tzouveleki L.S., Sofianou D., Legakis N.J., Maniatis A.N.: VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Emerg. Infect. Dis.* **12**, 981–983 (2006)
108. Turton J.F., Ward M.E., Woodford N., Kaufmann M.E., Pike R., Livermore D.M., Pitt T.L.: The role of ISAbal1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol. Lett.* **258**, 72–77 (2006)
109. Viehman J.A., Nguyen M.H., Doi Y.: Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Drugs.* **74**, 1315–1333 (2014)
110. Wang H., Guo P., Sun H., Wang H., Yang Q., Chen M., Xu Y., Zhu Y.: Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**, 4022–4028 (2007)
111. Wroblewska M.M., Towner K.J., Marchel H., Luczak M.: Emergence and spread of carbapenem-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in a tertiary-care hospital in Poland. *Clin. Microbiol. Infect.* **13**, 490–496 (2007)
112. Yamamoto M., Nagao M., Matsumura Y., Matsushima A., Ito Y., Takakura S., Ichiyama S.: Interspecies dissemination of a novel class 1 integron carrying bla(IMP-19) among *Acinetobacter* species in Japan. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 2480–2483 (2011)
113. Yum J.H., Yi K., Lee H., Yong D., Lee K., Kim J.M., Rossolini G.M., Chong Y.: Molecular characterization of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the bla(VIM-2) gene cassettes. *J. Antimicrob. Chemother.* **49**, 837–840 (2002)
114. Zhang C., Song H. i wsp.: Higher isolation of NDM-1 producing *Acinetobacter baumannii* from the sewage of the hospitals in Beijing. *PLoS One*, **8**, e64857 (2014)