

Relación entre virulencia y resistencia antimicrobiana en *Acinetobacter baumannii*

Andres E. Zuñiga¹, Mónica Chávez V Ph.D², Romel F. Gómez BSc¹,
Cristina E. Cabrera MSc³, Raúl E. Corral M.D, MSc⁴, Bertha López MSc⁵

1. Profesor auxiliar Universidad Libre
2. Docente Investigador Universidad Libre, Docente titular Universidad Santiago de Cali
3. Profesor Asistente Universidad Libre, Profesor asistente Universidad del Valle
4. Profesor asistente Universidad Libre, Médico Infectología, Clínica Rafael Uribe Uribe
5. Médico epidemiólogo

Correspondencia: andreszunigab@gmail.com

Recibido: 20-07-10 / Aceptado: 12-11-10

Resumen

Acinetobacter baumannii causa frecuentemente infecciones intrahospitalarias y actualmente se ha relacionado con el desarrollo de infecciones severas adquiridas en la comunidad. La capacidad de colonizar diversos hábitats y la versatilidad en su metabolismo ha influido en el incremento del número de infecciones nosocomiales, siendo responsable del desarrollo de enfermedades como: sepsis, neumonías y meningitis. Estas infecciones aparecen en forma de brotes, dominados por clones epidémicos con multirresistencia a los antibióticos que causan altas tasas de morbilidad y mortalidad. Las Unidades de Cuidados Intensivos son las más afectadas por el uso masivo de antibióticos que ocasiona la aparición de cepas multirresistentes. Es importante estudiar los mecanismos de patogénesis y la resistencia a los antibióticos, como factores directos que determinan el problema de salud.

Por otra parte, las islas de patogenicidad que corresponde a material genético exógeno que ha sido integrado al genoma de la bacteria, explicaría en gran medida el carácter patogénico de la bacteria. Estas transportan genes que confieren multirresistencia a los antibióticos y son responsables directos de llevar genes involucrados en mecanismos patogénicos como son: el sistema de captación de hierro, el sistema para la formación de biopelículas en superficies abióticas, el mecanismo de formación de la proteína de membrana externa 38 y los sistemas de secreción de proteínas tipo IV, que han sido demostrados como responsables directos de la patogénesis de diversos patógenos. En este artículo se revisa la situación actual de la incidencia de las infecciones nosocomiales causadas por *A. baumannii* multirresistente a los antibióticos, los principales mecanismos de resistencia a fármacos y la asociación de ésta con los mecanismos de patogenicidad. El conocimiento de los elementos involucrados en la patogénesis de *A. baumannii* permitirá establecer los mecanismos que lleven a controlar su diseminación.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, epidemiología molecular, islas de patogenicidad, resistencia a los antibióticos, sistema de secreción tipo IV.

Abstract

Acinetobacter baumannii is often isolated in nosocomial infections, currently it is been related with severe community-acquired infections. The ability to colonize diverse habitats as well as its versatile metabolism make *A. baumannii* a troublesome pathogen. In the last years there is been an increase of nosocomial infections due to *A. baumannii*, such as sepsis, pneumonia and meningitis. This infections appears as outbreaks, dominated by multidrug-resistance epidemics clones generating an increase in morbidity and mortality rates. Most affected wards are Intensive Care Units, where massive antibiotics use might select new multidrug-resistant strains. Due *A. baumannii* has emerged as serious problem in Europe, United States and Latin America including Colombia, to find out the pathogenesis mechanisms and antibiotics resistance as factors that contribute to this health problem is necessary. Both, the acquisition of virulence factors and antibiotics resistance determinants explain the pathogenic capacity of this bacteria; particularly the presence of pathogenicity Islands (PAIs), which contain genes that confer multidrug-resistant and are directly responsible to carry genes involve in pathogenic mechanism as: iron uptake system, biofilm formation on abiotic surfaces, Outer membrane protein 38 production (OMP 38) and the Type Four Secretion System, which has been described as responsible for the pathogenesis of this microorganism. This paper reviews the current situation of the nosocomial infections caused by *A. baumannii*, the main mechanisms of drugs resistance and their association with pathogenicity. Understanding of the elements involved in the pathogenesis of *A. baumannii* will enable to establish mechanisms to control its dissemination.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, molecular epidemiology, pathogenicity islands, resistance to drugs, type four secretion system.

Introducción

Las especies del género *Acinetobacter* se encuentran colonizando diversos hábitats, que incluyen agua, suelo, material vegetal y organismos vivos, son quimioheterótrofos versátiles y crecen en un amplio rango de temperatura y pH (1). Fenotípicamente se distinguen como bacilos Gram negativos, con metabolismo estrictamente aerobio y no presentan flagelos (2). Poseen además, un gran repertorio genético que les permite adaptarse a las condiciones del medio ambiente, degradar sustancias contaminantes y producir sustancias de utilidad para el ser humano a nivel biotecnológico y ambiental (3). Las bacterias de este género constituyen un grupo heterogéneo, formado por 31 grupos o genoespecies, clasificadas mediante el patrón de homología de su genoma en la hibridación del ADN (4). Algunas de estas genoespecies o grupos más

representativos han sido clasificadas taxonómicamente así: la genoespecie 1 es *A. calcoaceticus*, la genoespecie 2 es *A. baumannii*, la genoespecie 4 es *A. haemolyticus*, la genoespecie 5 es *A. junii*, la genoespecie 7 es *A. Johnsonii*, la genoespecie 8 es *A. lwoffii* y la genoespecie 12 es *A. radioresistens*. En la actualidad se han designado un total de 17 especies en el género *Acinetobacter* (5).

Las genoespecies 1, 2, 3 y 13TU (descrita por Tjernberg y Ursing) se encuentran estrechamente relacionadas y es difícil distinguirlas fenotípicamente; por lo que se han agrupado en el complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii* (4). Las genoespecies de este complejo presentan la mayor relevancia clínica y se han establecido como patógenos tanto a nivel hospitalario como de la comunidad, constituyendo un problema de salud pública por su multiresistencia (6,7). Las características fenotípicas de *A. baumannii* son muy

diversas, por lo que se diferencia en 19 biotipos (8). Los biotipos 1, 2, 6 y 9 son los que se aíslan con mayor frecuencia de muestras clínicas (9).

Aunque, *A. baumannii* normalmente no representa riesgos en personas inmunocompetentes, en las últimas décadas se viene reportando con mucha frecuencia como agente causal de numerosas infecciones (10). Las infecciones suelen ser severas, entre las que se destacan: neumonías, meningitis y septicemias, las cuales tienden a ocurrir en pacientes debilitados e inmunocomprometidos que desencadenan en tasas de mortalidad, especialmente cuando el paciente se encuentra en las UCI (11-13). Los análisis de estas cepas demuestran una elevada multiresistencia a los antibióticos, lo que explicaría la severidad en las infecciones (12). Las bacterias de este género se encuentran asociadas a brotes epidémicos nosocomiales, la mayoría de ellas corresponde a aislados clínicos de *A. baumannii* (13). La naturaleza de estos organismos y la capacidad para adquirir multiresistencia a los antimicrobianos han sido determinantes en la incidencia y el significado que han cobrado en los servicios de salud (14).

La virulencia y la resistencia a un antibiótico son mecanismos considerados similares para la adaptación selectiva que le permiten a la bacteria sobrevivir en condiciones de estrés, durante la invasión al hospedero o bajo tratamiento con antibiótico. Desde el punto de vista ecológico, ambas condiciones constituyen un cuello de botella evolutivo que tienden a reducir la diversidad genética bacteriana; de esta forma un pequeño grupo de bacterias específicas serán capaces de colonizar el hospedero bajo esas condiciones tan especiales (1). En este artículo, se revisa la situación actual de la incidencia de las infecciones nosocomiales causadas por *A. baumannii* multiresistente a los antibióticos, los principales mecanismos de resistencia y la posible asociación con otros mecanismos de patogenicidad con la presencia de multiresistencia a los fármacos; todo lo anterior ha generado un gran impacto en la salud pública. El conocimiento de los elementos involucrados en la patogénesis de *A. baumannii* permitirá comprender las características

básicas de este microorganismo, necesarias para controlar la diseminación de las infecciones causadas por esta bacteria y desarrollar medidas efectivas para controlar este patógeno.

Infecciones causadas por *A. baumannii*

En humanos, *A. baumannii* habita normalmente en la piel, en las membranas de la mucosa respiratoria y gastrointestinal (15). Este organismo puede sobrevivir en el suelo, en superficies húmedas, y a diferencia del resto de bacterias Gram negativas, puede resistir por un largo periodo en ambientes secos (15,16). La resistencia a la desecación es una característica que puede influir en el aumento de la transmisibilidad de cepas epidémicas, que habitualmente se encuentran en el ambiente hospitalario (17,18). Con los trabajos de Allen y Green se le dió importancia a la vía aérea como una de las principales fuentes en la transmisión de la bacteria (19), especialmente a través de equipos médicos contaminados, como los tubos de intubación, catéteres, respiradores y dispositivos para monitorear la presión arterial (19,20). Existen reportes que demuestran la colonización del patógeno en sábanas (21), almohadas (22), equipos de sonido, televisión y ventiladores (16,23). La habilidad de *Acinetobacter* spp. para sobrevivir en las superficies secas de la piel en adultos sanos (especialmente en las manos) (24) y su capacidad de colonizar la cavidad oral, faringe e intestino, hacen de estos sitios, reservorios epidemiológicos importantes que promueven la transmisión a través de fómites, características determinantes en los brotes epidémicos nosocomiales (25).

La infección por la bacteria se establece frecuentemente en pacientes con enfermedades crónicas, quienes presentan múltiples condiciones de morbilidad, hospitalizados por largos períodos, que han sufrido múltiples procedimientos invasivos, con edad avanzada, falla respiratoria o cardiovascular, cirugías recientes, cateterización vascular central y urinaria, traqueotomía, alimentación parenteral y tratamiento antimicrobiano con antibióticos de amplio espectro como: cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y carbapenemes (26). En

términos generales, las infecciones por *A. baumannii* adquiridas en el hospital se encuentra asociadas a tres factores de riesgo: la diversidad del reservorio, su asociación con resistencia antimicrobiana y su potencial epidémico. Aunque estos factores de riesgo están bien establecidos, los reservorios del patógeno aún no se comprenden, siendo motivo de amplios debates (15).

Las infecciones causadas por *A. baumannii* en países desarrollados de Europa y en los Estados Unidos no son frecuentes (27). Sin embargo, en estos países existen áreas con una alta prevalencia de infecciones por este patógeno que constituye un grave problema de salud pública (28). En varias partes del mundo, la incidencia de infecciones graves por especies de *Acinetobacter* ha ido en aumento. Las principales manifestaciones clínicas asociadas a *Acinetobacter spp.*, corresponden a neumonías asociadas a ventilación mecánica (29) y a infecciones del torrente sanguíneo (2), en ambos casos alcanzan una mortalidad cerca del 75% (30); tienen también la potencialidad de provocar infecciones purulentas en casi cualquier órgano del cuerpo (2). Se aíslan frecuentemente de infecciones de heridas generadas en condiciones especiales como guerras (31,32) y en desastres naturales (33,34). Recientemente se ha descrito también, un raro síndrome de neumonía fulminante por cepas adquiridas en la comunidad; el síndrome constituye una entidad clínica particular que se acompaña de una incidencia alta de bacteremia, síndrome de dificultad respiratoria, coagulación intravascular diseminada con un desenlace fatal (35).

Las especies de *Acinetobacter* tienen una característica especial por su capacidad de desplegar resistencia a toda clase de antibióticos, así como la de adquirir nuevos determinantes de resistencia (36), lo que dificulta el tratamiento adecuado y contribuye a aumentar la potencial gravedad de la infección. Entre los agentes antimicrobianos que se han encontrado ser más efectivos contra las infecciones causadas por *Acinetobacter spp.*, incluyen carbapenemes, cefalosporinas, penicilinas anti-pseudomonales, monobactámicos, aminoglicósidos, tetraciclinas,

fluoroquinolonas, sulbactámicos y polimixinas (27). Sin embargo, en la actualidad se reportan cepas de *A. baumannii* con resistencia a todos ellos.

Bases moleculares de la resistencia a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos en cepas nosocomiales del complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii* incluye principalmente, la presencia de enzimas degradadoras del antibiótico (37), alteraciones de los canales (porinas) de la membrana externa (38) y bombas de eflujo (39). Aunque los mecanismos de resistencia a los β -lactámicos no están completamente dilucidados, la resistencia a estos antibióticos se relaciona frecuentemente con la producción de β -lactamasas (37), alteraciones en las proteínas que unen penicilina (PBP) (40) y reducción en la permeabilidad de la membrana externa (39).

Las enzimas β -lactamasas pueden estar codificadas en elementos transferibles como: plásmidos con los determinantes TEM-1, TEM-2, CARB (41) que le confieren una resistencia a las penicilinas y a algunas cefalosporinas de espectro reducido. También pueden estar codificadas en elementos móviles o secuencias de inserción, como integrones en el caso de las oxacilinasas de la clase D (42,43) o transposones para los metalo-carbapenémicos (44,45). Las β -lactamasas pueden estar codificadas cromosomalmente, como las β -lactamasas AmpC, que corresponden a cefalosporinasas cromosomales intrínsecas de todas las cepas de *A. baumannii* (46). Generalmente estas enzimas tienen un nivel bajo de expresión, pero si se inserta una secuencia promotora (ISAba1) cerca del gen *ampC*, aumenta la síntesis de la enzima, generando resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro (37,47).

Los brotes que se observan en la actualidad a nivel global, tienen que ver con la presencia de cepas de *A. baumannii* resistentes a los carbapenemes, debido a que este medicamento es el que se emplea principalmente en infecciones con cepas multirresistentes. La resistencia a los carbapenemes

está mediada por un grupo de β -lactamasas de amplio espectro tipo OXA (48). El análisis de la secuencia del gen reveló que se trataba de una enzima inusual tipo OXA (denominada OXA-23) de la clase molecular D transferible; es decir, codificada en transposones (43). En 1997 se reportó otra β -lactamasa tipo OXA en una cepa resistente a imipenem obtenida a partir de un aislado en Francia (49). Aunque su gen no fue secuenciado, se demostró su actividad hidrolítica contra imipenem.

Posteriormente, se determinaron tres oxacilinasas que carecen de propiedades carbapenemasas. La enzima OXA-21 se encontró en una cepa de *A. baumannii* susceptible a imipenem circulante en España, con una baja diseminación, a pesar de estar codificada en un integrón (50). Sin embargo, este mismo gen se encontró en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* susceptibles y resistentes a carbapenemes en Francia (51). La enzima OXA-37 codificada en un integrón, se descubrió en una cepa multirresistente de *A. baumannii* aislada en España (52), se diferencia de la oxacilinasas de espectro reducido, OXA-20 identificada inicialmente en *P. aeruginosa* (53). La enzima OXA-20 se encuentra codificada en integrones de la clase 1 en cepas de *A. baumannii* multirresistentes aisladas en Francia (54), España (55) e Italia (56).

Las cepas que poseen β -lactamasas tipo OXA han sufrido un incremento en brotes epidémicos y han contribuido en gran medida con la mortalidad de los pacientes. En los últimos años, se han identificado seis nuevas enzimas tipo-OXA aisladas de cepas con resistencia a carbapenemes. La enzima OXA-24 se encontró en cepas de España (46) y representan el segundo subgrupo de estas enzimas con un 60% de identidad con la enzima OXA-23. Otras β -lactamasas relacionadas corresponden a: OXA-25, OXA-26 y OXA-40 presentes en cepas de España, Bélgica y Portugal (42,57) y dos variantes de OXA-23, OXA-27 y OXA-49 que se encontraron en cepas aisladas de Singapur, China (58) y Brasil (59). En Argentina se identificó una nueva enzima, denominada OXA-51 que comparte un 63% de identidad con las enzimas

de los subgrupos 1 y 2 (60). Posteriormente se identificaron siete enzimas en diferentes partes del mundo que comparten el 98-99% de identidad con OXA-51 (61).

La resistencia a β -lactámicos puede estar dada por la pérdida de proteínas de membrana (39,62), por alteración de las proteínas que unen penicilina (PBPs) (38,63), o por modificación de los canales de porinas. La mutación de las porinas puede impedir el paso del antibiótico al espacio periplásmico, lo que alteraría la permeabilidad al antibiótico (38). Esta forma de resistencia a imipenem y meropenem fue reportada en cepas endémicas de New York (64), las cepas presentaron la pérdida de la proteína de la membrana externa CarO, que actúa como una porina inespecífica para el paso de los carbapenemes. La sobre-expresión de bombas de eflujo es otro factor relevante en la generación de la resistencia a los β -lactámicos. Se ha reportado que las bombas de eflujo actúan en conjunto con la sobre-expresión de β -lactamasas tipo AmpC o carbapenemasas incrementando la multirresistencia en la bacteria (39).

La resistencia de *A. baumannii* a los aminoglicósidos se ha determinado principalmente por la producción de enzimas inactivantes codificadas en integrones de la clase 1 y 2 (65), las enzimas que se describen son las llamadas acetiltransferasas, nucleotidiltransferasas y fosfotransferasas, siendo la más frecuente la amonoglucósido-3'-fosfotransferasa VI, con actividad contra amikacina (66). Otra forma de resistencia a estos antibióticos se produce por metilación del ARN ribosomal 16S en el sitio de unión al antibiótico, confiriendo una alta resistencia a la gentamicina, tobramicina y la amikacina (67). Este tipo de resistencia predomina en cepas circulantes en Japón (68), Corea (69) y USA (70). La resistencia a los aminoglicósidos, mediada por bombas de eflujo, involucra principalmente la bomba tipo AbeM de la familia de las bombas de eflujo de compuestos tóxicos y multidrogas (MATE) (71).

La resistencia a las quinolonas es debida principalmente por las modificaciones de la ADN girasa o topoisomerasa IV, mediante las mutaciones

en los genes *gyrA* y *parC*, respectivamente (72). Estas mutaciones desencadenan una interferencia con el sitio de unión del antibiótico, bloqueando la acción de este último. Las quinolonas suelen ser sustratos de las bombas de eflujo (73). Las bombas que expulsan quinolonas corresponden a la bomba de eflujo AdeABC tipo RND (Resistance-nodulation-division) (74), que también están involucradas en resistencia a aminoglicósidos, beta-lactámicos, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina y bromuro de etidio y a las de tipo AbeM que les confiere resistencia a norfloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina, gentamicina, 40,6-diamino-2-phenylindole (DAPI), triclosan, acriflavine, Hoechst 33342, daunorubicina, doxorubicina, rhodamina 6G y bromuro de etidio (71,75).

Los principales mecanismos de resistencia a las tetraciclinas y sus derivados reportadas para cepas de *A. baumannii* está mediada por las bombas de eflujo y por protección ribosomal (76). Las bombas de flujo que expulsan tetraciclinas son codificadas por los genes *tet(A)* y *tet(B)* (77). El gen *tet(A)* se encuentra en el transposón similar a Tn1721 asociado al elemento IS que le confiere resistencia a tetraciclina, pero no a minociclina, un agente con mayor actividad contra *A. baumannii* (75,78). En contraste, las bombas de eflujo tipo AdeABC confiere multirresistencia a todas las tetraciclinas, incluyendo a las tigeciclinas (nuevas tetraciclinas modificadas conocidas como glicilciclinas) (79). La resistencia generada por protección o interferencia con el sitio blanco en el ribosoma está mediada por los genes *tet(M)* y *tet(O)* (80). A pesar que ya existen reportes de cepas de *A. baumannii* con resistencia a las polimixinas, los mecanismos de resistencia aún no han sido determinados (81).

Epidemiología molecular a nivel global

A. baumannii se presenta como causante de brotes emergentes a nivel mundial (82), mostrando un incremento en el porcentaje de resistencia en hospitales de Europa, Norte América, Argentina, Brasil, China, Taiwan, Hong Kong, Japón, Corea y Tahití en el Pacífico Sur (83). Una vez introducido

en el hospital, *Acinetobacter* spp. tiene un patrón epidemiológico caracterizado por brotes de cepas multirresistentes, con la consecuente endemia de múltiples cepas y de cepas epidémicas predominantes en cualquier momento. Las hospitalizaciones prolongadas se encuentran entre los principales factores que contribuyen a mantener la endemia de *A. baumannii* luego de un brote. Los estudios epidemiológicos demuestran que *A. baumannii* se encuentra como principal patógeno causante de infecciones en hospitales de países europeos como España (84), Italia (85), Inglaterra (86). En los Estados Unidos, los reportes de brotes epidémicos se registran en hospitales de Nueva York (87), Pensilvania (88), California (89), de países asiáticos como Corea (90), Taiwán (91), Japón (92) y China (58), de países del Pacífico Sur (93), en países de Latinoamérica como Chile (94), Argentina (95), Brasil (96) y Colombia (82, 97).

En todas estas cepas se determina que los principales factores que desencadenan la multirresistencia a los antibióticos están mediados por la adquisición de plásmidos y cassettes génicos (98) en integrones y transposones (55). Los estudios moleculares de las cepas circulantes en hospitales de Estados Unidos, revelan que la multirresistencia se debe principalmente a la presencia del transposón IS*Aba1*, que le confiere resistencia a carbapenemes. La resistencia a quinolonas es también importante en esta región y está mediada por plásmidos que transportan los genes *qnr* o por mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* (88).

En Europa, los principales problemas de salud los ocasionan cepas con resistencia a los aminoglicósidos, esta resistencia se encuentra asociada principalmente a integrones de clase 1 (65). En Japón, la resistencia a los aminoglicósidos está mediada principalmente por plásmidos que transportan el gen *aac*, que codifica para una enzima modificadora de aminoglicósidos, la aminoglicosil acetiltransferasa (67). En algunas regiones de España, se encuentra que la resistencia a los carbapenemes está dada principalmente por la β -lactamasas OXA-23 y PER-1 transportadas

en plásmidos (63). En Colombia, la resistencia se determina contra los carbapenemes mediada por la enzima OXA-23 (99), aunque se encuentra codificada en el cromosoma bacteriano, su expresión está influenciada por la inserción corriente arriba de la secuencia IS*Aba1* (100).

Los análisis moleculares de cepas de *A. baumannii* multirresistentes a los antibióticos (MDR) han determinado una alta diversidad genética con distintos patrones genéticos (clones). Los reportes evidencian que clones específicos de *A. baumannii* se esparcen entre los hospitales en un área geográfica en particular, probablemente transferidos por pacientes (101,102). Se ha reportado un incremento notable en la prevalencia de un cierto número de clones predominantes con resistencia a antibióticos carbapenémicos, en hospitales de Nueva York (103), Brasil (104) y Argentina (105). Una hipótesis que puede explicar la variación observada en los perfiles genotípicos, plantea la probabilidad que estos clones se originan en diferentes sitios por una selección independiente a partir de un ancestro común (106). La potencialidad que manifiestan estos clones para espacirse rápidamente los han llevado a denominarlos "clones epidémicos". Sin embargo, clones epidémicos específicos han sido detectados en distintos hospitales y áreas geográficas distantes entre sí (86). La ocurrencia de brotes monoclonales en múltiples hospitales sugiere la diseminación interinstitucional, presumiblemente por el movimiento de pacientes, del personal médico, la exposición a fuentes comunes de contaminación de alimentos y equipos médicos (107).

Sin embargo, en los últimos años, se reporta la existencia de una gran diversidad de clones de *A. baumannii* en una misma área. En algunos hospitales de España, los clones analizados son altamente diversos (63). Esta característica se ha observado también en Australia (108), China (109), Turquía (110), Gran Bretaña (106), Grecia (111) y Colombia (99). La resistencia de *A. baumannii* a otros fármacos manifiesta un comportamiento similar, en las cepas con resistencia a fluoroquinolonas que han generado brotes epidémicos en hospitales de California, se

ha determinado una amplia diversidad de clones resistentes, especialmente bombas de eflujo y mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* (89). Del mismo modo en algunas cepas circulantes en Europa con resistencia a los aminoglicósidos se determinó una diversidad policlonal (65).

La caracterización molecular de tres tipos de clones Pan- Europeos ha servido como punto de comparación para varios de los clones caracterizados como especies de *A. baumannii* en la última década (112,113). Por ejemplo, en un trabajo realizado por Adams y colaboradores en el 2008, se encontraron 8 tipos de clones principales en una instalación militar del ejército estadounidense, de los cuales el 60% correspondió a los tres tipos de clones Pan-Europeos. El 40% restante indica múltiples orígenes para estos 8 tipos, como también se pudo comprobar en un estudio anterior realizado en otra instalación militar (114).

Determinantes de patogenicidad en

A. baumannii

Aunque las características especiales del género *Acinetobacter* lo han convertido en patógeno nosocomial exitoso (115), es poco lo que se ha avanzado en el conocimiento de los factores de virulencia y las estrategias de persistencia. Entre las características que le confiere un carácter patogénico a las cepas de *A. baumannii* se destaca la presencia de cápsula (116), la producción de enzimas que causan daño a los lípidos celulares (117) y el lipopolisacárido (LPS) que le confiere una función potencialmente tóxica. En este sentido, se considera que el LPS sea probablemente el principal factor responsable de los síntomas observados durante las septicemias por *Acinetobacter* (118).

La respuesta del individuo a la infección generada por *A. baumannii*, es un factor a tener en cuenta en la patogénesis de la bacteria, se ha encontrado que las proteínas TLR4 y TLR2 (Toll like receptors) que son receptores de señalización importantes en las células del sistema inmune, reconocen el LPS de la bacteria y participan en el desarrollo de las neumonías fulminantes en las infecciones por *A. baumannii*, y se

han encontrado relacionadas con la exacerbación del proceso inflamatorio, especialmente el receptor TLR4 (119,120). En un estudio realizado por Erridge Erridge y colaboradores en el 2007 se demostró que el LPS de *A. baumannii* y la genoespecie 9 estimulan la señalización dependiente de TLR4 y TLR2, mientras que las cepas de las demás genoespecies estimulan solo la vía de señalización dependiente de TLR2 (121).

La secreción de proteínas a través de los complejos de transporte asociados a la membrana, ha sido considerada fundamental en los mecanismos de virulencia bacteriana. Estos complejos son empleados por las bacterias para transportar moléculas a su célula blanco e incluyen desde sistemas de un sólo componente hasta maquinarias complejas de multicomponentes (122). Entre los mecanismos de secreción patogénicos descritos en *A. baumannii* se han reportado: el sistema involucrado en la unión y formación de biopelículas en superficies abióticas por parte *A. baumannii* usando un sistema de ensamblaje de pili basado en chaperonas (123), el sistema asociado a la proteína de membrana externa 38 (OMP 38) (124) y el sistema involucrado en la captación de hierro relacionado con el sideróforo (125).

La presencia de pilis como importante factor patogénico ha sido relacionada con la capacidad de la bacteria para adherirse a las superficies plásticas y de vidrio, asegurando la formación de biopelículas en instrumentos como los dispositivos médicos (126). El análisis de la secuencia génica de una cepa epidémica de *A. baumannii* reveló la presencia de un transposón con genes que codifican para proteínas relacionados con un sistema de secreción mediado por chaperonas. Los genes *csu* de este sistema codifican proteínas que participan directamente en la formación del pili (123). Un componente importante del pili es la proteína AcuA, que presenta una leve homología a la subunidad estructural F17 del pili de *Escherichia coli*. Se ha establecido que la mutación de la proteína AcuA genera la pérdida del pili y de la adhesión a superficies bióticas y abióticas. Flanquendo al gen *acuA* se localizan los genes *acuD*, *acuC* y *acuG*, las

proteínas deducidas a partir de estos genes tienen una alta similitud a las secuencias codificadas por las proteínas que asisten al plegamiento de las proteínas llamadas chaperonas (127).

Una vez la bacteria desarrolla el pili adquiere la capacidad de iniciar la formación de biopelículas. Existen investigadores que han enfocado su atención en el desarrollo de estas biopelículas como factor importante en la patogenicidad de la bacteria. Algunas investigaciones han determinado que durante la etapa de maduración de la biopelícula se requiere la participación de la proteína asociada a biopelícula (Bap) (128). Esta proteína es específica de *A. baumannii* y se localiza en su membrana externa, facilitando la adhesión intercelular, lo que contribuiría a dar grosor y volumen a la biopelícula. En los estadios tardíos de la maduración participa el autoinductor sintetasa Aba1. La expresión del gen que codifica para esta proteína estaría determinado mediante el mecanismo denominado “quórum sensing”, cuya función concreta en esta etapa aún no se ha definido (129). La potencial habilidad de *A. baumannii* para formar biopelículas explicaría en gran medida su alta resistencia a los antibióticos y las propiedades de sobrevivencia en el ambiente seco por largos períodos.

Las proteínas de la membrana externa son factores de virulencia a tener en cuenta como mecanismo de patogenicidad de *A. baumannii*. La proteína Omp38 se localiza en la membrana mitocondrial e induce la liberación de citocromo C y del factor inductor de apoptosis (AIF) al citosol, desencadenando la muerte celular programada, como se ha demostrado en cultivos de células epiteliales humanas (124). Con los trabajos de Walzer y su equipo, en el 2006 se determinó que la proteína OmpA se producía como mecanismo de sobrevivencia en condiciones especiales, como cuando la bacteria crecía en medios deficientes de nutrientes o estrés metabólico. Posteriormente se estableció que la producción de la proteína era influenciada en ambientes con bajas concentraciones de alcohol (130). Las propiedades emulsificantes de la proteína influirían en la adhesión bacteriana, la expresión de genes mediante la vía

quórum sensing y la formación de biopelículas, condiciones que potencializan la actividad patogénica de *A. baumannii* (129,131).

En un estudio realizado en el Reino Unido se observó que aquellas cepas de *A. baumannii* adquiridas en el hospital, a pesar de que presentan una alta clonalidad y multirresistencia a drogas, eran menos virulentas que las cepas adquiridas en la comunidad (132). Estos investigadores establecen que la virulencia en la bacteria estaría favorecida, en gran medida, por la acción del alcohol utilizado en los escobillones para la toma de muestras de exámenes rutinarios, lo que tendría una importante implicación clínica a tener en cuenta para explicar la severidad de las enfermedades observada en infecciones por *A. baumannii* adquiridas en la comunidad.

Los sistemas de secreción involucrados en la captación de hierro han sido descritos en cepas patogénicas de *A. baumannii* mediado por sideróforos policistrónico. Este sistema está formado por un clúster de genes *dhb* que codifican para las proteínas OM73, p45 y p114, estas proteínas participan activamente en el sistema de biosíntesis y transporte del sideróforo encargado de captar el hierro de las proteínas humanas que unen hierro con alta afinidad (133). La presencia de este sistema explicaría en gran medida la potencialidad de *A. baumannii* para desencadenar septicemias (125,134).

Como patógenos ambientales, las especies del género *Acinetobacter* han desarrollado mecanismos que le permiten persistir y adaptarse a diferentes condiciones ambientales, gracias a la capacidad de metabolizar diversas fuentes de energía (135) y de adquirir fácilmente DNA exógeno. Esta última habilidad la han convertido en la única clase de bacterias Gram negativas que se describen como “transformables naturales” (136). En este sentido, la capacidad de adquirir genes exógenos le pueden conferir la capacidad de degradar diversos metabolitos ambientales. En cepas de *A. baylyi* se ha identificado los genes *comFECB* y *comQLONM*, que codifican para proteínas con participación activa en la captación de ADN del ambiente (137,138). En los análisis de la secuencia nucleotídica realizada en algunas cepas

de *Acinetobacter* se ha determinado la ausencia del gen *mutS*, importante en el sistema de reparación del ADN que proporciona la estabilidad del genoma; de esta forma la carencia de este gen le da una mayor flexibilidad a la bacteria para incorporar a su genoma el ADN exógeno que ha captado (139). Característica que permitiría explicar uno de los mecanismos por el cual se cree que adquiere diversidad genética (140).

Varias explicaciones sobre los mecanismos de patogenicidad se han propuesto con base en los orígenes de las cepas que han sido caracterizadas molecularmente. La diversidad de clones observada en las cepas de *A. baumannii* llevan a pensar que la patogenicidad de esta bacteria probablemente tenga un origen diverso, por lo que se encuentra una considerable variación en la composición de los genes de resistencia dentro de cada uno de los tipos de clones hallados, así como una similitud notable entre clones con origen divergente (140).

Desde hace más de una década se ha reportado la asociación entre el flujo de información de elementos genéticos móviles y la aparición y expresión de factores de virulencia que viajan dentro de los mismos (141,142). Entre los elementos móviles más notables como mecanismo de transporte de genes patogénicos se destacan las islas de patogenicidad (PAIs) (143). Estas islas contienen genes con resistencia a drogas y genes de virulencia simultáneamente, confiriéndole una ventaja selectiva sobre aquellas con genomas estáticos. Los reportes sobre el análisis de la secuencia de *A. baumannii*, muestran que este organismo ha adquirido un número de genes del ambiente, que probablemente juegan una función directa en su virulencia.

En un estudio realizado por Fournier y colaboradores en genomas de un aislado susceptible y otro resistente de *A. baumannii*, se identificó una gran cantidad de genes de resistencia. En el aislado con resistencia a β -lactámicos, aminoglicósidos, fluoroquinolonas, cloramfenicol, tetraciclina y rifampicina se identificó una región de 86 Kb denominada isla de resistencia AbaR1, con 45 genes de resistencia; entre los genes identificados se encuentran aquellos que codifican para las β -lactamasas VEB-1, AmpC y OXA-10,

varias enzimas modificadoras de aminoglicósidos (AMEs) y bombas de eflujo que expulsan tetraciclina. Los análisis genéticos de la secuencia AbaR1 muestran que está compuesto de transposones y otros genes que ya se habían identificado en *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., y *E. coli* (144). Las secuencias tipo AbaR1 se integran en genes que codifican para ATPasas en el genoma de la bacteria (145). Los análisis de la secuencia genómica realizados por el grupo de Smith determinaron la existencia de 28 posibles PAIs (146). Un cuarto de ellas poseen genes con resistencia a drogas, y seis genes relacionados con virulencia. En dos de estas islas, se encontró simultáneamente genes específicos que codifican para el sistema de secreción tipo IV, (relacionado extensamente como mecanismo de virulencia en cepas patógenas como *Legionella* y *Coxiella*) y genes que confieren resistencia a drogas.

Sistema de secreción tipo IV

Los genes involucrados en la conformación del sistema de secreción tipo IV codifican para proteínas que forman un canal para el traspaso de factores efectores de virulencia que la bacteria emplea como mecanismo de defensa (resistencia) y patogenicidad (virulencia) (147); además permite el movimiento por conjugación y transformación del ADN circundante (148). Hasta el momento, 6 cepas de *A. baumannii* se han secuenciado en su totalidad (146, 149-151). En estas cepas, se ha encontrado como un elemento unificante el sistema de secreción tipo IV (TFSS por sus siglas en Inglés). Los componentes que hacen parte del pili comparten características con proteínas del sistema de secreción tipo IV. Los componentes de este sistema juegan un papel muy importante en la formación de estructuras muy resistentes a condiciones adversas al medio ambiente, la marcada y crónica exposición de las biopelículas a este tipo de condiciones que terminan generando cepas patógenas y resistentes a muchos tipos de antibióticos (152).

En un estudio reciente se encontró asociación entre la multiresistencia de cepas de *A. baumannii* con una alta capacidad de producir un patrón de

agrupamiento en biopelículas, al ser estimulado por subconcentraciones de imipenem. La patogenie de la bacteria está influenciada por la capacidad de formar biopelículas con una marcada disminución a la susceptibilidad de los antibióticos y en una incrementada habilidad para permanecer en el hospedero humano (153). Aunque aun no existen evidencias de la directa participación de los componentes del TFSS con la patogénesis de la bacteria, hasta el momento la mayoría de los genes descritos (*Com*, *Pil*) como responsables del sistema de secreción Tipo IV (152) participarían en el mecanismo patogénico de la bacteria (149).

La relación entre las islas de patogenicidad y los sistemas de secreción como mecanismos de translocación de genes efectores virulentos se han hecho más evidente a medida que más cepas de *A. baumannii* son secuenciadas. La cepa *A. baumannii* ACICU presenta un PAI (pA_{ICU}3) que transporta genes que confiere tres mecanismos de resistencia a los antibióticos: β -lactamasas (*bla*_{Oxa}20, *bla*_{Oxa}66 y *bla*_{Oxa}88), bombas de eflujo y metales pesados (Co, Zn, Cd); pero además, se encuentra todo el locus *tra* identificado en *Agrobacterium tumefaciens*, que codifica para el aparato conjugativo TFSS. Existiría entonces una asociación entre estos dos sistemas, permitiendo el movimiento genético horizontal de los genes de resistencia (151).

Aunque no es clara la relación entre el sistema de secreción y las islas de patogenicidad se mantiene como un posible vínculo dado el tipo de eventos y elementos genéticos que se comparten, ambos pertenecientes a la transferencia horizontal de genes y mediante eventos de transmisión genética sucesivos son permisivos a la acumulación de genes de resistencia, formando subgrupos a partir de un antecesor adquirido (150,154). Los últimos sistemas de secreción tipo IV, descritos recientemente, se encuentran relacionados con la diseminación de PAIs en un amplio espectro de bacterias (148). Estudios complementarios que incluyan nuevas cepas secuenciadas, preferiblemente propias a nuestra región, serán de gran ayuda para continuar

entendiendo una relación patogénica entre sistemas de secreción e islas de resistencia, y tratar de dilucidar qué herramientas podemos usar para intervenir en un nuevo escenario para nosotros como receptores de algunos de los organismos ambientales más antiguos del planeta: *A. baumannii*.

Referencias

- Martínez JL, Baquero F. Interactions among strategies associated with bacterial infection: pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:647-679.
- Muñoz Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med.* 2008;358:1271-81.
- Abdel-El-Haleem D. *Acinetobacter*: Environmental and biotechnological applications. *Afr J Biotechnol.* 2003;2:71-74.
- Ibrahim A, Gerner-Smidt P, Liesak W. Phylogenetic relationship of the twenty-one DNA groups of the genus *Acinetobacter* as revealed by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int J Syst Bacteriol.* 1997;47:837-841.
- Nemec AL, Dijkshoorn I, Cleenwerck T, De Baere D, Janssens TJ, Van Der Reijden, et al. *Acinetobacter parvus* sp. nov., a small-colony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst. Evol. Microbiol.* 2003;53:1563-1567.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:538-582.
- Pérez F, Hujer AM, Hujer K, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global Challenge of Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemoter.* 2007;51:3471-3484.
- Bouvet PJM, Grimont PAD. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Rev Microbiol.* 1987;38:569-578.
- Dominguez M, González G, Bello H, García A, Mella S, Pinto ME, et al. Identification and biotyping of *Acinetobacter* spp isolated in Chile an hospitals. *J Hosp Infect.* 1995;30:267-271.
- Smolyakov R, Borer A, Riesenberk K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, et al. Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. *J Hosp Infect.* 2003;54:32-38.
- Hiong C, Joseph T, Cunha BA. *Acinetobacter baumannii* line-associated infection. *Heart Lung.* 2000;29:222-224.
- Chastre J, Trouillet JL. Problem pathogens (*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*). *Semin Respir Infect.* 2000;15:287-298.
- Beggs CB, Kerr KG, Snelling PA. *Acinetobacter* spp. and the Clinical Environment. *Indoor Built Environ* 2006;15:19-24.
- Fournier PE, Vallenet V, Barbe S, Audic H, Ogata L, Poirel H, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet.* 2006. 2:e7.
- Bayuga S, Zeana C, Sahni J, Della-Latta P, el-Sadr W, Larson E. Prevalence and antimicrobial patterns of *Acinetobacter baumannii* on hands and nares of hospital personnel and patients: the iceberg phenomenon again. *Heart Lung.* 2002;31:382-390.
- Jawed A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. *J Clin Microbiol.* 1998;36:1938-1941.
- Das I, Lambert P, Hill D, Noy M, Bion J, Elliott T: Carbapenem-resistant *Acinetobacter* and role of curtains in an outbreak in intensive care units. *J Hosp Infect.* 2002;50:110-114.
- Borer A, Gilad J, Smolyakov R, Eskira S, Peled N, Porat N, et al. Cell phones and *Acinetobacter* transmission. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1160-1161.
- Allen KD, Green HT. Hospital outbreaks of multiresistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread?. *J Hosp Infect* 1987;9:110-119.
- Cefai CJ, Richards F, Gould K, McPeake P. An outbreak of *Acinetobacter* respiratory tract infection resulting from incomplete disinfection of ventilatory equipment. *J Hosp Infect.* 1990;15:177-182.
- Sheretz RJ, Sullivan ML. An outbreak of infections with *Acinetobacter calcoaceticus* in burn patients: contamination of patients' mattresses. *J Infect Dis.* 1985;151:252-258.
- Weernink A, Severin WPJ, Tjernberg I, Dijkshoorn L. Pillows, an unexpected source of *Acinetobacter*. *J Hosp Infect.* 1995;29:189-199.
- Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *J Clin Microbiol.* 1994;32:2353-2358.
- Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, Vaneechoutte M. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2819-2825.
- Henwood CJ, Gatward T, Warner M, James D, Stockdale MW, Spence RP, et al. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* in the UK, and in vitro evaluation of tigecycline (GAR-936). *J Antimicrob Chemother.* 2002;49:479-487.
- Fluit A, Schimitz F, Verhoef J and the European Sentry. Participants Group. Frequency of isolation of pathogens from blood-stream, nosocomial pneumonia, skin and soft tissue, and urinary tract infections occurring in European patients. *Eur J Clin Infect Dis.* 2001; 20:188-191.
- Van Looveren M, Goossens H. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. *Europe Clin Microbiol Infect.* 2004;10:684-704.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Winokur PL, Gales AC, et al. Survey of bloodstream infections due to gram-negative bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, and Latin America for the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis.* 1999;29:595-607.
- Rello J, Torres A. Microbial causes of ventilator-associated pneumonia. *Semin Respir Infect*1996;11:24-31.
- Torres A, Aznar R, Gatell JM, Jimenez P, Gonzalez J, Ferrer A, et al. Incidence, risk, and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142:523-528.
- Hawley JS, Murray CK, Griffith ME, McElmeel ML, Fulcher LC, Hostenhal, Jorgensen HJ. Susceptibility of *Acinetobacter* Strains Isolated from Deployed U.S. Military Personnel. *Ant Agents Chem.* 2007;51:376-378.
- Turton JF, Kaufmann ME, Gill MJ, Pike R, Scott PT, Fishbain J, et al. Comparison of *Acinetobacter baumannii* Isolates from the United Kingdom and the United States That Were Associated with Repatriated Casualties of the Iraq Conflict. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2630-2634.
- Davis KA, Moran KA, Mcallister K, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* extremity infections in soldiers. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1218-1224.
- Garzoni C, Emonet S, Legout L, Benedict R, Hoffmeyer P, Bernard L, Garbino J. Atypical infections in tsunami survivors. *Emerg Inf Dis.* 2005;11:1591-1593.
- Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest.* 2006;129:102-109.
- Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 1996;9:148-165.
- Danes C, Navia MM, Ruiz J, Marco F, Jurado A, Jimenez de Anta MT, Vila J. Distribution of β -lactamases in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates and the effect of Syn 2190 (AmpC inhibitor) on the MICs of different β -lactam antibiotics. *J Ant Chem.* 2002;50:261-264.

38. Gehrlein M, Leying H, Cullmann W, Wendt S, Opferkuch W. Imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* is due to altered penicillin-binding proteins. *Chemotherapy*. 1991;37:405–412.
39. Clark RB. Imipenem resistance among *Acinetobacter baumannii*: association with reduced expression of a 33–36 kDa outer membrane protein. *J Ant Chem*. 1996;38:245–251.
40. Fernández-Cuenca FL, Martínez-Martínez MC, Conejo JA, Ayala EJ, Pascual A. Relationship between B-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2003;51:565–574.
41. Paul G, Joly-Guillou ML, Bergogne-Bérezin E. et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase (CARB-5) from *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus*. *FEMS Microbiol Lett*. 1989;59:45–50.
42. Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D β -lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:583–588.
43. Donald HM, Scaife W, Amyes SGB, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA β -lactamase, responsible for imipenem-resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:196–199.
44. Chu YW, Afzal-Shah M, Houang ET, et al. IMP-4, a novel metallo- β -lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. Collected in Hong-Kong between 1994 and 1998. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:710–714.
45. Riccio ML, Franceschini N, Boschi L, et al. Characterization of the metallo- β -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*. 2000;44:1229–1235.
46. Bou G, Martínez-Beltrán J. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:428–432.
47. Barlow M, Hall BG. Origin and evolution of the AmpC β -lactamases of *Citrobacter freundii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1190–1198.
48. Brown S, Amyes S. OXA β -lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. *J Ant Chem*. 2006;57:1–3.
49. Hornstein M, Sautjeau-Rostoker C, Péduzzi J, Vessières A, Hong LT, Barthélémy M, Scavizzi M, Labia R. Oxacillin-hydrolyzing beta-lactamase involved in resistance to imipenem in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett*. 1997;153:333–339.
50. Vila J, Navia M, Ruiz J, Casals C. Cloning and nucleotide sequence analysis of a gene encoding an OXA-derived beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;1:757–759.
51. De Champs C, Poirel L, Bonnet R, Sirot D, Chanal C, Sirot J, Nordmann P. Prospective survey of beta-lactamases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated in a French hospital in 2000. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:3031–3034.
52. Navia MM, Ruiz J, Vila J. Characterization of an integron carrying a new class D β -lactamase (OXA-37) in *Acinetobacter baumannii*. *Microb Drug Res*. 2002;4:261–265.
53. Naas T, Sougakoff W, Casetta A, Nordmann P. Molecular characterization of OXA-20, a novel class Db-lactamase, and its integron from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:2074–2083.
54. Ploy MC, Denis F, Courvalin P, Lambert T. Molecular characterization of integrons in *Acinetobacter baumannii*: description of a hybrid class 2 integron. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:2684–2688.
55. Ribera A, Vila J, Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L, Pascual A, Beceiro A, et al. Type 1 Integrons in Epidemiologically Unrelated *Acinetobacter baumannii* Isolates. *Ant Agents Chem*. 2004;48:364–365.
56. Zarrilli R, Crispino M, Bagattini M, Barretta E, Di Popolo A, Triassi M, et al. Molecular epidemiology of sequential outbreaks of *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit shows the emergence of carbapenem resistance. *J Clin Microbiol*. 2004;42:946–953.
57. Lopez-Otsoa F, Gallego L, Towner KJ, Tysall L, Woodford N, Livermore DM. Endemic carbapenem resistance associated with OXA-40 carbapenemase among *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospital in Northern Spain. *J Clin Microbiol*. 2002;40:4741–4743.
58. Yu YS, Yang Q, Xu XW, Kong HS, Xu GY, Zhong BY. Typing and characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus*-*baumannii* complex in a Chinese hospital. *J Med Microbiol*. 2004;53:653–656.
59. Dalla-Costa LM, Coelho JM, Souza HA et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol*. 2003;41:3403–3406.
60. Brown S, Young HK, Amyes SGB. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11:11–15.
61. Brown S, Amyes SGB. The sequences of seven class D β -lactamases isolated from carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from four continents. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11:326–329.
62. Sato K, Nakae T. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implementation in antibiotic resistance. *J Clin Microbiol*. 1991; 28:35–45.
63. Fernández-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Vila J, Bou G, Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Pachón J, Martínez-Martínez L. Diversidad clonal y sensibilidad a los antimicrobianos de *Acinetobacter baumannii* aislados en hospitales españoles. Estudio multicéntrico nacional: proyecto GEIH-Ab 2000. *Enf Infec Microbiol Clin*. 2004;22:267–271.
64. Qualle J, Bratu S, Landman D, Heddurshetti R. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City. *Clin Infect Dis*. 2003;37:214–220.
65. Nemeč A, Dolžani L, Brisse S, Van den Broek P, Dijkshoorn L. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii*; clones. *J Med Microbiol*. 2004;53:1233–1240.
66. Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA, Bajaksouzian S, Adams JM, Donskey CJ, et al. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug resistant *Acinetobacter* sp. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2006; 50:4114–4123.
67. Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis*. 2007;45:88–94.
68. Yamane K, Wachino J, Doi Y, Kurokawa H, and Arakawa Y. Global spread of multiple aminoglycoside resistance genes. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11:951–953.
69. Lee H, Yong D, Yum JH, Roh KH, Lee K, Yamane K, et al. Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006;56:305–312.
70. Doi Y, Adams JM, Yamane K, Paterson DL. Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51:4209–4210.
71. Su XZ, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. AbeM, an H₂-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2005. 49: 4362–4364.
72. Vila J, Ruiz J, Goñi P, Jimenez de Anta MT. Quinolone-resistance mutations in the topoisomerase IV parC gene of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 1997;39:757–762.
73. Ribera A, Ruiz J, Jiménez de Anta MT, Vila J. Effect of an efflux pump inhibitor on the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2002;49:697–698.

74. Higgins PG, Wisplinghoff H, Stefanik D, Seifert H. Selection of topoisomerase mutations and overexpression of adeB mRNA transcripts during an outbreak of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:821–823.
75. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multi-drug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59: 1210–1215.
76. Fluit AC, Florijn A, Verhoef J, Milatovic D. Presence of tetracycline resistance determinants and susceptibility to tigecycline and minocycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1636–163.
77. Guardabassi L, Dijkshoorn L, Collard JM, Olsen JE, Dalsgaard A. Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains. *J Med Microbiol.* 2000;49:929–936.
78. 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.* 2003;52:477–480.
79. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:2065–2069.
80. Ribera A, Ruiz J, Vila J. Presence of the Tet M determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47:2310–2312.
81. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54,731 clinical isolates of gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001–2004). *Clin Microbiol Infect.* 2006;12:315–321.
82. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977–2000. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2003;24:284–295.
83. Perez F, Hujer A, Hujer K, Decker B, Rather P, Bonomo R. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:3471–3484.
84. Ruiz J, Navia MM, Casals C, Sierra JM, Jiménez de Anta MT, Vila J. Integron-mediated antibiotic multiresistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9:907–911.
85. Gombac F, Riccio ML, Rossolini GM, Lagatolla C, Tonin E, Monti-Bragadin C, et al. Molecular characterization of integrons in epidemiologically unrelated clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Italian hospitals reveals a limited diversity of gene cassette arrays. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:3665–3668.
86. Spence RP, Van der Reijden TJK, Dijkshoorn L, Towner KJ. Comparison of *Acinetobacter baumannii* Isolates from United Kingdom Hospitals with Predominant Northern European Genotypes by Amplified-Fragment Length Polymorphism Analysis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:832–834.
87. Landman D, Quale JM, Mayorga D, Adedeji A, Vangala K, Ravishankar J, et al. Citywide clonal outbreak of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY. The preantibiotic era has returned. *Arch Intern Med.* 2002;162:1515–1520.
88. Adams-Haduch JM, Paterson DL, Sidjabat HE, Pasculle AW, Potoski BA, Muto CA, et al. Genetic Basis of Multidrug Resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania. *Ant Agents Chem.* 2008;52:3837–3843.
89. Valentine SC, Contreras D, Tan S, Real LJ, Chu S, Xu HH. Phenotypic and Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from nosocomial outbreaks in Los Angeles county, California. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2499–2507.
90. Lee K, Ha GY, Shin BM, Kim JJ, Kang JO, Jang SJ, et al. Metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative bacilli in Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance group hospitals in 2003: continued prevalence of VIM-producing *Pseudomonas* spp. and increase of IMP-producing *Acinetobacter* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;50:51–58.
91. Liu SY, Lin JY, Chu C, Su LH, Lin TY, Chiu CH. Integron-associated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* isolated from a regional hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;27:81–84.
92. Nishio H, Komatsu M, Shibata N, Shimakawa K, Sueyoshi N, Ura T, et al. Metallo-B-lactamase-producing gram-negative bacilli: laboratory-based surveillance in cooperation with 13 clinical laboratories in the Kinki region of Japan. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:5256–5263.
93. Naas T, Levy M, Hirschauer C, Marchandin H, Nordmann P. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-23 in a tertiary care hospital of Papeete, French Polynesia. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4826–4829.
94. Silva J, Carmen A, Avello C, Matamoro F, Villagra L, Rojas, Sandoval L. Resistencia a antimicrobianos en diferentes biotipos de *Acinetobacter baumannii* aislados en el norte de Chile. *Rev Med Chile.* 1999;127:1-6.
95. Barbolla RE, Centron D, Di Martino A, Maimone S, Salgueira C, Famiglietti A, et al. Identification of an epidemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strain at hospitals in Buenos Aires City. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003;45:261–264.
96. Levin AS, Mendes CM, Sinto SI, Sader HS, Scarpitta CR, Rodriguez E, et al. An outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Sao Paulo, Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996;17:366–368.
97. Pinzón JO, Mantilla JR, Valenzuela EM. Caracterización molecular de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes de la unidad de quemados de un hospital de tercer nivel de Bogotá. *Infectio.* 2006;10:78-85.
98. Hall RM, Collis CM. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist Updates.* 1998;1:109–119.
99. Villegas MV, Kattan J, Correa A, Lolans K, Guzman AM, Woodford N, et al. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* Clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian Hospitals. *Ant Agents Chen,* 2007;51:2001–2004.
100. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;27:351–353.
101. Marais E, de Jong G, Ferraz V, Maloba B, Duse AG. Interhospital transfer of pan-resistant *Acinetobacter* strains in Johannesburg, South Africa. *Am J Infect Control.* 2004;32:278–281.
102. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, NY: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis.* 2000;31:101–106.
103. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Linares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis.* 2001;32(Suppl 2):S104–113.
104. Sader HS, Mendes CF, Pignatari C, Pfaller MA. Use of macrorestriction analysis to demonstrate interhospital spread of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in Sao Paulo, Brazil. *Clin Infect Dis.* 1996;23:631–634.
105. Quelle LS, Catalano M. Efficacy of two DNA fingerprinting methods for typing *Acinetobacter baumannii* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001;39:215–223.
106. Coelho J, Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Woodford N, Warner M, et al. Occurrence of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clones at Multiple Hospitals in London and Southeast England. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3623–3627.
107. Corbella X, Montero A, Pujol M, Domínguez MA, Ayats J, Argerich MJ, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2000;38:4086–4095.

108. Valenzuela JK, Thomas L, Partridge SR, Van der Reijden T, Dijkshoorn L, Iredell J. Horizontal Gene Transfer in a Polyclonal Outbreak of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2007; 45:453–460.
109. Zhou H, Yang Q, Yu YS, Wei ZQ, Li LJ. Clonal Spread of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* among Different Cities of China. *J Clin Microbiol.* 2007;45:4054–4057.
110. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, Coskuncan F, Yaman A, Kaygusuz H, et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum β -lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chem.* 1997; 41: 2265–2269.
111. Tsakris A, Tsioni C, Pournaras S, Polyzos, Maniatis AN, Sofianou D. Spread of low-level carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones in a tertiary care Greek. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:1046-1047.
112. Van Dessel H, Dijkshoorn L, Van der Reijden T, Bakker N, Van den Broek J, Verhoef, Brisse S. Identification geographically widespread multidrug-resistant *Acinetobacter* from European hospitals. *Res Microbiol.* 2004;155:105–112.
113. Brisse S, Milatovic D, Fluit AC, Kusters K, Toelstra A, Verhoef J, Schmitz FJ. Molecular surveillance of European quinolone-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. Using automated ribotyping. *J Clin Microbiol.* 2000;38:3636–3645.
114. Scott P, Deye G, Srinivasan A, Murray C, Moran K, Hulten E, et al. An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex infection in the US military health care system associated with military operations in Iraq. *Clin Infect Dis.* 2007;44:1577–1584.
115. Nordmann P. *Acinetobacter baumannii*, the nosocomial pathogen par excellence. *Pathol Biol. (Paris)* 2004;52:301–303.
116. Kaplan N, Rosenberg E, Jann B, Jann K. Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD4. *Eur J Biochem.* 1985;152:453–458.
117. Poh CL, Loh GK. Enzymatic profile of clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Med Microbiol Immunol.* 1985;174:29–33.
118. Barre ME, Cook ML. Microbial factors in contact lens fitting. *Am J Optom Physiol Opt.* 1984;61:389–396.
119. Hirschfeld M, Ma Y, Weis JH, Vogel SN, Weis JJ. Cutting edge: purification of lipopolysaccharide eliminates signaling through both human and murine toll-like receptor 2. *J Immunol.* 2000;165:618–622.
120. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, et al. Defective LPS signaling in C3H/HEJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science.* 1998; 282: 2085–2088.
121. Erridge C, Moncayo-Nieto O, Morgan R, Young M, Poxton IR. *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharides are potent stimulators of human monocyte activation via Toll-like receptor 4 signaling. *J Med Microbiol.* 2007;56:165–171.
122. Backert S, Meyer TF. Type IV Secretion Systems and their Effectors in Bacterial Pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 2006;9:207-217.
123. Tomaras AP, Dorsey CW, Edelmann RE, Actis LA. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: Involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiol.* 2003;149:3473–3484.
124. Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, et al. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol.* 2005;7:1127–1138.
125. Dorsey CW, Tomaras AP, Connerly PL, Tolmasky ME, Crosa JH, Actis LA. The siderophore-mediated iron acquisition systems of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 and *Vibrio anguillarum* 775 are structurally and functionally related. *Microbiol.* 2004;150:3657–3667.
126. Vidal R, Dominguez M, Urrutia H, Bello H, Garcia A, Gonzalez G, et al. Effect of imipenem and sulbactam on sessile cells of *Acinetobacter baumannii* growing in biofilm. *Microbios.* 1997;91:79–88.
127. Gohl O, Friedrich A, Hoppert M, Averhoff B. The Thin Pili of *Acinetobacter* sp. Strain BD413 Mediate Adhesion to Biotic and Abiotic Surfaces *Appl Environ Microbiol.* 2006;72:1394–1401.
128. Loehfelm TW, Luke NR, Campagnari AA. Identification and Characterization of an *Acinetobacter baumannii* Biofilm-Associated Protein. *J Bacteriol.* 2008;190:1036-1044.
129. Niu C, Clemmer KM, Bonomo RA, Rather PN. Isolation and Characterization of an Autoinducer Synthase from *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol.* 2008;190:3386–3392.
130. Edwards J, Patel G, Wareham DW. Low concentrations of commercial alcohol hand rubs facilitate growth of and secretion of extracellular proteins by multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *J Med Microbiol.* 2007; 56:1595–1599.
131. Ron EZ, Rosenberg, E. Natural roles of biosurfactants. *Environ Microbiol.* 2001;3:229–236.
132. Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest.* 2006;129:102–109.
133. Dorsey CW, Tolmasky ME, Crosa JH, Actis LA. Genetic organization of an *Acinetobacter baumannii* chromosomal region harbouring genes related to siderophore biosynthesis and transport. *Microbiol.* 2003;149:1227–1238.
134. Dorsey CW, Beglin, MS, Actis, LA. Detection and analysis of iron uptake components expressed by *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4188–4193.
135. Stanier RY, Palleroni NJ, Doudoroff M. The aerobic pseudomonads: A taxonomic study. *J Gen Microbiol.* 1966;43:159–271.
136. Young DM, Parke D, Ornston LN. Opportunities for genetic investigation afforded by *Acinetobacter baylyi*, a nutritionally versatile bacterial species that is highly competent for natural transformation. *Annu Rev Microbiol.* 2005;59:519–551.
137. Herzberg C, Friedrich A, Averhoff B. comB, a novel competence gene required for natural transformation of *Acinetobacter* sp. BD413: identification, characterization, and analysis of growth-phase-dependent regulation. *Arch Microbiol.* 2000;173:220–228.
138. Porstendorfer D, Gohl O, Mayer F, Averhoff B. ComP, a pilin-like protein essential for natural competence in *Acinetobacter* sp. strain BD413: regulation, modification, and cellular localization. *J Bacteriol.* 2000;182:3673–3680.
139. Young DM, Ornston LN. Functions of the mismatch repair gene *mutS* from *Acinetobacter* sp. strain ADP1. *J Bacteriol.* 2001;183:6822–6831.
140. Zaneveld JR, Nemergut DR, Knight R. Are all horizontal gene transfers created equal? Prospects for mechanism-based studies of HGT patterns. *Microbiol.* 2008;154(Pt 1):1-15.
141. Hacker J, Kaper JB. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbiol.* 2000;54:641–679.
142. Schmidt H, Hensel M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:14-56.
143. Hacker J, Carniel E. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity. A Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO Rep.* 2001;2:376-81.
144. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis.* 2006;42:692-699.
145. Shaikh F, Spence RP, Levi K, Ou HY, Deng Z, Towner KJ, et al. ATPase genes of diverse multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates frequently harbour integrated DNA. *J Ant Chem.* 2009;63:260–264.
146. Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, Mekalanos J, Ornston LN, Gerstein M, et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes & Dev.* 2007;21:601-614.
147. Llosa M, Roy C, Dehio C. Bacterial type IV secretion systems in human disease. *Mol Microbiol.* 2009;73:141-151.

148. Juhas M, Crook DW, Dimopoulou ID, Lunter G, Harding RM, Ferguson DJ, et al. Novel type IV secretion system involved in propagation of genomic islands. *J Bacteriol.* 2007;189:761-771.
149. Vallenet D, Nordmann P, Barbe V, Poirel L, Mangenot S, Bataille E, et al. Comparative analysis of *Acinetobacters*: three genomes for three lifestyles. *PLoS One.* 2008;3:e1805.
150. Adams MD, Goglin K, Molyneaux N, Hujer KM, Lavender H, Jamison JJ, et al. Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol.* 2008;190:8053-8064.
151. Iacono M, Villa L, Fortini D, Bordoni R, Imperi F, Bonnal RJ, et al. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II group. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:2616-2625.
152. Averhoff B, Friedrich A. Type IV pili-related natural transformation systems: DNA transport in mesophilic and thermophilic bacteria. *Arch Microbiol.* 2003;180:385-393.
153. Nucleo E, Steffanoni L, Fugazza G, Migliavacca R, Giacobone E, Navarra A, et al. Growth in glucose-based medium and exposure to subinhibitory concentrations of imipenem induce biofilm formation in a multidrug-resistant clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiol.* 2009;9: 270.
154. Barbe V, Vallenet D, Fonknechten N, Kreimeyer A, Oztas S, Labarre L, et al. Unique features revealed by the genome sequence of *Acinetobacter* sp. ADP1, a versatile and naturally transformation competent bacterium. *Nucleic Acids Res.* 2004;32:5766-5779.