

Marcin Zmudziński, Eugenia Gospodarek, Krzysztof Gierlotka

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel. (52) 5854480, e-mail kizmikrob@cm.umk.pl

Wpłynęło w sierpniu 2005 r.

1. Wprowadzenie. 2. Oporność pałeczek *Acinetobacter* spp. na aminoglikozydy. 3. Oporność pałeczek *Acinetobacter* spp. na tetracykliny. 4. Oporność pałeczek *Acinetobacter* spp. na fluorochinolony. 5. Oporność *Acinetobacter* spp. na sulfonamidy i trimetoprim. 6. Oporność *Acinetobacter* spp. na chloramfenikol. 7. Zastosowanie kolistyny w zakażeniach pałeczkami *Acinetobacter* spp. 8. Antybiotykoterapia złożona w leczeniu zakażeń *Acinetobacter* spp. 9. Podsumowanie

#### Mechanisms of the resistance of *Acinetobacter* spp. to non- $\beta$ -lactams

**Abstract:** In recent years *Acinetobacter* spp. have emerged as important nosocomial pathogens which are known to express a variety of resistance mechanisms. They do not possess any important virulence factors. The danger of these agents resides in their capability to acquire and develop resistance to multiple classes of useful antibiotics to the extent that it could be considered as a significant virulence factor. In this way, they can adapt to new environmental conditions. It is important to know the mechanisms of resistance to non- $\beta$ -lactam antibiotics because some of *Acinetobacter* spp. exhibit resistance to all  $\beta$ -lactams, including carbapenems, and reduced susceptibility to polymyxins.

Apart from  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, fluoroquinolones and tetracyclines are widely used for treating *Acinetobacter* spp. infections. *Acinetobacter* spp. resistance to aminoglycosides results from the production of aminoglycoside-modifying enzymes such as acetyltransferases (AAC), nucleotidyltransferases (ANT, AAD) and phosphotransferases (APH). Resistance to fluoroquinolones has been linked to mutations in the quinolone-resistance-determining-region (QRDR) of *gyrA*, *parC* genes and a decrease in quinolone accumulation due to the decreased uptake or increased efflux. The main mechanisms responsible for tetracycline resistance have been identified as the expression of efflux pumps *tet(A)*, *tet(B)* and ribosomal protection (*tetM*).

Combination therapy is used to widen the antimicrobial spectrum, minimize toxicity and prevent the emergence of resistant mutants.

1. Introduction. 2. Resistance of *Acinetobacter* spp. to aminoglycosides. 3. Resistance of *Acinetobacter* spp. to tetracyclines. 4. Resistance of *Acinetobacter* spp. to fluoroquinolones. 5. Resistance of *Acinetobacter* spp. to sulfamethoxazole-trimethoprim. 6. Resistance of *Acinetobacter* spp. to chloramphenicol. 7. Use of colistin in infections caused by *Acinetobacter* spp. 8. Combination therapy in infections caused by *Acinetobacter* spp. 9. Summary

---

**Słowo kluczowe:** antybiotyki nie  $\beta$ -laktamowe, *Acinetobacter*, oporność

**Key words:** *Acinetobacter*, non- $\beta$ -lactam antibiotics, resistance

---

## 1. Wprowadzenie

Pałeczki *Acinetobacter* spp. wytworzyły szereg mechanizmów oporności, które swym zakresem obejmować mogą wszystkie antybiotyki  $\beta$ -laktamowe. Izolowano już w wielu regionach świata szczepy odporne na imipenem [2, 8, 10, 33, 54]. Dla niektórych z tych szczepów jedyną opcją terapeutyczną jest kolistyna. Jest to antybiotyk nie pozostający bez wpływu toksycznego na organizm człowieka i dlatego wymaga rozważnego stosowania. Wyisolowano także szczepy odporne na polimyksyny, wykazujące jednak wrażliwość na karbapenemy [35]. Wobec powszechnie występującej oporności na  $\beta$ -laktamy istotną opcją terapeutyczną są antybiotyki nie  $\beta$ -laktamowe. Znajomość mechanizmów oporności na te leki u pałeczek *Acinetobacter* spp. jest niezbędna w wyborze odpowiedniej

opcji w leczeniu zakażeń wywołanych przez ten powszechny już patogen w zakażeniach szpitalnych.

## 2. Oporność *Acinetobacter* spp. na aminoglikozydy

Najsukuteczniejszymi antybiotykami nie  $\beta$ -laktamowymi wobec pałeczek *Acinetobacter* spp. są aminoglikozydy [10]. Bakterie te wytworzyły jednak kilka mechanizmów chroniących je przed działaniem tych leków. Mogą one posiadać osłony komórkowe o obniżonej przepuszczalności dla aminoglikozydów, mogą wypompowywać tę grupę antybiotyków z wnętrza komórki i syntetyzować enzymy modyfikujące aminoglikozydy takie jak: adenylotransferazy (AAD, ANT), acetylotransferazy (AAC) lub fosforotransferazy (APH), czyniąc je tym samym nieaktywnymi [3].

Najważniejszym mechanizmem oporności na aminoglikozydy u pałeczek *Acinetobacter* spp. jest wytwarzanie enzymów modyfikujących te antybiotyki. U drobnoustrojów tych wykryto wszystkie trzy znane rodziny enzymów modyfikujących [11]. Najwięcej, bo aż 55,6% szczepów pałeczek *Acinetobacter* spp. posiada APH, 47,2% AAC i 1,4% ANT [44]. Częstość występowania genów kodujących te enzymy jest też zróżnicowana geograficznie [19, 44].

Klasyfikację enzymów modyfikujących aminoglikozydy uporządkowano w latach 90-tych XX wieku [45, 48]. Uwzględnia ona rodzaj enzymu (AAD, AAC, APH), miejsce jego działania na cząsteczkę aminoglikozydu oraz sekwencję aminokwasową. Enzymy o różnej sekwencji aminokwasowej mogą mieć taki sam lub zróżnicowany zakres działania wobec aminoglikozydów. Kolejne mutacje powodują pojawianie się nowych enzymów o coraz szerszym zakresie inhibicyjnym. W ten sposób powstały enzymy modyfikujące także amikacynę, aminoglikozyd najbardziej odporny na ich działanie [3].

Pojedynczy szczep może posiadać jeden lub kilka enzymów modyfikujących aminoglikozydy. Uniemożliwia to ich identyfikację na podstawie obrazu fenotypowego. Wytwarzanie jednocześnie kilku enzymów tego typu może doprowadzić do oporności szczepu *Acinetobacter* spp. na wszystkie stosowane antybiotyki tej grupy [44]. Enzymy warunkujące oporność na nowsze aminoglikozydy często nie hydrolizują starszych leków. Do takich enzymów należy opisany w Japonii enzym AAC(6')-I, który nadaje oporność na amikacynę, tobramycynę, sisomycynę, sepamycynę, ale nie na gentamicynę [34, 57]. W Polsce stwierdzono wyższą aktywność netilmicyny i tobramycyny niż amikacyny w stosunku do szczepów szpitalnych *Acinetobacter* spp. [10]. Oporność na aminoglikozydy jest związana często z opornością na inne antybiotyki [47].

U pałeczek *Acinetobacter* spp. opisano następujące enzymy modyfikujące aminoglikozydy:

- adenylotransferazy (AAD, ANT) – ANT(3'')I, ANT(2'')I [32, 51],
- acetylotransferazy (AAC) – AAC(6'), AAC(2')I, AAC(3)I, AAC(3)II, AAC(3)IV, AAC(3)V [20, 21, 32, 34, 42, 43, 57],
- fosforotransferazy (APH) – APH(3')I, APH(3')II, APH(3')III, APH(3')VI, APH(3'')I [19, 22, 32, 51].

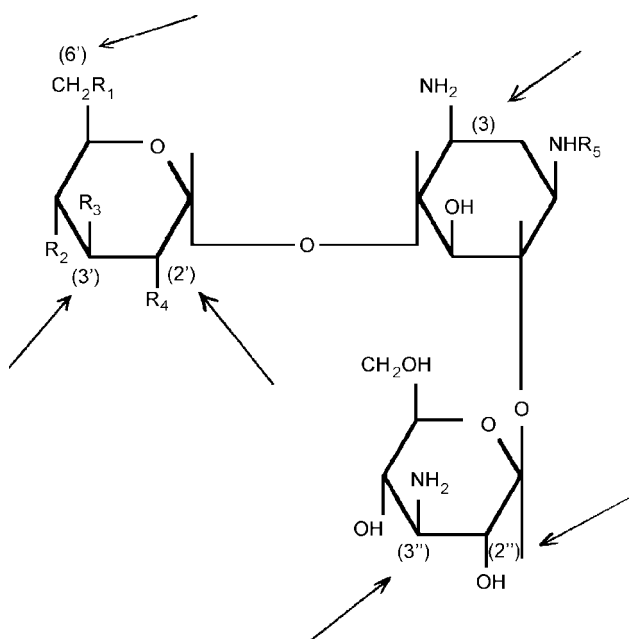
Miejsca działania enzymów modyfikujących aminoglikozydy wytwarzanych przez pałeczki *Acinetobacter* spp. przedstawia rys. 1.

Opisany gen *aac(6')-I<sub>g</sub>* kodujący AAC(6')-I, enzym odpowiedzialny za oporność na amikacynę u *Acinetobacter haemolyticus*, nie został zidentyfikowany u innych gatunków pałeczek rodzaju *Acinetobacter*, co może być wykorzystywane w jego identyfikacji [20, 43]. Obecność tego enzymu wiąże się ze zmniejszoną

aktywnością w stosunku do netilmicyny i tobramycyny, ale nie gentamicyny. Nie jest on zawsze wykrywany, ale gen kodujący go opisywany jest u wszystkich szczepów *A. haemolyticus*. Jest on aktywowany sekwencją insercyjną *IS18* [43]. Charakterystyczny jest też gen *aac(6')-I<sub>j</sub>* dla grupy DNA 13 [21, 34] oraz *aac(6')-I<sub>k</sub>* dla grupy DNA 6 rodzaju *Acinetobacter* [41].

Najbardziej aktywnym aminoglikozydem wobec pałeczek *Acinetobacter* spp. jest amikacyna, która może być inaktywowana przez AAC(6')-I i APH(3')-VI [22, 51]. Oba te enzymy są wykrywane u szczepów *Acinetobacter* spp. już od 1978 roku [31]. Modyfikują one także kanamycynę, tobramycynę i netilmicynę. Geny kodujące enzymy modyfikujące aminoglikozydy zlokalizowane są na plazmidach, transpozonach i chromosomie, co ułatwia ich rozprzestrzenianie [2, 45, 51]. Opisywane są nowe geny kodujące enzymy modyfikujące aminoglikozydy, różniące się sekwencjami aminokwasów i działające na wyżej opisane miejsca aminoglikozydów. Ostatnio opisany został gen *aac(6')-I<sub>ad</sub>* wykryty u szczepów szpitalnych izolowanych w Japonii [57].

U pałeczek *Acinetobacter* spp. stwierdzono pompy odpowiedzialne za usuwanie antybiotyków z wnętrza komórki. Należą do nich RND (resistance-nodulation-cell division) kodowane przez gen *adeB* będący częścią zgrupowania zbudowanego z trzech genów *adeABC* [25, 26]. Gen *adeA* koduje białko odpowiedzialne za połączenie z błoną zewnętrzną, a gen *adeC* koduje białko podobne do białka porynowego OprM. Inaktywacja tego ostatniego genu, oprócz wzrostu wrażliwości na aminoglikozydy powoduje także wzrost wrażliwości na fluorochinolony, tetracykliny, chloramfenikol, erytromycynę, trimetoprim. Kanamycyna i amikacyna są



Rys. 1. Miejsca wiązania enzymów modyfikujących aminoglikozydy

słabiej transportowane przez tę pompę niż pozostałe aminoglikozydy, ze względu na większą liczbę reszt hydroksylowych, co czyni cząsteczki tych antybiotyków bardziej hydrofilnymi. Podobne właściwości mają wykazujące największą hydrofilność fluorochinolony: norfloksacyna i pefloksacyna [25]. Mechanizm usuwania aminoglikozydów z komórki bakteryjnej wydaje się nie mieć jednak dużego znaczenia u szczepów wielolekoopornych, ponieważ szczepy te po inaktywacji genu *adeABC* wykazują nadal wysoką oporność na antybiotyki. Ekspresja genów *adeABC* jest regulowana przez dwuskładnikowy system regulacji transkrypcji, złożony z genów *adeR* i *adeS* [26]. Dopiero mutacja w genie *adeS* polegająca na zamianie tyrozyny 153 na metioninę oraz kolejna mutacja w genie *adeR*, polegająca na zmianie proliny 163 na leucynę, powodują konstytutywną ekspresję pompy, co warunkuje stałą oporność na antybiotyki u szczepów pałeczek *Acinetobacter* spp. niezależną od obecności leku w środowisku.

Od ponad 30-tu lat, od czasu uzyskania amikacyny i netilmicyny, nie udało się zsyntetyzować aminoglikozydu wykazującego wysoką skuteczność przy niewielkich objawach ubocznych, co powinno spowodować intensyfikację badań w kierunku ograniczenia oporności na tę grupę antybiotyków. Szerokie rozpowszechnienie wyżej wymienionych mechanizmów może spowodować spadek skuteczności działania wszystkich aminoglikozydów wobec pałeczek *Acinetobacter* spp. Jednak zjawisko to nie ma jak na razie, mimo powszechnego stosowania tych leków w leczeniu zakażeń, takiego nasilenia, jak to ma miejsce w przypadku fluorochinolonów.

### 3. Oporność *Acinetobacter* spp. na tetracykliny

Tetracykliny to kolejna grupa antybiotyków, które mogą okazać się nieskuteczne w leczeniu zakażeń wywołanych przez pałeczki *Acinetobacter* spp. z uwagi na wytwarzaną oporność. Jest ona związana z blokowaniem miejsca wiązania na podjednostce 30S rybosomu lub wypompowywaniem antybiotyku z wnętrza komórki [3]. Geny odpowiedzialne za oporność na tetracykliny zostały nazwane literami alfabetu i liczbami arabskimi [3, 27].

U pałeczek *Acinetobacter* spp. izolowanych z materiałów klinicznych wykryto geny *tet(A)* *tet(B)*, odpowiedzialne za wypompowywanie antybiotyku z komórki bakteryjnej [12]. Są one kodowane na transpozonach i plazmidach. *tet(A)* powoduje pojawienie się oporności na samą tetracyklinę, a *tet(B)* na tetracyklinę i minocyklinę [1, 37, 39]. Oporność ta jest indukowana przez sam antybiotyk, który obecny w środowisku łączy się z represorem kodowanym przez odpowiednie geny

*tetR(A)* i *tetR(B)*, co znosi jego działanie i doprowadza do ekspresji fenotypowej.

Kolejnym, opisanym w 2003 roku genem u pałeczek *Acinetobacter* spp., odpowiedzialnym za ochronę miejsca wiązania antybiotyku z podjednostką 30S rybosomu, jest *tetM* [39]. Wykazuje on identyczną strukturę, jak opisywany wcześniej gen u *Staphylococcus aureus*. Warunkuje wraz z *tet(A)* oporność na tetracyklinę i minocyklinę. Taki fenotyp wykazują również, jak już wspomniano, szczepy posiadające tylko gen *tet(B)*. Częstość występowania genu *tetM* nie jest jednak tak duża (6,6%) wśród szczepów szpitalnych, jak genu *tet(A)* (40%) [39].

Selekcja szczepów opornych na tetracykliny związana jest najprawdopodobniej z powszechnym stosowaniem tych antybiotyków nie tylko w medycynie w celach leczniczych (głównie u chorych leczonych ambulatoryjnie), ale także w rolnictwie jako profilaktyki zakażeń powodowanych przez różne patogeny [3]. Tłumaczy to zróżnicowanie geograficzne oporności na tetracykliny. Rozprzestrzenianie oporności na tetracykliny odbywa się horyzontalnie między szczepami *Acinetobacter* spp. i innymi gatunkami zasiedlającymi określoną niszę ekologiczną [37]. Wykazano podobieństwo tych genów, z opisanymi genami u innych gatunków, szczególnie u *Salmonella* sv. Typhi [37]. Wykazano także możliwość przenoszenia plazmidów od pałeczek *Escherichia coli* do pałeczek *Acinetobacter* spp. Jednak odwrotny proces udało się przeprowadzić w warunkach laboratoryjnych tylko dla genu *tetM* [39]. Szczepy izolowane ze środowiska naturalnego odporne na tetracykliny posiadają inne mechanizmy oporności na tetracykliny niż szczepy kliniczne [12]. Najprawdopodobniej są one warunkowane przez geny występujące stosunkowo rzadko i opisywane już wcześniej u innych bakterii Gramujemnych, np. w 2003 roku opisano po raz pierwszy u szczepu *Acinetobacter* spp. izolowanego ze środowiska naturalnego, gen *tetH* opisany wcześniej u *Pasteurella* spp. [29]. Mimo badań nie stwierdzono genów należących do klas Tet C, D, E, G, O, S, P, Q, Y wśród dziko żyjących szczepów *Acinetobacter* spp. [12].

Ostatnio zwrócono uwagę na możliwą aktywność tetracyklin wobec wielolekoopornych szczepów pałeczek *Acinetobacter* spp. u pacjentów z wentylacyjnym zapaleniem płuc [56]. Autorzy wymienionej pracy stwierdzili dużą aktywność minocykliny i doksylicyliny w stosunku do szczepów opornych na imipenem, sulbaktam i amikacynę. Podobną aktywność tetracyklin notowano w latach 70 ubiegłego stulecia [4, 18, 24]. Zmniejszone stosowanie tej grupy antybiotyków może przywrócić w przyszłości jej skuteczność wobec rodzaju *Acinetobacter*, jak również i innych patogenów.

#### 4. Oporność *Acinetobacter* spp. na fluorochinolony

Fluorochinolony to antybiotyki o szerokim zakresie działania przeciwbakteryjnego, inaktywujące topoiizomerazę I (gyrazę) i topoiizomerazę IV [27]. Każda z nich składa się z dwóch podjednostek. Oporność u pałeczek *Acinetobacter* spp. na chinolony związana jest z mutacją w genie *gyrA* kodującym podjednostkę A gyrazy [52] oraz *parC* kodującym podjednostkę C topoiizomerazy IV [53]. Mutacje w tych genach mogą być powodowane przez same chinolony, które jako silny mutagen wywołują pojawienie się oporności na tę grupę antybiotyków. Mają one miejsce w tzw. obszarze warunkującym oporność na chinolony (quinolone-resistance-determining-region, QRDR), który koduje od 67 do 108 aminokwasów. Zastąpienie seryny na leucynę w pozycji 83 dla GyrA i 80 dla ParC, daje ekspresję zmienionego białka, pozbawionego zdolności wiązania z cząsteczką antybiotyku [50, 52, 53]. Nie obserwowano różnic w aktywności ciprofloksacyny i innych nowych fluorochinolonów u szczepów nie posiadających tych mutacji [50]. Nowe fluorochinolony takie, jak klinofloksacyna, gatifloksacyna, lewofloksacyna, trowafloksacyna, gemifloksacyna, moksifloksacyna są jednak trzykrotnie bardziej aktywne od ciprofloksacyny w stosunku do szczepów *Acinetobacter* spp. posiadających jedną mutację i pięciokrotnie w stosunku do posiadających obie mutacje jednocześnie [14, 46, 55]. Obecność mutacji w genie *parC* stwierdzono tylko u szczepów posiadających już mutację w genie *gyrA* [50].

Mutacja genu *gyrA* powoduje oprócz oporności na fluorochinolony, także oporność na kwas nalidiksowy. Szczepy posiadające tę mutację mają MIC kwasu nalidiksowego  $\geq 64$  mg/L. Dodatkowa mutacja w genie *parC* powoduje jeszcze większy wzrost wartości MIC tego leku do 1024 mg/L [36, 53]. MIC ciprofloksacyny u wszystkich szczepów *A. baumannii* posiadających pojedynczą mutację w genie *gyrA* w pozycji 83 z substitucją seryny na leucynę wynosi  $\geq 4$  mg/L, dla szczepów posiadających podwójną mutację *gyrA* i *parC*  $\geq 32$  mg/L, a dla szczepów nie posiadających zmutowanych genów odpowiedzialnych za oporność na fluorochinolony wynosi on poniżej 1 mg/L [55]. Dla szczepów z mutacją w pozycji 81 *gyrA*, powodującej zamianę glicyny na walinę, MIC ciprofloksacyny wynosi 1 mg/L. Jest on więc wyraźnie niższy, ale na poziom tej oporności mogą mieć jednocześnie wpływ zmiany w innych miejscach QRDR, jak i inne mechanizmy [52]. Wisplinghoff i wsp. [55] stwierdzili mutację w genie *gyrA* u 33% szczepów *Acinetobacter* spp. oraz podwójną w genach *gyrA* i *parC* u 17%. Mutacje te występowały częściej wśród szczepów izolowanych podczas epidemii.

Podobne mutacje występują także u szczepów *E. coli*. Jednak u tych pałeczek oporność na fluorochi-

nolony nie jest tak wysoka, jak u *Acinetobacter* spp., co sugeruje udział w tej oporności przepuszczalności ściany komórkowej uwarunkowanej zmniejszeniem liczby poryn, wykazujących niskie powinowactwo do małych hydrofilnych cząsteczek, jakimi są fluorochinolony [53]. Większą oporność niż pałeczki *Acinetobacter* spp. na fluorochinolony wykazują szczepy *Pseudomonas aeruginosa* [53].

Mechanizmy oporności na fluorochinolony związane ze zmianami w błonie zewnętrznej, powodującymi obniżenie jej przepuszczalności dla antybiotyku, a także z aktywnym wypompowywaniem antybiotyku z wnętrza komórki, nie zostały dotychczas dobrze zbadane u pałeczek *Acinetobacter* spp. Udział tych mechanizmów w oporności na chinolony u *Acinetobacter* spp. potwierdza fakt, że pałeczki *E. coli* gromadząc więcej cząsteczek antybiotyku w komórce potrzebują przynajmniej trzech lub czterech mutacji w genach *gyrA* i *parC* w celu osiągnięcia wysokiego poziomu oporności na fluorochinolony [38, 53]. U pałeczek *Acinetobacter* spp. potrzebne są tylko dwie mutacje, po jednej dla każdej podjednostki topoiizomerazy I i IV. Jest to podstawowa przyczyna powodująca, że pałeczki niefermentujące o wiele szybciej osiągają wysoki poziom oporności na chinolony w porównaniu do innych bakterii.

Udział pompy usuwającej chinolony z komórki bakteryjnej u pałeczek *Acinetobacter* spp. jest nieznacznym, co wykazano w badaniach MIC w obecności rezerpiny hamującej jej działanie [38, 50]. Spadek MIC w obecności rezerpiny był niewielki. Potwierdza to nieznacznym udział mechanizmu polegającego na wypompowywaniu chinolonów z wnętrza komórki w oporności na tę grupę leków. Jednocześnie był on trudniejszy do wykazania u szczepów posiadających wyższą wartość MIC [38, 50]. Mechanizm ten może też być prawdopodobnie indukowany obecnością chinolonu. Spence i Towne [46] wykazali wzrost oporności na moksifloksacynę podczas hodowli szczepów *Acinetobacter* spp. opornych na ciprofloksacynę w obecności moksifloksacyny. Oporność na nowe fluorochinolony nie jest jednak cechą stałą i stabilną, nie daje również wysokiego poziomu oporności na nowe fluorochinolony. Szczepy o takim fenotypie posiadają tylko jedną mutację w genie *gyrA* gyrazy, co sugeruje udział ściany bakteryjnej w oporności na te antybiotyki. Mutacja w tym genie powoduje pojawienie się oporności na samą ciprofloksacynę, a oporność na moksifloksacynę wymaga dodatkowej mutacji w genie *parC*. Tej dodatkowej mutacji nie stwierdzono u badanych szczepów *Acinetobacter* spp., co wskazuje na prawdopodobny udział innych mechanizmów w oporności na moksifloksacynę.

Skuteczność działania nowych fluorochinolonów od najbardziej do najmniej aktywnych wobec pałeczek

*Acinetobacter* spp. wg Heinemann i wsp. [14] przedstawia się następująco: klinofloksacyna, gatifloksacyna, lewofloksacyna, trowafloksayna, gemifloksacyna = moksifloksacyna, ciprofloksacyna.

Do 1988 roku stwierdzano bardzo wysoką aktywność fluorochinolonów wobec pałeczek *Acinetobacter* spp. [2]. Była ona wyższa niż cefalosporyn o szerokim zakresie działania i aminoglikozydów. Obecnie niepokojąco szybko wzrasta oporność na fluorochinolony, nie tylko u szczepów rodzaju *Acinetobacter*. Szczepy wywołujące epidemię wykazują częściej oporność na fluorochinolony niż szczepy izolowane sporadycznie [14, 55]. Bakterie odporne na te antybiotyki są selekcyjonowane po około 5 latach od czasu stosowania chinolonów w danym środowisku szpitalnym.

### 5. Oporność *Acinetobacter* spp. na sulfonamidy i trimetoprim

Oporność na sulfonamidy związana jest z wytwarzaniem zmodyfikowanego enzymu, syntetazy dihydropterynianowej (DHPS) [17]. Wiąże ona 1000 razy słabiej sulfonamidy niż forma niezmodyfikowana. Wysoki poziom oporności na trimetoprim jest powszechny wśród szczepów wielolekoopornych. Gen warunkujący wytwarzanie tego enzymu znajduje się na chromosomach szczepów zarówno wrażliwych, jak i opornych. Szczepy odporne posiadają dodatkowo gen kodujący enzym zmodyfikowany na plazmidzie [wg 27]. Najpowszechniejszy wśród pałeczek *Acinetobacter* spp. jest gen *dhfr1a* [wg 2]. Geny na plazmidach i chromosomach wykazują duże pokrewieństwo, co świadczy o ich wspólnym pochodzeniu. Dzięki transpozonom, integronom i plazmidom mogą one być przenoszone między komórkami, a nawet być wbudowywane na stałe do chromosomów, gdzie stają się bardziej stabilne. Plazmidy zawierają geny oporności na inne antybiotyki, co powoduje, że szczepy pałeczek *Acinetobacter* spp. odporne na kotrimoksazol, wykazują jednocześnie oporność na inne antybiotyki, takie jak ampicylina, chloramfenikol, aminoglikozydy. Związane jest to z tym, że geny te tworzą integrony z kasetami genów oporności *dhfr1a*, *add2''1a*, *cat* znajdującymi się w transpozonach Tn7 lub Tn21 [wg 2]. Występują tu także geny rekombinacyjne, które umożliwiają insercję, delecję i zmianę kaset genów oporności na antybiotyki w integronach. Warunkuje to ich dużą plastyczność. Możliwa jest także amplifikacja genów, co powoduje wzrost MIC dla danego antybiotyku.

Innym mechanizmem mającym niewątpliwą wpływ na oporność na sulfonamidy i trimetoprim jest zmniejszenie przepuszczalności ściany komórkowej bakterii.

Stosowanie w leczeniu skojarzenie sulfonamidu z trimetoprimem jest konieczne w celu prewencji po-

wstania oporności na trimetoprim w przypadku monoterapii tego chemioterapeutyku. Udowodniono, że pałeczki z rodzaju *Acinetobacter* i *Pseudomonas* łatwiej niż bakterie flory jelitowej wytwarzają oporność na trimetoprim stosowany w leczeniu przez dłuższy okres czasu, bez połączenia z sulfonamidem [13]. Spośród pałeczek niefermentujących najbardziej wrażliwe na trimetoprim z sulfometaksazolem są pałeczki *Acinetobacter* spp. i *Stenotrophomonas maltophilia* [6].

### 6. Oporność *Acinetobacter* spp. na chloramfenikol

Chloramfenikol nie jest antybiotykiem powszechnie dziś stosowanym z uwagi na znaczną toksyczość. Pałeczki *Acinetobacter* spp. posiadają jednak geny oporności na ten lek, co prawdopodobnie wynika z jego stosowania w przeszłości. Oporność na chloramfenikol związana jest z wytwarzaniem acetylotransferazy chloramfenikolowej, enzymu powodującego acetylację cząsteczki antybiotyku. Uniemożliwia to wiązanie się antybiotyku z podjednostką 50S rybosomu, która jest miejscem docelowego działania [wg 27]. Gen *cat*, zbudowany z 650 par zasad, kodujący acetylotransferazę chloramfenikolową zlokalizowany jest w postaci kasety na integronie łącznie z innymi genami oporności na aminoglikozydy i trimetoprim opisanymi wyżej. Najczęściej występującym enzymem jest acetylotransferaza chloramfenikolowa I (CAT1). Gen kodujący ten enzym, podobnie jak poprzednie, może znajdować się także na chromosomie. Prawdopodobnie taka lokalizacja powoduje, że mimo sporadycznego stosowania w lecznictwie chloramfenikolu z uwagi na jego znaczną toksyczość, nadal wiele szczepów *Acinetobacter* spp. wykazuje na niego oporność [wg 2]. Vila i wsp. [49] stwierdzili oporność na chloramfenikol u wszystkich 54 badanych przez siebie szczepów mimo, że nie wykryli u nich acetylotransferazy.

### 7. Zastosowanie kolistyny w zakażeniach pałeczkami *Acinetobacter* spp.

Skuteczne działanie wobec pałeczek *Acinetobacter* spp. ma kolistyna. Wykazuje ona jednak toksyczne działanie na organizm człowieka, szczególnie na nerki i układ nerwowy oraz nie daje możliwości stosowania terapii sekwencyjnej [23, 35]. Toksyczność ta, jak się powszechnie uważa, zniechęca do stosowania kolistyny w praktyce klinicznej. Obaw tych jednak nie potwierdzają badania kliniczne. Levin i wsp. [23] na 59 pacjentów leczonych polimyksyną z powodu zakażeń wielolekoopornymi szczepami *Acinetobacter* spp. i *Pseudomonas* spp., w żadnym przypadku nie stwierdzili konieczności przerwania terapii z powodu

nefrotoksyczności, ani neurotoksyczności. Taką opcję antybiotykową zastosowano tylko u pacjentów, u których nie można było włączyć innych leków z powodu oporności szczepów bakteryjnych wywołujących zakażenie. Znamionym jest fakt, iż takiemu leczeniu musieli być poddani częściej chorzy z zakażeniami wywołanymi przez *Acinetobacter* spp. niż *Pseudomonas* spp. [23]. Wykazano także podobną skuteczność leczenia kolistyną i imipenemem zapalenia płuc u chorych sztucznie wentylowanych na oddziałach intensywnej terapii [9]. Nie stwierdzono większego odsetka powikłań w grupie chorych leczonych polimyksyną dożylnie w porównaniu do grupy pacjentów leczonych imipenemem, przy zachowaniu w terapii odpowiednich dawek, uwzględniających poziom kreatyniny przed włączeniem leczenia. Kolistyna wydaje się być bezpieczną i istotną opcją terapeutyczną w leczeniu zakażeń szczepami wielolekoopornymi, a w szczególności nie karbapenemowrażliwymi [9, 23].

Wykazano również skuteczność kolistyny podawanej do płynu mózgowo-rdzeniowego w leczeniu zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, wywołanych przez wielolekooporne, w tym karbapenemooporne szczepy pałeczek *A. baumannii* [8]. Taka droga podania jest w tej sytuacji niezbędna, gdyż polimyksyny podawane paraenteralnie nie osiągają stężeń inhibicyjnego w płynie mózgowo-rdzeniowym. Udowodniono, że kolistyna wykazuje jednak mniejszą aktywność *in vivo* niż *in vitro*, co wymaga uwzględnienia tego faktu w leczeniu [8].

W Brazylii opisano już szczepy *Acinetobacter* spp. odporne na kolistynę [35]. Wykazywały one jednak wrażliwość na karbapenemy (meropenem). Wśród pięciu szczepów wykazujących taki fenotyp oporności, zidentyfikowano cztery różne wzory DNA chromosomalnego w elektroforezie pulsacyjnej (PFGE). Sugeruje to, że w procesie nabywania oporności może mieć znaczenie selekcyjny wpływ polimyksyny, ale nie wykluczona jest także transmisja klonalnych szczepów. Mechanizm oporności na polimyksyny nie jest do końca wyjaśniony [27]. Przypuszczalnie jest on związany ze zmianą w budowie błony zewnętrznej, a szczególnie ze zmniejszeniem w jej warstwie zewnętrznej ilości lipopolisacharydu. U *Pseudomonas* spp. i *Salmonella* Typhimurium opisano dwuskładnikowy system regulacyjny PhoP/PhoQ i PmrA/PmrB, a u *Yersinia* spp. pompę zbudowaną z dwóch białek RosA i RosB [wg 27].

W celu ograniczenia oporności na polimyksyny oraz uzyskania korzystniejszych efektów terapeutycznych w zapaleniu płuc wywołanym szczepami wielolekoopornymi pałeczek *A. baumannii*, sugeruje się leczenie skojarzone rifampicyny z kolistyną [15, 29].

Należy także podkreślić, że w diagnostyce mikrobiologicznej metoda dyfuzyjno-krażkowa nie jest metodą wiarygodną w wykrywaniu oporności na polimyksyny. Re i s wsp. [35] nie wykryli tą metodą

żadnego szczepu opornego, podczas gdy wykazali je oznaczając MIC.

Od czasu pojawienia się oporności na polimyksyny, które są ostatnią opcją terapeutyczną w leczeniu zakażeń Gram-ujemnymi pałeczkami szczepów wielolekoopornych, istnieje realna groźba pojawienia się szczepów rodzaju *Acinetobacter* nie wykazujących wrażliwości na żadne dostępne antybiotyki. Zwiększająca się liczba zakażeń szczepami o wielorakiej oporności na antybiotyki powoduje wzrost zainteresowania badaczy tą grupą leków przeciwbakteryjnych [30, 33]. Nakazuje to weryfikację dotychczasowych poglądów, co do przydatności polimyksyn w leczeniu. Szczególną uwagę budzi toksyczność kolistyny w kontekście sposobów ograniczenia jej niepożądanych działań, przy wykorzystaniu niewątpliwiej skuteczności terapeutycznej. W tym kierunku zapewne będą kontynuowane dalsze badania.

## 8. Antybiotykoterapia złożona w leczeniu zakażeń *Acinetobacter* spp.

Ostatnie doniesienia sugerują dużą skuteczność antybiotykoterapii złożonej [1, 5, 7, 15, 29, 35]. Zmniejsza ona ryzyko wytwarzania oporności tak, jak ma to miejsce w monoterapii oraz podwyższa skuteczność leczenia przeciwbakteryjnego, przy zmniejszeniu toksyczności na skutek stosowania mniejszych dawek leków. Wykorzystywany jest tu efekt addycji lub synergizmu. Terapia złożona ma ogromne znaczenie wobec faktu wytwarzania przez szczepy pałeczek *Acinetobacter* spp. nowych mechanizmów oporności na antybiotyki. Antybiotyki nie- $\beta$ -laktamowe mogą być łączone z  $\beta$ -laktamami, jak i między sobą.

Wykazano dużą aktywność połączeń fluorochinolonów z  $\beta$ -laktamami czy aminoglikozydami [1, 5]. Stwierdzono, że najwyższa aktywność spośród tych antybiotykowych połączeń wykazują: lewofloksacyna i ciprofloksacyna (jednakowa aktywność) w połączeniu z imipenemem oraz piperacylina/tazobaktam z amikacyną. Badania na modelach zwierzęcych nie wykazały jednak takiego efektu [16]. Wykazano również przydatność kliniczną połączeń aminoglikozydów z  $\beta$ -laktamami [28]. Jednocześnie autorzy innych badań stwierdzają możliwość stosowania doksycykliny z amikacyną jako alternatywy dla imipenemu, podczas gdy lepszego efektu nie przynosi połączenie któregoś z nich z tym karbapenemem [40]. Rifampicyna nie powinna być stosowana w monoterapii w leczeniu zakażeń wywołanych przez pałeczki *Acinetobacter* spp. Dołączenie polimyksyny B do tego antybiotyku jest skuteczną opcją terapeutyczną [15].

Opisano także działanie *in vitro* makrolidu jakim jest azitromycyny w połączeniu z ceftazidimem, wobec wielolekoopornych szczepów pałeczek *A. baumannii*

[7]. Subinhibicyjne stężenia tego leku przeciwbakteryjnego powodują prawdopodobnie zahamowania syntezy czynników niezbędnych do kolonizacji błon śluzowych i tworzenie biofilmu. Mechanizm działania tego antybiotyku na pałeczki rodzaju *Acinetobacter* nie został jednak ostatecznie wyjaśniony. Nie zbadano także skuteczności takiego połączenia *in vivo*.

Badania w kierunku stosowania antybiotykoterapii złożonej powinny być niewątpliwie kontynuowane. Takie leczenie jest szczególnie polecane wobec szczepów wielolekoopornych, jak również u chorych wysokiego ryzyka zakażeń.

## 9. Podsumowanie

*Acinetobacter* spp. nie produkuje wielu czynników wirulencji. Jednakże mnogość mechanizmów oporności na antybiotyki, jakie mogą wytwarzać te pałeczki powoduje, że stały się one istotnymi patogenami szpitalnymi. Sama antybiotykoooporność może być też uważana za czynnik wirulencji, będący jednocześnie silnym czynnikiem dającym przewagę selekcyjną nad innymi bakteriami [54]. Stąd konieczne jest monitorowanie udziału pałeczek *Acinetobacter* spp. w zakażeniach szpitalnych oraz ich lekooporności, a także rejestrowanie danych odnośnie leczenia z zastosowaniem znanych już antybiotyków oraz wprowadzanych nowych opcji terapeutycznych.

## Piśmiennictwo

- Bajaksouzian S., Visalli M.A., Jacobs M.R.: Activities of levofloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin, alone and in combination with amikacin, against acinetobacters as determined by checkerboard and time-kill studies. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**, 1073–1076 (1987)
- Bergogne-Bérézin E., Joly-Guillou A., Toner K.J.: *Acinetobacter* microbiology, epidemiology, infections, management. CRC Press INC, New York 1996
- Chopra I., Roberts M., Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microb. Mol. Biol. Rev.* **65**, 232–260 (2001)
- Crues J.V., Murray B.E., Moellering R.C.: In vitro activity of three tetracycline antibiotics against *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **16**, 690–692 (1979)
- Drago L., Vecchi E., Nicola L.: Activity of levofloxacin and ciprofloxacin in combination with cefepime, ceftazidime, imipenem, piperacillin-tazobactam and amikacin against different *Pseudomonas aeruginosa* phenotypes and *Acinetobacter* spp. *Chemother.* **50**, 202–210 (2004)
- Fass R., Barnishan L., Solomon M.: In vitro activities of quinolones,  $\beta$ -lactams, tobramycin and trimethoprim-sulfamethoxazole against nonfermentative Gram-negative bacilli. *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**, 1412–1418 (1996)
- Fernández-Cuenca F., Martínez-Martínez L., Pascual A.: In vitro activity of azithromycin in combination with amikacin, ceftazidime, ciprofloxacin or imipenem against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Chemother.* **49**, 24–26 (2003)
- Fernandez-Viladrich P., Corbella X., Corral L.: Successful treatment of ventriculitis due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with intraventricular colistin sulfomethate sodium. *Clin. Infect. Dis.* **28**, 916–917 (1999)
- Garnacho-Montero J., Ortiz-Leyba C., Jiménez-Jiménez F.J.: Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin. Infect. Dis.* **36**, 1111–1118 (2003)
- Gospodarek E., Ziółkowski G.: Antybiotykoooporne szczepy *Acinetobacter baumannii* występujące w Polsce. *Przegl. Epidemiol.* **54**, 88–96 (2000)
- Gospodarek E.: Ocena wybranych właściwości biologicznych pałeczek *Acinetobacter* spp. Akademia Medyczna im. L. Rydygiera w Bydgoszczy. Praca habilitacyjna, 1999
- Guardabassi L., Dijkshoorn L., Collard J.M.: Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains. *J. Med. Microbiol.* **49**, 929–936 (2000)
- Guerrant R.L., Wood S.J., Krongaard L.: Resistance among fecal flora of patients taking sulfamethoxazole-trimethoprim or trimethoprim alone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **19**, 33–38 (1981)
- Heinemann B., Wisplinghoff H., Edmund M.: Comparative activities of ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin against epidemiologically defined *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**, 2211–2213 (2000)
- Hogg G.M., Barr J.G., Webb C.H.: In-vitro activity of the combination of colistin and rifampicin against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **41**, 494–495 (1998)
- Joly-Guillou M., Wolff M., Farinotti R.: In vivo activity of levofloxacin alone or in combination with imipenem or amikacin in a mouse model of *Acinetobacter baumannii* pneumonia. *J. Antimicrob. Chemother.* **46**, 827–830 (2000)
- Kielhofner M.A.: Trimethoprim-sulfamethoxazole: pharmacokinetics, clinical uses, and adverse reactions. *Texas Heart Inst. J.* **17**, 86–93 (1990)
- Kuck N.A.: In vitro and in vivo activities of minocycline and other antibiotics against *Acinetobacter (Herellea-Mima)*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **9**, 493–497 (1976)
- Lambert T., Gerbaud G., Bouvet P.: Dissemination of amikacin resistance gene *aphA6* in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**, 1244–1248 (1990)
- Lambert T., Gerbaud G., Courvalin P.: Characterization of *Acinetobacter haemolyticus aac(6')-I<sub>g</sub>* gene encoding an aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase with modifies amikacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **37**, 2093–2100 (1993)
- Lambert T., Gerbaud G., Courvalin P.: Characterization of the chromosomal *aac(6')-I<sub>j</sub>* gene of *Acinetobacter* spp. 13 and the *aac(6')-I<sub>h</sub>* plasmid gene of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**, 1883–1889 (1994)
- Lambert T., Gerbaud G., Courvalin P.: Transferable amikacin resistance in *Acinetobacter* spp. due to a new type of 3' aminoglycoside phosphotransferase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**, 15–19 (1988)
- Levin A., Baron A., Santos M.: Intravenous colistin as therapy for nosocomial infectious caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Infect. Dis.* **28**, 1008–1011 (1999)
- Maderazo E.G., Quintiliani R., Tilton R.: Activity of minocycline against *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus*

- (syn. *Herellea vaginicola*) and *Serratia Marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **8**, 54–57 (1975)
25. Magnet S., Courvalin P., Lambert T.: Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 3375–3380 (2001)
  26. Marchand I., Damier-Piolle L., Courvalin P.: 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)
  27. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z.: Bakterie antybiotyki lekopoorność. Wyd. Naukowe PWN Warszawa, 2001
  28. Marques M.B., Brookings E.S., Moser S.A.: Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**, 881–885 (1997)
  29. Miranda C., Kehrenberg C., Ulep C.: Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from Chilean salmon farms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 883–888 (2003)
  30. Montero A., Ariza J., Corbella X.: Efficacy of colistin versus  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, and rifampin as monotherapy in a mouse model of pneumonia caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**, 1946–1952 (2002)
  31. Murray B.E., Moellering R.C.: Aminoglycoside-modifying enzymes among clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *Anitratus* (*Herellea vaginicola*): explanation for high-level aminoglycoside resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **15**, 190–199 (1979)
  32. Murray B.E., Moellering R.C.: Evidence of plasmid-mediated production of aminoglycoside-modifying enzymes not previously described in *Acinetobacter*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **17**, 30–36 (1980)
  33. Ouderkerk J.P., Nord J.A., Turett G.S.: Polymyxin B nephrotoxicity and efficacy against nosocomial infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 2659–2662 (2003)
  34. Ploy M.C., Giamarellou H., Bourlioux P.: Detection of *acc(6')-I* genes in amikacin-resistant *Acinetobacter* spp. by PCR. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**, 2925–2928 (1994)
  35. Reis A., Luz D., Tognim M.: Polymyxin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates: what is next. *Emerg. Infect. Dis.* **9**, 1025–1026 (2003)
  36. Ribera A., Fernández-Cuenca F., Beceiro A.: Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance to quinolones and  $\beta$ -lactams in *Acinetobacter* genospecies 3. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 1430–1432 (2004)
  37. Ribera A., Roca I., Ruiz 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)
  38. Ribera A., Ruiz J., Jimenez de Anta M.: Effect of an efflux pump inhibitor on the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* **49**, 697–702 (2002)
  39. Ribera A., Ruiz J., Vila J.: Presence of the Tet M determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 2310–2312 (2003)
  40. Rodríguez-Hernández M., Pachün J., Pichardo C.: Imipenem, doxycycline and amikacin in monotherapy and in combination in *Acinetobacter baumannii* experimental pneumonia. *J. Antimicrob. Chemother.* **45**, 493–501 (2000)
  41. Rudant E., Bourlioux P., Courvalin P.: Characterization of the *aac(6')-Ib* gene of *Acinetobacter* spp. 6. *FEMS Microbiol. Lett.* **124**, 49–54 (1994)
  42. Rudant E., Courvalin P., Lambert T.: Characterization of *IS18*, an element capable of activating the silent *acc(6')-Ij* gene of *Acinetobacter* sp. 13 strain BM2716 by transposition. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**, 2759–2761 (1998)
  43. Rudant E., Courvalin P., Lambert T.: Loss of intrinsic aminoglycoside resistance in *Acinetobacter haemolyticus* as a result of three distinct types of alterations in the *aac(6')-Ib* gene, including insertion of *IS17*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**, 2646–2651 (1997)
  44. Shaw K.J., Hare R.S., Sabatelli F.J.: Correlation between aminoglycoside resistance profiles and DNA hybridization of clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**, 2253–2261 (1991)
  45. Shaw K.J., Rather P.N., Hare R.S.: Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* **57**, 138–163 (1993)
  46. Spence R., Towner K.: Frequencies and mechanisms of resistance to moxifloxacin in nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**, 687–690 (2003)
  47. Stiver H.G., Bartlett K.H., Chow A. W.: Comparison of susceptibility of gentamicin-resistant and – susceptible “*Acinetobacter anitratus*” to 15 alternative antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* **30**, 624–625 (1989)
  48. Vanhoof R., Hannecart-Pokorni E., Content J.: Nomenclature of genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**, 483 (1998)
  49. Vila J., Marcos A., Marco F.: In vitro antimicrobial production of  $\beta$ -lactamases, aminoglycoside-modifying enzymes, and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **37**, 138–141 (1993)
  50. Vila J., Ribera A., Marco F.: Activity of cinafloxacin, compared with six other quinolones, against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* **49**, 471–477 (2002)
  51. Vila J., Ruiz J., Navia M.: Spread of amikacin resistance in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Spain due to an epidemic strain. *J. Clin. Microb.* **37**, 758–761 (1999)
  52. Vila J., Ruiz J., Goñi P.: Mutation in *gyrA* gene of quinolone-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**, 1201–1203 (1995)
  53. Vila J., Ruiz J., Goñi P.: Quinolone-resistance mutations in the topoisomerase IV *parC* gene of *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **39**, 757–762 (1997)
  54. Villegas M., Hartstein A.: *Acinetobacter* outbreaks, 1977–2000. *Infect. Cont. Hosp.* **24**, 284–295 (2003)
  55. Wisplinghoff H., Decker M., Haefs Ch.: Mutations in *gyrA* and *parC* associated with resistance to fluoroquinolones in epidemiologically defined clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**, 177–180 (2003)
  56. Wood G., Hanes S., Boucher B.: Tetracyclines for treating multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Inten. Care Med.* **29**, 2072–2076 (2003)
  57. Yohei D., Jun-Chi W., Kunikazu Y.: Spread of novel aminoglycoside resistance gene *aac(6')-Iad* among *Acinetobacter* clinical isolates in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 2075–2080 (2004)