

Ocena występowania genetycznych determinant warunkujących wielolekooporność wśród szczepów z gatunku *Acinetobacter baumannii*

Evaluation of the occurrence of genetic determinants of multi-drug resistance among *Acinetobacter baumannii* strains

Magdalena Wawrzyniak<sup>1</sup>, Joanna Czekajewska<sup>1</sup>, Maja Kosecka-Strojek<sup>2</sup>, Paweł Nowak<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

<sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

---

**Badaniom poddano 30 wielolekoopornych szczepów *Acinetobacter baumannii*. Wykazano obecność genów *bla*<sub>OXA-23-like</sub> oraz *bla*<sub>OXA-40-like</sub> odpowiednio u 10% oraz 90% szczepów. Wśród wszystkich badanych szczepów potwierdzono występowanie genetycznych determinant dla pompy AdeABC, sekwencji insercyjnej (*ISAbal*) oraz genu związanego z produkcją biofilmu (*abaI*). Analiza pokrewieństwa badanych szczepów z użyciem metody RAPD-PCR wykazała ich zróżnicowane podobieństwo genetyczne.**

**Słowa kluczowe:** *Acinetobacter baumannii*, wielolekooporność, genotypowanie, RAPD-PCR, pompy efflux, sekwencje insercyjne, biofilm

---

#### ABSTRACT

**Introduction:** The aim of the study was the analysis of occurrence of genetic determinants of multi-drug resistance and the assessment of genetic relationship among *Acinetobacter baumannii* strains.

**Methods:** Multiplex-PCR method was performed in order to: (1) confirm the phenotypic identification and (2) detect the presence of CHDL oxacillinases in the group of thirty *A. baumannii* strains. Further PCR studies included the analysis of the occurrence of genetic determinants associated with efflux pump, insertion sequence and biofilm formation. The relationship between bacterial strains was assayed using 6 primers in RAPD-PCR method.

**Results:** Detection of the *bla*<sub>OXA-51-like</sub> gene confirmed that the strains belong to the *A. baumannii* species. In the multiplex-PCR, the presence of the *bla*<sub>OXA-23-like</sub> and *bla*<sub>OXA-40-like</sub> genes was detected in 3 (10%) and 27 (90%) isolates, respectively. Moreover, some strains showed the coexistence of the *bla*<sub>OXA-51-like</sub> and *bla*<sub>OXA-23-like</sub> genes (10%, n=3) or

\* Autor korespondujący

*bla*<sub>OXA-51-like</sub> and *bla*<sub>OXA-40-like</sub> (90%, n=27). In the group of analysed strains the presence of the efflux pump gene (*adeA*) and the insertion sequence *ISAbal* were demonstrated in all tested isolates. Biofilm-related genes (*abaI*, *csuE*) were found in 100% and 97% (n=29) tested strains adequately. The RAPD-PCR studies revealed the presence of 10 unrelated genotypes.

**Conclusions:** The obtained results suggest that the phenomenon of multi-drug resistance in the studied *A. baumannii* strains could be attributed to the occurrence of CHDL oxacillinases, AdeABC efflux pump, insertion sequence *ISAbal* and the biofilm formation.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, multi-drug resistance, genotyping, RAPD-PCR, efflux pump, insertion sequence, biofilm

---

## WSTĘP

Bakterie z gatunku *A. baumannii* charakteryzują się dużą opornością na działanie środków dezynfekcyjnych, promieniowania UV, a także zdolnością do tworzenia biofilmu. Wymienione wyżej cechy predysponują szczepy z tego gatunku do przetrwania i rozprzestrzeniania się w niekorzystnych warunkach środowiskowych (m.in. w środowisku szpitalnym). W warunkach szpitalnych patogen ten może zasiedlać wilgotne przestrzenie – krany, prysznice, ujścia zlewów, w konsekwencji będąc przyczyną kontaminacji aparatury medycznej oraz kolonizacji naskórka pracowników placówek medycznych. Może to stanowić źródło szerzenia się zakażeń szpitalnych o etiologii *A. baumannii* wśród pacjentów hospitalizowanych w danej jednostce opieki medycznej (1,20).

Zakażenia o etiologii *A. baumannii* stanowią wyzwanie terapeutyczne ze względu na dużą naturalną oporność, jak i dużą zdolność do nabywania oporności na leki (9). W raporcie CDC (ang. *Centers for Disease Control and Prevention*) dotyczącym zagrożeń związanych z antybiotykoopornością w Stanach Zjednoczonych („*Antibiotic Resistance Threats in the United States*”) gatunek *A. baumannii* odporny na karbapenemy umieszczono na pierwszym miejscu wśród lekoopornych drobnoustrojów, stanowiących obecnie największe zagrożenie (6). Spośród wielu współwystępujących u *A. baumannii* czynników odgrywających ważną rolę w zjawisku lekooporności do najbardziej istotnych klinicznie należą: (1) produkcja beta-laktamaz; (2) obecność pomp aktywnego wyrzutu leków; (3) występowanie sekwencji insercyjnych (pełniących rolę promotora dla genów warunkujących oporność) oraz (4) zdolność do wytwarzania biofilmu (4, 10, 21). Szczepy z gatunku *A. baumannii* mogą pozyskać oporność na penicyliny i karbapenemy poprzez nabycie genów *bla*<sub>OXA</sub> kodujących beta-laktamazy szczególnie w przypadku ich współwystępowania z sekwencjami insercyjnymi lub przy jednoczesnej nadekspresji pomp aktywnego wyrzutu leków (3, 21). Operon *adeABC* koduje jeden z systemów pomp aktywnego wyrzutu leków u szczepów z gatunku *A. baumannii*. Nadekspresja tego operonu warunkowana jest m. in. poprzez poprzedzenie jego sekwencji sekwencją insercyjną *ISAbal* i może skutkować wykształceniem oporności na wiele grup leków przeciwdrobnoustrojowych (21). Obecność szczepów *A. baumannii* tworzących biofilm na powierzchni sprzętu medycznego może być jedną z przyczyn zakażeń szpitalnych związanych z wy-

korzystaniem biomateriałów w leczeniu (20). Ze względu na swoją wysoką oporność na leki, *A. baumannii* pozostaje jednym z najistotniejszych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych – odrespiratorowego zapalenia płuc, zakażeń krwi związanych z linią centralną, zakażeń dróg moczowych oraz zakażeń ran (8).

Jednym z istotnych elementów strategii związanych z wykrywaniem, zapobieganiem oraz zwalczaniem zakażeń szpitalnych jest określenie stopnia pokrewieństwa szczepów bakteryjnych, izolowanych od pacjentów danej placówki ochrony zdrowia. Zastosowanie badań molekularnych umożliwia wykrycie klonów epidemicznych, ustalenie ich źródła i dróg szerzenia się, a także określenie obszaru, na którym występują. Narastająca lekooporność bakterii czyni typowanie szczepów coraz ważniejszym zadaniem w dochodzeniach epidemiologicznych. Do najistotniejszych metod genotypowania szczepów bakteryjnych należą: REA-PFGE (ang. *Restriction Enzyme Analysis – Pulsed Field Gel Electrophoresis*), AFLP (ang. *Amplified Fragment Length Polymorphism*), RFLP (ang. *Restriction Fragments Length Polymorphism*), RAPD-PCR (ang. *Random Amplification of Polymorphic DNA*), MLVA (ang. *Multi Locus VNTR Analysis*), mikromacierze oraz metody oparte na technologii sekwencjonowania, w tym sekwencjonowania nowej generacji (5).

Celem niniejszej pracy była ocena współwystępowania genetycznych determinant wielolekooporności (*bla*<sub>OXA1</sub>, *adeA*, *ISAbal*, *abaI*, *csuE*) oraz analiza stopnia pokrewieństwa wśród klinicznych szczepów z gatunku *Acinetobacter baumannii*.

## MATERIAŁ I METODY

Szczepy bakteryjne. Materiał stanowiło 30 wielolekoopornych szczepów klinicznych z gatunku *A. baumannii* wyizolowanych w 2017 roku od pacjentów hospitalizowanych w różnych oddziałach Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Wykorzystane w badaniach izolaty zostały zidentyfikowane oraz określono dla nich lekowrażliwość z zastosowaniem systemu automatycznego VITEK 2 (bioMérieux) w ramach rutynowej pracy Zakładu Mikrobiologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Wszystkie badane szczepy charakteryzowały się opornością wobec leków z grup: penicylin (piperacylina, piperacylina/tazobaktam), cefalosporyn III i IV generacji (ceftazydym, cefepim), karbapenemów (imipenem, meropenem) oraz fluorochinolonów (ciprofloksacyna, lewofloksacyna). Stwierdzono również wysoki odsetek szczepów opornych na aminoglikozydy (amikacylina – 80%, n=24; gentamycyna – 63%, n=19; tobramycyna – 77%, n=23; netylmycyna – 87%, n=26). Zdecydowana większość szczepów (93%, n=28) cechowała się natomiast wrażliwością na kolistynę. Wybrane do badań szczepy *A. baumannii* były przechowywane w temperaturze -80°C z zastosowaniem systemu Microorganism Preservation System - Protect (TSC Technical Service Consultants Ltd).

Genetyczna identyfikacja gatunku oraz wykrywanie obecności genów nabytych oksacylinaz metodą multiplex-PCR. Procedurę izolacji genomowego DNA badanych izolatów przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu Genomic Mini (A&A Biotechnology), zgodnie ze zmodyfikowaną metodyką producenta. W reakcji multiplex-PCR dokonano identyfikacji gatunkowej, poprzez potwierdzenie obecności genu spokrewnionego z *bla*<sub>OXA-51-like</sub>, a także wykrycia obecności genów wybranych nabytych oksacylinaz: *bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-40-like</sub> oraz *bla*<sub>OXA-58-like</sub>. Powyższą reakcję przeprowadzono w oparciu

o zmodyfikowaną metodykę opisaną przez Woodforda i wsp. [25]. Dokonano oceny obecności oraz wielkości produktów amplifikacji przeprowadzając rozdział elektroforetyczny w 2% żelu agarozowym barwionym roztworem bromku etydy. Wielkość produktów porównywano wobec markerów wielkości DNA Thermo Fisher Scientific GeneRuler DNA Ladder (50 pz i 100 pz). Dokonano wizualizacji produktów reakcji PCR w świetle UV.

Wykrywanie obecności pozostałych genetycznych determinant oporności oraz genów związanych z produkcją biofilmu. W badanej grupie szczepów przeprowadzono 4 niezależne reakcje PCR celem wykrycia genu strukturalnego pompy wyrzutu leków AdeABC (*adeA*) (15), fragmentu sekwencji insercyjnej IS*Abal* (22) oraz genów związanych z produkcją biofilmu – *csuE* i *abaI* (16). Reakcje PCR przeprowadzono przy zastosowaniu starterów opisanych przez odpowiednio Li i wsp., Segal i wsp. oraz Liu i wsp. Rozdział oraz wizualizację produktów reakcji PCR przeprowadzono zgodnie z procedurą przedstawioną powyżej dla reakcji multipleks-PCR.

Ocena stopnia pokrewieństwa badanych szczepów. Przeprowadzono 6 oddzielnych reakcji RAPD-PCR w odpowiednich warunkach amplifikacji z wykorzystaniem starterów: 208, 272 (17), 1247 (19), ERIC-2 (24), M13 (23), PAL-2 (18) o sekwencjach opisanych przez odpowiednio Mahenthiralingam i wsp., Mathis i wsp., Yang i wsp., Ravi i wsp. oraz Matar i wsp. Po zakończeniu reakcji amplifikacji dokonywano rozdziału elektroforetycznego produktów reakcji w 2% żelu agarozowym barwionym roztworem bromku etydy. Wielkość produktów porównywano wobec markerów wielkości A&A Biotechnology DNA Marker 3 (100-3000 pz) oraz Thermo Fisher Scientific GeneRuler DNA Ladder (100 pz). Produkty reakcji PCR uwidoczniono w świetle UV i sfotografowano.

Uzyskane produkty amplifikacji analizowano przy użyciu oprogramowania Gel Compare II (Applied Maths) z wykorzystaniem analizy skupień metodą średnich połączeń (UPGMA, ang. *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Dokonano zbiorczej analizy prążków otrzymanych po elektroforezie dla poszczególnych szczepów, uwzględniając wszystkie 6 starterów. Szczepy o 100% homologii uznano za nierozróżnialne pod względem genetycznym w metodzie RAPD-PCR. Podobieństwo w zakresie 99-80% wyznaczało szczepy o bardzo bliskim stopniu pokrewieństwa, a szczepy o homologii na poziomie 79-50% klasyfikowano jako spokrewnione w umiarkowanym stopniu. Natomiast za szczepy ze sobą niespokrewnione uznano te, które wykazywały mniej niż 50% homologii.

## WYNIKI

W niniejszej pracy poddano badaniom 30 wielolekoopornych szczepów z gatunku *A. baumannii*, pochodzących z różnych oddziałów Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Przynależność do gatunku potwierdzono u wszystkich izolatów (100%, n=30) poprzez wykrycie genów spokrewnionych z *bla*<sub>OXA-51-like</sub> w reakcji multipleks-PCR. Ponadto, z zastosowaniem powyższej reakcji amplifikacji dokonano także analizy obecności wybranych genetycznych determinant nabytych karbapenemaz z grupy OXA. Wykazano występowanie genów spokrewnionych z *bla*<sub>OXA-40-like</sub> oraz *bla*<sub>OXA-23-like</sub> u odpowiednio 27 (90%) oraz 3 (10%) szczepów. Gen spokrewniony z *bla*<sub>OXA-58-like</sub> nie został wykryty u żadnego ze szczepów. U wybranych szczepów geny spokrewnione z *bla*<sub>OXA-51-like</sub> oraz *bla*<sub>OXA-40-like</sub> (90%,



G<sub>AB</sub> VIII – genotyp ósmy, G<sub>AB</sub> IX – genotyp dziewiąty, G<sub>AB</sub> X – genotyp dziesiąty.

\* linią przerywaną zaznaczono wartość odcięcia dla wyznaczenia genotypów, stanowiącą 80%

## DYSKUSJA

*Acinetobacter baumannii* to jeden z najistotniejszych czynników etiologicznych infekcji związanych z opieką medyczną. Narastający problem zakażeń szpitalnych stanowi obecnie wyzwanie dla współczesnej medycyny.

W badaniach własnych w grupie 30 wielolekoopornych izolatów klinicznych, pochodzących od pacjentów z różnych oddziałów Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, potwierdzono przynależność do gatunku *A. baumannii* wykrywając gen spokrewniony z *bla*<sub>OXA-51-like</sub> u wszystkich szczepów. Następnie dokonano analizy obecności genów trzech nabytych oksacylinaz. Geny spokrewnione z *bla*<sub>OXA-40-like</sub> oraz *bla*<sub>OXA-23-like</sub> wykryto u odpowiednio 27 (90%) oraz 3 (10%) szczepów. Natomiast u żadnego ze szczepów nie wykazano obecności genu spokrewnionego z *bla*<sub>OXA-58-like</sub>. W badaniach *Kuo* i wsp. wykryto geny spokrewnione z *bla*<sub>OXA-23-like</sub> u 52,6%, z *bla*<sub>OXA-40-like</sub> u 10,6%, a z *bla*<sub>OXA-58-like</sub> u 1,1% badanych szczepów *A. baumannii* (n=555). Szczepy te wyizolowane były od pacjentów leczonych w 26 szpitalach z 4 regionów Tajwanu (12). Z kolei w pracy *Leungtongkam* i wsp. badano obecność genów spokrewnionych z *bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-58-like</sub> oraz *bla*<sub>OXA-40-like</sub> i wykazano ich obecność u odpowiednio 82,6%, 6,5% oraz 0,3% szczepów w badanej grupie. W cytowanej pracy analizom poddano izolaty (n=339) pochodzące z oddziałów szpitalnych jednostek opieki medycznej w Tajlandii (14). Różnice w częstości występowania genetycznych determinant nabytych karbapenemaz z grupy OXA wśród badanych szczepów w poszczególnych pracach mogą wynikać z: różnic w ich pokrewieństwie, zróżnicowania pod kątem charakterystyki szpitali i oddziałów, z których pochodzą, a także lokalnej sytuacji epidemiologicznej oraz częstości występowania zakażeń o etiologii *A. baumannii*.

W badaniach własnych analizowano również występowanie genów związanych z pompą wyrzutu leków, sekwencją insercyjną oraz produkcją biofilmu u szczepów z gatunku *A. baumannii*.

Obecność genu *adeA*, kodującego jedną ze składowych pompy aktywnego wyrzutu leków, wykazano u wszystkich (100%) badanych wielolekoopornych szczepów *A. baumannii*. Szacuje się, że operon *adeABC* występuje średnio u 53-97% izolatów, biorąc pod uwagę globalną populację szczepów z tego gatunku (7). W pracy *Coyne* i wsp. wykazano największą zależność pomiędzy występowaniem oporności wielolekowej, a wykryciem obecności genu *adeA* (7).

W niniejszej pracy sekwencję insercyjną *ISAbal*, której występowanie może powodować nadekspresję genów związanych z lekoopornością np. operonu *adeABC*, wykryto u wszystkich (100%) badanych szczepów *A. baumannii*. Podobnie w badaniach *Kobs* i wsp. wszystkie badane szczepy *A. baumannii* (n=78), wyizolowane od pacjentów z jednego szpitala w południowej Brazylii, posiadały element *ISAbal* (13).

W badaniach własnych wykryto także obecność genów związanych z produkcją biofilmu – genu *abaI*, kodującego syntazę autoinduktora oraz genu *csuE*, kodującego białka fimbrii. Obecność tych genów wykazano odpowiednio u 100% oraz 97% (n=29) analizowanych szczepów *A. baumannii*. W pracy *Azizi* i wsp. wśród szczepów MDR *A. baumannii* (n=65), pochodzących od pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej

terapii dwóch irańskich szpitali, sprawdzano obecność genów związanych z produkcją biofilmu. Gen *csuE* był obecny u wszystkich szczepów (100%) poddanych analizie (3). Z kolei w badaniach Liu i wsp. poszukiwano m.in. genów *abaI* oraz *csuE*. Geny te wykryto u 59,8% (73/122) badanych wielolekoopornych szczepów *A. baumannii*, wyizolowanych z materiałów klinicznych pochodzących z infekcji dolnych dróg oddechowych w szpitalu w Chinach (16).

W kontekście zakażeń szpitalnych szczególnie niebezpieczne jest klonalne szerzenie się drobnoustrojów, zwłaszcza szczepów cechujących się wielolekoopornością. Typowanie drobnoustrojów odgrywa istotną rolę w epidemiologii, stanowi bowiem pomocne narzędzie w profilaktyce i monitorowaniu zakażeń szpitalnych. W badaniach własnych w grupie 30 szczepów z gatunku *A. baumannii* dokonano oceny stopnia pokrewieństwa stosując metodę RAPD-PCR oraz 6 starterów. Jako punkt odcięcia dla wyznaczenia genotypów przyjęto wartość 80%. Zbiorcza analiza uwzględniająca wszystkie użyte w badaniu startery pozwoliła na wykazanie obecności 10 genotypów ( $G_{AB}I$ - $G_{AB}X$ ). W obrębie genotypu  $G_{AB}III$  zgromadzonych zostało najwięcej szczepów ( $n=8$ ). Największa konserwatywność pod względem oddziału szpitalnego, z którego izolowane były szczepy, cechowała przedstawicieli genotypu  $G_{AB}III$  – 7 z 8 (87,5%) szczepów pochodziło z Oddziału Intensywnej Terapii. Natomiast genotypy  $G_{AB}I$  oraz  $G_{AB}IV$  były pod tym kątem najbardziej zróżnicowane – każdy ze szczepów w obrębie danego genotypu pochodził z innego oddziału szpitalnego. Ze względu na niskie koszty i łatwość wykonania metoda RAPD-PCR znajduje zastosowanie w genetycznym różnicowaniu wielu gatunków mikroorganizmów, w tym także jednego z najistotniejszych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych – *A. baumannii* (2). W badaniach Karthika i wsp. przeprowadzonych w grupie 48 szczepów *A. baumannii*, pochodzących od pacjentów leczonych w różnych oddziałach jednego ze szpitali uniwersyteckich w Egipcie, wyodrębniono 6 genotypów wykorzystując metodę RAPD-PCR (11). Różnice w stopniu pokrewieństwa badanych szczepów oraz w liczbie wyodrębnionych genotypów mogą wynikać ze zróżnicowania pod kątem liczby i charakterystyki szpitali oraz oddziałów, z których pochodzą izolaty w poszczególnych pracach, a także częstości występowania zakażeń powodowanych przez *A. baumannii*. Wpływ na uzyskane wyniki mogą mieć również lokalna sytuacja epidemiologiczna oraz szpitalne strategie dotyczące profilaktyki i zwalczania zakażeń szpitalnych. Wprowadzenie do rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej metod biologii molekularnej może przyczynić się do ograniczenia zjawiska zakażeń szpitalnych zarówno w kontekście szybkiej identyfikacji, określenia lekooporności, czynników wirulencji, jak i typowania epidemiologicznego.

## PODSUMOWANIE

Za zjawisko wielolekooporności w grupie badanych szczepów *A. baumannii* mogą być odpowiedzialne: oksacylinazy CHDL, pompa wyrzutu leków AdeABC, obecność sekwencji insercyjnej *ISAbal* oraz zdolność do produkcji biofilmu.

Badane szczepy wykazywały zróżnicowane podobieństwo genetyczne względem siebie. Pomimo wyodrębnienia 10 genotypów, wynikających z różnic w pokrewieństwie w metodzie RAPD-PCR, wyżej wymienione determinanty genetyczne występowały powszechnie w badanej grupie szczepów.

## PODZIĘKOWANIA

Serdecznie dziękujemy Pani dr Jolancie Kędzierskiej z Zakładu Mikrobiologii, Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie za udostępnienie kolekcji wybranych szczepów bakteryjnych.

Serdecznie dziękujemy Panu prof. dr hab. Jackowi Międzobrodzkiemu z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego za możliwość skorzystania z oprogramowania komputerowego – Gel Compare II (Applied Maths).

## PIŚMIENNICTWO

1. *Antunes LCS, Visca P, Towner KJ.* *Acinetobacter baumannii*: Evolution of a global pathogen. *Pathog. Dis* 2014; 71: 292–301.
2. *Asadian M, Azimi L, Alinejad F* i inni. Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Ventilator-Associated Pneumonia and Burn Wound Colonization by Random Amplified Polymorphic DNA Polymerase Chain Reaction and the Relationship between Antibiotic Susceptibility and Biofilm. *Adv Biomed Res* 2019; 6: 1–13.
3. *Azizi O, Shahcheraghi F, Salimizand H* i inni. Molecular Analysis and Expression of *bap* Gene in Biofilm-Forming Multi-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Reports Biochem Mol Biol* 2016; 5: 62–72.
4. *Bogiel T, J. Kwiecińska-Piróg J, Jachna-Sawicka K, Gospodarek E.* Szczepy *Acinetobacter baumannii* odporne na karbapenemy. *Med Dosw Mikrobiol* 2010. 62: 119–26.
5. *Brzozowski M, Kwiatkowski P, Kosik-Bogacka D, Jursa-Kulesza J.* Metody genotypowe i fenotypowe wykorzystywane w typowaniu drobnoustrojów do celów epidemiologicznych. *Postep Mikrobiol* 2017; 56: 353–66.
6. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. U.S. Department of Health and Human Services, CDC Atlanta, GA 2019.
7. *Coyne S, Courvalin P, Périchon B.* Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 947–53.
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. ECDC Stockholm 2019.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST: Intrinsic Resistance and Unusual Phenotypes version 3.2. EUCAST 2020.
10. *Jachna-Sawicka K, Wójcik W, Gospodarek E.* Ocena wybranych właściwości morfologicznych wariantów pałeczek *Acinetobacter baumannii* complex. *Med Dosw Mikrobiol* 2013; 65: 93–101.
11. *Karthika RU, Rao RS, Sahoo S* i inni. Phenotypic and genotypic assays for detecting the prevalence of metallo- $\beta$ -lactamases in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a South Indian tertiary care hospital. *J Med Microbiol* 2009; 58: 430–5.
12. *Kuo SC, Huang WC, Huang TW* i inni. Molecular epidemiology of emerging *bla*<sub>OXA-23-Like</sub> - and *bla*<sub>OXA-24-Like</sub> - carrying *Acinetobacter baumannii* in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62: 1–9.



13. Kobs VC, Ferreira JA, Bobrowicz TA i inni. The role of the genetic elements bla<sub>OXA</sub> and ISAbal in the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex in carbapenem resistance in the hospital setting. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016; 49: 433–40.
14. Leungtongkam U, Thummeepak R, Wongprachan S i inni. Dissemination of bla<sub>OXA-23</sub>, bla<sub>OXA-24</sub>, bla<sub>OXA-58</sub>, and bla<sub>NDM-1</sub> Genes of *Acinetobacter baumannii* Isolates from Four Tertiary Hospitals in Thailand. *Microb Drug Resist* 2018; 24: 55–62.
15. Li S, Duan X, Peng Y, Rui Y. Molecular characteristics of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from clinical infection samples and fecal survey samples in Southern China. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 1–12.
16. Liu H, Wu YQ, Chen LP i inni. Biofilm-related genes: Analyses in multi-antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from mainland China. *Med Sci Monit* 2016; 22: 1801–7.
17. Mahenthiralingam E, Campbell ME, Foster J i inni. Random amplified polymorphic DNA typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1129–35.
18. Matar GM, Harakeh HS, Ramlawi F i inni. Comparative analysis between *Pseudomonas aeruginosa* genotypes and severity of symptoms in patients with unilateral or bilateral otitis externa. *Curr Microbiol* 2001; 42: 190–3.
19. Mathis DL, Berghaus RD, Lee MD, Maurer JJ. Variation in *Salmonella* Enteritidis RAPD-PCR Patterns May Not Be Due to Genetic Differences. *Avian Dis* 2011; 55: 620–5.
20. McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: Human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev* 2012; 37: 130–55.
21. Namysłowska A, Laudy AE, Tyski S. Mechanizmy oporności *Acinetobacter baumannii* na związki przeciwbakteryjne. *Postępy Mikrobiol* 2015; 54: 392–406.
22. Segal H, Garmy S, Elisha BG. Is IS<sub>ABA-1</sub> customized for *Acinetobacter*? *FEMS Microbiol Lett* 2005; 243: 425–9.
23. Ravi NS, Anandan S, Vijayakumar S i inni. The potential of different molecular biology methods in tracking clones of *Acinetobacter baumannii* in an ICU setting. *J Med Microbiol* 2018; 67: 1340–7.
24. Yang L, Han L, Sun J i inni. The molecular epidemiological study of colistin-only-sensitive strains in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Front Med China* 2007; 1: 423–8.
25. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM i inni. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 351–3.

Otrzymano: 22 IX 2021 r.

Adres Autora: 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków