

DERLEME/ REVIEW

**ACINETOBACTER CALCOACETICUS- ACINETOBACTER BAUMANNII COMPLEX
(ABC) VE YENİ TÜRLERİ**

**ACINETOBACTER CALCOACETICUS- ACINETOBACTER BAUMANNII
(ABC) AND NEW SPECIES**

Berrin ESEN¹, Ayşegül GÖZALAN²

¹Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye SUAM Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği

ÖZ

Acinetobacter cinsi'nin sınıflandırılmasında 12 farklı genomik tür bulunduğu gösterilmiş, taksonomisinde son 30 yılda DNA-temelli metotların yaygın kullanımı sayesinde değişiklikler kaydedilmiştir. Bugün için *Acinetobacter* cinsi içerisinde 49 tür bulunmaktadır. *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex içinde (ABC) klinik olarak önemli türler olan *A. baumannii* (genomik tür 2), *Acinetobacter nosocomialis* (genomik tür 13TU), *Acinetobacter pittii* (genomik tür 3) ve *Acinetobacter calcoaceticus* (genomik tür 1) türleri biyokimyasal olarak ayırd edilemezler. DNA-DNA hibridizasyon, *rpoB* gen sekans analizi ve multilocus sequence typing (MLST) ile *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex'e son yıllarda iki yeni patojenik tür olan *Acinetobacter seifertii* ve *Acinetobacter djikshoorniae* eklenmiştir. Ayrıca non-*A. baumannii* türleri arasında plazmide lokalize blaNDM-1 geni taşıyan ve *A. djikshoorniae*'nin model suşu olan JVAP01T suşunun taslak genom dizilimi de yayınlanmıştır. Bugün için; *Acinetobacter* cinsinin tür düzeyinde ayrımı için; RNA polimeraz β -subunit (*rpoB*) geni, DNA giraz B (*gyrB*) geni sekans analizi ve/veya multilocus sequence analysis (MLSA) altın standard moleküler metotlar olarak kabul edilmektedir. Diğer yöntemler; amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), ve Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)'dur. *Acinetobacter* türlerine karşı antimikrobiyal direnç gelişimini önlemek için izolatların tür düzeyinde güvenilir yöntemler kullanılarak tanımlanmaları, uygun antibiyotiklerin kullanılması ve kesintisiz enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması önemlidir.

ANAHTAR KELİMELER: *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* complex, *Acinetobacter seifertii*, *Acinetobacter djikshoorniae*

ABSTRACT

The *Acinetobacter* genus had 12 genomic species. In the last 30 years based on DNA-DNA hybridization the taxonomic differences has been reported. Currently 49 species are recognized. The biochemically indistinguishable strains, *A. baumannii* (genomik species 2), *Acinetobacter nosocomialis* (genomik species 13TU), *Acinetobacter pittii* (genomik species 3) and *Acinetobacter calcoaceticus* (genomik species 1) are the clinical important species in the *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex (ABC). Two novel pathogenic species, *Acinetobacter seifertii* and *Acinetobacter djikshoorniae* has been included to *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex by DNA-DNA hybridization method, *rpoB* gene sequence analysis and multilocus sequence typing (MLST) methods. Draft genome sequence of a pathogenic strain JVAP01T, model strain of *A. djikshoorniae*, which a conjugative plasmid with blaNDM-1 gene has been reported. RNA polymerase β -subunit (*rpoB*) gene, DNA gyrase B (*gyrB*) gene sequence analysis and /or multilocus sequence analysis (MLSA) are known as gold standard molecular methods for the identification at species level. Others are amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and Matriks assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). There is critical importance in keeping the development of antimicrobial resistance of *Acinetobacter* species at lowest levels such as using reliable laboratory methods, continuous infection control measures and rationale antibiotic strategies.

KEYWORDS: *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* complex, *Acinetobacter seifertii*, *Acinetobacter djikshoorniae*

Geliş Tarihi / Received: 27.03.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 08.04.2019

Yazışma Adresi / Correspondence: Prof.Dr.Berrin ESEN

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

E-mail: berrinesen@yahoo.com

Orcid No: 0000-0003-1590-7150

GİRİŞ

Acinetobacter cinsi bakteriler, özellikle altta yatan hastalığı veya cilt/yumuşak doku hasarı olan kişilerde, hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olan gram negatif kokobasillerdir. *Acinetobacter* türleri, yoğun bakım ünitelerinde ventilatör ilişkili pnömoni, kan dolaşımı, idrar yolları ve intraabdominal enfeksiyonların en sık nedenlerindedir (1,2). İnvaziv girişimler, yoğun bakımda kalma süresi, mekanik ventilasyon, enteral beslenme, yanık ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (özellikle sefalosporinler ve florokinolonlar) bu bakteri türleri ile kolonizasyon ve enfeksiyon gelişimini artıran başlıca faktörler olarak sayılabilir (3,4,5).

Acinetobacter baumannii'nin hastane kaynaklı gram negatif bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları içerisinde %58'lik bir oran ile en yüksek mortalite hızına sahip olduğu bildirilmektedir (6).

Acinetobacter türlerinin 1970'li yıllarda ampisilin ve sefalosporinler dahil birçok antibiyotiğe duyarlı olduğu rapor edilmektedir (7,8). Buna karşın özellikle ciddi *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde geniş spektrumlu beta laktam grubu antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu, 1991 yılından bu yana giderek artan oranlarda karbapenem direnci rapor edilmektedir (9). Karbapeneme dirençli izolatlar, minosiklin/tigesiklin ve polimiksinler dışında genellikle diğer tüm antibiyotiklere karşı dirençlidir (10). Bununla birlikte son yıllarda tigesiklin ve kolistin dirençli suşların sayısında da artış kaydedilmektedir (11). Bugün, dünyanın bazı bölgelerinde yoğun bakım ünitelerinin yanı sıra diğer tüm kliniklerde tedavi edilen hastalarda bile %90'ın üzerinde çoklu ilaca dirençli izolatlar saptanmaktadır (12).

Gammaproteobacteria alt sınıfı, Moraxellaceae ailesi içerisinde yer alan *Acinetobacter* cinsi bakteriler; oksidaz negatif, non-hemolitik ve non-fermentatif özellikte olup, kültür ortamında üremek için aerobik koşulları tercih ederler. Optimum üreme dereceleri birçok tür için 20-35°C, klinik olarak önemli türler için ise 37°C ve üzeridir (13). *Acinetobacter* cinsi'nin sınıflandırılmasında ilk olarak 1986 yılında moleküler yöntemler (DNA-DNA hibridizasyon) kullanılmış ve

bu cins içerisinde 12 farklı genomik tür bulunduğu gösterilmiştir (14). Daha sonraki yıllarda; ilk izolatlardan fenotipik olarak farklı ve proteolitik özellikteki *Acinetobacter* türleri olan genomik tür 13, 14, 15 ve 17 (15) ile *Acinetobacter* genomik tür 13TU, 14TU ve 15TU tanımlanmıştır (16).

Acinetobacter cinsi bakterilerin taksonomisinde son 30 yıldan bu yana DNA-temelli metodların yaygın kullanımı sayesinde önemli değişiklikler kaydedilmiştir. Tanımlanan tür sayısı her geçen gün artmakta olup sadece 2014 yılından bu yana 18 yeni *Acinetobacter* türü bu cinsin içerisine dahil edilmiştir. Bugün için *Acinetobacter* cinsi içerisinde 49 tür bulunmaktadır (17, 18).

Acinetobacter izolatlarının cins düzeyinde tanımlanma için fenotipik özellikleri yeterlidir. Bununla birlikte mevcut konvansiyonel veya ticari biyokimyasal yöntemler ile tür düzeyinde tanımlanamazlar (1, 14). Özellikle klinik olarak önemli türler olan *A. baumannii* (genomik tür 2), *Acinetobacter nosocomialis* (genomik tür 13TU), *Acinetobacter pittii* (genomik tür 3) ve *Acinetobacter calcoaceticus* (genomik tür 1) biyokimyasal testler ile ayrılmazlar. Bu nedenle Gerner-Smidt ve arkadaşları genotipik olarak farklı fakat fenotipik olarak hemen hemen ayırt edilemez düzeyde benzer oldukları için bu dört bakteri türünü *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* complex (ABC) başlığı altında toplamıştır (19).

Acinetobacter baumannii dünyanın tüm bölgelerinde, *A. pittii* ve *A. nosocomialis* Güney-Doğu Asya ve *A. pittii* ise İskandinav ülkelerinde izole edilen en yaygın türlerdir (20, 21, 22).

A. calcoaceticus- *A. baumannii* complex'e son yıllarda iki yeni patojenik tür olan *Acinetobacter seifertii* (23) ve *Acinetobacter djikshoorniae* (17) eklenmiştir. İlk olarak 1993 yılında Gerner-Smidt ve Tjernberg, klinik örneklerden DNA-DNA hibridizasyon yöntemini kullanarak ABC içerisinde yer alan iki yeni genomik tür tanımlamışlardır. Araştırmacılar, bu türlerden ilkinin *A. nosocomialis* ikincisinin ise *A. calcoaceticus* ve *A. pittii* ile yakın ilişkili olduğunu göstermişlerdir (24).

Nemec ve arkadaşları, 2011 yılında, bu türleri 'genomik tür 13TU ile yakın ilişkili' ve 'genomik tür 1-3' grupları olarak adlandırmışlardır (25).

Aynı araştırmacılar 'genomik tür 13TU ile yakın ilişkili türün klinik olarak uyumlu ve patojenik özellikte olduğunu rapor etmiş ve *Acinetobacter seifertii* olarak adlandırmışlardır (23).

Acinetobacter djikshoorniae ise *A. pittii* ile yakın ilişkili diğer bir patojen tür olarak Cosgaya ve arkadaşları tarafından *rpoB* gen sekans analizi ve multilocus sequence typing (MLST) metodları kullanılarak tanımlanmıştır (17). *A. djikshoorniae*'nin model suşu (JVAP01^T) 2009 yılında Türkiye'de bir üriner sistem örneğinden izole edilmiştir. JVAP01^T izolatının non-*A. baumannii* türleri arasında yaygın olan konjugatif bir plazmide lokalize *bla_{NDM-1}* geni taşıdığı ve bu nedenle *Acinetobacter* türleri arasında yayılımında önemli bir rol oynayabileceği rapor edilmiştir.

JVAP01^T izolatı β-laktam antibiyotiklere ve kanamisine dirençlidir (26). Son olarak, Fernández-Orth ve arkadaşları tarafından JVAP01^T izolatının taslak genom dizilimi yayınlanmıştır (27).

A. calcoaceticus-A. baumannii complex içerisindeki en önemli klinik tür olan *A. baumannii*; antibiyotik direnci, yayılma potansiyeli ve mortalite hızı ile dikkat çeken, özellikle yoğun bakım ünitelerinde sorun kaynağı olan bir mikroorganizmadır. *A. baumannii*'nin klinik önemi, özellikle son 20 yıl içerisinde, birden fazla direnç genini yapısında bulundurma veya kazanma konusundaki kayda değer yeteneğine atfedilmektedir.

Bu nedenle; Dünya Sağlık Örgütü *A. baumannii*'yi 'yeni antimikrobiyallere ihtiyaç' listesinde en üst sıraya almıştır (28). Bununla birlikte son yıllarda *A. nosocomialis* ve *A. pittii* türlerinin de gittikçe artan oranlarda hastane kaynaklı salgınlara neden olduğu rapor edilmektedir (29, 30, 31,32).

Acinetobacter cinsi içerisindeki türlerin antibiyotik duyarlılık profilleri ve klinik önemleri büyük farklılıklar göstermektedir. *Acinetobacter* türlerine karşı antimikrobiyal direnç gelişiminin en az seviyede tutulabilmesi ve gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanabilmesi için *Acinetobacter* türleri düzeyinde tanımlanmaları kritik öneme sahiptir. Bugün için; *Acinetobacter* cinsinin tür düzeyinde ayrımı için; RNA polimeraz β-subunit (*rpoB*) geni, DNA giraz B (*gyrB*) geni sekans analizi ve/veya multilocus sequence analysis (MLSA) altın standard moleküler metodlar olarak kabul edilmektedir (33, 34,17).

Acinetobacter baumannii'ye spesifik intrinsik *bla_{OXA-51-like}* genlerinin PCR yöntemi ile gösterilmesi yalnızca bu türün identifikasyonu için kullanılabilir basit ve güvenilir bir yöntemdir.

Ancak *A.baumannii*'nin tüm izolatları için *bla_{OXA-51-like}* genlerinin varlığı tartışmalı bir konudur ve bazı varyant izolatlar saptanamayabilmektedir (35). Ayrıca *A.nosocomialis* ve 'genomik tür 13TU ile yakın ilişkili' izolatlarda plazmide lokalize *bla_{OXA-51-like}* gen varlığı gösterilmiştir ve horizontal gen transferi ile *A.baumannii* dışındaki türlerin de bu geni kazanabileceği rapor edilmiştir (36). Bununla birlikte; Wang ve arkadaşları, *bla_{OXA-51-like}* gen pozitif 2197 *A. baumannii* suşunun yalnızca birinde ISAb19 göstermiş, buna karşın 385 non-*A.baumannii* suşunun hiç birinde *bla_{OXA-51-like}* bulamamışlardır (37).

Acinetobacter baumannii'nin tür ayırımında kullanılan diğer yöntemler; amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) (38,39), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) (40), ve Matris assisted lazer desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)'dur (41,42,43). MALDI-TOF/MS ile yapılan bakteri tanımlamasının, cihazın veritabanı ile doğrudan ilişkili ve bu veritabanı ile sınırlı olduğu, hızla değişen taksonomi ve eklenen yeni türlerin veritabanlarında güncellenmiş olup olmasının yöntemin duyarlılığını etkileyeceği akılda tutulmalıdır.

SONUÇ

Acinetobacter türlerinin yeni direnç genleri kazanabilme yetenekleri ve tüm dünyada özellikle bazı seçilmiş klonların yayılması sonucu bu bakterilerin antibiyotiklere karşı dirençlerinde dramatik bir artış göze çarpmaktadır.

Örneğin, dünyanın farklı bölgelerindeki hastane salgınlardan izole edilen *A.baumannii* suşlarının Avrupa klonu (international clon) I-III ile birkaç farklı klonal soydan geldiği ve bunların yüksek antibiyotik direnci yönünden seçilmiş klonlar olduğu rapor edilmektedir (44, 45, 46, 47, 48,49). Son yıllarda *A.calcoaceticus-A. baumannii complex* içerisindeki bulunan dört türe iki yeni tür daha eklenmiştir. Dahası, *A. baumannii* dışındaki diğer türlerin de hastane ortamlarında yaygın olarak saptanmasının yanı sıra bu türlerin son seçenek antimikrobiyallere karşı dirençli olmaları endişe vericidir (50,51).

Acinetobacter türlerine karşı antimikrobiyal direnç gelişimini en az seviyede tutabilmek için izolatların tür düzeyinde güvenilir yöntemler kullanılarak tanımlanmaları, uygun antibiyotiklerin kullanılması ve kesintisiz enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması kritik öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- Lynch JP 3rd, Zhanell GG, Clark NM. Infections Due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU: Treatment Options. *Semin Respir Crit Care Med*. 2017; Jun;38(3):311-325. doi: 10.1055/s-0037-1599225.
- Nowak, P., Paluchowska P. *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance - role of carbapenemases. *Folia Histochem Cytobiol*. 2016;54(2), 61-74.
- Cisneros, J.M., Rodríguez-Baño J., Fernández-Cuenca F. Et al. Spanish Group for Nosocomial Infection (GEIH) for the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology(SEIMC). Risk factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Spain: a nationwide study. *Clin Microbiol Infect*. 2005; 11(11), 874-9.
- Sheng, W.H., Liao C.H., Lauderdale T.L., Ko W.C., et al. A multicenter study of risk factors and outcome of hospitalized patients with infections due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. 2010; *Int J Infect Dis*, 14(9), e764-9.
- Ng, T.M., Teng C.B., Lye D.C., et al. A multicenter case-control study for risk factors and outcomes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Infect. Control Hosp*. 2014; *Epidemiol*, 35(1), 49-55.
- Aydın, M., Ergönül Ö., Azap A. Et al. Turkish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Healthcare-related Infections Study Group, Turkey. Rapid emergence of colistin resistance and its impact on fatality among healthcare-associated infections. 2018 ; *J Hosp Infect*, 98(3), 260-263.
- Cai, Y., Chai D., Wang R., Liang B., Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67(7), 1607-15.
- Doi, Y., Murray G.L., Peleg A.Y. *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance-treatment options. *Semin Respir Crit Care Med*, 2015; 36, 85-98.
- Go, E.S., Urban C., Burns J. Et al. Clinical and molecular epidemiology of acinetobacter infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet*, 1994;12, 344(8933):1329-32.
- Lin, M.F., Lan C.Y. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World J Clin Cases*, 2014; 16;2(12), 787-814.
- Lee, C.R., Lee J.H., Park M. Et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017; 13, 7:55. Lob, S.H., Hoban D.J., Sahm D.F., Badal E. Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*, 2016; 47(4), 317-23.
- Versalovic, J., Carroll, K.C., Funke, G., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Warnock(Editörler). *Manual of Clinical Microbiology*. In: Vaneechoutte, M., Dijkshoorn, L., Nemec, A., Kampfer, P., Wauters, G. *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella, an other Nonfermentative Gram-Negative rods*. Washington DC: ASM press, D.W. 2011.
- Bartual, S.G., Seifert H., Hippler C. Et al. F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, 2005;43(9), 4382-90. Erratum in: *J Clin Microbiol*. 2007;. Jun;45(6):2101.
- Bouvet, P.J., Jeanjean S. Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res Microbiol*, 1989 ; 140(4-5), 291-9.
- Tjernberg, I., Ursing J. Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. *APMIS*, 1989; 97(7), 595-605.
- Cosgaya, C., Marí-Almirall M., Van Assche A. Et al. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2016; 66(10), 4105-4111.
- Marí-Almirall, M., Cosgaya C., Higgins P.G. et al. MALDI-TOF/MS identification of species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group revisited: inclusion of the novel *A. seifertii* and *A. dijkshoorniae* species. *Clin Microbiol Infect*, 2017; 23(3), 210.e1-210.e9.
- Gerner-Smidt, P., Tjernberg I., Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. 1991; *J Clin Microbiol*, 29(2), 277-82.
- Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M. Et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *J Infect*. 2012; Mar;64(3):282-90.
- Wang X, Chen T, Yu R, Lü X, Zong Z. *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* among clinical isolates of the *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex in Sichuan, China. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Jul;76(3):392-5.
- Karah N, Haldorsen B, Hegstad K et al; Norwegian Study Group of *Acinetobacter*. Species identification and molecular characterization of *Acinetobacter* spp. blood culture isolates from Norway. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Apr;66(4):738-44.

- 22.** Nemeč, A., Krizova L., Maixnerova M. Et al. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2015; 65(Pt 3), 934-42.
- 23.** Gerner-Smidt, P., Tjernberg I. *Acinetobacter* in Denmark: II. Molecular studies of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *APMIS*. 1993 ; 101(11), 826-32.
- 24.** Nemeč, A., Krizova L., Maixnerova M. Et al. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Res Microbiol*, 2011; 162(4), 393-404.
- 25.** Espinal, P., Mosqueda N., Telli M. Identification of NDM-1 in a Putatively Novel *Acinetobacter* Species ("NB14") Closely Related to *Acinetobacter pittii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 ; 59(10), 6657-60.
- 26.** Fernández-Orth D, Cosgaya C, Telli M et al. Draft Genome Sequence of JVAP01T, the Type Strain of the Novel Species *Acinetobacter dijkshoorniae*. *Genome Announc*. 2017 Jan 12;5(2). pii: e01480-16.doi: 10.1128/genomeA.01480-16. PubMed PMID: 28082506; PubMed Central PMCID:PMC5256222.)
- 27.** World Health Organization. "Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: WHO; 2017" http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf. Son erişim tarihi: 25 07 2018.
- 28.** Boo, T.W., Walsh F., Crowley B.. "Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in an Irish university hospital: predominance of *Acinetobacter* genomic species 3. *J Med Microbiol*, 2009; 58(Pt 2), 209-16.
- 29.** Lee, H.Y., Chen C.L., Wu S.R. Risk factors and outcome analysis of *Acinetobacter baumannii* complex bacteremia in critical patients. *Crit Care Med*, 2014; 42(5), 1081-8.
- 30.** Chusri, S., Chongsuvivatwong V., Rivera J.I. et al. Clinical outcomes of hospital-acquired infection with *Acinetobacter nosocomialis* and *Acinetobacter pittii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014; 58(7), 4172-9.
- 31.** Wang, J., Ruan Z., Feng Y. Et al. Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. ; *PLoS One*, 2014; 13:9(8), e104882.
- 32.** La Scola, B., Gundi V.A., Khamis A. Et al. Sequencing of the *rpoB* gene and flanking spacers for molecular identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol*, 2006 ; 44(3), 827-32.
- 33.** Higgins, P.G., Lehmann M., Wisplinghoff H. Et al. *gyrB* multiplex PCR to differentiate between *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter* genomic species 3. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(12), 4592-4.(b)
- 34.** Turton, J.F., Woodford N., Glover J et al. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*, 2006 ; 44(8), 2974-6.
- 35.** Lee, Y.T., Kuo S.C., Chiang M.C. et al. Emergence of carbapenem-resistant non-*baumannii* species of *Acinetobacter* harboring a blaOXA-51-like gene that is intrinsic to *A. baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(2), 1124-7.
- 36.** Wang, J., Ruan Z., Feng Y. Et al. Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. *PLoS One*, 2014;13:9(8), e104882.
- 37.** Vaneechoutte, M., Dijkshoorn L., Tjernberg I. Et al. Identification of *Acinetobacter* genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *J Clin Microbiol*, 1995 ; 33(1), 11-5.
- 38.** Dijkshoorn, L., Van Harselaar B., Tjernberg I. Evaluation of amplified ribosomal DNA restriction analysis for identification of *Acinetobacter* genomic species. *Syst Appl Microbiol*, 1998; 21(1), 33-9.
- 39.** Sousa C, Silva L, Grosso F, et al. Discrimination of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex species by Fourier transform infrared spectroscopy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33:1345–1353.
- 40.** Šedo O, Nemeč A, Křížová L, et al. Improvement of MALDI-TOF MS profiling for the differentiation of species within the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Syst Appl Microbiol*. 2013; 36:572–578.
- 41.** Hsueh P-R, Kuo L-C, Chang T-C, et al. Evaluation of the Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of blood isolates of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol* 2014; 52:3095–3100.
- 42.** Alvarez-Buylla A, Culebras E, Picazo JJ. Identification of *Acinetobacter* species: is Bruker biotyper MALDI-TOF mass spectrometry a good alternative to molecular techniques? *Infect Genet Evol*. 2012;12:345–349.
- 43.** Dijkshoorn, L., Aucken H., Gerner-Smidt P., Janssen P., Kaufmann M.E., Garaizar J., Ursing J., Pitt TL. "Comparison of outbreak and nonoutbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods. *J Clin Microbiol*, 1996; 34(6), 1519-25.
- 44.** Van Dessel, H., Dijkshoorn L., van der Reijden T. Et al. Identification of a new geographically widespread multi-resistant *Acinetobacter baumannii* clone from European hospitals. *Res Microbiol*, 2004; 155(2), 105-12.
- 45.** Dijkshoorn, L., Nemeč A., Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, 2007; 5(12), 939-51.
- 46.** Metan, G., Sariguzel F., Sumerkan B. Et al. Clonal diversity and high prevalence of OXA-58 among *Acinetobacter baumannii* isolates from blood cultures in a tertiary care centre in Turkey. *Infect Genet Evol*. 2013 ;14, 92-7. Erratum in: *Infect Genet Evol*, 2013; 16, 447-8.

- 47.** Castanheira, M., Costello S.E., Woosley L.N. et al. Evaluation of clonality and carbapenem resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex and Enterobacteriaceae isolates collected in European and Mediterranean countries and detection of two novel β -lactamases, GES-22 and VIM-35. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(12), 7358-66.
- 48.** Ahmed, S.S., Alp E., Ulu-Kilic A. Et al. Spread of carbapenem-resistant international clones of *Acinetobacter baumannii* in Turkey and Azerbaijan: a collaborative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016 ; 35(9), 1463-8.
- 49.** Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *J Infect.* 2012 Mar; 64(3):282-90. doi: 10.1016/j.jinf.2011.12.008. Epub 2011 Dec 20. PubMed PMID: 22209744.
- 50.** Zander E, Fernández-González A, Schleicher X et al. Worldwide dissemination of acquired carbapenem-hydrolysing class D β -lactamases in *Acinetobacter* spp. other than *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents.* 2014 Apr; 43(4):375-7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.012. Epub 2014 Feb 12. PubMed PMID: 24612983.)