



Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos

Andrés Opazo C., Sergio Mella M., Mariana Domínguez Y., Helia Bello T. y Gerardo González R.

Multi-drug efflux pumps and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*

Bacterial multi-drugs systems contribute to the development of multi-resistance patterns of *Acinetobacter baumannii*, a nosocomial pathogen of increasing importance due to its emerging resistance to carbapenems. The multi-resistance phenomena is generated by a combination of mechanisms, one of which the efflux pump system. Many of these multiresistant isolates of *A. baumannii* harbor genes for the AdeABC multi-drug efflux system, related with resistance to various groups of antibacterial agents, including tygeciline and meropenem. Inhibition of these systems would allow to increase the efficacy of this antimicrobial. This review focuses on the multi-drug efflux pump system of *A. baumannii* with special emphasis in the AdeABC system.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, multi-resistance, efflux pumps, nosocomial acquired infections, Chile.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, multiresistencia, bombas de expulsión, infecciones nosocomiales, Chile.

Universidad de Concepción, Chile

Facultad de Ciencias Biológicas
Departamento de Microbiología
(AOC, MDY, HBT, GGR)
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina Interna
(SMM)

Los autores declaran no tener conflictos de interés

Recibido: 1 de julio de 2009

Aceptado: 7 de septiembre de 2009

Correspondencia a:

Gerardo González R
Grupo de Investigación en
Resistencia a Antibióticos (GIRA)
ggonzal@udec.cl

Acinetobacter baumannii es un bacilo gramnegativo no fermentador de glucosa, clasificado como un patógeno oportunista involucrado frecuentemente en brotes infecciosos ocurridos en unidades de cuidados intensivos^{1,2}. Este microorganismo es uno de los principales causantes de bacteriemia, neumonía e infecciones del tracto urinario en pacientes hospitalizados³. La mortalidad de tales infecciones es alta. La tasa de mortalidad cruda asociada a bacteriemia es de alrededor de 52% y la asociada a neumonía está entre 23 y 73%⁴. Durante la última década, el número de cepas aisladas de *A. baumannii* multi-resistentes a los antimicrobianos se ha incrementado considerablemente^{3,5}. Existen varios factores que favorecen el aumento de la multi-resistencia en *A. baumannii*, entre estos el hecho que las especies de *Acinetobacter* pueden ser encontradas en objetos animados e inanimados⁴. En el caso de *A. baumannii*, éste puede desarrollarse en superficies secas⁷ y durante brotes infecciosos se ha detectado su presencia en ropa de cama, muebles y equipos hospitalarios lo cual enfatiza el rol del ambiente hospitalario como reservorio para *A. baumannii* durante brotes infecciosos^{5,6}. Esta capacidad de sobrevivencia se debe a los bajos requerimientos nutricionales de *A. baumannii* para crecer y a su capacidad de multiplicarse en un amplio rango de temperatura y pH⁸. Por otro lado, *Acinetobacter* sp es parte de la microbiota de la piel y, de acuerdo a Diomed (2005), hasta 31% del personal de salud es portador de bacilos gramnegativos en sus manos, de los cuales *Acinetobacter* sp es el segundo

microorganismo (7,5%) más comúnmente aislado⁴. Otro factor que favorece la aparición de multi-resistencia es la capacidad de adquirir y acumular genes de resistencia⁹. En el proceso de adquisición de estos genes, son de gran importancia los elementos genéticos móviles, tales como plásmidos, transposones e integrones¹⁰. De acuerdo a González y cols, las cepas de *A. baumannii* aisladas desde hospitales chilenos y que poseían integrones presentaron los perfiles de resistencia más amplios¹⁰. Finalmente, la membrana externa de *A. baumannii* posee una baja permeabilidad a ciertos antimicrobianos y, además, presenta bombas de expulsión que se encuentran expresadas de manera constitutiva, lo cual se traduce en una menor susceptibilidad a los antimicrobianos, lo que sumado a otros mecanismos de resistencia, tales como la producción de enzimas como β -lactamasas, genera un fenotipo de multi-resistencia². Adicionalmente, se han descrito alteraciones en las proteínas de membrana externa de *A. baumannii* que provocan una disminución de la susceptibilidad a antimicrobianos¹¹. Por ejemplo, la resistencia a carbapenémicos se ha asociado a la pérdida de proteínas de membrana externa cuyo peso oscila entre 33 y 36 kDa¹². Sin embargo, en el año 2002 se describió que la pérdida de una proteína de membrana externa de 29 kDa, denominada CarO, contribuye a la resistencia a carbapenémicos¹², aunque el rol fisiológico de dicha proteína se ha relacionado con la captación de L-ornitina y otros aminoácidos básicos¹³. De manera importante, se ha asociado la presencia y expresión de bombas de expulsión multidrogas con la resistencia



a distintos grupos de antimicrobianos^{3,14}. El objetivo de la siguiente revisión es analizar la contribución a la multi-resistencia antimicrobiana de las bombas de expulsión multidrogas encontradas en *A. baumannii* y su consiguiente implicancia clínica en el tratamiento de infecciones causadas por este patógeno.

Bombas multidrogas

A finales de la década de 1980 se descubrieron los primeros sistemas de expulsión activa en procariontes (tanto en bacterias gramnegativas como grampositivas)¹⁵. Se denomina bombas multidrogas a una serie de transportadores que son capaces de expulsar, de manera relativamente inespecífica, un amplio número de sustratos no relacionados estructuralmente¹⁶. Las bombas multidrogas corresponden a una clase de transportadores involucrados en la captación de nutrientes esenciales y iones, excreción de productos del metabolismo bacteriano y de sustancias tóxicas, además de participar en procesos de comunicación entre células y el medio ambiente¹⁷, y se encuentran clasificados en cinco grandes familias. Dos de estas corresponden a las superfamilias conocidas como ABC (*ATP-binding cassette*)¹⁸ y MFS (*major facilitator superfamily*)^{8,19}. Las otras corresponden a las familias RND (*resistance-nodulation-cell division*)²⁰, MATE (*multidrug and toxic compound extrusion*)¹⁷ y SMR (*small multidrug resistance*)²¹. Una diferencia importante entre las distintas familias corresponde a la fuente de energía para expulsar distintos sustratos. Los transportadores de la superfamilia ABC son dependientes de la hidrólisis de ATP para expulsar los distintos compuestos^{8,18}; en cambio, los transportadores de la familia MATE utilizan un gradiente electroquímico otorgado por Na^+ o H^+ ^{16,22}. Por otro lado, las bombas multidrogas pertenecientes a la superfamilia MFS y a las familias RND y SMR utilizan la fuerza protón-motriz para ejercer su función^{16,23}. De acuerdo a Vila y cols⁸, el principal grupo de bombas multidrogas involucrados en la multi-resistencia a antimicrobianos en *A. baumannii* corresponde a aquellas que utilizan la fuerza protón-motriz como fuente de energía^{8,16,23}.

Superfamilia MFS. Las bombas multidrogas pertenecientes a la superfamilia MFS consisten en sistemas compuestos por una sola proteína de membrana, presentes tanto en eucariontes como en procariontes, transportando sustratos a través de la membrana citoplasmática, de acuerdo a tres mecanismos: *simporte*, *antiporte* y *uniporte*²³ (Figura 1). El proceso de *simporte* corresponde al transporte de dos o más tipos de sustratos en la misma dirección simultáneamente, el *antiporte* representa el transporte de dos o más tipos de sustratos en direcciones contrarias simultáneamente, mientras que

el *uniporte* es el transporte de un solo tipo de sustrato a través de la membrana²⁴. En el caso de *A. baumannii* se han identificado principalmente tres bombas multidrogas pertenecientes a esta superfamilia: los sistemas Tet(A), Tet(B) y CmlA. Los sistemas Tet(A) y Tet(B) expulsan tetraciclinas intercambiando un protón por un complejo tetraciclina- Mg^{2+} ²⁵ y cuyos genes han sido detectados tanto en muestras clínicas como en muestras aisladas desde ambientes acuáticos²⁶. El sistema Tet(A) otorga resistencia sólo a tetraciclina, mientras que el sistema Tet(B) otorga resistencia a tetraciclina y minociclina^{8,25}. Un aspecto importante a tener en consideración corresponde al ambiente genético de dichos genes. Por ejemplo, el gen *tet(A)* ha sido detectado en cepas clínicas de *A. baumannii*, como parte de un transposón relacionado con la familia Tn21²⁶, lo cual se relaciona con una alta probabilidad de diseminación horizontal. Por otro lado, el gen *cmlA* que codifica una bomba de expulsión que otorga resistencia a cloranfenicol, ha sido identificado en la cepa de *A. baumannii* AYE, dentro de una isla genómica de 86 kb, denominada AbaR1, la cual a su vez contiene genes que otorgan resistencia a distintos grupos de antimicrobianos, además de genes de resistencia a metales pesados como arsénico y mercurio, entre otros²⁷.

Familia MATE. Las bombas de expulsión pertenecientes a este grupo están compuestas por una sola proteína de membrana, la cual posee 12 dominios transmembrana (Figura 1)^{16,28}. En *A. baumannii* se ha identificado a la bomba de expulsión AdeM como un representante de esta familia²², capaz de reconocer un amplio rango de sustratos, tales como norfloxacin, ofloxacina, ciprofloxacina, gentamicina, 4'-6-diamino-2-fenilindol (DAPI), triclosán y bromuro de etidio, entre otros²². Esta bomba utiliza la fuerza protón-motriz como fuente de energía, a diferencia de otras bombas de la misma familia que utilizan el gradiente de Na^+ ²².

Familia RND. De acuerdo a Sánchez y cols¹⁶, la mayoría de las bombas de expulsión multidrogas de bacilos gramnegativos pertenece a la familia RND. Estas bombas están formadas por tres componentes: una proteína transportadora ubicada en la membrana interna, una proteína accesoria periplasmática o proteína de fusión de membrana y una proteína de membrana externa o porina²⁹⁻³¹. Los genes que codifican a los distintos componentes de estas bombas de expulsión se encuentran en el cromosoma bacteriano, generalmente en forma de operones³². La importancia de estas bombas de expulsión radica en que poseen un amplio rango de sustratos, por lo que son capaces de contribuir en la resistencia a una gran cantidad de antimicrobianos no relacionados estructuralmente, y por ello se clasifican como sistemas multidrogas inespecíficos³³. En el año 2001 se identificó, en una cepa



multi-resistente de *A. baumannii*, una bomba de expulsión perteneciente a esta familia, denominada AdeABC³⁰. Esta bomba AdeABC se encuentra constituida por una proteína de fusión de membrana (AdeA), una proteína transportadora multidroga (AdeB) y una proteína de membrana externa (AdeC) (Figura 2)^{5,29}. En los últimos años se ha asociado esta bomba en la contribución a la resistencia frente a varias clases de antimicrobianos, entre los que se encuentran tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, cefotaxima, gentamicina, kanamicina y tigeciclina^{30,31,34}. De manera importante, en el año 2005 se relacionó a la bomba AdeABC con una menor susceptibilidad frente a carbapenémicos¹⁴. En ese trabajo se informa del aislamiento de una cepa con una mutación puntual en un gen regulador de la expresión de AdeABC, lo que se traduce en la sobreexpresión de la bomba, disminuyendo a la mitad la CIM de meropenem e imipenem, en comparación con los valores de CIM de la cepa salvaje^{3,14}. Sin embargo, en el año 2008, Huang y cols³⁵, asociaron esta bomba directamente con la resistencia a meropenem. Estos investigadores estudiaron dos cepas multi-resistentes, genéticamente no relacionadas, una de las cuales era productora de la enzima OXA-23, mientras que la otra no sintetizaba esta carbapenemasa. En esta última cepa, se determinó que el fenotipo de resistencia era debido solamente a la sobreexpresión de la bomba AdeABC.

Contribución de AdeABC en la resistencia

Como ya se ha mencionado en esta revisión, un factor importante en la contribución de la bomba AdeABC en la resistencia a antimicrobianos, es su nivel de expresión. Un ensayo fenotípico con el cual es posible detectar este mecanismo de resistencia, corresponde a la utilización de algún protón-ionóforo como carboxilciadina m-clorofenilhidrazona (CCCP)³⁶, phe-arg-β-naftilamida (MC 207,110)³⁷ o reserpina³⁸, como inhibidores de los sistemas de expulsión. Estas moléculas producen la interrupción del gradiente de protones en la membrana, por lo cual los antimicrobianos no pueden ser expulsados por la bomba AdeABC². Si la presencia del protón-ionóforo produce la disminución de a lo menos 4 veces la CIM del antimicrobiano se considera que existe una contribución del mecanismo de expulsión en la resistencia al agente antibacteriano^{35,37}. Además, es importante considerar que la expresión de los genes *adeABC* se encuentra regulada por un sistema de dos componentes, denominado AdeRS (Figura 3)³¹. En este sistema, AdeS corresponde a una proteína quinasa, la cual, en respuesta a estímulos del medio externo (como por ejemplo la presencia de antimicrobianos), se auto-fosforila en un residuo de

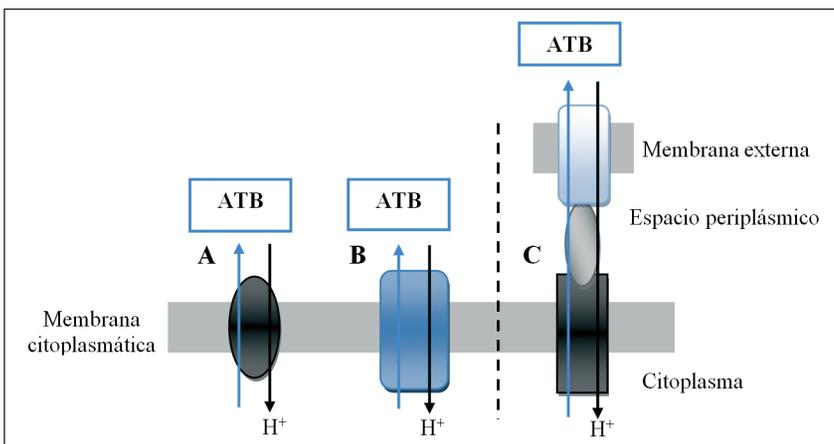


Figura 1. Representación esquemática de las distintas bombas de expulsión involucradas en la multi-resistencia de *Acinetobacter baumannii*. **A.** Bomba de expulsión de la superfamilia MFS. **B.** Bomba de expulsión de la familia MATE. **C.** Bombas de expulsión de la familia RND. ATB: Antibiótico. Las bombas de la superfamilia MFS y de la familia MATE están compuestas por una sola proteína de membrana, las cuales mediante un mecanismo de antiporte ingresan protones y expulsan moléculas antibióticas. Las bombas de la familia RND están compuestas por tres proteínas distintas: una proteína transportadora ubicada en la membrana interna, una proteína de membrana externa o porina, la cual se ubica en la membrana externa y por donde se elimina finalmente el antimicrobiano hacia el medio extracelular.

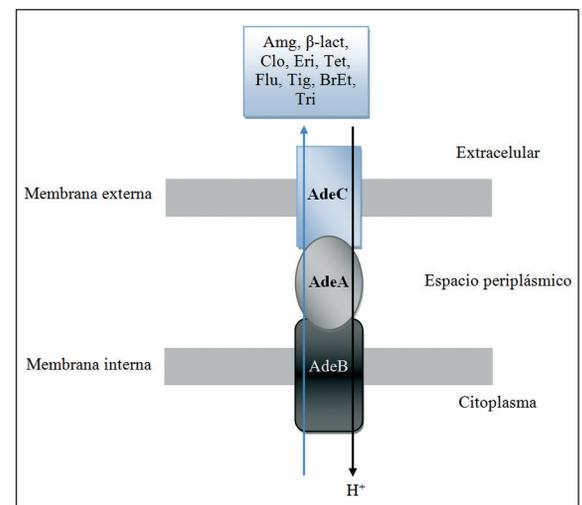
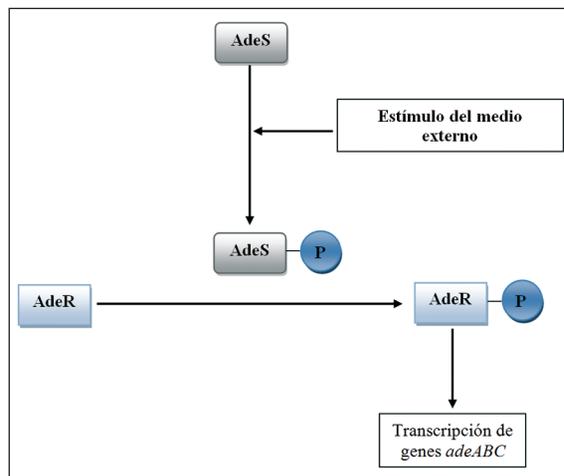


Figura 2. Representación esquemática de la bomba multidroga AdeABC de *Acinetobacter baumannii*. Amg: aminoglucósidos, β-lact: β-lactámicos, Clo: cloranfenicol, Eri: eritromicina, Tet: tetraciclina, Flu: fluoroquinolonas, Tig: tigeciclina, BrEt: bromuro de etidio, Tri: trimetoprim. La bomba AdeABC se encuentra constituida por la proteína AdeA, la cual corresponde a una proteína de fusión de membrana, AdeB que corresponde a la proteína transportadora multidroga y AdeC que representa a una proteína de membrana externa. Los distintos antimicrobianos son expulsados desde el interior celular mediante un mecanismo de antiporte en relación con los protones.



Figura 3. Representación esquemática del sistema AdeRS de *Acinetobacter baumannii*. P: Fosfato. AdeS corresponde a una proteína quinasa, la cual en respuesta a estímulos del medio externo, se auto-fosforila en un residuo de histidina. En seguida transfiere el grupo fosfato a un residuo de asparagina de la proteína AdeR, la que una vez fosforilada, promueve la transcripción de los genes *adeABC*.



histidina. En seguida transfiere el grupo fosfato a un residuo de asparagina de la proteína AdeR, la cual una vez fosforilada, promueve la transcripción de los genes *adeABC*^{29,31}.

Sistema de expulsión multidroga AdeIJK en *Acinetobacter baumannii*

Recientemente en el año 2008, se describió por primera vez una nueva bomba de expulsión perteneciente a la familia RND, denominada AdeIJK⁹. Mientras la bomba AdeABC se encuentra presente en cepas multi-resistentes de *A. baumannii*, la bomba AdeIJK se encuentra presente tanto en cepas susceptibles como resistentes, por lo cual representa un aporte a la resistencia intrínseca frente a algunos antimicrobianos³⁶. De forma importante, Lin y cols³⁶, pesquisaron tanto los genes *adeABC* como los genes *adeIJK* en cepas multi-resistentes. La bomba AdeIJK contribuye a la resistencia a algunos antimicrobianos β -lactámicos, cloranfenicol, tetraciclina y eritromicina y, en menor grado, a la resistencia a fluoroquinolonas, pero no se encuentra relacionada con la resistencia a azitromicina, lincosamida o rifampicina⁹.

Conclusiones

Acinetobacter baumannii posee diversos mecanismos de resistencia a antimicrobianos, tales como producción de enzimas, pérdida de porinas, alteración de moléculas blanco y expulsión de antimicrobianos^{2,3}. En los últimos años, el mecanismo de expulsión ha incrementado considerablemente su importancia, ya que el número de cepas resistentes a antimicrobianos que lo posee ha aumentado en todo el mundo. Debido a esto, es necesario un mayor conocimiento de este mecanismo, sobre todo por la capacidad que poseen dichos sistemas de expulsar una gran variedad de antimicrobianos no relacionados estructuralmente. Los inhibidores de bombas de expulsión pueden ser una alternativa de gran importancia para el tratamiento de infecciones causadas por *A. baumannii* y otras bacterias multi-resistentes. Sin embargo, las moléculas hasta ahora identificadas son tóxicas para el humano; la búsqueda de nuevos compuestos inhibitorios que no tengan efectos tóxicos permitiría aumentar la eficacia de la terapia antibacteriana.

Resumen

Los sistemas multidrogas bacterianos contribuyen al desarrollo del fenotipo de multi-resistencia presentado por cepas de *Acinetobacter baumannii*, patógeno intrahospitalario, que durante los últimos años ha incrementado su importancia por la creciente resistencia a carbapenémicos. El fenotipo de multi-resistencia está otorgado por la combinación de varios mecanismos de resistencia entre los cuales se encuentran estos sistemas de bombas de expulsión. El sistema multidroga AdeABC se ha detectado en muchas de estas cepas multi-resistentes de *A. baumannii* y, se ha relacionado con resistencia a diversos grupos de antimicrobianos, incluidos tigeciclina y meropenem. La inhibición de dichos sistemas multidrogas permitiría aumentar la eficacia de la terapia antimicrobiana. La siguiente revisión se enfoca en las bombas de expulsión multidrogas presentes en *A. baumannii*, con particular énfasis en el sistema AdeABC.



Referencias

- 1.- Bergogne-Berezin E, Towner K J. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9 (2): 148-65.
- 2.- Peleg A, Seifert H, Paterson D. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008; 21 (3): 538-82.
- 3.- Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanism and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 826-36.
- 4.- Diomedi A. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. Rev Chil Infect 2005; 22 (4): 298-320.
- 5.- Dijkshoorn L, Nemeč A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nat Rev Microbiol 2007; 5: 939-51.
- 6.- Martínez M A, Pinto M E, Giglio M S, Pommier J, Muñoz L M. Identificación y sensibilidad de *Acinetobacter* sp aislados en muestras clínicas y ambiente hospitalario. Rev Méd Chile 1992; 120: 1267-72.
- 7.- Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. J Clin Microbiol 1998; 36 (7): 1938-41.
- 8.- Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 1210-5.
- 9.- Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, Lambert T, Courvalin P. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52 (2): 557-62.
- 10.- González G, Mella S, Zemelman R, Bello H, Domínguez M. Integrones y *cassettes* genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antibacterianos. Rev Méd Chile 2004; 132: 619-26.
- 11.- Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L, Conejo M C, Ayala J, Perea E, Pascual A. Relationship between β -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 565-74.
- 12.- Limansky A, Mussi M A, Viale A. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. J Clin Microbiol 2002; 40 (12): 4776-8.
- 13.- Mussi M, Relling V, Limansky A, Viale A. CarO, an *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein involved in carbapenem resistance, is essential for L-ornithine uptake. FEBS Lett 2007; 581: 5573-8.
- 14.- Héritier C, Poirel L, Fournier PE, Claverie J M, Raoult D, Nordmann P. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49 (10): 4174-9.
- 15.- Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science 1994; 264: 382-8.
- 16.- Sánchez P. Sistemas MDR y resistencia a los antimicrobianos. Rev Esp Quimioterap 2003; 16 (2): 172-87.
- 17.- Zhi X, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. Drugs 2004; 62 (2): 159-204.
- 18.- Fath M, Kolter R. ABC transporters: Bacterial exporters. Microbiol Rev 1993; 57 (4): 995-1017.
- 19.- Pao S, Paulsen I, Saier M. Major facilitator superfamily. Microbiol Mol Biol Rev 1998; 62 (1): 1-34.
- 20.- Saier H, Tam R, Reizer A, Reizer J. Two novel families of bacterial membrane proteins concerned with nodulation, cell division and transport. Mol Microbiol 1994; 11 (5): 841-7.
- 21.- Brown M, Paulsen I, Skurray R. The multidrug efflux protein NorM is a prototype of a new family of transporters. Mol Microbiol 1999; 31: 393-5.
- 22.- Su X, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. AdeM, an H⁺-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family transporters. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49 (10): 4362-4.
- 23.- Paulsen I, Brown M, Skurray R. Proton-dependent multidrug efflux systems. Microbiol Rev 1996; 60 (4): 575-608.
- 24.- Law C, Maloney P, Wang D. Ins and outs of major facilitator superfamily antiporters. Annu Rev Microbiol 2008; 62: 289-305.
- 25.- Martí S, Fernández-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Rodríguez-Baño J, Bou G, et al. Prevalencia de los genes *tetA* y *tetB* como mecanismo de resistencia a tetraciclina y minociclina en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii*. Enferm Infect Microbiol Clin 2006; 24 (2): 77-80.
- 26.- Ribera A, Roca I, Ruiz J, Gibert I, Vila J. Partial characterization of a transposon containing the *tet(A)* determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2003; 52: 477-80.
- 27.- Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. PloS Genet 2006; 2 (1): 62-72.
- 28.- Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 20-51.
- 29.- Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zórawski M, Krawczyk M, Tryniszewska E. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*—the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. Folia Histochem Cytobiol 2008; 46 (3): 257-67.
- 30.- 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 2001; 45 (12): 3375-80.
- 31.- Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48 (9): 3298-304.
- 32.- Piddok L. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. Clin Microbiol Rev 2006; 19 (2): 382-402.
- 33.- Van Bambeke F, Balzi E, Tulkens P. Antibiotic efflux pumps. Biochem Pharmacol 2000; 60: 457-70.
- 34.- Ruzin A, Keeney D, Bradford P. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 1001-4.
- 35.- Huang L, Sun L, Xu G, Xia T. Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of *Acinetobacter baumannii* in a Chinese hospital. Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 62: 326-32.
- 36.- Lin L, Ling BD, Li XL. Distribution of the multidrug efflux pump genes, *adeABC*, *adeDE* and *adeIJK*, and class I integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex. Int J Antimicrob Agents 2009; 33 (1): 27-32.
- 37.- Pannek S, Higgins P, Steinke P, Jonas D, Akova M, Bohnert J, et al. Multidrug efflux inhibition in *Acinetobacter baumannii*: comparison between 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenyl-arginine- β -naphthylamide. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 970-4.
- 38.- Sinha M, Srinivasa H. Mechanism of resistance to carbapenems in meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from clinical samples. Indian J Med Microbiol 2007; 25 (2): 212-5.