

Revisión de tema

Acinetobacter baumannii: Resistencia y Virulencia mediada por el Sistema de Secreción Bacteriano Tipo IV.

Acinetobacter baumannii: Resistance and Virulence mediated through bacterial type IV secretion system

Andrés ZÚÑIGA-BAHAMON¹, Fabián TOBAR¹, Juan-Fernando DUQUE², Pedro MORENO³

1. Grupo de Investigación en Ciencias Básicas y Clínicas, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud Pontificia Universidad Javeriana (Cali, Colombia). 2. Grupo de Investigación en Biología Integrativa, Facultad de Salud de la Universidad del Valle (Cali, Colombia). 3. Grupo de Investigación en Bioinformática, Facultad de Ingeniería de la Universidad del Valle (Cali, Colombia).

RESUMEN

Introducción: Los sistemas de secreción bacterianos tipo IV tienen una variedad de funciones biológicas como el intercambio de material genético con otras bacterias y la translocación de ADN virulento, con sus proteínas efectoras, dentro de las células del huésped. *Acinetobacter baumannii* es un patógeno que causa infecciones en humanos y registra porcentajes altos de multiresistencia a fármacos.

Objetivo: Relacionar el conocimiento sobre los sistemas de secreción tipo IV con los patrones de resistencia y virulencia de *Acinetobacter baumannii*.

Materiales y Métodos: Se realizó una búsqueda en PMC (NCBI) utilizando un conjunto de palabras claves.

Resultados: De 133 artículos se analizaron 14 para establecer la relación entre los sistemas de secreción microbiano y la resistencia y virulencia de *A. baumannii*.

Conclusiones: Los sistemas de secreción bacterianos tipo IV presentes en *A. baumannii* son una pieza clave en el entendimiento de los patrones de virulencia y resistencia.

Palabras clave: Patogenicidad, sistema secreción Tipo IV (T4SS), *A. baumannii*, factores de virulencia, resistencia bacteriana a multifármacos (MDR), transferencia genética horizontal (HGT).

SUMMARY

Introduction: Type IV Bacterial Secretion Systems (TFSS) have a variety of biological functions such as the exchange of genetic material with other bacteria and virulent translocation of DNA with its effector proteins into host cells. *A. baumannii* is a pathogen that causes infections in humans and exhibits high rates of multidrug resistance to drugs.

Objective: To relate how type IV secretion systems is associated with patterns of resistance and virulence in *A. baumannii*.

Materials and Methods: Exhaustive search in PMC (NCBI) using a set of keywords was performed.

Results: The search yielded 133 articles. Fourteen articles were analysed to determine the bacterial secretion system and the resistant and virulence of *AA. baumannii*.

Conclusions: Systems of bacterial type IV secretion present in *A. baumannii* are crucial in understanding the patterns of virulence and resistance.

Key words: Pathogenicity, type four secretion system (T4SS), *A. baumannii*, virulence factors, multidrug bacterial resistance (MDR), horizontal gene transfer (HGT).

INTRODUCCIÓN:

El entendimiento de los mecanismos moleculares que subyacen como la base conceptual para la estudio y la prevención de las infecciones intrahospitalarias, cobran cada día mayor importancia debido al costo económico que supone el tratamiento de este tipo de infecciones para el sistema de salud (1). La consecuencia que supone el entendimiento de los mecanismos de infección se constituye en el concepto más relevante para los microbiólogos moleculares en la actualidad, así como para toda la comunidad de salud pública que directa o indirectamente tiene que generar servicios de salud relacionados con etiologías de carácter microbiano (2). Para encontrar mecanismos de prevención y de tratamiento que logren eliminar los microorganismos patógenos de manera efectiva; es necesario estudiar los mecanismos de patogenicidad que este emplea, con un hecho que complica aún más su eliminación, la resistencia a los antimicrobianos cuyos mecanismos apenas empezamos a entender.

Las bacterias Gram negativas, debido a la presencia de una membrana externa, son más resistentes a los antisépticos, desinfectantes y antibióticos que las Gram positivas (3). De los estudios de resistencia a los antimicrobianos en las bacterias Gram negativas, *A. baumannii* presenta de los más altos porcentajes de multi-resistencia (4). Con base en esta situación, existe una

Recibido para publicación: Julio 10 de 2013.

Aceptado para publicación: Octubre 01 de 2013.

Correspondencia:

A. Zúñiga, Pontificia Universidad Javeriana Cali.
azuniga@javerianacali.edu.co

preocupación en aumento en centros de atención y cuidado en nuestro país, como lo reportada un estudio hecho a 10 instituciones clínicas en Colombia (4). Este hecho genera un panorama oscuro, dado el escaso conocimiento que se tiene sobre el manejo de un brote de estas cepas dentro de pabellones hospitalarios (4).

Un mecanismo que está involucrado con la MDR bacteriana es la transferencia horizontal de genes (HGT). Este tipo de transferencia se considera una fuerza que moldea el contenido de los genomas microbianos dentro de las dinámicas del nicho ecológico del huésped (5). Dentro de estas dinámicas, los mecanismos de HGT cuentan con una velocidad de cambio y adquisición de elementos desde el ambiente, que puede llegar a ser potenciados a través de procesos como la duplicación y la mutación.

Otro factor a tener en cuenta en estas dinámicas son los factores de virulencia que se ha relacionado con la invasión y la colonización bacteriana de nuevos tejidos.

La secreción de proteínas a través de membranas es fundamental en los mecanismos de virulencia bacteriana y estos sistemas de secreción han estado en íntima relación HGT (5). Los sistemas de secreción han sido clasificados en ocho grupos (Tipo I al Tipo VIII) relacionados funcionalmente y de acuerdo a las dinámicas del nicho en el contexto ecológico bacteriano (6,7). Los sistemas de secreción (SS) del género *Acinetobacter* son comparables con los mecanismos de transformación natural propios de bacterias mesófilas y termófilas (8,9).

Hasta ahora los únicos estudios dirigidos para determinar los elementos involucrados en el mecanismo de secreción patogénico de *A. baumannii*, incluyen el análisis de sistemas de adquisición de hierro relacionado con el sideróforo en *A. baumannii* ATCC 19606 (10), unión y formación de biopelículas en superficies abióticas por parte *A. baumannii* usando un sistema de ensamblaje de Pili basado en chaperonas

(11); y los análisis de proteínas de membrana externa como la P38 como inductora de apoptosis de células epiteliales (12). Sin embargo, estos estudios no incluyen ni identifican elementos genéticos (genes de factores de virulencia) relacionados con las maquinarias proteicas del T4SS. Este sistema, se cree es responsable en gran parte de la patogénesis de este microorganismo.

El entendimiento de la función de los genes que codifican por factores de virulencia permitirá un mejor control y una política de suministro de antibióticos basados en un conocimiento de la biología *per se* del microorganismo (por ejemplo, si es multi-resistente o no) y no de una respuesta clínica inmediata sin el conocimiento de cómo realmente combatir el microorganismo.

Con base en la selección de artículos realiza a través de PubMed Central (NCBI) tenemos como objetivo relacionar el conocimiento sobre los sistemas de secreción tipo IV con los patrones de resistencia y virulencia de *A. baumannii*. Al cabo de esta revisión pondremos en perspectiva el futuro de la investigación en este campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Búsqueda de la literatura

Se utilizó la base de datos de Pub Med Central PMC del Instituto de Salud de los Estados Unidos (NCBI). Para la selección de la literatura se tuvieron en cuenta los siguientes criterios: 1. Estudios transversales, longitudinales y revisiones publicados en los últimos 20 años; 2. Estudios que tuvieran en cuenta patrones de resistencia y virulencia de *A. baumannii* mediados por sistemas de secreción bacteriana; 3. Los artículos transversales no hacen aclaraciones sobre la aleatorización de las cepas de *A. baumannii* ni de la aleatorización de las secuencias informativas analizadas. Dado que esta información es importante para conocer la representatividad de los datos a nivel poblacional los artículos se categorizaron en el nivel más bajo de evidencia científica.

Estrategia de Búsqueda

Se utilizando las siguientes palabras claves en el idioma inglés: Bacterial Secretion Systems AND *Acinetobacter baumannii* AND Virulence Factors AND Drug Resistance. Se exportaron las referencias en texto plano que fue editado y analizado en hojas de cálculo de excel.

Evaluación y selección de artículos

A todos los artículos arrojados, al utilizar la combinación de palabras claves, se les hizo lectura de sus títulos. Con base en esa información se realizó la primera eliminación de artículos. A los artículos que continuaron se les realizaron lectura del resumen, para con base en esto, hacer la segunda eliminación de artículos. Finalmente lo artículos para lectura completa fueron calificados en los siguientes aspectos: validez interna, validez externa y niveles de evidencia. Esto se hizo basado en el instrumento para la lectura crítica y la evaluación de estudios epidemiológicos transversales (22) y la plantilla para ayudar a entender estudios de cohortes (23).

RESULTADOS

Al utilizar las palabras claves se generaron 137 resultados. Después de la lectura por títulos fueron eliminados 116 artículos, quedando un total de 21 para la lectura de resúmenes. A realizar la lectura de resúmenes se eliminaron 3 artículos. Solo se realizó lectura completa de 17 artículos, de los cuales 10 eran transversales y uno era de cohorte. En la tabla 1 se hace un breve resumen de los resultados.

DISCUSIÓN

Resistencia Bacteriana Antimicrobiana

En los últimos 60 años y con reportes más detallados de la OMS desde el año 2001, la resistencia bacteriana se ha convertido en un problema emergente a nivel mundial (24). A pesar de que son organismos de la misma especie las cepas MDR tienen

Tabla 1. Variables y resultados de 10 artículos transversales y uno de cohortes

Autor / año	Población	n / número de zonas	Variables	Resultados
Vasil <i>et al</i> (13)	Cepas <i>P. aeruginosa</i> y plásmidos		Inhibición de los Sistema de secreción TAT	39 componentes fueron seleccionados N-fenil maleimida y Bay 11-7082 afectan la función de TAT
Echenique <i>et al</i> (14)	<i>A. baumannii</i>		Crecimiento <i>A. baumannii</i> Consumo 55Fe(III)	Presencia de proteínas regulas por hierro en el interior y exterior de la membrana
Sahu <i>et al</i> (15)	<i>A. baumannii</i>		Adherencia y formación del biofilm	PMT se asocia con la adherencia, la formación de biopelículas, y la probable liberación de eDNA en <i>A. baumannii</i>
Vallenet <i>et al</i> (16)	Cepas de <i>A. baumannii</i> A-YE y SDF	3 genomas	Genes compartidos	Las diferencias encontradas se asocian a los tres diferentes nichos ecológicos
Weber <i>et al</i> (17)	<i>Acinetobacter spp</i>		Variación de expresión y secreción de proteínas HP	Los sistemas de secreción tipo VI son importantes en los estilos de vida de <i>Acinetobacter spp</i>
Harding <i>et al</i> (18)	<i>A. baumannii</i> strain		Superficie expuesta	La motilidad asociada a la superficie única exhibida por muchos aislados clínicos no depende de la producción funcional de la PTF en la cepa M2.
Smith <i>et al</i> (19)	<i>A. baumannii</i>		Número de islas que contienen secuencias asociadas a virulencia	Rápida identificación de secuencias asociadas a virulencia
Sahl <i>et al</i> (20)	<i>A. baumannii</i>		Características genéticas	Regiones genómicas únicas para ambas cepas se encuentran en la superficie de la piel o en las heridas, denominados colonización aislada, y aquellos identificados a partir de fluidos corporales, denominadas cepas invasoras
Henry <i>et al</i> (21)	<i>A. baumannii</i>	Sangre, región perianal y herida	Expresión de genes	En respuesta a la pérdida total de LPS, <i>A. baumannii</i> altera la expresión de los sistemas de transporte y de la biosíntesis críticos asociados con la modulación la composición y la estructura de la superficie bacteriana
Marti <i>et al</i> (22)	<i>A. baumannii</i>		Modelos de proteínas de membrana	Varias proteínas, sobre-expresada en un estado tardío del desarrollo del biofilm, estarían relacionados con los procesos de virulencia
Zhu <i>et al</i> (23)	<i>A. baumannii</i>	Resistencia a carba-penem blaOXA-23 y tetraciclina	Secuencias dentro de genoma	El genoma de <i>A. baumannii</i> reveló extensiva y dinámica organización

dinámicas muy específicas y reaccionan ante los tratamientos antibióticos convencionales de forma diferencial (3,23). Esta presión selectiva direccional es un factor que puede contribuir a la generación de diversas clases de resistencia bacteriana (3). Según estudios epidemiológicos, América Latina se encuentra entre las regiones con la mayor incidencia de brotes nosocomiales originadas por cepas multiresistentes (4).

En los últimos años se ha visto un interés marcado por evidenciar la presencia de mecanismos de resistencia cruzada tanto para antisépticos y desinfectantes como para antibióticos (4). En la actualidad estos estudios se adelantan en países de todos los continentes. Sin embargo, los estudios a nivel nacional son elementales y los datos epidemiológicos los recopilan las secretarías de salud y las instituciones de investi-

gación en este campo (24). En Colombia, entre los años 2003 a 2005 se registraron 10 centros hospitalarios de tercer nivel en seis ciudades (4). En este estudio descriptivo se lograron establecer los microorganismos resistentes a los antibióticos más comunes, sobresaliendo: *Escherichia Coli*; *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomana Aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Enterococcus Cloacae*.

En general cuando se habla de resistencia para esta especie se debe pensar en mecanismos multifactoriales. Por ejemplo, la resistencia a antibióticos beta-lactámicos está relacionada con la producción de enzimas beta-lactamasas. Por sintenia, en los cromosomas *A. baumannii* pueden ser identificados 2 tipos de beta-lactamasas; una cefalosporinasa del tipo AmpC que puede llegar a sobreexpresarse mediante una secuencia de inserción ISAbal y una oxacilinas representada por las variantes OXA-51/69 la cual posee débil actividad hidrolítica sobre los carbapenems; sin embargo, y al igual que ocurre con la AmpC, estas enzimas OXA-51/69- pueden sobreexpresarse, tras activación transcripcional, mediante secuencias de inserción en la región 5' del gen, lo que da como resultado una reducción en la susceptibilidad a los carbapenémicos en el microorganismo (23).

Transferencia genético horizontal (HGT) y mecanismos de secreción

Una de las formas como se aborda el estudio de la transferencia de virulencia por parte de las bacterias patógenas, se basa en el análisis de grupos de genes que por HGT se encuentran justamente en microorganismos MDR. Estos grupos de genes a la par de proponer mecanismos evolutivos bacterianos alternos (25), permiten identificar estructuras móviles como islas de patogenicidad o PAIs (19). Estas islas, presentan motivos y características propias de grupos de genes únicos encontrados principalmente en Instalaciones intrahospitalarias, i.e. UCIs, donde el estado inmunosuprimido del paciente permite un mayor desarrollo de microorganismos resistentes (26). Las PAIs son responsables del transporte directo de los sistemas de secreción (27). Estos, son complejos de transporte asociados con las membranas empleados por las bacterias para llevar moléculas a una gran variedad de células blanco (28). Los Complejos, incluyen desde sistemas de un solo componente hasta maquinarias complejas de multicomponentes (28). Las bacterias utilizan la captación de DNA como un mecanismo de recombinación genética altamente efec-

tivo (16,20), empleando para esta función proteínas competentes como las encontradas en *Acinetobacter sp.* BD413 (29). Basado en homología encontradas entre estas proteínas y proteínas propias de SSS de factores de virulencia, se relacionó los T4SS de *Acinetobacter* con los encontrados en sistemas de secreción patogénica tipo IV en *Pseudomonas*, *Bacillus subtilis* (8, 9,13,17).

En los trabajos de secuenciación realizados por el grupo de Fournier (30) y Vallenet (16) se determinó la presencia de dos islas genéticas y la importancia de los nichos ecológicos para las mismas; una relacionada con la aparición de la cepa multiresistente y epidémica en Francia, AYE y la segunda relacionada con una cepa susceptible y asociada a piojos humanos, SDE. Ambas cepas presentan las mismas características genéticas, excepto que AYE incluye en el cromosoma una isla de patogenicidad de 86kb y SDE presenta una isla genética de 20kb desprovista de marcadores de resistencia. La cepa AYE fue resistente a un gran espectro de antibióticos así como compuestos antisépticos. Ese estudio no encontró elementos codificadores de sistemas de secreción de ningún tipo. En los estudios de secuenciación de la cepa de *A. baumannii* ATCC 17978 realizados por Smith *et al* (19), se encontraron 16 islas relacionadas con genes de resistencia y virulencia, por lo que se piensa que este organismo dedica mucho de su repertorio genómico al proceso de patogénesis. De las islas encontradas, una sola presenta algunos elementos homólogos con el T4SS de *Legionella/Coxiella*, pero deja por fuera la totalidad el resto de elementos genéticos de virulencia encontrados en el sistema de secreción de *Legionella/Coxiella*. Curiosamente a pesar de haber sido secuenciado el genoma de *Legionella pneumophila* hace 10 años y haber sido identificados 24 genes homólogos a sistemas de secreción tipo IV en otras bacterias (31,32), no se ha propuesto un modelo de formación de T4SS involucrado en patogénesis de este microorganismo. La idea más cercana a la resolución de este modelo incluye por

ahora la identificación del complejo central del T4SS compuesto por cinco proteínas estructurales (33).

Desde 1995 y en especial en los últimos 13 años las técnicas masivas de tamizaje de información (High Throughput Technologies) (19), han permitido una obtención más confiable y rápida de genomas enteros, especialmente los bacterianos. Hasta Noviembre del 2013 se ha registrado la secuencia de 5469 genomas en el Centro Nacional para Información Biotecnológica, NCBI, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PMGifs/Genomes/micr.html>). A la par, la bioinformática se ha consolidado como la rama computacional del estudio de todos los procesos biomoleculares que permite ir más allá de los alcances *in vivo* actuales. Hoy en día, gracias a una estrecha relación con las ciencias genómicas, se puede hablar de amplificar y analizar genomas enteros (<http://www.tigr.org>; <http://www.sanger.ac.uk/>) (20,23). Aunque estamos en el comienzo de entender el significado de la estructura y arquitectura del genoma bacteriano, las técnicas genómicas han mostrado que el DNA bacteriano es muy dinámico y que el contenido genético de las especies bacterianas se encuentra en permanente flujo (34). El proceso por el cual el contenido y la organización del material genético de una especie cambia con el tiempo es conocido como evolución genómica. Este proceso incluye cuatro formas de cambios: mutaciones puntuales y conversiones génicas, rearrreglos (por ejemplo, inversiones o traslocaciones), deleciones e inserciones de DNA extraño (por ejemplo, integración de plásmidos, transposición) (5,35). Además, se presentan eventos como pérdida y adquisición de genes que pueden de forma rápida y radical, alterar el estilo de vida de la bacteria en "saltos cuánticos" espacio temporal (5). Los últimos mecanismos mencionados parecen ser fuerzas primordiales por los cuales las bacterias genéticamente se adaptan a nuevos ambientes y por los cuales, las poblaciones bacterianas divergen y forman especies separadas evolutivamente. La adquisición de genes foráneos se encuentra acoplada a la pérdida de otros genes ya que

el crecimiento del genoma es limitado. (35) El balance entre la adquisición de genes en forma selectiva y la pérdida de genes implica que la adición de un gen foráneo incrementa la probabilidad de pérdida de alguna función residente de un bajo valor selectivo (21). Los Mecanismos de flujo horizontal de genes incluyen elementos genéticos móviles como, plásmidos conjugativos, bacteriófagos, transposones, elementos de inserción e Islas genómicas, así como el mecanismo de recombinación de DNA foráneo en el DNA del hospedero (5,35).

Dentro del subconjunto de elementos móviles de DNA en bacterias, cobra especial importancia el de las islas genómicas (GIs) y más específicamente las PAIs (19) Se ha encontrado que las PAIs contribuyen a la rápida evolución de patógenos bacterianos. Sin embargo, elementos génicos muy parecidos o idénticos a las PAIs se han identificado en un rango amplio de bacterias no patogénicas. Hong *et al* (34), mostró que estos elementos, conocidos como islas genómicas (GIs), contribuyen no solo a la evolución de microorganismos patogénicos, sino también a la evolución de especies medioambientales y no-patogénicas por medio de HGT (5,36,37). La patogenicidad por PAIs se correlaciona con la expresión de factores relacionados con la enfermedad, presentes en la bacteria patogénica, y que no se encuentran en especies no-patogénicas (30). El genoma de un patógeno bacteriano se compone de un genoma central, que contiene la información genética que se requiere para funciones celulares esenciales y un grupo de genes flexibles que codifica atributos adicionales que pueden ser benéficos bajo ciertas circunstancias. Estos incluyen genes que confieren resistencia a antibióticos y compuestos tóxicos, así como otros factores de virulencia (2,23).

Papel de factores de virulencia en la patogénesis bacteriana

Mientras las maquinarias de conjugación han sido caracterizadas de forma amplia

en las últimas dos décadas (28,38,39), la importancia crucial de los T4SS en los modelos de patogénesis se ha vuelto más conspicua. Según Backert y Meyer (28) , los miembros de esta familia han sido clasificados en cuatro subgrupos, cada uno de los cuales está especializado para una función específica y contribuye de manera única a la patogénesis: 1. Translocación de moléculas efectoras hacia las células diana del hospedero, (40, 41) 2. Conjugación de DNA plasmídico y Cromosomal (38,39), 3. Captación de DNA y transformación (42); 4. Liberación de DNA en el ambiente extracelular (15).

Como aspecto a destacar se han encontrado de tres a cuatro mecanismos putativos del T4SS en los cromosomas de algunas bacterias (43,44). Los T4SSs contribuyen a procesos importantes como intercambio de material genético (eventualmente lo que lleva a un incremento en la plasticidad del genoma (15,28), la dispersión de plásmidos de conjugación (relacionado con la resistencia a antibióticos) colonización bacteriana (13) y formación de biopelículas (15) y en últimas la que más nos interesa para el presente trabajo: la inyección de factores de virulencia en el citoplasma del hospedero. Por ahora, la lista de T4SSs continúa en aumento ya que con mucha frecuencia se están liberando secuencias de genomas completos, y los T4SSs cobran mayor importancia en la aparición de una gran variedad de bacterias patogénicas. Las macromoléculas de las que hablamos se les conocen como efectoras porque alteran y afectan los procesos celulares básicos del hospedero, lo que se traduce muchas veces al final como un estado alterado o de enfermedad en el hospedero (39).

De acuerdo a los estudios realizados por Averhoff *et al*, (8, 9) se cree que los sistemas de captación de DNA que utilizan especies de *Acinetobacter sp* como BD413 pueden utilizar eventualmente la maquinaria de traslocación de efectores para movilizar factores de virulencia que infecten la célula hospedera. Smith *et al* (19), encontraron 28 islas putativas no nativas del genoma de

A. baumannii ATCC 17978, de las cuales 12 presentan homología con genes relacionados con patogénesis. Una de ellas, la número 12, de 133,740 pb presenta solo 8 genes homólogos al sistema de secreción tipo IV de *Legionella/Coxiella* desconociéndose la ubicación o la existencia de los 16 genes restantes. *A. baumannii* presenta posiblemente un T4SS para translocar factores de virulencia (8,9,19).

El inyectosoma de esta bacteria se presume que está constituido por 24 genes que codifican 24 proteínas cada una constituyente del aparato, como se ha visto en *Legionella pneumoniae* (31). De poderse observar este modelo se tendría una explicación diferente a lo expuesto hasta ahora por otros autores en el sentido de que el mecanismo principal subyace directamente en un nuevo sistema de pilus relacionado con la formación de biopelículas (11), una proteína de membrana externa Omp38 que causa apoptosis en células epiteliales (12), y un sistema de adquisición mediado por hierro policistrónico sideróforo (10,14,45). Estos tipos de enfoques se centran en aspectos importantes de características particulares. Se necesita entonces un mejor entendimiento de procesos a niveles más globales de patogénesis si se pretende controlar la extensión del problema de infección y resistencia por *A. baumannii*.

Perspectivas futuras

Las UCIs en Colombia y en el mundo albergan pacientes muy vulnerables a infecciones, constituyéndose de esta forma en nichos de crecimiento y desarrollo para patógenos oportunistas que son inocuos para personas sanas pero que son altamente resistentes a antibióticos lo que conduce a un incremento en la morbilidad y mortalidad. La contención de pacientes potencialmente infectados con cepas multiresistentes supone una carga ocupacional y laboral no prevista en la mayoría de Instituciones prestadoras de servicios de Salud (24). Para muchos pacientes que han sufrido el embate de haber sido infectados con cepas multiresistentes, la terapia antibiótica enfo-

cada en combatir los microorganismos con base en patrones de expresión local (26), ha conducido a una prolongación dramática en la expectativa y calidad de vida. El valor terapéutico de los antibióticos ha estado en evolución a través de los años, de país en país, o incluso de unidad en unidad dentro de una institución (46,47). Las características de los microorganismos hacen que la lucha contra ellos se haya convertido en una carrera donde se ha tenido la necesidad de emplear todo tipo de estrategias, desde las convencionales como la búsqueda de compuestos nuevos con mayor actividad biológica, hasta el diseño de moléculas nuevas mediante procedimientos de biotecnología, pasando por combinaciones de antimicrobianos (48,49). Es conocido para trabajadores de UCIs, que el uso de antibióticos en muchas ocasiones, no sigue los esquemas tradicionales sino que acuden a su propia experiencia, basada en distintas variables, a saber: enfermo, ambiente y gérmenes infecciosos que se mueven en la unidad (2,47). Las infecciones intrahospitalarias (IIH) que originan los organismos resistentes tienen un gran impacto sobre los enfermos. Tarde o temprano las bacterias se hacen resistentes en la práctica a todos los compuestos antimicrobianos (49). Los individuos infectados con gérmenes resistentes, tienen más probabilidad de necesitar hospitalización, hacer estancias hospitalarias mayores y presentan más probabilidades de muerte que los infectados por organismos sensibles. La resistencia microbiana también lleva el uso de medicamentos más tóxicos o más costosos (50). El problema se complica cuando una bacteria resistente a uno o varios antibióticos es expuesta a otro medicamento, pues se crea la oportunidad de seleccionar un mutante que resiste al nuevo antibiótico (1,4,48).

A la par del problema que la resistencia impone a la ciencia clínica actual, surgen las preguntas que se pueden clasificar en el orden de la preresistencia en cuanto a mecanismos que originan patógenesis se refiere: ¿Cómo llegan las proteínas efectoras virulentas a la célula hospedera? ¿Cómo se fijan dichas bacterias a las superficies de las

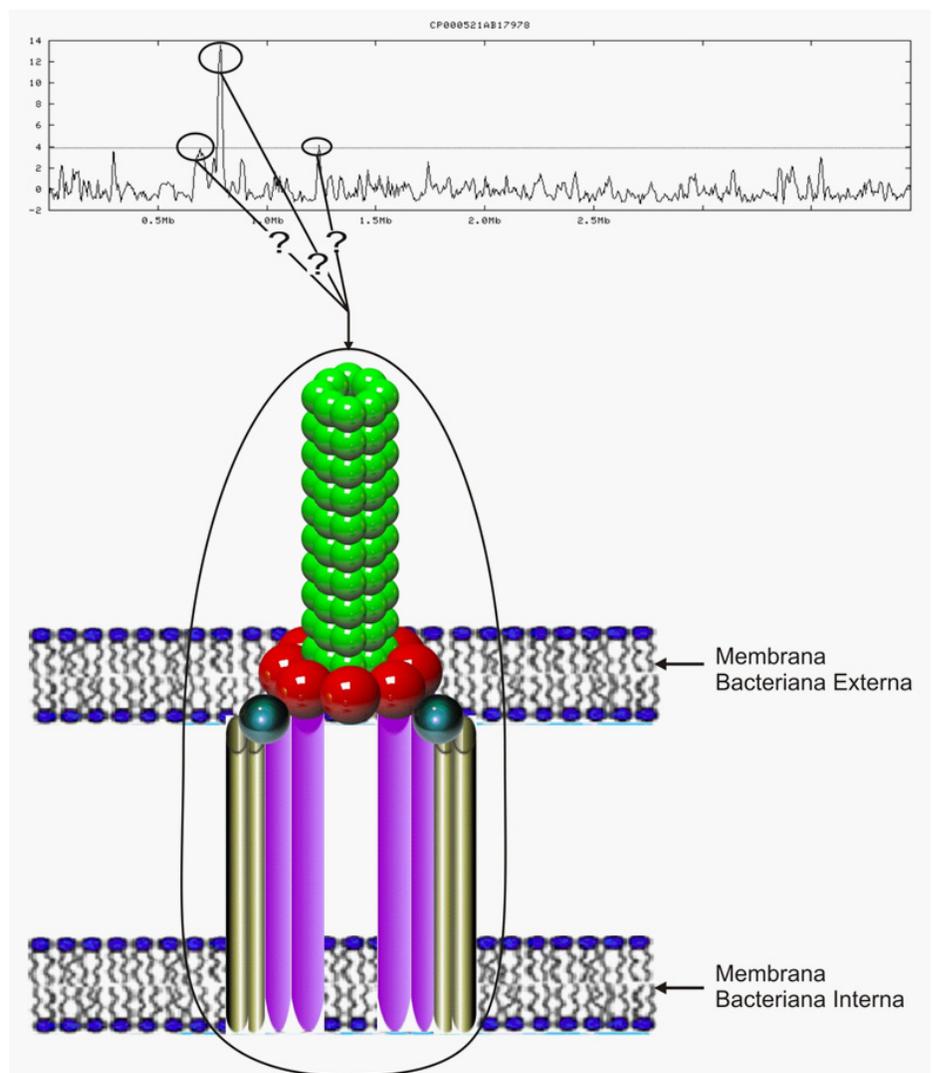


Figura 1. Interrogantes a los cuales se tratará de aproximar la investigación aquí planteada. Incluye en la parte superior una gráfica emanada de PAI-IDA a partir de la cual se identifican PAIs de *Acinetobacter* y se plantea la pregunta de cuales de estos elementos anómalos codifican la formación del T4SSb de esta bacteria. Este inyectorio ha sido esquemática e hipotéticamente representado dentro del óvalo a partir de datos de Backert y Meyer (28) y Vincent *et al* (33).

células hospederas? Solo se han encontrado respuestas parciales a estas preguntas en los últimos 50 años (40). Para responder a este tipo de preguntas es importante el estudio de los mecanismos de secreción, como el tipo IV de *A. baumannii*, pues a pesar de la importancia creciente de este microorganismo en el esquema epidemiológico, poco se conoce respecto a la identificación y posible prevención/tratamiento de *A. baumannii* por medio elementos que codi-

fiquen sistemas de secreción presentes en PAIs. La identificación de estos elementos ofrece una mayor ventaja en el momento de aumentar el índice de reconocimiento de elementos relacionados con la patógenesis de *A. baumannii*. Con base en el anterior planteamiento y conociendo la naturaleza de aquellas regiones del cromosoma con tasas altas de recambio genético conocidas como PAIs se requiere identificar tanto elementos como grupos de los mismos que ex-

hiban características distintivas al resto del genoma y que permitan una identificación rápida para responder en forma responsable y precisa a la aparición de brotes nosocomiales con consecuencias clínicas como las anteriormente expuestas. La identificación de factores de resistencia a fármacos antimicrobianos y de factores de virulencia en *A. baumannii* en última instancia permitirá mejoras en la efectividad de la terapia antimicrobiana con antibióticos, siendo por lo tanto de beneficio, médico, económico y social en países en vía de desarrollo donde este microorganismo es endémico.

Se constituye entonces *A. baumannii* en un problema de creciente importancia en el desarrollo del cuadro epidemiológico para Colombia y el mundo en general, y por lo tanto se plantea el problema central de generar herramientas de identificación genómica de elementos anómalos del T4SS como posibles inductores del modelo de patogénesis en *A. baumannii*. Por todo esto, y como queda esquematizado en la figura 1, nuestro grupo está realizando una investigación en la cual hasta el momento se han localizado algunos segmentos sospechosos de contener sistemas de secreción y que se localizarían en islas de patogenicidad con elementos propios del T4SS de *A. baumannii*, trabajando con dos softwares: CGView (Gene Clusters Location – Iterative Discriminant Analysis): Grant (51), Karlin (52), Tu y Ding (53), Abbott *et al* (54) y Carver *et al* (55).

El primero (CGView) es una herramienta genómica para la detección de elementos anómalos de DNA y clusters de genes anómalos en el genoma bacteriano. El segundo software (ACT) es una herramienta poderosa por su interfaz gráfico de análisis de comparaciones pair-wise, basada en dos contextos: (56) blastn y tblastx, y complementada con el análisis de composición del DNA. Con esta última herramienta se han hecho análisis genómicos de los elementos del T4SS de Bartonella (57). A través de los análisis para este estudio hemos observado una alta correlación entre los patrones de firma molecular de factores de virulencia

con la ubicación de las islas de patogenicidad que se ha detectado antes por ACT (Artemis Comparison Tool): Rutherford *et al* (58). De manera complementaria los análisis hechos por blastn y tblastx, mostraron que existen grupos de elementos comunes al sistema de secreción tipo IV en *A. baumannii*. Estos últimos datos a ser publicados, aportan un conocimiento a la máquina implicada en el mecanismo de infección por este género. Hasta ahora los únicos datos provienen de evidencia indirecta obtenida por comparación del género de Acinetobacter contra patógenos establecidos como *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (8), y de localización de genes en islas de patogenicidad detectados por primera vez en un genoma de *A. baumannii* en el 2007 (19).

REFERENCIAS

1. Sader HS, Jones RN, Gales AC, Silva JB, Pignatari AC. SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases. 2004; 8(1):25-79.
2. Poole K. Resistance to beta-lactam antibiotics. Cellular and molecular life sciences : CMLS. 2004; 61(17):2200-23.
3. Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE. Resistance to bacterial antibiotics, antiseptics and disinfectants a manifestation of the survival and adaptation mechanisms. Colombia Médica. 2007; 38(2):149-58.
4. Villegas MV, Kattan JN, Correa A, Lolans K, Guzman AM, Woodford N, et al. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian hospitals. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2007; 51(6):2001-4.
5. Dobrindt U, Hochhut B, Hentschel U, Hacker J. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. Nature reviews Microbiology. 2004; 2(5):414-24. P
6. Thanassi DG, Hultgren SJ. Multiple pathways allow protein secretion across

the bacterial outer membrane. Current opinion in cell biology. 2000; 12(4):420-30.

7. Llosa M, Schroder G, Dehio C. New perspectives into bacterial DNA transfer to human cells. Trends in Microbiology. 2012; 20(8):355-9.
8. Averbhoff B. DNA transport and natural transformation in mesophilic and thermophilic bacteria. Journal of bioenergetics and biomembranes. 2004; 36(1):25-33.
9. Averbhoff B, Friedrich A. Type IV pili-related natural transformation systems: DNA transport in mesophilic and thermophilic bacteria. Archives of microbiology. 2003; 180(6):385-93.
10. Dorsey CW, Tomaras AP, Connerly PL, Tolmashy ME, Crosa JH, Actis LA. The siderophore-mediated iron acquisition systems of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 and *Vibrio anguillarum* 775 are structurally and functionally related. Microbiology. 2004; 150(Pt 11):3657-67.
11. Tomaras AP, Dorsey CW, Edelmann RE, Actis LA. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. Microbiology. 2003; 149(Pt 12):3473-84.
12. Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, et al. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. Cellular microbiology. 2005; 7(8):1127-38.
13. Vasil ML, Tomaras AP, Pritchard AE. Identification and Evaluation of Twin-Arginine Translocase Inhibitors. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2012; 56(12):6223-34.
14. Echenique JR, Arienti H, Tolmashy ME, Read RR, Staneloni RJ, Crosa JH, et al. Characterization of a high-affinity iron transport system in *Acinetobacter baumannii*. Journal of Bacteriology. 1992; 174(23):7670-9.
15. Sahu PK, Iyer PS, Gaikwad MB, Talreja SC, Pardesi KR, Chopade BA. An MFS Transporter-Like ORF from MDR *Acinetobacter baumannii* AIIMS 7 Is

- Associated with Adherence and Biofilm Formation on Biotic/Abiotic Surface. *International Journal of Microbiology*. 2012.
16. Vallenet D, Nordmann P, Barbe V, Poirel L, Mangenot S, Bataille E, et al. Comparative Analysis of *Acinetobacter*: Three Genomes for Three Lifestyles. *PLoS ONE*. 2008; 3(3). P
 17. Weber BS, Miyata ST, Iwashkiw JA, Mortensen BL, Skaar EP, Pukatzki S, et al. Genomic and Functional Analysis of the Type VI Secretion System in *Acinetobacter*. *PLoS One*. 2013; 8(1):e55142.
 18. Harding CM, Tracy EN, Carruthers MD, Rather PN, Actis LA, Munson RS. *Acinetobacter baumannii* Strain M2 Produces Type IV Pili Which Play a Role in Natural Transformation and Twitching Motility but Not Surface-Associated Motility. *mBio*. 2013; 4(4).
 19. Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, Mekalanos JJ, Ornston LN, Gerstein M, et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes & Development*. 2007; 21(5):601-14.
 20. Sahl JW, Johnson JK, Harris AD, Phillippy AM, Hsiao WW, Thom KA, et al. Genomic comparison of multi-drug resistant invasive and colonizing *Acinetobacter baumannii* isolated from diverse human body sites reveals genomic plasticity. *BMC Genomics*. 2011;12:291.
 21. Henry R, Vithanage N, Harrison P, Seemann T, Coutts S, Moffatt JH, et al. Colistin-Resistant, Lipopolysaccharide-Deficient *Acinetobacter baumannii* Responds to Lipopolysaccharide Loss through Increased Expression of Genes Involved in the Synthesis and Transport of Lipoproteins, Phospholipids, and Poly-?-1,6-N-Acetylglucosamine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012; 56(1):59-69.
 22. Marti S, Nait Chabane Y, Alexandre S, Coquet L, Vila J, Jouenne T, et al. Growth of *Acinetobacter baumannii* in Pellicle Enhanced the Expression of Potential Virulence Factors. *PLoS ONE*. 2011;6(10).
 23. Zhu L, Yan Z, Zhang Z, Zhou Q, Zhou J, Wakeland EK, et al. Complete Genome Analysis of Three *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in China for Insight into the Diversification of Drug Resistance Elements. *PLoS ONE*. 2013; 8(6).
 24. Miranda MC, Perez F, Zuluaga T, et al. Antimicrobial resistance in gram negative bacteria isolated from intensive care units of Colombian hospitals, WHONET 2003, 2004 and 2005. *Biomedica* 2006; 26(3):424-33.
 25. Groisman EA, Ochman H. Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. *Cell*. 1996; 87(5):791-4.
 26. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature reviews Microbiology*. 2007; 5(12):939-51.
 27. Schmidt H, Hensel M. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004; 17(1):14-56.
 28. Backert S, Meyer TF. Type IV secretion systems and their effectors in bacterial pathogenesis. *Current opinion in microbiology*. 2006; 9(2):207-17.
 29. Gohl O, Friedrich A, Hoppert M, Averhoff B. The thin pili of *Acinetobacter sp.* strain BD413 mediate adhesion to biotic and abiotic surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72(2):1394-401.
 30. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genetics*. 2006; 2(1):e7.
 31. Segal G, Feldman M, Zusman T. The Icm/Dot type-IV secretion systems of *Legionella pneumophila* and *Coxiella burnetii*. *FEMS microbiology reviews*. 2005; 29(1):65-81.
 32. Vogel JP, Andrews HL, Wong SK, Isberg RR. Conjugative Transfer by the Virulence System of *Legionella pneumophila*. *Science*. 1998; 279(5352):873-6.
 33. Vincent CD, Friedman JR, Jeong KC, Buford EC, Miller JL, Vogel JP. Identification of the core transmembrane complex of the *Legionella Dot/Icm* type IV secretion system. *Molecular Microbiology*. 2006; 62(5):1278-91.
 34. Ou HY, Chen LL, Lonnen J, Chaudhuri RR, Thani AB, Smith R, et al. A novel strategy for the identification of genomic islands by comparative analysis of the contents and contexts of tRNA sites in closely related bacteria. *Nucleic Acids Research*. 2006; 34(1):e3.
 35. Hacker J, Carniel E. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity. A Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO reports*. 2001; 2(5):376-81.
 36. Mantri Y, Williams KP. Islander: a database of integrative islands in prokaryotic genomes, the associated integrases and their DNA site specificities. *Nucleic Acids Research*. 2004; 32(Database issue):D55-8.
 37. Hsiao W, Wan I, Jones SJ, Brinkman FS. IslandPath: aiding detection of genomic islands in prokaryotes. *Bioinformatics*. 2003;19(3):418-20.
 38. Grohmann E, Muth G, Espinosa M. Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*. 2003; 67(2):277-301
 39. Schroder G, Lanka E. The mating pair formation system of conjugative plasmids-A versatile secretion machinery for transfer of proteins and DNA. *Plasmid*. 2005; 54(1):1-25.
 40. Cascales E, Christie PJ. The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nature reviews Microbiology*. 2003; 1(2):137-49.
 41. Sexton JA, Vogel JP. Type IVB secretion by intracellular pathogens. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*. 2002; 3(3):178-85.
 42. Karnholz A, Hoefler C, Odenbreit S, Fischer W, Hofreuter D, Haas R. Functional and topological characterization of novel components of the comB DNA transformation competence system in *Helicobacter pylori*. *Journal of Bacteriology*. 2006; 188(3):882-93.
 43. Backert S, Kwok T, Konig W. Conjugative plasmid DNA transfer in *Helicobacter pylori* mediated by chromosomally

- encoded relaxase and TraG-like proteins. *Microbiology*. 2005; 151(Pt 11):3493-503.
44. Miyamoto H, Yoshida S, Taniguchi H, Shuman HA. Virulence conversion of *Legionella pneumophila* by conjugal transfer of chromosomal DNA. *Journal of Bacteriology*. 2003; 185(22):6712-8.
 45. Dorsey CW, Beglin MS, Actis LA. Detection and analysis of iron uptake components expressed by *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Journal of clinical microbiology*. 2003; 41(9):4188-93.
 46. Bassili A, Fitzpatrick C, Qadeer E, Fatima R, Floyd K, Jaramillo E. A systematic review of the effectiveness of hospital- and ambulatory-based management of multidrug-resistant tuberculosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013; 89(2):271-80.
 47. Sommer R, Joachim I, Wagner S, Titz A. New approaches to control infections: anti-biofilm strategies against gram-negative bacteria. *Chimia*. 2013; 67(4):286-90.
 48. Jaramillo EL. Resistencia bacteriana a los antibióticos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital de Caldas, 1992-1994. *Colombia Médica*. 1996; 27(2):69-76.
 49. Paine K, Flower DR. Bacterial bioinformatics: pathogenesis and the genome. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*. 2002; 4(4):357-65.
 50. Haley RW. Measuring the costs of nosocomial infections: Methods for estimating economic burden on the hospital. *The American Journal of Medicine*. 1991; 91(suppl 2):S32-S8.
 51. Grant JR, Stothard P. The CGView Server: a comparative genomics tool for circular genomes. *Nucleic Acids Research*. 2008; 36(suppl 2):W181-W4.
 52. Karlin S. Detecting anomalous gene clusters and pathogenicity islands in diverse bacterial genomes. *Trends in Microbiology*. 2001; 9(7):335-43.
 53. Tu Q, Ding D. Detecting pathogenicity islands and anomalous gene clusters by iterative discriminant analysis. *FEMS microbiology letters*. 2003; 221(2):269-75.
 54. Abbott JC, Aanensen DM, Rutherford K, Butcher S, Spratt BG. WebACT-an online companion for the Artemis Comparison Tool. *Bioinformatics*. 2005; 21(18):3665-6.
 55. Carver TJ, Rutherford KM, Berriman M, Rajandream MA, Barrell BG, Parkhill J. ACT: the Artemis Comparison Tool. *Bioinformatics*. 2005; 21(16):3422-3.
 56. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*. 1990; 215(3):403-10.
 57. Saenz HL, Engel P, Stoeckli MC, Lanz C, Raddatz G, Vayssier-Taussat M, et al. Genomic analysis of *Bartonella* identifies type IV secretion systems as host adaptability factors. *Nature genetics*. 2007; 39(12):1469-76.
 58. Rutherford K, Parkhill J, Crook J, Horsnell T, Rice P, Rajandream MA, et al. Artemis: sequence visualization and annotation. *Bioinformatics*. 2000; 16(10):944-5.

Citar este artículo de la siguiente forma de acuerdo a las Normas Vancouver:

Zúñiga-Bahamon A, Tobar F, Duque J-F, Moreno P. *Acinetobacter baumannii*: Resistencia y virulencia mediada por el sistema de secreción bacteriana Tipo IV. *Revista estomatol. salud*. 2013; 21(2):37-45.