

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURI”**

**Complejo *Acinetobacter baumannii*- *calcoaceticus*
multidrogorresistente productor de betalactamasas en
hospitales cubanos. IPK, 2016**

Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en
Bacteriología- Micología Médica

Dra. Yoima de la Caridad Pérez Farias

Especialista de 1er. Grado en Microbiología Médica

La Habana

2017

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURI”

**Complejo *Acinetobacter baumannii*- *calcoaceticus*
multidrogorresistente productor de betalactamasas en
hospitales cubanos. IPK, 2016**

Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en

Bacteriología- Micología Médica

Autor: Dra. Yoima de la Caridad Pérez Farias

Tutor: Dra. Dianelys Quiñones Pérez. DrC.

La Habana

2017

AGRADECIMIENTOS

Escribir este acápite siempre resulta difícil cuando existen tantas personas que sin siquiera proponérselo ayudan a la conclusión de una obra. Es por esto que, en primer lugar, doy gracias a Dios por la oportunidad que me ha dado de culminar esta etapa de mi vida profesional.

A mi tutora la Dra. Dianelys, por dedicarme un poco de su apretado tiempo y guiarme durante toda mi formación, por sus inestimables consejos y dedicación. Mi gratitud a la profe Gilda por sus oportunas sugerencias cuando este proyecto se encontraba en sus inicios.

A Miriam Abreu por su cooperación y ayuda constante.

A todos mis profesores del IPK, mis respetos y agradecimientos por sus inestimables enseñanzas.

Mi infinita gratitud a todo el departamento de docencia y en especial a Mari cuyas palabras han alentado a muchos. Mis agradecimientos a Lázaro en dibujo por su sincera sonrisa y ayuda desinteresada. Gracias a todos mis compañeros de trabajo.

Agradezco a Yeni, Silvi, Ody y Rosy, amigas de importantes batallas, con cuya amistad Dios me honra cada día.

A la familia maravillosa que Dios me ha dado, en especial a mi esposo por compartir madrugadas de desvelo para que culminara esta obra, por ser mi apoyo incondicional y un padre inmejorable. A mis abuelos que hoy viven para ver realizado un sueño común.

Al mejor regalo que Dios me ha dado, mi nena Gaby.

A todos, Muchas Gracias.

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi ayuda y mi fortaleza.

*A mis abuelos Josefina y Ortega por contribuir a este y muchos
otros sueños.*

*A mi esposo y mi hija Gaby, dos de los mejores regalos que Dios
me ha dado.*

RESUMEN

La multidrogorresistencia del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* actualmente representa un desafío que deja opciones terapéuticas limitadas. Los diversos mecanismos intrínsecos de resistencia y su habilidad de adquirir otros, hacen de este, un patógeno de impacto clínico.

Se desarrolló un estudio descriptivo, de tipo retrospectivo, en 253 aislados del complejo ABC multidrogorresistentes recibidos entre Junio 2011-Julio 2012 en el Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria del Instituto "Pedro Kourí"; procedentes de 19 hospitales distribuidos en ocho provincias del país. En el período de enero-septiembre del 2016 se realizó determinación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y de metalobetalactamasas (MBLs) por métodos fenotípicos en 165 y 227 aislados respectivamente, teniendo en cuenta los criterios que sugieren la presencia de estas enzimas. La presencia de BLEE y MBLs se detectó en el 14% y 10% de los aislados presuntamente portadores de estas enzimas respectivamente, y en cinco de estos coexistieron ambos mecanismos de resistencia. La sangre y las secreciones endotraqueales constituyeron el principal origen de aislamiento. La unidad de cuidados intensivos fue el servicio hospitalario con mayor prevalencia de estos aislados (78% de BLEE y MBLs). La colistina y las tetraciclinas fueron las drogas más activas frente a los aislados portadores de MBLs mientras que los carbapenémicos fueron los más susceptibles frente a los portadores de BLEE. Los resultados anteriores sugieren que la presencia de BLEE y MBLs en aislados del complejo ABC MDR constituye un problema de salud en hospitales cubanos que requiere estrictas medidas de prevención y control.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	5
I.CAPÍTULO: MARCO TEÓRICO	6
Antecedentes.....	6
Taxonomía	6
Patogenia y factores de virulencia	10
Manifestaciones clínicas.....	12
Resistencia antibiótica	13
Tratamiento actual y futuras opciones	19
Terapia combinada	22
II. CAPÍTULO: MATERIAL Y MÉTODOS	25
Operacionalización de las variables.....	25
Procedimientos	27
Métodos de recolección y procesamiento de la información ..	29
Aspectos éticos.....	30
III. CAPÍTULO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	44
RECOMENDACIONES	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

INTRODUCCIÓN

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés) define las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (IAAS) como aquellas infecciones adquiridas en el lugar donde se le brinda el cuidado de salud a los pacientes, sin que exista evidencia de que la infección estaba presente o incubándose en el momento que el paciente es ingresado. La constante variación de su etiología en los últimos 40 años y la inclusión de varios antimicrobianos en las nuevas pautas de terapia antibiótica favorecen el incremento de gérmenes multidrogorresistentes (MDR), y la aparición de brotes de infección, como los producidos por el complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* (ABC).¹

En el año 2013, el CDC reporta que *Acinetobacter* fue el responsable del 2% de las infecciones nosocomiales así como del 7% de los casos de infección en pacientes críticamente enfermos con ventilación mecánica durante ese tiempo. Por otra parte, informa que 7.300 (63%) de las 12.000 infecciones anuales causadas por este germen fueron de aislados MDR, lo que a su vez provoca alrededor de 500 muertes anuales atribuidas a estas infecciones.²

Este microorganismo se encuentra entre los patógenos más frecuentes en pacientes hospitalizados, principalmente aquellos sometidos a cirugía o procedimientos invasivos, con uso previo de antibióticos de amplio espectro y estadía prolongada en unidades de cuidados intensivos (UCI), de manera que constituye hoy en día un verdadero paradigma de las IAAS a nivel mundial.³

El amplio espectro de infecciones causadas por este germen incluye principalmente neumonías asociadas a la ventilación, bacteriemias, infecciones relacionadas con catéteres intravasculares e infecciones del sitio quirúrgico y quemaduras.⁴

En América Latina, dichas infecciones son una causa importante de mortalidad con una mayor prevalencia en UCI.⁵

La erradicación de las infecciones se hace cada vez más difícil dada la habilidad de *Acinetobacter* de adquirir diversos mecanismos de resistencia con la emergencia de cepas que son resistentes a todos los antibióticos comercialmente disponibles.^{6,7} Todo esto, unido al hecho de que el complejo ABC sobrevive largos períodos en superficies inanimadas del medio ambiente hospitalario potencializa su diseminación intra e interhospitalaria.^{3,8,9}

La resistencia antimicrobiana es variable entre diferentes áreas geográficas, mostrando susceptibilidad exclusiva a los carbapenémicos en algunas, y en otras, la resistencia comprende todos los antimicrobianos comercialmente disponibles, incluido a estos últimos. En Europa, Medio Oriente, América, Sudáfrica, Asia, Australia y la Polinesia se han reportado numerosos brotes de estas cepas¹⁰ y la circulación de clones de ABC pandrogorresistente (PDR) o extremodrogorresistente (XDR), que producen infecciones para las que no hay opciones o alternativas terapéuticas eficaces resulta alarmante en el contexto actual.¹¹

Esta situación deriva entonces la necesidad de aunar criterios respecto a la definición de multidrogorresistencia, extremodrogorresistencia y pandrogorresistencia en este germen. Es por esto que, en el 2011, se reúne un comité de expertos del Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) y del CDC, que estandariza la terminología para describir los perfiles de resistencia adquirida en algunas bacterias de importancia médica, entre ellas, *Acinetobacter* spp. y definen como MDR a aquella cepa no susceptible a uno o más agentes antimicrobianos en tres o más categorías antimicrobianas, XDR (cepa no susceptible a uno o más agentes en todas las categorías excepto en una o dos de ellas) y PDR (cepa no susceptible a todos los agentes antimicrobianos en todas las categorías antimicrobianas).¹²

La multidrogorresistencia en esta especie se atribuye a la acción combinada de una expresión aumentada de carbapenemasas y mecanismos no enzimáticos que incluyen: presencia de un escaso número de porinas que poseen un tamaño de poro pequeño o a una expresión constitutiva de sistemas de expulsión activa y/o alteraciones en las proteínas fijadoras de

penicilina¹³ así como la facilidad para adquirir elementos genéticos como plásmidos, transposones e integrones que contienen determinantes de resistencia y su capacidad para vivir en reservorios humanos y ambientales en los que pueden adquirirse también genes de resistencia dado los escasos requerimientos nutritivos de este microorganismo.^{14,15,16}

La resistencia de bacilos gramnegativos a los antimicrobianos β -lactámicos se basa, fundamentalmente, en la síntesis de β -lactamasas. Desde el punto de vista estrictamente clínico, se tiende a considerar que el complejo ABC produce principalmente β -lactamasas de codificación cromosomal, conocidas como cefalosporinasas del tipo AmpC o β -lactamasas del grupo 1. Estas enzimas son capaces de inactivar en forma eficiente aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de distintas generaciones y cefamicinas.¹⁷ Además de esta, el complejo ABC en su genoma presenta otra β -lactamasa intrínseca, la serina oxacilinasasa OXA 51 que también contribuye a la resistencia natural a β -lactámicos.¹⁸

No obstante, numerosas investigaciones reportan bajos porcentajes de producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Estas enzimas hidrolizan adecuadamente cefalosporinas de distintas generaciones pero, particularmente, moléculas de tercera generación (metoxi-imino aminotiazolil cefalosporinas) y también aztreonam y constituyen un problema epidemiológico de importancia y distribución global.¹⁷ Además, en el complejo ABC se reportan dos tipos de β -lactamasas (carbapenemasas) que confieren resistencia a carbapenémicos. Las primeras (principalmente descritas) se han denominado serino carbapenemasas (oxacilinasas) y el segundo grupo son las metalo- β -lactamasas (MBLs), nombradas así dada su composición química.¹⁹

Estas enzimas hidrolizan débilmente los carbapenémicos aunque, en presencia de genes *bla*-_{OXA} sobreexpresados, como resultado de la asociación con secuencias de inserción (*ISAb*1), que llevan un fuerte promotor, pueden conferir una elevada resistencia.

Estudios previos en Cuba reportan al complejo ABC como causa importante de infecciones intrahospitalarias así como la circulación de cepas con una

elevada resistencia a la mayoría de los antibióticos disponibles en la práctica clínica, incluidos los carbapenémicos.^{20,21,22,23} Sin embargo, solo dos de ellos reportan bajos porcentajes de producción de BLEE y MBLs, respectivamente.^{20,22} Por lo que en nuestro país existe escasa información sobre estos mecanismos implicados en la resistencia a betalactámicos, con énfasis en los carbapenémicos, principal alternativa terapéutica frente a este patógeno.

Lo anteriormente expuesto motivó a la autora a completar un estudio conducido por la misma donde se abordó la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de especies de *Acinetobacter* causantes de infecciones en hospitales cubanos y que constituyó su tesis en opción al título de Especialista de 1^{er} grado en Microbiología. En dicha investigación se notificó una elevada prevalencia de ABC resistentes a betalactámicos, por lo que el desarrollo de la presente investigación permitirá profundizar en el conocimiento de algunos de los mecanismos implicados en la resistencia a betalactámicos (producción de BLEE y de MBLs) en los aislamientos del complejo ABC MDR circulantes en Cuba. Esto facilitará una mejor comprensión de la epidemiología de la resistencia de este patógeno lo que contribuirá a una terapia antimicrobiana eficaz, además, permitirá establecer, de acuerdo a las características de cada institución, un plan de medidas multidisciplinario orientado a evitar el abuso de antibióticos, disminuir la mortalidad asociada a la infección y los costos originados por las largas estadías intrahospitalarias.

Todo esto se traduce en un mayor conocimiento científico acerca del patógeno por los profesionales de la salud, con una importante repercusión social y económica.

OBJETIVOS

- ❖ Determinar la frecuencia de producción de betalactamasas de espectro extendido y metalobetalactamasas en aislamientos del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* multidrogorresistente notificados como responsables de infecciones en hospitales cubanos en el período 2011-2012.
- ❖ Describir la distribución de aislamientos del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* multidrogorresistente productores de betalactamasas de espectro extendido y metalobetalactamasas en los distintos servicios hospitalarios y por tipo de muestras.
- ❖ Evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados portadores de estas enzimas a otras familias de antimicrobianos diferentes a los betalactámicos.

I.CAPÍTULO: MARCO TEÓRICO

Antecedentes

En 1911 se emplea por vez primera el término *Micrococcus calcoaceticus* por el microbiólogo danés Beijerinck para describir un microorganismo aislado del suelo, y en las siguientes décadas se describieron microorganismos similares, que se asignaron a al menos 15 géneros y especies diferentes.

En 1954 Brisou y Prévot proponen la designación *Acinetobacter* para diferenciar los microorganismos móviles de los inmóviles dentro del género *Achromobacter*. En 1968 esta designación del género fue más aceptada cuando Baumann et al., publicaron un estudio en el que concluían que las diferentes especies descritas pertenecían a un mismo género (para el que se propuso el nombre de *Acinetobacter*), y que basándose solo en las características fenotípicas no era posible realizar más subclasificaciones en diferentes especies.³

El reconocimiento oficial del género *Acinetobacter* fue dado en 1971 por el Subcomité de Taxonomía de Moraxella y bacterias afines.⁸

Taxonomía

La taxonomía del género *Acinetobacter* ha evolucionado en las últimas décadas. En 1986 los estudios de hibridación ADN-ADN realizados por Bouvet y Grimnot permitieron un gran avance en la larga y complicada historia del género llegándose a referenciar 12 especies.²⁴

En 1991, mediante datos taxonómicos, se propuso que los miembros del género *Acinetobacter* debían ser clasificados en la nueva familia Moraxellaceae dentro del orden Gammaproteobacteria, que incluye los géneros *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* y organismos relacionados.²⁵

En la actualidad se aceptan 33 genoespecies que han sido definidas por hibridación ADN-ADN. Entre las relacionadas con enfermedad en el humano están: *Acinetobacter calcoaceticus* (genoespecie 1), *Acinetobacter baumannii* (genoespecie 2), genoespecies 3 y 13 (cuyos nombres propuestos han sido *Acinetobacter pittii* y *Acinetobacter nosocomialis*, respectivamente), *Acinetobacter haemolyticus* (genoespecie 4), *Acinetobacter junii* (genoespecie 5), *Acinetobacter lwoffii* (genoespecie 8), *Acinetobacter johnsonii* y *Acinetobacter ursingii* (6, 7).

Hasta hace unos años el complejo ABC reunía cuatro especies altamente similares, que no pueden ser diferenciadas por pruebas fenotípicas. Estas son ABC, *A. pittii*, *A. nosocomialis* (aisladas con mayor frecuencia en infecciones intrahospitalarias) y *A. calcoaceticus*, presente en la naturaleza y que forma parte de la microbiota del cuerpo humano.²⁶

Algunos autores señalan que esta designación no es apropiada en el contexto clínico ya que la especie *A. calcoaceticus* no ha sido implicada en enfermedad clínica, mientras las otras tres especies son quizás las clínicamente más significativas en infección adquirida en la comunidad y nosocomial; sin embargo, la especie *A. calcoaceticus* es la que ha dado nombre al complejo.²⁴

El desarrollo de métodos moleculares permitió que Nemec en el 2015 y Cosgaya en el 2016 propusieran designar como *Acinetobacter seifertii* y *Acinetobacter dijkshoorniae* dos nuevas especies dentro del complejo ABC cuya identificación se realizó mediante secuenciación de genes.^{27,28}

Actualmente el complejo cuenta con seis especies genotípicamente diferentes.

Características del género

El género *Acinetobacter* actualmente comprende cocobacilos gram negativos, estrictamente aeróbicos, no fermentadores, inmóviles, no esporulados, catalasa positivos, oxidasa negativos, con un contenido de

ADN G + C de 39% a 47%. Crecen bien en medios sólidos que son usados de manera habitual, tales como agar sangre de carnero o agar de soja tríplico. El aspecto de la colonias es blanco grisáceo, a veces mucoides; las colonias del complejo ABC tienen un diámetro de colonia de 1.5 a 3 mm, mientras la mayoría de las otras especies de *Acinetobacter* producen colonias más pequeñas y translúcidas.^{24,29}

La diferenciación fenotípica de ABC de otras genopecies pertenecientes al complejo ABC resulta prácticamente imposible con los métodos fenotípicos convencionales de identificación bacteriana.

La hibridación DNA-DNA definida por Bouvet y Grimont (1986) continúa siendo de los pocos métodos que han sido validados y referenciados para la identificación de especies de *Acinetobacter*. No obstante, tanto este como el sistema de identificación fenotípica descrita por dichos autores son métodos laboriosos y no son adecuados para los laboratorios de microbiología clínica. Esto sin tener en consideración que estos métodos están disponibles sólo en unos pocos laboratorios de referencia en todo el mundo.

La identificación de especies con los sistemas comerciales de identificación manual y semiautomatizada que se utilizan actualmente, tales como el API 20NE (BioMérieux, La Balme Les Grottes, France), Vitek 2 (BioMérieux, La Balme Les Grottes, France), Phoenix (Becton Dickinson), y los sistemas de MicroScan Walkaway (Dade MicroScan), tampoco son satisfactorios.²⁵

La demostrada ineficacia de las pruebas fenotípicas en la identificación de las cepas genómicas de *Acinetobacter* descubiertas más recientemente ha permitido que se desarrollen métodos de diagnóstico moleculares avanzados para la identificación de *Acinetobacter* a nivel de especies, éstas incluyen: análisis amplificado del gen de restricción 16S ARNr24, análisis de alta resolución de huellas digitales por polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados 25, ribotipificación²⁶, espaciador huellas digitales ARNr²⁷, análisis de restricción de la secuencia del espaciador intergénico 16S-23S ARNr²⁸, análisis de secuencia de la región espaciadora del gen 16S-23S ARNr²⁹ y secuenciación del gen *rpoB* (ARN polimerasa subunidad β).²⁴ De manera reciente, Marí-Almirall y colaboradores validan el uso del

MALDI-TOF/MS como una herramienta valiosa para la diferenciación de especies del complejo ABC siempre y cuando se acompañe de la base de datos taxonómicos de referencia actualizada.³⁰

Epidemiología

Este microorganismo se ha convertido en los últimos años en un patógeno potencial en el nosocomio, por lo que el estudio de su epidemiología se ha producido principalmente en el contexto del entorno clínico, lo que ha resultado en el escaso conocimiento de los reservorios ambientales potenciales de este organismo.

Hábitat natural: Los miembros del género *Acinetobacter* se consideran organismos ambientales desde que se demostró que las especies pertenecientes a este género se pueden recuperar de muestras obtenidas de suelo y aguas superficiales.²⁵ Estas cepas ambientales suelen poseer diversos mecanismos de resistencia a los antibióticos que incluyen la presencia de carbapenemasas y de betalactamasas de espectro extendido constituyendo importantes reservorios ambientales para elementos de resistencia que las transforman en cepas clínicamente relevantes. Además algunas especies de relevancia médica se han encontrado en las verduras, carne, productos lácteos, y la piel humana, lo que sugiere múltiples vías ambientales de transmisión en las poblaciones humanas.³¹

Portación humana y transmisión: Estudios de vigilancia de colonización cutánea muestran que el complejo ABC raramente coloniza la piel de individuos sanos siendo otras especies del género las más involucradas.³¹

Sin embargo, en los hospitales *Acinetobacter* es el microorganismo gramnegativo que con mayor frecuencia el personal hospitalario porta en la piel de forma persistente. Por esta razón algunos autores plantean que el movimiento de los pacientes y del personal del nosocomio son los responsables de diseminar la infección y de provocar brotes prolongados.³² En pacientes hospitalizados el porcentaje de colonización aumenta y los principales sitios son la piel y el tracto respiratorio, considerados los

reservorios más importantes.²³ Estudios muestran que la faringe, vagina y recto son sitios excepcionales de colonización.²⁴

Las infecciones causadas por *Acinetobacter* emergen con el aumento de la utilización de los cuidados intensivos. Sin embargo, la creciente ubicuidad e intensidad de la terapia antibacteriana y de procedimientos invasivos ha causado un aumento en la frecuencia y severidad de infecciones por este patógeno. La mayor densidad de infecciones ocurre en unidades de cuidados intensivos a nivel global.³¹

Este germen persiste durante largos períodos de tiempo en el ambiente hospitalario debido a su resistencia a los principales antimicrobianos, a la desecación, y a los desinfectantes.²⁵ Esto favorece su diseminación, sin embargo, se han reportado brotes producidos por bacterias aerosolizadas provenientes de pacientes colonizados o infectados.³¹

Factores de riesgo: Se identifican numerosos factores de riesgo para la adquisición de infecciones producidas por el complejo ABC. Entre estos se encuentran: cirugía previa, heridas, infección previa (independiente del uso previo de antibióticos), colonización fecal con *Acinetobacter*, tratamiento con antibióticos de amplio espectro (cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas o carbapenémicos), catéteres urinarios o intravenosos centrales permanentes, ingreso a una unidad de quemados, estancia prolongada en una UCI, nutrición parenteral, ventilación mecánica e inadecuada aplicación de los protocolos de control de infecciones.³²

Patogenia y factores de virulencia

Acinetobacter siempre fue considerado como un organismo de baja virulencia y hasta el momento se ha logrado esclarecer muy poco acerca de la patogenia y factores de virulencia.^{24,33}

Se han identificado varios mecanismos potenciales de virulencia específicos relacionados con la capacidad de las especies de *Acinetobacter* de adherirse, colonizar e invadir células epiteliales humanas. Los determinantes

patogénicos incluyen la formación de biopelículas mediada por pilis, una proteína de membrana externa A, un sistema de adquisición de hierro, lipopolisacáridos, y un sistema de detección de quórum. La formación de biopelícula se considera un factor clave de virulencia de muchos aislamientos del complejo ABC, incluidas las cepas resistentes a carbapenémicos. Esta permite a este germen colonizar y persistir en las superficies bióticas y abióticas, causando infecciones asociadas con dispositivos médicos permanentes. Estudios recientes han demostrado que las especies del complejo de ABC son tres veces más propensas a formar biopelículas en una interfaz líquido-sólido que otras especies del género.³¹

Proteína de membrana externa (OmpA): se considera uno de los principales determinantes en su capacidad de virulencia. Esta se une a la célula epitelial y a las mitocondrias del hospedero, lo que produce edema y disfunción mitocondrial y finalmente apoptosis, por lo que esta puede ser una vía por la cual este patógeno induce daño a humanos durante la infección. Además esta proteína está implicada en la resistencia al sistema de complemento y la formación de biopelículas.²⁴

Lipopolisacárido (LPS): Por su habilidad para estimular una respuesta inflamatoria en monocitos humanos es probable que contribuya significativamente a la patogénesis de la infección.³⁴

Polisacáridos capsulares: también han sido identificados como factor de patogenicidad con un papel importante en la protección de las bacterias de la respuesta inmune innata del huésped.

Vesículas de membrana externa: favorecen la entrada de factores de virulencia en las células del hospedero, la transferencia horizontal de los genes y la protección de las bacterias a la respuesta inmune.

Fosfolipasas: favorecen la lisis de las células del huésped, mediante la escisión de los fosfolípidos presentes en la membrana celular y degradación

de los fosfolípidos presentes en las barreras mucosas, lo que facilita la entrada del patógeno.²⁴

Numerosos autores polemizan si los genes que codifican la resistencia antibiótica pueden ser considerados factores de virulencia. Sobre esto Beceiro y colaboradores (2012) en España señalan que, a menudo genes implicados en ambos fenómenos presentan el mismo medio de transporte y dispersión, como los plásmidos. Islas, integrones, transposones y otros elementos genéticos podrían también facilitar la coselección de genes implicados en virulencia y resistencia. Plantean además que, la ganancia de resistencia puede afectar de manera muy variable a la virulencia, dependiendo de la especie bacteriana, del ambiente y del propio mecanismo de resistencia y la coselección de factores de virulencia y resistencia antimicrobiana, así como la relativa facilidad de las bacterias para desarrollar mutaciones compensatorias, puede favorecer, especialmente en ambientes con una alta presión antibiótica, la aparición de clones prevalentes, virulentos y además con escasas opciones terapéuticas.³⁵

Manifestaciones clínicas

Las dos manifestaciones clínicas más comunes de este germen son la neumonía intrahospitalaria y la bacteriemia.³¹ En el 2011 en el consenso de Neumonía Asociada a la Ventilación Mecánica (NAVM), el complejo ABC se estableció como patógeno causante de estas en las UCI a nivel mundial.³⁶ Aunque no es frecuente, se han notificado casos de neumonía comunitaria principalmente en zonas tropicales de Australia y Asia, sobre todo en época de lluvias en personas con condiciones predisponentes como alcohólicos, fumadores, diabéticos, con enfermedades renales, cáncer y con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.^{24,37}

En el caso de las infecciones del torrente sanguíneo, estas ocupan el cuarto lugar entre las principales IAAS. En numerosos países existe un incremento

alarmante de su incidencia y el complejo ABC se identifica en el 92% de las bacteriemias producidas por el género.³⁸

Acinetobacter produce también infecciones de piel principalmente en heridas quirúrgicas o a consecuencia de traumas, infección del tracto urinario tras el uso de catéter y meningitis.²⁴ Esta última, principalmente posterior a neurocirugía y causada por aislamientos MDR.³⁷

Otras infecciones asociadas a este patógeno son, en menor frecuencia, endocarditis y osteomielitis.²⁴

Resistencia antibiótica

El aumento y la propagación de la resistencia se convierten en una gran preocupación en todo el mundo. Sin embargo, estudios recientes revelan que la resistencia a los antibióticos tiene un antiguo origen y evolución, seguido por la movilización reciente a partir de un conjunto de genes, el llamado resistoma. Esto hace que hoy en día el dogma de que los genes de resistencia han evolucionado resultado del reciente uso clínico y mal uso de los antibióticos es seriamente cuestionado.^{39,40}

La rápida emergencia global de cepas del complejo ABC resistentes, demuestra la habilidad de este microorganismo para responder a los cambios bajo presión ambiental selectiva. La regulación positiva de los mecanismos de resistencia innatos y adquiridos hace de este patógeno una amenaza potencial.^{39,41}

Este patógeno ha desarrollado diversos mecanismos de resistencia, entre los que se incluyen: producción de betalactamasas, sobreexpresión de bombas de expulsión, pérdida de porinas y modificación del blanco de acción de los antibióticos.²⁶

Mecanismos de resistencia intrínsecos

El complejo ABC posee una cefalosporinasa tipo AmpC constitutiva denominada ADC (del inglés: *Acinetobacter*-derived cephalosporinase). Este constituye el mecanismo de resistencia más frecuente de esta bacteria frente a los betalactámicos. Su expresión es a bajos niveles pero la mayoría de los aislados de este germen presentan una sobreexpresión de esta enzima la cual está mediada por la presencia de secuencias de inserción que contienen promotores que favorecen la transcripción del gen, como la ISAbal e ISAbal125. Cuando esta enzima se expresa en bajo nivel confiere resistencia a ampicilina y de manera natural no tiene efecto, por sí sola, sobre cefalosporinas de 4ta generación, ni sobre carbapenémicos. Sin embargo, su sobreexpresión produce resistencia a todas las penicilinas, combinaciones con inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de 1ra, 2da y 3ra generación, cefamicinas y monobactámicos, sin afectar carbapenémicos ni cefepime. No obstante, algunas de estas enzimas (ADC-33 y ADC-56) han sido consideradas como AmpC de espectro extendido o ESAC (del inglés: extended-spectrum AmpC), por lo que pueden hidrolizar también cefepime.^{26,42}

Otro mecanismo de resistencia intrínseco en ABC es la presencia de la oxacilinasasa OXA-51, cuya expresión basal hidroliza débilmente penicilinas y carbapenémicos; su sobreexpresión también es mediada por la secuencia de inserción ISAbal en un mecanismo similar a la AmpC cromosómica.²⁶

Mecanismos de resistencia adquiridos

Los mecanismos de resistencia de este germen frente a betalactámicos comprenden mecanismos enzimáticos y no enzimáticos.

Los mecanismos enzimáticos consisten en la degradación del betalactámico mediada por diferentes tipos de betalactamasas cromosomales o plasmidiales, aunque múltiples mecanismos actúan en concierto.^{24,26}

Las betalactamasas se dividen en cuatro grupos: clase A de Ambler (Penicilinasas), clase B de Ambler (Metaloenzimas), clase C de Ambler (Cefalosporinasas) y clase D de Ambler (Oxacilinasas).²⁴

Las betalactamasas de clase A se reportan raramente en *Acinetobacter* y dentro de estas se han identificado las tipo TEM, SHV, GES, CTX-M, SCO, PER, VEB, KPC, y CARB. Algunas de estas enzimas, como TEM-1, CARB-4, y SCO-1 son betalactamasas de espectro reducido mientras que otras como PER-1, TEM-92, CARB-10, SHV-5, PER-2, CTX-M-2, CTX-M-15, VEB-1, GES-14 y PER-7 son betalactamasas de espectro extendido.⁴³ Estas últimas confieren resistencia a los oximino- β -lactámicos como cefotaxima, ceftriaxona, cefpodoxima o ceftazidima y son inhibidas por el ácido clavulánico. Algunas carbapenemasas, como GES-14 y KPC-2 también han sido detectadas en este patógeno.^{24,43}

En el caso de las BLEE en *Acinetobacter* su significación clínica es limitada debido a la potencia de otros determinantes de resistencia⁸ pero su conocimiento es importante desde el punto de vista terapéutico y epidemiológico. Esto si consideramos que los determinantes genéticos que codifican estas enzimas se localizan en plásmidos que además suelen contener genes de resistencia a otras familias de antibióticos como quinolonas, aminoglucósidos o cotrimoxazol. Además de que constituye una vía eficaz para la diseminación de resistencias.⁴⁴

Las betalactamasas de clase B o metalobetalactamasas comprenden un grupo de enzimas que no se inhiben por el ácido clavulánico ni por el tazobactam, pero son sensibles a la inhibición por agentes quelantes como el EDTA. En ABC han sido identificados cinco MBLs de las seis descritas e incluyen las IMP, VIM, SIM, SPM y NDM.²⁶ Estas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar todos los betalactámicos, incluyendo los carbapenémicos, excepto el monobactámico aztreonam.²⁴ Al igual que con las BLEE, los determinantes genéticos que codifican estas enzimas se localizan en plásmidos que además suelen contener genes que confieren resistencia a otras familias antibióticos y que pueden transferirse entre

diferentes especies.⁴⁴ La mayoría de estas enzimas han sido encontradas en integrones con determinantes de resistencia a aminoglucósidos.²⁶

Las betalactamasas de clase D u oxacilinasas son las que se describen con mayor frecuencia en cepas de ABC y presentan actividad carbapenemasa débil. De estas las más prevalentes en ABC son OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58. La presencia de secuencias de inserción (ISAba) en algunos casos cerca de los genes que codifican para algunas carbapenemasas tipo OXA, potencia la expresión de éstas y por tanto aumenta el nivel de resistencia a los carbapenémicos. Todas se inhiben con ácido clavulánico excepto OXA-23 y aunque su actividad carbapenemasa es pobre, se incrementa si otros mecanismos de resistencia están presentes.^{23,26,43,45}

Recientemente se demostró una enzima tipo OXA-23, la OXA-146 que tiene un espectro hidrolítico expandido que incluye la ceftazidima, que no es hidrolizada por otras enzimas de la clase D, mientras mantiene actividad contra los carbapenémicos. Esta es la primera observación de una enzima tipo OXA con propiedades BLEE, que puede convertirse en un problema en el futuro.⁴⁶

Los mecanismos no enzimáticos de resistencia a betalactámicos incluyen:

Alteraciones en la afinidad o expresión de las PBPs: La expresión disminuida de proteínas de membrana externa se ha asociado con aislamientos resistentes a imipenem así como la ausencia de PBP2a y PBP2b se asocia con niveles elevados de resistencia frente a imipenem y meropenem.

Bombas multidrogas: Se denominan así una serie de transportadores que son capaces de expulsar, de manera relativamente inespecífica, un amplio número de sustratos no relacionados estructuralmente. Se clasifican en cinco familias: ABC (Casete de Unión al ATP), MFS (Gran superfamilia facilitadora), RND (División de la Resistencia de Nodulación Celular), MATE (Componente de Extrusión de Multidrogas y Tóxicos) y SMR (Pequeña Resistencia Multidroga). El grupo de multidrogas involucrado en la

resistencia múltiple del complejo ABC corresponde a aquellas que utilizan la fuerza protón motriz como fuente de energía (MFS, RND, SMR).²³

Alteración de las proteínas de membrana externa: denominadas OMPs (del inglés: outer membrane proteins), que conducen a una disminución de la permeabilidad de la membrana. Con relación a los cambios en las OMPs se describe que alteraciones en proteínas como la CarO se asocia con resistencia a meropenem e imipenem. La OmpW, la cual es homóloga a las OmpW encontradas en *E. coli* y *P. aeruginosa*, disminuye la entrada de colistina y de los betalactámicos al interior de la bacteria. También se ha descrito una OMP de 43 kDa perteneciente a la familia de las OprD (OprD-like), relacionada con cierre de porinas para imipenem.²⁶

Aminoglucósidos: La resistencia a estos está mediada por tres mecanismos fundamentales: la alteración del sitio de acción ribosomal, la reducción de la captura y la modificación enzimática del antimicrobiano. Este último, es el principal responsable de la resistencia a este grupo de antibióticos. Existen diferentes enzimas modificantes de aminoglucósidos y bombas de expulsión que confieren resistencia a este grupo de antibióticos. Las enzimas modificantes (acetiltransferasas -AAC-, nucleotiltransferasas -ANT- y fosfotransferasas -APH-) producen diferentes fenotipos de resistencia selectiva en los aminoglucósidos.

Estas enzimas combinadas con bombas de expulsión como la AdeABC pueden conferir resistencia a todos los aminoglucósidos. La metilación de la subunidad 16S del ARNr mediada por el gen *armA* también ha sido descrita en ABC y confiere resistencia a todos los aminoglucósidos.²⁶

Este gen también ha sido identificado en cepas resistentes a carbapenémicos portadoras del gen *bla* OXA-23 aunque estos se han localizado en plásmidos diferentes. En un estudio realizado en Estados Unidos el 49% de los aislados ABC resistentes a carbapenémicos portaban el gen *armA* lo que sugiere una alta prevalencia en esta especie.

Estudios realizados en plásmidos que portan bla NDM revelan de manera frecuente la presencia de armA, u otros genes que codifican para la 16S-RMTasa (especialmente rmtB, rmtC y rmtF), en los mismos plásmidos. Algunos de estos llevan además plásmidos que portan genes de resistencia a las fluoroquinolonas, tales como qnrB1. La adquisición de estos plásmidos MDR confieren resistencia simultánea a la mayoría de los betalactámicos incluyendo carbapenémicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas, los tres grupos claves de agentes con actividad contra bacterias gramnegativas.⁴⁷

Quinolonas: la resistencia a quinolonas está mediada por mutaciones en los genes gyrA y parC que codifican para las subunidades A de la ADN girasa y la topoisomerasa IV, respectivamente. Las quinolonas son sustratos de las bombas AdeABC y la AbeM.²⁶

Tetraciclinas: la resistencia de ABC a este grupo de antibióticos está mediada por bombas de expulsión y proteínas de protección ribosomal. Las bombas de expulsión incluyen TetA y TetB, codificadas por los genes tet(A) y tet(B); la primera confiere resistencia solo a tetraciclina, mientras que la segunda expulsa tetraciclina y minociclina. La protección ribosomal es mediada por los determinantes tet(M) y tet(O). La bomba expulsión AdeABC también puede expulsar tetraciclinas y la tigeciclina.⁸

Glicilciclinas: Se trata de un antibiótico que muestra buena actividad *in vitro* frente al ABC. Evade las bombas de eflujo tet(A-E) y tet(K) y los determinantes tet(O) y tet(M) que proveen protección ribosomal.⁴⁸ La evidencia muestra que el aumento de la CIM a tigeciclina, está ligado a la expresión del gen *adeB* y que este aumento ocurre rápidamente con un pase *in vitro*, lo que sugiere que la expresión de la bomba de eflujo multidroga puede ser regulada de forma positiva, en respuesta a la presión selectiva, por lo que la tigeciclina debe ser usada con cautela para la infección por el ABC en aquellos sitios donde el nivel de la droga puede ser sub-óptimo, como el torrente sanguíneo.^{8,49} Otro mecanismo que contribuye a la resistencia es la sobreexpresión de la bomba AdeIJK, identificada en ABC.⁴⁹

Colistina: la resistencia a colistina ha sido asociada con los genes *pmrA* y *pmrB* que originan cambios en genes relacionados con la modificación del lípido A, con la pérdida o deficiencia de la producción de lipopolisacárido y con la modificación de la porina *OmpW*.

Trimetoprim, sulfonamidas y cloranfenicol: la resistencia a sulfonamida está mediada por el gen *sul* que se encuentran en la región 3' de un integrón. El gen *dhfr* confiere resistencia a trimetoprim, mientras que la bomba de expulsión *CraA* (del inglés: chloramphenicol resistance *Acinetobacter*) confiere resistencia a cloranfenicol. La bomba *AdeABC* también confiere resistencia a estos dos últimos antibióticos.²⁶

Tratamiento actual y futuras opciones

Carbapenémicos: Estos continúan siendo el tratamiento de elección para las infecciones en que se sospeche la presencia del complejo ABC MDR. Desafortunadamente, el incremento actual de la resistencia a este grupo de antimicrobianos conlleva a retos terapéuticos si tenemos en cuenta que la actividad *in vitro* se ve limitada con frecuencia a las polimixinas, aminoglucósidos, tigeciclina y minociclina.⁵⁰

Sulbactam: es un inhibidor de betalactamasas y presenta afinidad por las PBPs en ABC. La terapia combinada de ampicillin con sulbactam es efectiva para el tratamiento de infecciones del torrente sanguíneo debido a ABC MDR. A la par se ha demostrado que la combinación de ampicillin/sulbactam/carbapenémico también es efectiva para tratar la bacteriemia por ABC MDR así como la infección de piel y tejidos blandos por cepas resistentes a carbapenémicos, sin embargo, no es así para la neumonía asociada a la ventilación.⁴³ En el caso de esta droga aún no se define un esquema óptimo de tratamiento por lo que su resistencia se incrementa.⁵⁰

Polimixinas: en este grupo se incluyen a la colistina o polimixina E y la polimixina B. El metansulfonato de colistina es un antimicrobiano

polipeptídico que es bactericida frente a diversas especies de bacterias gramnegativas si bien son resistentes los géneros *Proteus*, *Providencia* y *Serratia*. Actúa a través de los fosfolípidos de la membrana celular bacteriana interrumpiendo su estructura.⁵¹ Se consideran a menudo una opción de tratamiento importante para los aislados resistentes a carbapenémicos en el contexto de la resistencia a sulbactam, pero las tasas de nefrotoxicidad inaceptablemente altas y la incapacidad de alcanzar con seguridad objetivos farmacodinámicos ha generado preocupación con respecto al uso de estos agentes.⁵⁰ Esta puede ser sinérgica o aditiva en combinación con carbapenémicos antipseudomónicos, rifampicina, tigeciclina, aminoglucósidos, fosfomicina y levofloxacino. La triple combinación de una polimixina con un carbapenémico y rifampicina puede ser particularmente activa. En el caso de ABC, son sinérgicas *in vitro* además las combinaciones de colistina con vancomicina, otros glucopéptidos o afines (teicoplanina, telavancina) y, en menor medida, con daptomicina. Sin embargo, la colistina alcanza concentraciones muy bajas en varios compartimientos orgánicos, especialmente en el líquido de revestimiento alveolar, por lo que la administración del fármaco mediante nebulización se considera en los casos de neumonía asociada a la ventilación. Estudios muestran que la nebulización de colistimetato junto a su administración intravenosa se asocia a una tasa más elevada de curación clínica y a una clara tendencia a una menor mortalidad. La concentración de colistina que previene la mutación es muy superior a las que pueden obtenerse en plasma y por tanto existe siempre riesgo de selección de mutantes resistentes.⁵² Algunos estudios recientes han propuesto la polimixina B como una alternativa terapéutica potencial a colistina pero su nefrotoxicidad dependiente de la dosis limita su uso. Sin embargo, algunos autores plantean que, la terapia combinada con carbapenémicos o tigeciclina utilizando concentraciones mínimas de polimixina B puede ser una buena estrategia para tratar las infecciones por ABC resistentes a carbapenémicos.³¹

Tigeciclina: es la primera de esta nueva clase de antibióticos (glicilcilcinas) con un amplio espectro de actividad frente al complejo ABC-MDR. Sin embargo, las limitaciones en el uso de tigeciclina han surgido con su creciente empleo por la aparición de resistencia.⁴³

Además la tigeciclina puede no alcanzar su diana farmacodinámica óptima cuando se administra a dosis convencionales a pacientes con infección grave debida a ABC y en aquellos con neumonía asociada a la ventilación mecánica, la exposición al fármaco (el ABC) es algo inferior. De hecho, en esta última entidad, la tigeciclina ha demostrado ser menos eficaz que el imipenem. La concentración que previene la mutación está por encima de la que puede obtenerse en plasma con cualquier pauta de dosificación clínica.⁵²

Minociclina: es una tetraciclina de amplio espectro que ha sido propuesta para el tratamiento de ABC resistente a fármacos por su alto grado de susceptibilidad y perfil farmacocinético favorable. La tasa media de susceptibilidad de ABC a minociclina es de aproximadamente el 80% en todo el mundo. Sin embargo, desde su introducción, aproximadamente el 20% de los aislados se comportan resistentes a esta droga. El principal determinante de resistencia es la bomba de eflujo TetB. La combinación de colistina con minociclina es eficaz para el tratamiento de la resistencia a esta última. Otras combinaciones se han comprobado eficaces en la mayoría de los aislados que no presentan el gen tetB, como por ejemplo minociclina con rifampicina, colistina o imipenem.⁴³

Aminoglucósidos: dentro de estos la amikacina y la tobramicina son dos agentes que parecen conservar actividad contra ABC, dadas sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas y generalmente se usan en combinación con otro antimicrobianos. Debido a sus perfiles de toxicidad a menudo se limita su uso, especialmente para tratamientos de largo tiempo.²⁴ Estudios muestran que los aminoglucósidos, administrados mediante nebulización, alcanzan concentraciones muy elevadas en las vías respiratorias. Esto sugiere que, en pacientes con neumonía asociada a la

ventilación mecánica por microorganismos multirresistentes, su uso podría tener un efecto clínico beneficioso y prevenir el desarrollo ulterior de resistencia a los antibióticos administrados por vía intravenosa.⁵²

Recientemente han salido al mercado nuevos agentes combinados con inhibidores de betalactamasas, como ceftolazona–tazobactam y ceftazidime–avibactam pero desafortunadamente no son efectivas para el tratamiento de ABC resistente a carbapenémicos.³¹

Terapia combinada

Dadas las limitaciones de la monoterapia para las cepas XDR y la aparición de cepas PDR, la terapia combinada se considera una opción potencial para mejorar los resultados del tratamiento y, posiblemente, para evitar una nueva aparición de resistencia. Sin embargo, hay pocos datos que sugieran que los regímenes de combinación puede reducir la aparición de resistencia *in vivo*, particularmente para infecciones por *Acinetobacter* específicamente. Revisiones sistemáticas no revelan que la terapia combinada es más eficaz en la prevención de la aparición de resistencia.

En múltiples estudios *in vitro* se ha visto que la combinación mas sinérgica es la de colistina-carbapenémico. Esta sinergia se puede observar, en particular, para aislamientos con resistencia intermedia a los carbapenémicos. La combinación con rifampicina puede ser útil para las infecciones del SNC, hueso o materiales protésicos.³¹

Péptidos antimicrobianos: Se trata de componentes esenciales de la inmunidad innata que actúan como primera barrera de defensa frente a los patógenos. Son altamente bactericidas y su mecanismo de acción se basa en su alta afinidad con los fosfolípidos aniónicos de la membrana citoplasmática de los patógenos. Esto lleva a la formación de canales en dicha membrana que ocasiona la muerte de la bacteria.

Diversos péptidos han sido estudiados *in vitro* frente a cepas multirresistentes o panresistentes del complejo ABC. Entre ellos podemos citar cecropina A, cecropina P1, magainina e indolicidina. Se ha demostrado que entre estos PAE puede existir sinergia y con otros antimicrobianos convencionales como los betalactámicos. En la actualidad, estas moléculas no se han introducido en la práctica clínica y se encuentran en fase de experimentación.³¹

Fototerapia: utiliza la combinación de oxígeno, la luz infrarroja y fotosensibilizantes para generar especies reactivas de oxígeno que pueden producir daño del ADN y romper las membranas celulares. Esta modalidad está limitada a uso tópico y lleva a la posibilidad de lesiones del tejido local de especies reactivas del oxígeno. A pesar de que pocos estudios han tratado de examinar el papel de los agentes fotosensibilizantes en *Acinetobacter*, porfirinas tetrapirrol y sales de fenotiazinio tienen el mayor apoyo.³¹

Bacteriófagos: en las últimas 2 décadas se ha renovado el interés en el uso de bacteriófagos. En el 2010 se identificaron AB1 y AB2 como los dos primeros fagos específicos para ABC.³¹ Varios bacteriófagos como *vB_Ab-M-G7* y *Bφ-C62* se han usado para tratar infecciones por ABC MDR. Especial atención también han merecido endolisinas procedentes de bacteriófagos de *A. baumannii* que degradan la pared de la bacteria y se muestran prometedoras como una nueva clase de antibióticos con un modo de acción único.⁴³ Las limitaciones de la terapia de fagos siguen siendo sustanciales ya que requiere una compatibilidad muy precisa del fago con el tipo de cepa bacteriana. Además hay mucha preocupación pues esta terapia incluye la posibilidad de efectos secundarios en la flora humana, la aparición de resistencia a los fagos de manera similar a la resistencia a los antibióticos, y el potencial para producir respuesta inflamatoria del receptor después de la administración del fago.³¹

Actualmente son muchos los investigadores que buscan alternativas de manejo para las infecciones por ABC debido a la amplia resistencia e incluyen el desarrollo de vacunas con efectos preventivos y terapéuticos, radioinmunoterapia, transferencia de genes bactericidas y nanotecnología.^{24,43}

II. CAPÍTULO: MATERIAL Y MÉTODOS

Se desarrolló un estudio descriptivo, de tipo retrospectivo, en 253 aislados del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* multidrogorresistente que forman parte de la colección de cultivos del Laboratorio Nacional de Referencia IAAS del Instituto Pedro Kourí (LNR-IAAS/IPK), los cuales se recibieron entre Junio 2011-Julio 2012. Los aislamientos procedían de 19 hospitales pertenecientes a ocho provincias del país (La Habana, Matanzas, Cienfuegos, Ciego de Ávila, Camagüey, Holguín, Santiago de Cuba y Guantánamo). De estos, 155 pertenecieron a las provincias occidentales, 68 a las centrales y 30 a las orientales. La selección de los aislados se realizó teniendo en cuenta el criterio de multidrogorresistencia definido por comité de expertos del Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) y del CDC.¹² La identificación de especies y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana constituyó el trabajo de tesis de la especialidad de la autora, cuyos resultados científicos constituyeron la base para el desarrollo de la presente investigación.

El trabajo se desarrolló durante el período de enero a septiembre del 2016. La obtención de los datos microbiológicos de los aislamientos se obtuvo a partir de la base de datos diseñada para la vigilancia nacional de *Acinetobacter* en dicho laboratorio.

Operacionalización de las variables

1. Especie de *Acinetobacter*: Cualitativa nominal.

Definición: Microorganismo aislado que cumple las características morfológicas, culturales y bioquímicas correspondientes al género *Acinetobacter*.

Escala de clasificación: Complejo *A.baumannii-calcoaceticus*

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

2. Servicio médico: Cualitativa nominal.

Definición: Servicio hospitalario que brinda atención especializada.

Escala de clasificación: Cirugía, Hematología, Hemodiálisis, Medicina, Miscelánea, Nefrología, Neonatología, Neurología, Ortopedia, Puerperio, Quemados, Respiratorio, UCI.

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

3. Tipo de muestra: Cualitativa nominal.

Definición: Volumen o porción de cualquier material que incluye excreciones, secreciones, sangre y sus componentes, líquidos corporales, fluidos o tejidos tisulares obtenidas del paciente o portador que está en dependencia del lugar anatómico del que se obtiene.

Escala de clasificación: Catéter, exudado de lesión, sangre, herida quirúrgica, LCR, loquios, secreción endotraqueal y otros (esputo y orina).

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

4. Categorías clínicas de pruebas de susceptibilidad: Cualitativa nominal.

Definición: Traducción de la respuesta *in vitro* de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, como factor predictivo de eficacia clínica.

Escala de clasificación:

- Sensible: Cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- Intermedio: Cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- Resistente: Cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico.

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

5. Categorización de la multirresistencia: Cualitativa nominal.

Definición: Terminología internacional estándar para categorizar la resistencia adquirida de microorganismos causantes de infecciones frente a las drogas antimicrobianas.

Escala de clasificación:

Multidrogorresistente (MDR): resistente a uno o más antibióticos en tres o más familias de antimicrobianos, todas las penicilinas y cefalosporinas incluyendo las combinadas con inhibidores, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Extremodrogorresistente (XDR): resistente a tres clases de antibióticos descritos en el concepto de MDR y además a los carbapenémicos.

Pandrogorresistente (PDR): aislamiento de *Acinetobacter* que cumple los criterios de XDR y además es resistente a polimixinas y tigeciclina.

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

6. Producción de MLBs: Cualitativa nominal

Definición: Son enzimas producidas por bacilos gramnegativos que inactivan los antibióticos carbapenémicos.

Escala de clasificación: productora, no productora.

Medida de resumen: Frecuencia relativa.

7. Producción de BLEE: Cualitativa nominal

Definición: Son enzimas producidas por bacilos gramnegativos que inactivan los antibióticos oximinobetalactámicos (cefalosporinas y aztreonam), pero no las cefamicinas (cefoxitina) ni a los carbapenémicos.

Procedimientos

Se procedió a extraer de la colección de *Acinetobacter* del LNR-IAAS/IPK 253 aislamientos caracterizados como MDR. Se transfirieron a placas de agar Mc Conkey (Biolife, Italia) para su cultivo y se incubaron a 37°C en aerobiosis durante 18 a 24 horas. Una vez que se corroboró la pureza y viabilidad del

cultivo, se procedió a realizar las pruebas para detección de BLEE y MBLs, respectivamente.

Se investigó la producción de BLEE en 165 cepas en las que se determinó la susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby- Bauer en estudio previo²³ y que por su expresión fenotípica podrían ser productores de estas enzimas (cepas resistentes a todas las cefalosporinas incluyendo las de tercera generación y al monobactámico aztreonam), así como la producción de MBLs en 227 cepas (resistentes a carbapenémicos) de la colección de *Acinetobacter* objeto de estudio, según las recomendaciones del 2016 del Instituto de Estandarización para Laboratorios Clínicos (CLSI, por sus siglas en inglés).⁵³

Preparación del inóculo

A partir de un cultivo puro de 18-24 h de crecimiento en agar McConkey se preparó el inóculo en 3 mL de solución salina, ajustando la suspensión bacteriana al estándar 0,5 de Mc Farland (10^8 - 10^9 UFC).

Siembra en las placas

Se introdujo un hisopo de algodón estéril en un tubo con la suspensión presionándolo ligeramente contra sus paredes. Con el hisopo se inoculó la superficie del medio de cultivo agar Muller Hinton (MH) y se realizó la siembra de forma homogénea.

Determinación de la actividad de betalactamasas

La detección cualitativa de MBLs se le realizó a todas las cepas resistentes a carbapenémicos y la confirmación del fenotipo productor de MBLs se llevó a cabo mediante el método de aproximación de discos (CLSI, 2016) en placas de agar MH con discos de imipenem (10 µg), meropenem (10 µg) y EDTA .

Interpretación:

Cepa productora de MBLs: un incremento del halo de inhibición hacia los discos de imipenem y meropenem (sinergismo).

Cepa no productora de MBLs: donde no se observó un incremento del halo de inhibición hacia los discos de imipenem y meropenem.

Cepas control: *Acinetobacter soli* DQ2015 (control positivo).

Escherichia coli ATCC 35218 (control negativo).

La detección de BLEE se le realizó a todas las cepas resistentes a las cefalosporinas incluyendo las de tercera generación y al aztreonam. La confirmación del fenotipo productor de BLEE se llevó a cabo mediante el método de disco combinado (CLSI, 2016) en placas de agar MH con discos de cefotaxima (30µg) y cefotaxima/clavulánico (30/10µg) y ceftazidima (30µg) y ceftazidima/clavulánico (30/10µg).

Interpretación:

Cepa productora de BLEE: Incremento ≥ 5 mm del halo de inhibición para los discos combinados respecto al halo de inhibición cuando se examina el antimicrobiano solo (sin el inhibidor).

Cepa no productora de BLEE: la diferencia de los halos de inhibición no fue ≥ 5 mm.

Cepa control: *K. pneumoniae* ATCC 700603 (control positivo).

Escherichia coli ATCC 35218 (control negativo).

Métodos de recolección y procesamiento de la información

Análisis estadístico

El análisis de los resultados se realizó mediante el programa Microsoft Office Excel 2010 y fueron expresados gráficos y tablas para su mejor interpretación. Se utilizó el porcentaje como medida de estadística descriptiva para el análisis y la presentación de los resultados.

Aspectos éticos

El protocolo de la investigación fue evaluado y aprobado por la Comisión Científica Especializada de Microbiología y el Comité de Ética Institucional del IPK (51-16).

La investigación se realizó en el LNR-IAAS/IPK. Los datos referentes a los aislados se analizaron a partir de la base de datos existente en dicho laboratorio. Se contó siempre con la autorización de la Responsable del Laboratorio donde se lleva a cabo la vigilancia nacional de este patógeno.

El LNR-IAAS/IPK fue idóneo para la realización de la investigación ya que está climatizado, con agua corriente, adecuada iluminación y se contó con los recursos materiales indispensables para efectuar el estudio.

El manejo de los aislados y de los datos correspondientes al paciente se llevó cabo por un Médico Especialista de 1er. Grado en Microbiología encargado de la investigación y fue supervisado por el tutor de la tesis, que es un médico especialista en microbiología con más de 15 años de experiencia y Doctor en Ciencias.

Es importante señalar que aunque los pacientes de los cuales procedieron los aislados, objeto de estudio, no se beneficiaron de manera directa, por tratarse de una investigación retrospectiva, los resultados derivados de dicha investigación permitirán elevar el conocimiento de los profesionales de la salud sobre algunos mecanismos implicados en la resistencia de este germen. Esto contribuirá a la realización y revisión de las pautas de terapia antimicrobiana en cada institución hospitalaria lo que conduce a evitar el uso indiscriminado de antimicrobianos, mejorar la calidad de la asistencia médica y evitar la estadía hospitalaria prolongada con el consecuente efecto económico y social.

La investigación como un todo se terminó una vez que se estudiaron todos los aislados que formaron parte del estudio, así como la elaboración del informe final, incluyendo su discusión.

Los resultados del estudio serán presentados y publicados de manera conjunta entre los investigadores del LNR-IAAS/IPK y los investigadores involucrados a nivel de los laboratorios de la red en una revista internacional y se elaborará un informe técnico para la Dirección Nacional de Higiene y Epidemiología del MINSAP que será de gran utilidad dentro la prevención y control de las infecciones por *Acinetobacter*.

Para el trabajo en el laboratorio se tuvo en cuenta las prácticas, procedimientos y los equipos de seguridad que corresponden al nivel de seguridad biológica II, según establece la Resolución Nro. 103 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), de fecha 8 de octubre de 2002.⁵⁴ El complejo ABC está incluido entre los agentes biológicos que afectan al hombre, en el grupo de riesgo II, según establece la Resolución No. 38 del mismo organismo, del 24 de marzo de 2006, por lo que representa riesgo individual moderado y comunitario limitado.⁵⁵

III. CAPÍTULO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La multidrogorresistencia en el complejo ABC es un problema emergente a nivel mundial y su notificación se incrementa durante la última década.⁵⁶ En el estudio previo que constituyó la base para el desarrollo de la presente investigación se obtuvo un alto porcentaje de resistencia frente a los betalactámicos. Una de los mecanismos implicados en la resistencia a esta familia de antimicrobianos es la producción de BLEE. En la figura 1 se observa la frecuencia de portación de BLEE (14%) entre los aislados multidrogorresistentes.

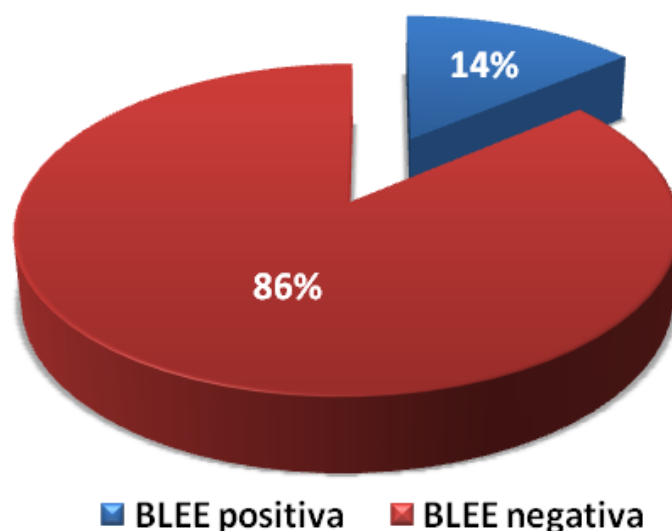


Figura 1. Frecuencia de aislados multidrogorresistentes del complejo ABC portadores de BLEE (n=165). IPK, 2016.

En un estudio realizado por Gupta y colaboradores en la India reveló que el 24,3% de los bacilos gramnegativos no fermentadores encontrados fueron productores de BLEE. Sin embargo, en dichos aislados de *Acinetobacter* coexistieron otros mecanismos de resistencia.⁵⁷ En estudios realizados en ese mismo país por Singla y colaboradores y Kumar y colaboradores hallaron la presencia de BLEE en el 4% y 57.14% de sus aislados, respectivamente.^{58,59}

Un estudio realizado por Safari y colaboradores (2015) en tres UCI de Irán mostró que solo el 7% de los aislados fueron positivos a BLEE.⁶⁰

En Cuba, los primeros resultados de la vigilancia realizada en LNR-IAAS/IPK en el período del 2010-2011 reportan un 16% de aislados productores de BLEE.²⁰

El bajo porcentaje de BLEE que se obtuvo en la presente investigación sugieren que la resistencia frente a cefalosporinas de tercera generación y a aztreonam podría estar dada, principalmente, por la hiperproducción de enzimas de tipo AmpC acorde con lo que se reporta a nivel mundial.⁴² No obstante, debemos considerar que *Acinetobacter* posee integrones que codifican para la presencia de BLEE por lo que su producción podría incrementarse en un futuro.⁶¹

Además, a pesar de no tratarse de un mecanismo prevalente, su presencia impone su vigilancia en aras de conocer fenotipos circulantes así como establecer pautas terapéuticas y medidas de control en los hospitales del país. Aunque numerosos autores expresan discordancia en cuanto a la relación existente entre la portación de un aislado productor de BLEE y el pronóstico de las infecciones en términos de mortalidad y el curso clínico de los pacientes con infecciones graves ⁶², su estudio es de extrema importancia. Esto se debe a que en la actualidad la alta prevalencia de infecciones por gérmenes productores de BLEE en el ámbito hospitalario genera un importante impacto en el gasto sanitario. Además tienen repercusión sobre la ecología hospitalaria en relación con la presión antibiótica que provocan los cambios en la antibioticoterapia empírica. ⁶²

El extenso uso de los carbapenémicos dentro de los hospitales, continúa siendo un factor importante en la contribución a la emergencia y el incremento de las infecciones mundiales por cepas del complejo ABC resistentes a estos. El mecanismo más importante es la producción de carbapenemasas.

La figura 2 muestra la frecuencia de aislados multidrogorresistentes que resultaron portadores de carbapenemasas tipo metalobetalactamasas (10%).

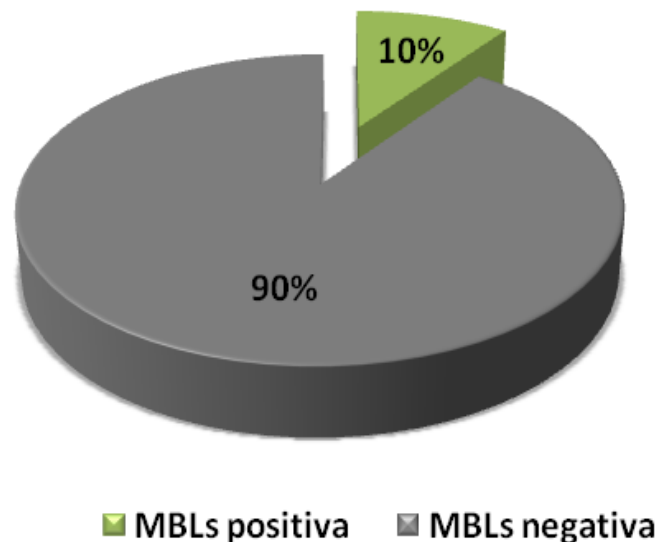


Figura 2. Frecuencia de aislados multidrogorresistentes del complejo ABC portadores de metalobetalactamasas (n=227). IPK, 2016.

La presente investigación se encuentra en concordancia con un estudio realizado por Khanal y colaboradores en el 2013 en Nepal donde notificaron un 10.9% de aislados productores de MBLs.⁶³ Por el contrario, estudios realizados en Irán desde hace varios años por numerosos investigadores reportan porcentajes superiores al 40% de MBLs.^{64,65} Kumar y colaboradores en un estudio realizado en la India (2013) reporta un 29.25% de aislados productores de MBLs.⁵⁹

No obstante, la literatura revisada es variable en este tema ya que algunos autores como Lisboa (2012) y Dias-Siqueira (2013) en Brasil no obtuvieron aislados productores de estas enzimas,^{66,67} en contraposición a otros como Safari y colaboradores en Irán (2013) que detectaron un 99% de aislados positivos para la prueba fenotípica de MBLs.⁶⁸ En estudio realizado por Gupta

y colaboradores encontraron que el 25% de aislamientos del complejo ABC fueron productores de MBL.⁵⁷

La obtención de un bajo porcentaje de aislados productores en el presente estudio es congruente con lo reportado a nivel mundial ya que sugiere la producción de oxacilinasas como principal mecanismo de resistencia frente a carbapenémicos.⁶⁹ Desafortunadamente la detección del tipo de oxacilinasas solo es posible mediante métodos moleculares lo que dificulta más monitoreo epidemiológico sistemático de estas.

Por otra parte la presente investigación ratifica la presencia de metalobetalactamasas en aislados cubanos e impone la necesidad de desarrollar investigaciones de tipo molecular encaminadas a la búsqueda de tipos genéticos de esta enzima. Todo esto si consideramos que, en el 2013 en Cuba se notifica por primera vez la presencia de la metalobetalactamasa New Delhi-1 en un aislado de *Acinetobacter soli*.⁷⁰ Además, con el decursar de los años esta enzima se ha detectado en nuevos aislados de este complejo así como en otras especies del género como *A. haemolyticus*. (Datos no publicados del LNR-IAAS/IPK) Esto denota la importancia de continuar la vigilancia de estas enzimas en bacterias gramnegativas causantes de IAAS en el país.

En cinco de los aislamientos estudiados se observó la coproducción de BLEE y MBLs. Este resultado concuerda con el de autores como Kumar y colaboradores (2013) en la India en cuyo estudio 13 de los aislados presentaron ambas betalactamasas.⁵⁹

Este resultado corrobora el hecho de que pueden coexistir diferentes mecanismos de resistencia cuya habilidad de adquirirlos, convierte a *Acinetobacter* en un patógeno de extrema importancia. Además, este hecho ubica a dichos aislados como extremodrogorresistentes, frente a los cuales pierden la efectividad todas las cefalosporinas y los carbapenémicos. Para estos, la única alternativa terapéutica posible en nuestro país es la colistina, ya que no se dispone de la tigeciclina ni de los nuevos antimicrobianos

combinados con inhibidores de carbapenemasas. Es por esto que, la posibilidad de determinar estos mecanismos por métodos fenotípicos, la hace una valiosa herramienta en manos del microbiólogo y el médico de asistencia cuando no se dispone de técnicas moleculares. Su detección orienta al establecimiento de medidas de control adecuadas que eviten la propagación de gérmenes portadores de estas enzimas cuyo gen se encuentra ubicado en plásmidos, lo que favorece su diseminación incluso a otros géneros bacterianos y la aparición de fenotipos resistentes difíciles de controlar.

El complejo ABC convertido en las dos últimas décadas en un agente patógeno potencial a nivel mundial provoca infecciones a todos los niveles en el hombre pero numerosos investigadores reportan predominio en muestras del tracto respiratorio y sangre.

La tabla 1 presenta la procedencia de los aislados portadores de BLEE y MBLs según muestras de origen.

Tabla 1. Distribución de aislados del complejo ABC portadores de betalactamasas de espectro extendido y metalobetalactamasas según muestras de procedencia. IPK, 2016.

MUESTRA	BLEE	MBLs
Hemocultivo	30%	43%
Secreción endotraqueal	22%	26%
Catéter	22%	9%
Herida sitio quirúrgico	18%	14%
Líquido cefalorraquídeo	4%	4%
Loquios	4%	0
Exudado lesión	0	4%

En Asia y algunos países de Latinoamérica, *Acinetobacter* es uno de los tres gérmenes más frecuentes causantes de bacteriemia y neumonía intrahospitalaria.³¹

Chittawatanarat y colaboradores, en un estudio realizado en Thailandia notifican este germen como la bacteria gramnegativa predominante en los casos estudiados de neumonía asociada a la ventilación.⁷¹

Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo son concordantes con estudios realizados por Culebras y colaboradores⁷², en España (2010) y Lisboa y colaboradores⁶⁶, en Brasil (2012) donde notificaron al tracto respiratorio y la sangre como los sitios más afectados por dicho patógeno.

En investigación realizada por Gupta y colaboradores reportan un 34.3% de infecciones del tracto respiratorio bajo, lo que la ubica como la infección más frecuente en los pacientes hospitalizados en UCI.⁵⁷

En Irán y Turquía, investigadores como Safari y colaboradores (2013)⁶⁸ y Paksu y colaboradores (2012)⁷³ notifican las secreciones traqueobronquiales como el principal origen de aislamiento del complejo ABC.

Medell y colaboradores (2011) en estudio realizado en Cuba a pacientes hospitalizados con neumonía asociada a la ventilación notifican el complejo ABC como el germen que se aisló con mayor frecuencia (68.8%)³⁶ y resultados de la vigilancia nacional notifican también el torrente sanguíneo y el tracto respiratorio como los principales sitios de aislamiento de este germen.^{20,22,23}

Si consideramos los sitios donde se obtuvo el mayor número de aislados portadores de estas enzimas podemos decir que estos fueron causa de infecciones invasivas. Este hecho denota la repercusión clínico-terapéutica de este género bacteriano por las limitadas opciones de tratamiento frente a este tipo de infecciones, donde se concentró la mayor producción de estos mecanismos. Este hecho, sin dudas, confiere a la bacteria una mayor sobrevivencia lo que unido a factores predisponentes del huésped favorecen el desarrollo de estas infecciones y por tanto su predominancia en dichas localizaciones.

Según datos del CDC en la actualidad *Acinetobacter* causa cerca del 2% de todas las IAAS en EE.UU, principalmente en las UCI. Estudios de vigilancia de redes hospitalarias muestran una frecuencia similar en las UCI de Europa y América Latina. Sin embargo, en países como China, Tailandia, Taiwán, India, Vietnam y algunos de América del Sur, la proporción es mayor y puede ser el patógeno nosocomial predominante.³¹

La tabla 2 muestra la proporción de aislados portadores de BLEE y MBLs según el servicio hospitalario de procedencia.

Tabla 2. Distribución de aislados portadores de BLEE y MBLs según servicio hospitalario. IPK, 2016.

SERVICIO HOSPITALARIO	BLEE	MBLs
Unidad Cuidados Intensivos	78%	78%
Puerperio	4.4%	4.4%
Medicina	4.4%	4.4%
Ortopedia	4.4%	4.4%
Nefrología	-	4.4%
Quemados	-	4.4%
Urología	4.4%	-
Cirugía	4.4%	-

En concordancia con la presente investigación, Gupta y colaboradores en estudio realizado en la India (2015) reportan que la UCI fue el servicio hospitalario donde se obtuvo la mayoría de los aislados de *Acinetobacter* con predominio del complejo ABC. Por demás, fue en este servicio donde se exhibieron los porcentajes más altos de resistencia y donde se demostró además portación de BLEE y MBLs en *Acinetobacter*.⁷⁴

Moghadam y colaboradores en Irán reportan que el 42.7% de los aislados notificados como productores de MBLs procedían de la UCI.⁶⁴

Nodarse y colaboradores (2015) en un estudio realizado en nuestro país notifica que más de la mitad de sus aislamientos procedían de este servicio hospitalario.⁷⁵

Los pacientes infectados por cepas productoras de BLEE tienen, por lo general, mayor comorbilidad que los pacientes infectados por cepas no productoras de BLEE, de tal manera que los primeros están con mayor frecuencia hospitalizados, particularmente en unidades de cuidados intensivos y de neonatología.⁶²

Además, la UCI es el servicio donde se produce la mayor presión con antimicrobianos por metro cuadrado de superficie del hospital²³, lo que favorece la selección de fenotipos resistentes. Esta podría ser la causa de que en la presente investigación exista un predominio de aislados productores de BLEE y MBLs en dicho servicio.

En la actualidad ante las tasas elevadas de resistencia frente a β -lactámicos y las limitaciones existentes en los esquemas de la terapia antimicrobiana se hace necesario evaluar la respuesta a otros grupos de antimicrobianos y la reutilización de medicamentos antiguos, que reemergen en el tratamiento de pacientes con infecciones graves.

La figura 3 muestra la susceptibilidad de aislados productores de BLEE y MBLs frente a diferentes antimicrobianos.

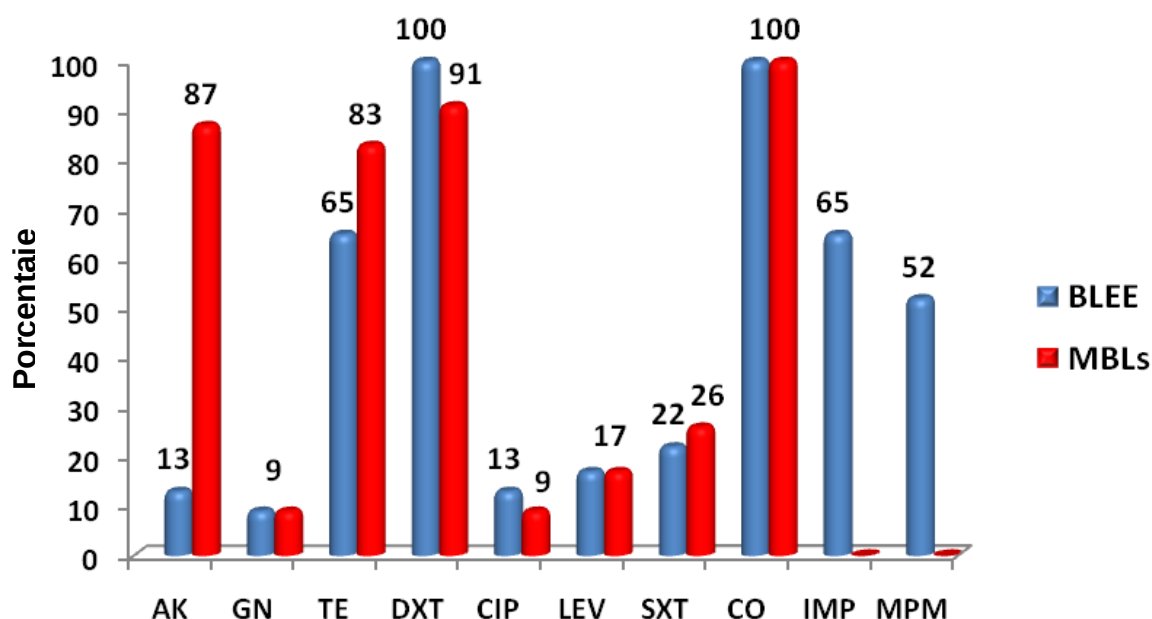


Figura 3. Susceptibilidad de aislados productores de BLEE y MBLs frente a diferentes antimicrobianos. IPK, 2016.

Leyenda: AK: amikacina, CN: gentamicina, TE: tetraciclina, DXT: doxiciclina, CIP: ciprofloxacino, LEV: levofloxacino, SXT: trimetropín-sulfametoxazol, CO: colistina, IMP: imipenem, MPM: meropenem

La colistina y las tetraciclinas constituyeron las drogas más activas frente a los aislados productores de BLEE y MBLs, ya que resultaron susceptibles en su totalidad. En el caso de las tetraciclinas, Lisboa y colaboradores (2012)⁶⁶ en Brasil y Azimi y colaboradores (2015)⁷⁶ en Irán notifican buenas tasas de susceptibilidad en aislados resistentes, incluso, a carbapenémicos. Por otra parte resultados de la vigilancia nacional corroboran la eficacia *in vitro* de este grupo de antimicrobianos frente a aislados multidrogorresistentes.^{20,22,23} El hecho de que aislados portadores de estos mecanismos exhiban bajos niveles de resistencia frente a las tetraciclinas constituye un aliciente para el tratamiento de estas infecciones en adultos siempre que se disponga de estos por vía parenteral.

En cuanto a la colistina, los resultados de la presente investigación son congruentes con los de Príncipe y colaboradores (2014) ⁷⁷ en Italia, que notifican 100% de susceptibilidad frente a aislados resistentes a carbapenémicos. A la par, Altun y colaboradores (2014) ⁷⁸ en Turquía reportan igual tasa de susceptibilidad frente a esta droga en aislados productores de BLEE. Este dato es de suma importancia pues la colistina puede constituir un medicamento de elección en el tratamiento de infecciones graves. Sin embargo, un estudio realizado en el país, en el Hospital Hermanos Ameijeiras reporta cifras bajas de resistencia a colistina (2%).⁷⁹

Además, Quiñones y colaboradores ⁷⁰ notifican como resultado de la vigilancia nacional, cifras de resistencia a colistina menores del 5%. A pesar de este bajo porcentaje, es necesario estrechar la vigilancia sobre este antibiótico, único disponible en el país para enfrentar las infecciones producidas por cepas de aislados resistentes a carbapenémicos.

Los aminoglucósidos son muy activos frente a bacilos gramnegativos aerobios, motivo por el cual se utilizan para tratar infecciones graves intrahospitalarias provocadas por estos patógenos. Habitualmente se usan combinados con betalactámicos o glucopéptidos. Sin embargo, en la literatura revisada se encuentran publicaciones que señalan tasas de resistencia muy elevadas. Al respecto, Fernández-Cuenca y colaboradores ¹¹ en el 2013 reportan un 49% y 70% de resistencia frente a amikacina y gentamicina, respectivamente. Príncipe y colaboradores (2014) ⁷⁷ determinaron que la resistencia a aminoglucósidos hallada en su estudio se asoció a la de carbapenémicos, con valores muy altos. No obstante, existen trabajos realizados que muestran mejores tasas de susceptibilidad a este grupo. Por ejemplo, Lisboa y colaboradores (2012), ⁶⁶ en Brasil, reportaron 43% y 59% de susceptibilidad frente a la gentamicina y la amikacina en aislados resistentes a carbapenémicos. En el presente trabajo la amikacina constituyó el aminoglucósido más activo en aquellos aislados resistentes a carbapenémicos por lo que debe tenerse en cuenta como posible alternativa

terapéutica para el tratamiento de infecciones graves por este patógeno, en combinación con otros antibióticos.

Esto concuerda con lo que se describe a nivel internacional donde amikacina figura como la droga más activa frente a aislados del complejo ABC.⁸⁰

Sin embargo, en los aislados productores de BLEE esta droga exhibió niveles considerables de resistencia. Esto pudiera deberse a que los plásmidos que codifican para la producción de estas enzimas, contienen frecuentemente genes que inducen resistencia a otros agentes antimicrobianos como los aminoglucósidos.⁸¹

En el caso de la gentamicina la resistencia fue alta tanto para los aislados productores de BLEE como de MBLs. Un factor elemental que pudiera contribuir a este resultado es el uso indiscriminado de esta droga en nuestro medio, pues se trata de la única disponible en la comunidad dentro de esta familia de antimicrobianos. La resistencia a aminoglucósidos está relacionada principalmente con la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMA). Los genes que codifican estas enzimas están, principalmente, en plásmidos y transposones. El complejo ABC puede albergar uno o más tipos de EMA y un tipo de EMA puede actuar sobre uno o más tipos de aminoglucósidos.⁸² Esto, podría explicar la diferencia hallada en la presente investigación en los valores de susceptibilidad entre uno y otro fármaco pertenecientes a la misma familia de antimicrobianos.

Por todo lo anterior, es necesaria la vigilancia de la resistencia de este patógeno frente a este grupo de antimicrobianos, sobre todo si tenemos en cuenta la emergencia y circulación de complejos clonales portadores de genes que codifican para la producción de metalobetalactamasas (NDM-1) y de 16S rRNA metilasas ArmA, lo que confiere a este germen altos niveles de resistencia frente a carbapenémicos y aminoglucósidos simultáneamente.⁸³

Las quinolonas presentaban una buena actividad frente a *Acinetobacter*, sin embargo, la resistencia a estos antimicrobianos ha emergido en aislamientos clínicos.²³ Esto se demuestra por numerosos autores como, Peymani y

colaboradores (2011) ⁶⁵ en Irán que reporta elevados porcentajes de resistencia para ciprofloxacina (86%) y levofloxacina (84%), Lisboa y colaboradores ⁶⁶ (2012) en Brasil encontraron una resistencia de 87% a ciprofloxacina y Príncipe y colaboradores ⁷⁷ (2014) determinaron que el 98% de los aislamientos fueron resistentes a ciprofloxacina. Cuba no se aleja de esta realidad pues Quiñones y colaboradores ⁷⁰ notifican como datos de la vigilancia nacional una resistencia superior al 50% para ciprofloxacina. Los resultados del presente estudio concuerdan con los datos anteriores pues la resistencia frente a ciprofloxacina y levofloxacina fue elevada. Esto pudiera deberse a que estas constituyan uno de los grupos de antimicrobianos utilizados de manera más indiscriminada en los últimos años, lo cual trae aparejado el fenómeno de la resistencia.

En el presente trabajo la susceptibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol fue baja lo que concuerda con estudios internacionales que reportan un incremento sustancial de la resistencia frente a esta droga. ^{65,77,84}

En el caso de los carbapenémicos, los niveles de susceptibilidad hallados en los aislados productores de BLEE fueron favorables. Esto ratifica a este grupo como la principal alternativa terapéutica en infecciones graves producidas por bacterias gramnegativas portadores de estas enzimas. ^{85,86}

No obstante, es necesario ser cautelosos en el empleo de estos antimicrobianos debido a la emergente resistencia de este patógeno.

CONCLUSIONES

1. La producción de betalactamasas de espectro extendido y de metalobetalactamasas en los aislados del complejo ABC estudiados, ratifican la diversidad de mecanismos de resistencia presentes en este patógeno.
2. La mayor prevalencia de aislados portadores de betalactamasas de espectro extendido y de metalobetalactamasas en unidades de cuidados intensivos y su presencia en muestras de sangre y secreción endotraqueal denotan la relevancia clínica de este patógeno y el desafío terapéutico que representan por las pocas o casi nulas opciones terapéuticas existentes.
3. Las tetraciclinas y la colistina constituyen antibióticos eficaces frente a aislados del complejo ABC portadores de betalactamasas de espectro extendido y metalobetalactamasas mientras los carbapenémicos son la alternativa terapéutica idónea para los aislados productores de betalactamasas de espectro extendido.

RECOMENDACIONES

Desarrollar estudios moleculares de tipos genéticos de metalobetalactamasas en aislamientos cubanos del complejo ABC para profundizar en la epidemiología de la resistencia de este patógeno bacteriano.

Desarrollar estudios de epidemiología molecular para conocer los clones del complejo ABC-MDR circulantes en Cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ Fariñas-Álvarez C., Teira-Cobo R., Rodríguez-Cundína P. Infección asociada a cuidados sanitarios (infección nosocomial). *Medicine*. 2010; 10(49):3293-300.
- ² Gonzalez AM, Valverde V. Antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* increasing success remains a challenge as a nosocomial pathogen. *Journal of Pathogens*. 2016; Article ID 7318075, 10 pages. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7318075>.
- ³ Hernández A, García E, Yagüe G, Gómez J. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: situación clínica actual y nuevas perspectivas. *Rev Esp Quimioter* 2010;23(1):12-19.
- ⁴ Xia Y, Lu C, Zhao J, Han G, Chen Y, Wang F, et al. A bronchofiberoscopy-associated outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit in Beijing, China. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2012 [cited 2016 March 23];12:[335 p.]. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/12/335>.
- ⁵ Lemos EV, De la Hoz F, Alvis N, Quevedo E, Cañon O, León Y. Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 2011;30(4):287–94.
- ⁶ Di Nocera P, Rocco F, Giannouli M, Triassi M, Zarrilli R. Genome organization of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains. *BMC Microbiol* [Internet]. 2011 [cited 2016 March 23];11:[224p.]. Available from: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2180-11-224.pdf>.
- ⁷ Muñoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med*. 2008; 358:1271-81.
- ⁸ Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008; 21(3):538-82.

-
- ⁹ Leal AL, Buitrago G, Sanchez R, Castillo JS, Cortes JA, Álvarez CA, et al. The emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Colombia: A time-series analysis, 2001-2007. *Rev. salud pública*. 2011;13 (4): 691-702.
- ¹⁰ Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2013; 41(1):11-19.
- ¹¹ Fernández F, Tomás M, Caballero F, Bou G, Martínez L, Vila J, et al. Actividad de 18 agentes antimicrobianos frente a aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii*: segundo estudio nacional multicéntrico (proyecto GEIH-REIPI-Ab 2010). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31(1):4–9.
- ¹² Magiorakos A, Srinivasan R, Carey Y, Carmeli M, Falagas C, Giske S, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18: 268–81.
- ¹³ Jia W, Li C, Zhang H, Li G, Liu X, Wei J. Prevalence of genes of OXA-23 carbapenemase and AdeABC efflux pump associated with multidrug resistance of *Acinetobacter baumannii* Isolates in the ICU of a comprehensive hospital Northwestern China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2015; 12(8):1079-92.
- ¹⁴ Vila J, Marco F. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28(10):726–36.
- ¹⁵ Bonnin R, Nordmann P, Potron A, Lecuyer H, Zahar J, Poirel L. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum β -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55(1):349-54.
- ¹⁶ Martínez P, Mattar S. Imipenen-resistant *Acinetobacter baumanii* carrying the ISAbal-bla OXA-23, 51 and ISAbal-bla ADC-7 genes in Monteria, Colombia. *Braz J Microbiol [Internet]*. 2012 [cited 2016 May 23]; 43(4):

[1274-80p.]. Available from:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttex&pid=S1517-83822012000400006&lng=en>.

- ¹⁷ Pino C, Domínguez M, González G, Bello H, Sepúlveda M, Mella S, et al. Producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en hospitales de la VIIIª Región, Chile. Rev Chil Infect. 2007; 24 (2): 137-141.
- ¹⁸ Novovic K, Mihajlovic S, Vasiljevic Z, Filipic B, Begovic J, Jovcic B. Carbapemen-Resistant *Acinetobacter baumannii* from Serbia: Revision of CarO Classification. PLoS ONE. 2015;10 (3).
- ¹⁹ Suárez CJ, Kattán JN, Guzmán AM, Villegas MV. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. Infectio 2006; 10(2): 85-93.
- ²⁰ Carvajal I. Importancia clínica y susceptibilidad antimicrobiana de *Acinetobacter* spp. causante de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2010-2011. [Tesis]. Trabajo para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Microbiología Médica. La Habana: Instituto “Pedro Kouri”; 2012.
- ²¹ Santiesteban Y. Infecciones nosocomiales por el género *Klebsiella* y *Acinetobacter* en hospitales pediátricos cubanos y resistencia antibiótica. [Tesis]. Trabajo para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología. La Habana: Instituto “Pedro Kouri”; 2013.
- ²² Vera Y. Complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* en hospitales pediátricos cubanos. Acercamiento epidemiológico y microbiológico. 2010-2013. [Tesis]. Trabajo para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Microbiología Médica. La Habana: Instituto “Pedro Kouri”; 2014.
- ²³ Pérez Y. Caracterización microbiológica y susceptibilidad antimicrobiana de especies de *Acinetobacter* causantes de infecciones en Cuba. IPK, 2011-

2012. [Tesis]. Trabajo para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Microbiología Medica. La Habana: Instituto “Pedro Kouri”; 2015.

²⁴ Rodríguez RD, Bustillo DE, Caicedo DC, Cadena DC, Castellanos C. *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. MÉD.UIS. 2016; 29(2):113-35.

²⁵ García Lucas T. Estudio de la Epidemiología Molecular y Resistencia Antibiótica de Aislamientos Clínicos de *Acinetobacter baumannii* del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. [Tesis]. Tesis presentada para optar por el título de Doctor: Universidad De Murcia Facultad De Biología; 2016.

²⁶ Vanegas-Múnera JM, Roncancio-Villamil G, Jiménez-Quiceno JN. *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. Rev CES Med 2014; 28(2): 233-246.

²⁷ Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, Sedo O, Brisse S, Higgins PG. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter baumannii calcoaceticus* complex isolated from human clinical specimens. Int J Syst Evol Microbiol 2015; 65: 934-4.

²⁸ Cosgaya C, Mari-Almirall M, Van Assche A, Fernandez-Orth D, Mosqueda N, Telli M, et al. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a new member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66: 4105-11.

²⁹ Chan J, Halachev M, Loman N, Constantinidou C, Pallen M. Defining bacterial species in the genomic era: insights from the genus *Acinetobacter*. BMC Microbiology. 2012; 12(302): 1-11.

³⁰ Marí-Almirall M, Cosgaya C, Higgins PG, Van Assche A, Telli M, Huys 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. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017; [https://doi: 10.1016/j.cmi.2016.11.020](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.020).

³¹ Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 30:409–447. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-16>.

³² Rada J. *Acinetobacter* un patógeno actual. *Rev Soc Bol Ped* 2016; 55 (1): 29-48.

³³ Kim UJ, Kim HK, An JH, Cho SK, Park K-H, Jang H-C. Update on the epidemiology, treatment, and outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter* infections. *Chonnam Medical Journal*. 2014;50(2):37-44. doi:10.4068/cmj.2014.50.2.37.

³⁴ Gordona NC, Warehama DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010;35:219–26.

³⁵ Beceiro A, Tomás M, Bou G. Resistencia a los antimicrobianos y virulencia, ¿una asociación beneficiosa para el mundo microbiano? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(8):492–9.

³⁶ Medell M, Hart M, Duquesne A, Espinosa F, Valdés R .Nosocomial Ventilator-Associated Pneumonia in Cuban Intensive Care Units: Bacterial Species and Antibiotic Resistance. *MEDICC Review*.2013;15(2):26-9

³⁷ Almasaudi S.B. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi Journal of Biological Sciences* [Internet]. 2016 Feb [cited 2016 Feb 9];36(2):[About 11 p.]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.009>.

-
- ³⁸ Aguirre Ávalos G, Mijangos Méndez J, Amaya Tapia G. Bacteriemia por *Acinetobacter baumannii*. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2010;48(6):625-34.
- ³⁹ Rolain JM, Canton R, Cornaglia G. Emergence of antibiotic resistance: need for a new paradigm. Clinical Microbiology and Infection [Internet]. 2012 Jan [cited 2012 Jan 9];18(7):[About 10 p.]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03902.x>.
- ⁴⁰ Llewelyn M, Fitzpatrick JM, Darwin E, Tonkin-Crine S, Gorton C, Paul J, et al. The antibiotic course has had its day. BMJ [Internet]. 2017 Jul [cited 2017 Jul 26];358(12). Available from: doi: 10.1136/bmj.j3418.
- ⁴¹ Kempf M, Rolain J-M, Diatta G. Carbapenem Resistance and *Acinetobacter baumannii* in Senegal: The Paradigm of a Common Phenomenon in Natural Reservoirs. PLoS ONE. 2012;7(6).
- ⁴² Martínez Rojas DV. Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2009; 29:78-83.
- ⁴³ Lee C-R, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options.. Front. Cell. Infect. Microbiol. [Internet]. 2017;7(55):[About 35 p.]. Available from: doi: 10.3389/fcimb.2017.00055.
- ⁴⁴ Ruiz Garbajosa P, Cantón R. Epidemiología de los bacilos gramnegativos multirresistentes. Rev Esp Quimioter 2016;29(Suppl. 1): 21-25.
- ⁴⁵ Cuaical NM, Delgado YA, Anzola YM, Marcano D, Torres LC. Detección de carbapenemasas tipo OXA en aislados de *Acinetobacter baumannii* de diferentes centros hospitalarios de Caracas, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2012; 32:95-100.

-
- ⁴⁶ Evans B, Amyes S. OXA β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*. 2014;27(2):241-63.
- ⁴⁷ Doi Y, Wachino J, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2016 Jun [cited 2016 Jun 2];30(2):[About 15 p.]. Available from: doi:10.1016/j.idc.2016.02.011.
- ⁴⁸ Fishbain J, Peleg A. Treatment of *Acinetobacter* Infections. *Clin Infect Dis*. 2010;51:79-84.
- ⁴⁹ Ruzin A, Immermann F, Bradford P. RT-PCR and statistical analyses of adeABC expression in clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* complex. *Microb Drug Resist* [Internet]. 2010 [cited 2012 April 4]; 16(2). Available from: <http://hinari-gw.who.int/whalecomonline.liebertpub.com/whalecom0/doi/pdfplus/10.1089/mdr.2009.0131>.
- ⁵⁰ Jennifer N, Oryan Henig L, Pogue J, Kaye K. Minocycline for the Treatment of Multidrug and Extensively Drug-Resistant ABC: A Review. *Infect Dis Ther* (2017) 6:199–211.
- ⁵¹ Garnacho J. Tratamiento antibiótico de las infecciones graves por *Acinetobacter* *Revista Electrónica de Medicina Intensiva*. 2004;4(6):1-11.
- ⁵² Martínez JA. Aproximación terapéutica dirigida tras el conocimiento del aislado: enterobacterias productoras de carbapenemasas, *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente y *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos. *Rev Esp Quimioter* 2016;29(Suppl. 1): 31-34.
- ⁵³ Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th Edition 2016; 36(1):118-122.

-
- ⁵⁴ Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Resolución N° 103. Reglamento para el establecimiento de los requisitos y procedimientos de seguridad biológica en las instalaciones en las que se hace uso de agentes biológicos y sus productos, organismos y fragmentos de estos con información genética. La Habana: CITMA; 2002.
- ⁵⁵ Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Resolución N° 38. Lista Oficial de los Agentes Biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas. Gaceta Oficial República de Cuba. 2006;56:999-1001.
- ⁵⁶ Durante Mangoni E, Zarrilli R. Global spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance. Future Microbiol. 2011; 6(4): 407–422.
- ⁵⁷ Gupta V, Garg R, Kaur M, Garg S, Attri AK, Chander J. Prevalent resistance mechanisms in isolates from patients with burn wounds. Indian J Burns 2015;23:60-4.
- ⁵⁸ Singla P, Sikka R, Deep A, Gagneja D, Chaudhary U. Co-production of ESBL and AmpC β -Lactamases in Clinical Isolates of *A. baumannii* and *A. lwoffii* in a Tertiary Care Hospital From Northern India. J Clin Diagn Res. 2014; 8(4):16-9.
- ⁵⁹ Kumar E, Usha K, Ramana BV, Chaudhury A, Sai DV. Prevalence of various β -lactamase (ESBL, AMPC and MBL) producing multidrug resistant clinical isolates of *Acinetobacter* in a tertiary care hospital. Asian J Pharm Clin Res. 2013;6, suppl 4 :428-31.
- ⁶⁰ Safari M, Mozaffari AS, Bahador A, Jafari R, Yousef M. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of intensive care units (ICU). Saudi Journal of Biological Sciences [Internet]. 2015 [cited 2015 Sep 18];22(9):[About 5 p.]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.01.004>.

-
- ⁶¹ Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K, Bajolet O, Bernet C, et al. VEB-1 Extended-Spectrum β -lactamase–producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; 12(8):1214-22.
- ⁶² Cisneros JM., Cordero E. Relevancia de las BLEE en el pronóstico y coste de las infecciones. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007; 25 Supl. 2:48-53.
- ⁶³ Khanal S, Joshi DR, Bhatta DR, Devkota U, Pokhrel BM. β -Lactamase-Producing Multidrug-Resistant Bacterial Pathogens from Tracheal Aspirates of Intensive Care Unit Patients at National Institute of Neurological and Allied Sciences, Nepal. *ISRN Microbiology*. 2013; Article ID 847569, [About 5 p.]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/847569>.
- ⁶⁴ Moghadam M N, Motamedifar M, Sarvari J, Sedigh ESH, Mousavi SM, Moghadam F N. Emergence of multidrug resistance and metallo-beta-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in Shiraz, Iran. *Ann Med Health Sci Res [serial online]* 2016 [cited 2016 Dec 28];6:162-7. Available from: <http://www.amhsr.org/text.asp?2016/6/3/162/183946>.
- ⁶⁵ Peymani A, Nahaei MR, Farajnia S, Hasani A, Mirsalehian A, Sohrabi N, et al. High Prevalence of Metallo-B-Lactamase Producing *Acinetobacter baumannii* in a Teaching Hospital in Tabriz, Iran. *Jpn J Infect. Dis.*, 2011; 64: 69-71.
- ⁶⁶ Lisboa L, Batista L, Carvalho L, Simões C, Miron J, Teixeira CL, et al. Detection of blaOXA-23 in *Acinetobacter* spp. isolated from patients of a university hospital. *Braz J Infect Dis*. 2012;16(6):521–526.
- ⁶⁷ Dias Siqueira VL, Fressatti R, Falleiros R, Rizzieri K, Helbel C, Barreto AC, et al. High genetic diversity among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. isolated in a public hospital in Brazil. *Braz J Pharm Sci [Internet]*. 2013 [cited 2016 Jan 12];24(1). Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid.

-
- ⁶⁸ Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. High prevalence of multidrug resistance and metallo-beta-lactamase (M β L) producing *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in ICU wards, Hamadan, Iran. J Res Health Sci. 2013 ;13(2):162-7.
- ⁶⁹ Kamolvit W, Sidjabat HE, Paterson DL. Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance of *Acinetobacter* spp. in Asia and Oceania. Microbial Drug Resistance.2015;21(4):424-34. Available from: DOI: 10.1089/mdr.2014.0234.
- ⁷⁰ Quiñones D, Carvajal I, Pérez Y, Hart M, Pérez J, García S, et al. Report from national surveillance program (2010-2012) of *Acinetobacter* spp. in Cuba: Emergence of NDM-1 enzyme in *A. soli* in Cuba. Int J Antimicro Agents.2013; 42, Suppl 2:130.
- ⁷¹ Chittawatanarat K, Jaipakdee W, Chotirosniramit N, Chandacham K, Jirapongcharoenlap T. Microbiology resistance patterns and risk factors of mortality in ventilator-associated bacterial pneumonia in a northern Thailand tertiary-care university based general surgical intensive care unit. Infection and Drug Resistance. 2014;7:203–210. Available from: <https://www.dovepress.com/> by 201.220.215.12 on 22-Dec-2016.
- ⁷² Culebras E, González Romo F, Head J, Gómez M, Morales G, Picazo J, et al. Outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-66 in a Spanish hospital: epidemiology and study of patient movements. Microb Drug Resist [Internet]. 2010 Jun [cited 2016 Jun 7];16(4):[About 7 p.]. Available from: doi: 10.1089/mdr.2009.0113.
- ⁷³ Paksu MS, Paksu S, Karadag A, Sensoy G, Asilioglu N, Yildizdas D, et al. Old agent, new experience: colistin use in the paediatric Intensive Care Unit--a multicentre study. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2012 Aug [cited 2016 Jun 22];40(2):[About 5 p.]. Available from: doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.04.010.

-
- ⁷⁴ Gupta N, Gandham N, Jadhav S, Mishra RN. Isolation and identification of *Acinetobacter* species with special reference to antibiotic resistance. J Nat Sc Biol Med. 2015;6:159-62.
- ⁷⁵ Nodarse R, Fuerte ME. Identificación fenotípica de cepas de *Acinetobacter* circulantes. Rev Cubana Med Mil. 2015;44(1).
- ⁷⁶ Azimi L, Talebi M, Pourshafie M-R, Owlia P, Rastegar Lari A. Characterization of Carbapenemases in Extensively Drug Resistance *Acinetobacter baumannii* in a Burn Care Center in Iran. International Journal of Molecular and Cellular Medicine. 2015;4(1):46-53.
- ⁷⁷ Principe L, Piazza A, Giani T. Epidemic Diffusion of OXA-23-Producing *Acinetobacter baumannii* Isolates in Italy: Results of the First Cross-Sectional Countrywide Survey. Journal of Clinical Microbiology. 2014;52(8):3004-10.
- ⁷⁸ Altun HU, Yagci S, Bulut C, Sahin H, Kinikli S, Adiloglu AK, et al. Antimicrobial Susceptibilities of Clinical *Acinetobacter baumannii* Isolates With Different Genotypes. Jundishapur J Microbiol [Internet]. 2014 Dec [cited 2016 Jun 22];7(12):[About 15 p.]. Available from: DOI: 10.5812/jjm.13347.
- ⁷⁹ Espinosa F, Hart M, Halley M, Zamora R. Control multidisciplinario de la infección nosocomial en un hospital de nivel terciario Rev cubana med [Internet]. 2011 [cited 2016 July 15]; 50(1):[40-8 pp.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232011000100004&lng=es.
- ⁸⁰ Martínez P, Máttar S. Resistencia a aminoglucósidos por los genes aph(3')-Vla y aac(3')-II en *Acinetobacter baumannii* aislados en Montería, Colombia. Salud, Barranquilla [Internet]. 2012 [cited 2016 May 13]; 28(2). Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522012000200004.
- ⁸¹ García T, Castillo A, Salazar DE. Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. Rev Cubana Salud

Pública [Internet]. 2014 Mar [citado 2017 Sep 01]; 40(1): 129-135. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662014000100013&lng=es.

⁸² Yin X, Hou T, Xu S, Ma C, Yao Z, Li W, et al. Detection of drug resistance-associated genes of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Microb Drug Resist [Internet]. 2008 [cited 2016 April 4]; 14(2). Available from: <http://hinari.gw.who.int/whalecomonline.liebertpub.com/whalecom0/doi/pdfplus/10.1089/mdr.2008.0799>.

⁸³ Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Thanh TT, Anh LT, Truong N, Ohmagari N, Kirikae T. Dissemination of clonal complex 2 *Acinetobacter baumannii* strains co-producing carbapenemases and 16S rRNA methylase ArmA in Vietnam. BMC Infectious Diseases (2015) 15:433.

⁸⁴ Taneja N, Singh G, Singh M, Sharma M. Emergence of tigecycline and colistin resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with complicated urinary tract infections in north India. Indian J Med Res 2011; 133: 681-4.

⁸⁵ Morejón M. Betalactamasas de espectro extendido. Revista Cubana de Medicina. 2013;52(4): 272-280.

⁸⁶ Martín S, Martín MT, Liso J. Tratamiento de las infecciones producidas por beta-lactamasas de espectro extendido. Formación Continuada. 2012. Disponible en: <https://microred.files.wordpress.com/2012/08/beta-lactamasas-para-leer-e-interpretar.pdf>.

