

Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**DETECCIÓN FENOTÍPICA DE CARBAPENEMASAS EN *Acinetobacter spp.* DE
UN HOSPITAL DE LIMA 2016**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

AUTOR

MATTA CHUQUISAPON MARCO ANTONIO

ASESOR

GUILLEN ONEGLIO LIZARDO ALFREDO

JURADOS

CRUZ GONZALES GLORIA ESPERANZA

GUERRERO BARRANTES CESAR ENRIQUE

LAGOS CASTILLO MORAIMA ANGÉLICA

LIMA - PERÚ

2018

Dedicado a mi madre Armencia Chuquisapon

A mi padre Isidro Matta

A mi hermano Jose Matta

A Karina Galvez Ignacio

Por su cariño e incondicional apoyo para hacerme un profesional.

A mi , por la paciencia.

Y por sobre todo a Dios, por estar en cada paso y en cada uno de los mencionados.

Agradecer a todos los que hicieron posibles
de alguna u otra manera
la realización de este trabajo

Agradecer al Mg. Edgar Gonzales Escalante
por las facilidades otorgadas para la realización
de este proyecto.

Agradecer también al Dr. Alfredo Guillen
Por las enseñanzas y orientación para
la culminación de esta investigación.

ÍNDICE

RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCION.....	9

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema.....	11
1.2 Formulación de las preguntas.....	13
1.2.1 Pregunta general.....	13
1.2.2 Preguntas específicas.....	13
1.3 Objetivos de la investigación.....	13
1.3.1 Objetivo general.....	13
1.3.2 Objetivos específicos.....	14
1.3 Justificación.....	14

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Marco teórico.....	16
2.1 Antecedentes.....	16
2.2 Bases teóricas.....	20
2.2.1 Biología.....	20
2.2.2 Epidemiología.....	21
2.2.3 Factores de virulencia.....	23
2.2.4 Patogenicidad.....	26
2.2.5 Importancia clínica.....	27
2.2.6 Resistencia bacteriana.....	28

2.2.7 Mecanismos de resistencia a betalactámicos.....	33
2.2.7.1 Betalactamasas.....	33
2.2.7.2. Betalactamasas de espectro extendido.....	33
2.2.7.3 Cefalosporinasas tipo ampC	34
2.2.7.4 Betalactamasas tipo carbapenemasas.....	34
2.2.8 Clasificación de las carbapenemasas según Ambler y Bush.....	35
2.2.8.1. Clase molecular D – grupo funcional 2df : Oxacilinasa	35
2.2.8.2. Clase molecular A – grupo funcional 2f : Serincarbapenemasa.....	35
2.2.8.3. Clase molecular B – grupo funcional 3 : Metalobetalactamasas.....	35
2.2.9 Detección fenotípica de carbapenemasas.....	37
2.2.10 Hipótesis.....	39
2.2.11 Definición de términos básicos.....	39
CAPITULO III: MÉTODO	
3.1 Tipo y diseño de estudio.....	40
3.2 Población y muestra.....	40
3.2.1 Población.....	40
3.2.2. Muestra.....	40
3.2.2.1 Tipo de muestreo.....	40
3.2.2.2 Unidad de análisis.....	40
3.2.3 Criterio de selección.....	41
3.2.3.1 Criterios de inclusión.....	41
3.2.3.2 Criterios de exclusión.....	41
3.3 Operacionalización de variables y matriz de consistencia	43
3.3.1 Operacionalización de variables	43

3.3.2. Matriz de consistencia.....	44
3.4. Recolección de datos.....	45
3.5 Procedimientos ,materiales y equipos	46
3.6 Análisis de datos.....	51

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Resultados.....	52
---------------------	----

CAPITULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Discusión.....	61
5.2 Conclusiones.....	67
5.3 Recomendaciones.....	68

CAPITULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.1 Referencias bibliográficas.....	70
-------------------------------------	----

ANEXOS

Anexo 1: Ficha de recolección de datos 1.....	82
Anexo 2: Ficha de recolección de datos 2.....	83
Anexo 3: Fotos de ensayos fenotípicos (Test de Hodge modificado triton , CIM triton).....	84

RESUMEN

OBJETIVOS: Determinar la frecuencia de *Acinetobacter spp* productor de carbapenemasas en aislamientos clínicos de un hospital de Lima 2016.

METODO: Se realizó una investigación de tipo cuantitativa, descriptiva, observacional y de corte transversal en la cual se tomaron 60 aislamientos clínicos de coco bacilos gram negativos no fermentadores identificados como *Acinetobacter spp* procedentes de diferentes servicios de atención de un hospital de Lima de octubre a diciembre del 2016 , el estudio tuvo como finalidad describir la frecuencia de aislamientos con actividad carbapenemasa mediante dos métodos fenotípicos modificados con un detergente tensioactivo no iónico denominado “Triton X-100”, los métodos empleados fueron : Test de Hodge modificado –Triton (THT) y Método de la inactivación de la carbapenemasa – Triton (t CIM).

RESULTADOS: Se encontró que el 58% (35/60) de aislamientos manifestaron actividad carbapenemasa. Los mayores porcentajes de resistencia lo manifestaron Ciprofloxacino (81%) , Ceftazidima (73%) , Ceftriaxone(73%), Cefepime (71%) , Cefotaxima (72%). La mayor cantidad de aislamientos provinieron de muestras biológicas obtenidas de vías respiratorias bajas.

CONCLUSIÓN: La frecuencia de actividad carbapenemasa evaluada de 60 aislamientos clínicos de *Acinetobacter spp*. obtenidos de Octubre a Diciembre del 2016 en un hospital de Lima fue de un 58% (35/60).

PALABRAS CLAVES: *Acinetobacter spp* , Test de Hodge modificado – Triton , Método de la inactivación de la carbapenemasa – Triton , Triton X-100 , carbapenemasa.

ABSTRACT

OBJECTIVES: To determine the frequency of *Acinetobacter* spp. producing carbapenemase in clinical isolates from a hospital in Lima 2016.

METHOD: A quantitative, descriptive, observational and cross-sectional investigation was carried out in which 60 clinical isolates of coconut gram-negative non-fermenting bacilli identified as *Acinetobacter* spp were taken from different hospital care services in Lima from October to December 2016, the study aimed to describe the frequency of isolates with carbapenemase activity by two phenotypic methods modified with a detergent nonionic surfactant called "Triton X-100", the methods used were: Modified Hodge Test -Triton (THT) and Method of the inactivation of carbapenemase - Triton (t CIM).

RESULTS: It was found that 58% (35/60) of isolates showed carbapenemase activity. The highest percentages of resistance were expressed by Ciprofloxacin (81%), Ceftazidime (73%), Ceftriaxone (73%), Cefepime (71%), Cefotaxime (72%). The largest number of isolates came from biological samples obtained from lower respiratory tract.

CONCLUSION: The frequency of carbapenemase activity evaluated from 60 clinical isolates of *Acinetobacter* spp. obtained from October to December 2016 in a hospital in Lima was 58% (35/60).

KEY WORDS: *Acinetobacter* spp, Modified Hodge Test - Triton, Carbapenemase inactivation method - Triton, Triton X-100, carbapenemase.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el control de propagación de genes de resistencia dentro del ambiente hospitalario se ha vuelto un reto a nivel mundial. Brotes ocasionados por agentes patógenos, caracterizados por ser multirresistentes a la terapia antibiótica, se ha visto incrementado año tras año en diversos países del mundo (Buenahora R. *et al.*, 2016).

Dentro del conjunto que comprenden países en vías de desarrollo, las infecciones intrahospitalarias indican una de las mayores causas de mortalidad producto de la falta de programas de acreditación y control de infecciones hospitalarias (Chincha O. *et al.*, 2014).

En la actualidad , microorganismos como *Stenotrophomonas maltophilia* , *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* , característicos por no fermentar glucosa, son los principales responsables de infecciones en el medio intrahospitalario, pues a menudo son causa de severas complicaciones como neumonía asociada a ventiladores mecánicos y bacteriemias , esto dado por la particularidad de presentar características de multidrogoresistencia (Coaguila L. *et al.*, 2015 ; Maguiña C. , 2016).

En Perú , en el año 2000 se revelaron cifras de prevalencia de 5.8% en infecciones intrahospitalarias asociadas a neumonía y 9.4% asociadas a infecciones del torrente sanguíneo en áreas de cuidados intensivos de 10 hospitales evaluados , en lo que respecta solo al género *Acinetobacter* como agente patógeno (Yagui M. ,2000).

Ante la problemática global, al iniciar el año 2017, La Organización Mundial de la Salud (OMS) manifestó su preocupación por el aumento en la resistencia a casi todos los fármacos que comprenden las familias de antibióticos clasificadas. Esta organización elaboro una lista en la que señala a 12 familias de bacterias como prioritarias a vigilar; entre estas, destaca a

bacterias gramnegativas multirresistentes a antibióticos, ya que poseen una capacidad innata de adaptarse ante condiciones adversas y desarrollar nuevas formas de resistencia, así como de transferir genes que llevan consigo estas características a otras especies. Como respuesta, esta entidad viene promoviendo la investigación y desarrollo de nuevos fármacos que puedan atender a esta urgencia en la salud pública (OMS, 2017).

Es sabido también que se estableció una clasificación en cuanto a prioridades para la investigación y desarrollo de nuevos fármacos, encontrándose en el grupo de “Prioridad 1” o también denominado “crítico” al *Acinetobacter baumannii* pues esta especie desarrolla la mayor capacidad de ser resistente a los carbapenémicos (OMS, 2017).

Parte de la solución ante la problemática que atraviesa la salud pública es que el personal asistencial advierta de manera oportuna sobre el creciente problema a las autoridades correspondientes en sus respectivos países, para que de este modo se puedan reducir las cifras actuales (OMS, 2017).

El restarle importancia al problema de la resistencia antibiótica no solo conllevará a obtener resultados de mal pronóstico en la atención en salud; sino también a la pérdida de capacidades económicas como consecuencia de aumentos en los costos de atención, pérdidas de horas laborables y productividad de pacientes enfermos. El planificar efectivamente las vías para solucionar este problema será un paso determinante para contener esta amenaza mundial hoy y prevenir en el futuro (Rocha C. *et al.*, 2015).

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

Las infecciones ocasionadas por el género *Acinetobacter* se ha convertido en un problema importante intrahospitalario, pues a menudo, son causa de brotes en ambientes de unidades de cuidados intensivos (UCI) (Turton et al., 2006). Su fácil adaptabilidad al medio ambiente y su capacidad para contrarrestar los efectos antimicrobianos, lo han convertido en un microorganismo difícil de tratar y controlar. Tanto es así que se evidencia en el aumento de tasas de mortalidad puesto que limita las opciones en la terapia antibiótica (Hinrichsen *et al*, 2014).

Dentro de los años que comprenden a la década de 1970 casi todos los aislamientos de *Acinetobacter spp* fueron susceptibles a los grupos de antibióticos disponibles, o al menos a la mayoría, incluida la familia de los betalactámicos (Gonzales-Rocha *et al*. 2012).

En la actualidad en el tratamiento contra infecciones que evidencian multirresistencia por parte del microorganismo *Acinetobacter baumannii* , se hace uso de antibióticos que forman parte de la familia de los carbapenems. Imipenem y Meropenem, son usados con mayor frecuencia debido a características antimicrobianas similares (Karbasizade *et al.*, 2015).

La resistencia a compuestos carbapenémicos no se debe exclusivamente a un solo mecanismo, sino la interacción de distintos mecanismos entre enzimáticos y no enzimáticos, los cuales serán tratados en el siguiente capítulo.

Es importante señalar que el mecanismo de mayor consideración frente a esta familia de antibióticos es enzimático hidrolítico, llevado a cabo por enzimas denominadas carbapenemasas (Gonzalez-Rocha *et al.*, 2012).

En la mayoría de brotes intrahospitalarios producidos por *Acinetobacter spp* multirresistente se ha localizado al microorganismo, por sobre todo, en equipamiento médico, así como también en diversas superficies inanimadas. La tipificación molecular de cepas acompañado de otros métodos fenotípicos, pueden ser utilizados para conocer y monitorizar la transmisión de *Acinetobacter spp.* multirresistente. Destaca un alarmante problema en la salud pública la aparición de estas cepas con la particularidad de hidrolizar carbapenémicos, ya que el uso de estos es considerado en la terapia antibiótica, como el más eficaz y de costo moderado ante este tipo de patógenos. Reconocer la presencia de esta bacteria, y su característica de multirresistencia, es el primer objetivo para el control de la infección, previniendo que se establezca como cepa endémica aunque su transmisión sea favorecida por un inadecuado uso de antimicrobianos de amplio espectro (Catalan & Aguado, 2010).

Los genes que codifican diferentes carbapenemasas son detectados por técnicas moleculares ya que son consideradas métodos de referencia, aunque no suelen estar disponibles en la práctica habitual en laboratorios de análisis clínicos de hospitales. Por este motivo es que se proponen ensayos fenotípicos para investigar a cerca de la presencia de actividad carbapenemasa en aislamientos clínicos. Métodos como el test de Hodge modificado - Triton o mCIM - triton, son los más utilizados desde su aparición (Nicola *e. al.*, 2012).

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA

No es habitual en los laboratorios de microbiología de nuestro país que se utilicen pruebas para la detección fenotípica de actividad carbapenemasa, complementarias a los antibiogramas; aun no siendo consideradas como “pruebas de oro” pueden ser de gran aporte si no se dispone de métodos moleculares en el establecimiento de salud.

Por lo expuesto el presente proyecto plantea:

1.2.1. PREGUNTA GENERAL

- ¿Cuál es la frecuencia de carbapenemasas de *Acinetobacter spp* de aislamientos clínicos de un hospital en lima metropolitana de Octubre a Diciembre 2016?

1.2.2. PREGUNTAS ESPECÍFICAS

- ¿Cuál es el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Acinetobacter spp*?
- ¿Mediante qué métodos se puede realizar la detección fenotípica de carbapenemasas en *Acinetobacter spp*?
- ¿Cuál es la procedencia de los aislamientos clínicos?

1.3. OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la frecuencia de *Acinetobacter spp* productor de carbapenemasas en aislamientos clínicos de un hospital de Lima 2016.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Acinetobacter spp.* de un hospital de Lima entre octubre y diciembre del 2016.
- Determinar la producción de carbapenemasas en *Acinetobacter spp.* por el método de Hodge modificado triton y CIM - triton.
- Describir los aislamientos según procedencia clínica.

1.4. JUSTIFICACIÓN

Acinetobacter spp., evidencia actualmente múltiples opciones de resistencia a todas las clases de antibióticos existentes, así como una gran capacidad para adquirir nuevas alternativas que faciliten esta condición que ya se ha vuelto característica. Se han descrito genes de resistencia que son transferidos horizontalmente por plásmidos en varias cepas de *A. baumannii*. Es suficiente conocer la presencia de resistencia a carbapenemes para señalar a un aislamiento de *A. baumannii* como altamente resistente (Zarrilli *et al.*, 2009).

Uno de los factores de riesgo más destacados para el desarrollo de una infección por *Acinetobacter spp.* es la presencia de dispositivos médicos invasivos utilizados en el paciente tales como catéteres o tubos endotraqueales. El uso de estos le da una ventaja significativa al microorganismo ya que se adhieren a dichos dispositivos para posteriormente invadir al huésped y desarrollar el proceso infeccioso (Lemos E. *et al.*, 2011).

A pesar de que los mecanismos para la diseminación de genes de resistencia entre especies efectuados por el *Acinetobacter spp.* no han sido investigados en su totalidad, un estudio llevado a cabo en el 2011 ,in vitro , demostró que un aislado clínico de *Acinetobacter spp* puede generar y liberar vesículas de membrana externa para hacer entrega a otras especies similares que lo rodeen, genes de resistencia a carbapenemes . Esta característica se explica como un mecanismo de transferencia horizontal de genes (Rumbo C. *et al.*, 2011).

Otros mecanismos de resistencia como pérdida de porinas o bombas de eflujo aumentada pueden ser causa también de la ineffectividad de un carbapenem ante una infección ocasionada por *Acinetobacter spp.* A partir de esa información es que no necesariamente se puede asegurar que las concentraciones mínimas inhibitorias bajas o altas (MIC) reflejaran producción de carbapenemasas. El distinguir si la resistencia a carbapenemes es llevada a cabo por carbapenemasas u ocasionada por otros mecanismos es de suma importancia para el control de la infección ya que los genes que codifican carbapenemasas se encuentran con mayor frecuencia en plásmidos que permiten la propagación entre especies (Zwaluw *et al.*, 2015 ; Potron *et al.* , 2015).

Analizando lo anteriormente mencionado, y la poca información sobre la situación de prevalencia de *Acinetobacter spp.* resistente con capacidad de hidrolizar carbapenems en nuestro país y sobre todo en poblaciones vulnerables como son los pacientes internados en unidades de cuidados intensivos (UCI) de cada hospital, se considera de vital importancia la detección fenotípica de carbapenemasas en cepas de *Acinetobacter spp.*, para así manejar la propagación de este patógeno adecuadamente y evitar brotes intrahospitalarios. Debido a que no todos los establecimientos de salud cuentan con la capacidad de detectar carbapenemasas por métodos moleculares es que se sugiere el uso de dos métodos fenotípicos para este fin : Test de Hodge modificado triton (THT) y CIM –triton (t CIM) debido su efectividad y bajo costo para su implementación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Maraki S. *et al.* (2016), en Grecia, realizaron un estudio llevado a cabo en un hospital de nivel III en Grecia debido a que en las últimas 2 décadas el *Acinetobacter baumannii* ha manifestado una alta tasa de resistencia a múltiples fármacos, este estudio permitió evaluar tasas de resistencia a antibióticos y los cambios que fueron adquiriendo frente a estos últimos entre los años 2010 y 2014. De un total de 914 aislamientos clínicos de *Acinetobacter spp.*, la mayoría provenientes de UCI, se determinó que el 92.89% de ellos fueron multiresistentes, en otras palabras resistentes a más de tres familias de antibióticos. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana frente a 18 antibióticos comprendidos entre monobactámicos, betalactámicos, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, carbapenemes y colistina se llevaron a cabo mediante el sistema automatizado Vitek 2.

Ghasemian R. *et al.* (2016), en Iran, entre los años 2013 y 2014, hicieron un estudio con el objetivo de determinar la tasa de resistencia a antimicrobianos en aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes de pacientes en unidades de cuidados intensivos (UCI) de hospitales de enseñanza afiliados a la Universidad de Ciencias Médicas de Mazandaran (Iran). Se analizaron un total de 50 aislamientos, confirmada la especie, se llevó a cabo el estudio de susceptibilidad antimicrobiana por el método de discodifusión en agar, así como también la concentración mínima inhibitoria (MIC) evaluada por E-Test. Se destaca entre los resultados que por el método de discodifusión el 16% fueron resistentes a colistina, mientras que por E-test se obtuvo un 8% resistente a colistina, así como también más del 96% de los aislamientos presentaron resistencia a antibióticos utilizados con mayor frecuencia en UCI.

Anwar M. *et al.* (2016), en Pakistan, desde julio a diciembre del 2014 se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal en un Instituto de Salud Infantil de Lahore (Pakistan), el eje de estudio fue entorno a la identificación de cepas resistentes a carbapenemes y su aumento debido a la producción de metalobetalactamasas, enzimas que le otorgan esta característica de resistencia. La investigación muestra un total de 112 aislamientos de *Acinetobacter baumannii*, de diversos especímenes clínicos, identificados por el sistema API 20E. Las pruebas de susceptibilidad dieron como resultado 66 aislamientos resistentes a carbapenemes, de las cuales se identificó a 55 como productoras de carbapenemasas por el “método de Hodge modificado”. De las cepas resistentes a carbapenemes se encontró que 63 de estas dieron resultado positivo a producción de metalobetalactamasas, se identificaron por el método de test de disco combinado.

Lei G. *et al.* (2014), en China, realizaron un estudio denominado “Tendencias en la resistencia a los medicamentos de *Acinetobacter baumannii* durante un período de 10 años: Datos a nivel nacional del Programa de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana de China.”, el cual tuvo como objetivo demostrar el aumento de la prevalencia de *Acinetobacter baumannii* multiresistente, en 2917 aislamientos, entre los años 2004 – 2014. Estudio de corte longitudinal, prospectivo, observacional y descriptivo. Los resultados del presente estudio mostraron que la prevalencia de *A.baumannii* resistente a carbapenemes (imipenem) aumentó de 13.3% en 2004 a 70,5% en 2014 y de *A. baumannii* extensivamente resistente a los fármacos aumentó de 11,1% en 2004 a 60,4% en 2014. Para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana se utilizó el método CIM (concentración mínima inhibitoria) bajo los estándares del manual M-100 del CLSI.

Dahdouh E. *et al.* (2016), en Líbano, demostraron en la investigación titulada “Aislamiento de *Acinetobacter baumannii* en pacientes libaneses: Fenotipos y genotipos de resistencia, clonalidad y determinantes de patogenicidad”, que 81 aislamientos de *Acinetobacter baumannii*, de un total de 95 eran resistentes a los carbapenems (meropenem e imipenem). Las cepas se identificaron utilizando tiras de 20NE- API. Para determinar los perfiles de Susceptibilidad a Antibióticos se usó el método de difusión de disco de Kirby Bauer de acuerdo con las directrices del CLSI (2014). Los resultados se interpretaron de acuerdo con los valores de corte del documento CLSI M100-S24. El periodo de investigación se llevó a cabo desde junio del 2013 hasta agosto del 2014, los aislamientos se obtuvieron de un centro médico de atención terciaria de la Universidad San Jorge en Beirut, Líbano.

Tuan N. *et al.* (2017), en Vietnam, mediante este estudio tuvieron como objetivo determinar la prevalencia de *Acinetobacter baumannii* resistente a antimicrobianos en tres hospitales localizados al sur de Vietnam entre los años 2012 al 2014. De un total de 160 aislamientos se encontró que 119, es decir el 74%, fueron tanto multidrogoresistentes (MDR) como extensamente resistentes (XDR). Se encontró también que 117 de los 119 aislamientos MDR fueron además resistentes a imipenem y los dos imipenem sensibles altamente resistentes a meropenem. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana se realizaron mediante método disco difusión y fue interpretado según las directrices de la CLSI.

Pasteran F. *et al.* (2016), en Argentina. Se sabe que la prueba de Hodge es un ensayo que implica inactivación de un carbapenem, sin embargo estudios recientes demostraron poca sensibilidad ante aislados con presencia de metalobetalactamasas nueva Delhi (NDM). Ya que esta lipoproteína (NDM) está anclada a la membrana externa de bacterias gram negativas e impide la detección de actividad carbapenemasa por el test de Hodge modificado. Fue así que

este estudio concluyó en que la adición de “Triton X-100”, un tensioactivo no iónico, antes del protocolo habitual la prueba, permite superar la limitación que otorgaba la lipoproteína NDM. Denominando a esta modificación “Test Triton Hodge”.

Sun K. *et al.* (2017), en China, propusieron evaluar el rendimiento de 6 métodos distintos para detectar, con rapidez y precisión, actividad carbapenemasa en cepas gram negativas tanto fermentadoras como las que no. Entre estos métodos se describen a la prueba de Hodge modificada (MHT), prueba de Triton Hodge (THT), prueba Carba NP (CNPt), prueba simplificada de Carba NP (CNPt-direct), prueba de azul de Carba NP (BCT) y el método de inactivación de carbapenem modificado (mCIM). Las conclusiones de este estudio dieron como resultado que el mejor rendimiento para la detección de carbapenemasas fue dado por los métodos CNPt- direct y CIM modificado; destacando este último por sus valores en sensibilidad 93.5% y 100% de especificidad.

Liu M. *et al.* (2018), en China, se estudiaron 152 aislamientos de un hospital al sur de China, de los cuales 83 expresaron genes que codificaban resistencia a carbapenémicos tras ser analizados por PCR. A pesar de que en el 2017 CLSI recomendó no utilizar el método CIM modificado para la detección de carbapenemasas para el complejo *Acinetobacter baumannii*, Liu M. *et al.* desarrollaron un nuevo protocolo añadiendo “Triton X-100” al CIM modificado para de esta manera permeabilizar la membrana de la bacteria y exponer a las enzimas carbapenemasas para la realización del método, además de incrementar la carga de cepa en estudio. Demostrando así que la sustancia tensioactiva Triton X-100 mejoró los índices de sensibilidad y especificidad luego de comparar resultados con otra evaluación en la que no se utilizó este detergente.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1. BIOLOGÍA

El género *Acinetobacter* consta de un grupo de cocobacilos gram negativos en fase estacionaria o también con forma de bacilo en el estadio de crecimiento rápido, aerobios estrictos, poseen reacción negativa a la oxidasa, son no fermentadores de glucosa, catalasa positiva e indol negativo. En el crecimiento en agar se observan colonias de 1 a 2 mm, no poseen algún pigmento, son de aspecto mucoso y de superficies lisas. Otras características fenotípicas se pueden manifestar si crecen a 44°C, se conoce que también lisan eritrocitos (Mandell, 2012).

La denominación “*Acinetobacter*” tuvo como origen la palabra griega “*akinetos*” lo cual traducido al castellano significa “sin movimiento”, son consideradas no móviles, aunque se ha observado movimiento espasmódico en medios semisólidos. En 1911 el microbiólogo holandés Beijerinck aisló por primera vez una cepa de *Acinetobacter* spp. del suelo pero la identificó como *Micrococcus coltacetivus*, durante muchos años fue clasificado de manera confusa en diversos géneros. No fue hasta que en 1954 Brisou y Prevot crearon al género *Acinetobacter* dicho propiamente, como es conocido hasta la actualidad (Doughari H. *et al.*, 2011).

La fiabilidad de pruebas fenotípicas para identificar especies de *Acinetobacter* fue estudiada por Gerner en 1991, tomando el esquema de identificación propuesto por Bouvet y Grimont en 1986, que constaba de 28 pruebas bioquímicas, tras utilizarlo llegó a la conclusión de errores en la separación de especies y en algunos casos no se llegaron a identificar (Gerner P. *et al.*, 1991).

Fenotípicamente las especies de *Acinetobacter spp.* no son distinguibles si se realizan ensayos con recursos de un laboratorio de microbiología de rutina , es necesario para este fin la realización de estudios moleculares específicos. Actualmente se aceptan 33 genoespecies definidas por la técnica de hibridación ADN – ADN como prueba estándar para la identificación de especies. Dentro de las que pueden generar enfermedades al ser humano se mencionan a *Acinetobacter colcoaceticus* (genoespecie 1) , *Acinetobacter baumannii* (genoespecie 2) , *Acinetobacter pittii* (genoespecie 3) , *Acinetobacter nosocomialis* (genoespecie 13) , *A. hameolyticus* (genoespecie 4) , *A. jejuni* (genoespecie 5) , *Acinetobacter lwoffii* (genoespecie 8) , *Acinetobacter johnsonii* y *Acinetobacter ursingii* (genoespecie 6 y 7, respectivamente) (Vanegas J. *et al.* , 2014 ; Zhang H. *et al.* 2013).

La mayoría de especies del genero *Acinetobacter* en mención son encontradas en la naturaleza o incluso en la microbiota natural de la piel humana. Destaca *Acinetobacter baumannii* como una de las especies más importantes de este género pues es quien ha ocasionado más problemas en instituciones de atención en salud a causa de su habilidad para adaptarse a ambientes secos por periodos largos y la gran capacidad que posee para desarrollar resistencia a diferentes familias de antibióticos por características propias de su genoma (Vanegas J.*et al.*, 2014; Kishii K. *et al.*, 2014).

2.2.2. EPIDEMIOLOGÍA

Dentro de los diversos factores de riesgo que predisponen una infección o colonización por una especie de *Acinetobacter*, la estancia prolongada de internamiento del paciente en áreas críticas como la unidad de cuidados intensivos (UCI) es el factor a destacar. Se ha señalado a agentes mecánicos artificiales como generadores de brotes de infección, ejemplo de ello los equipos de cuidado respiratorio ,así como también humidificadores ,

laringoscopios , artículos de atención al paciente , lavaderos , manijas , cortinas y todo material contenido en el ambiente de UCI (Maragakis T., 2008).

La exposición a antibióticos de amplio espectro así como la duración de procedimientos invasivos, han sido notificadas también como factores de riesgo para la adquisición de este patógeno (Joly-Guillou, 2005).

Acinetobacter spp. puede permanecer en el cuerpo sin generar enfermedad ya que es considerado un patógeno de bajo grado sin embargo cuando las infecciones en el ambiente hospitalario se hacen evidentes , probablemente el número de pacientes colonizados ya sea alto, una vez establecido el brote cualquier superficie inanimada del ambiente intrahospitalario puede ser un reservorio. Estos microorganismos sobrevivientes pueden permanecer semanas, especialmente en la UCI incluso en condiciones desfavorables para otros géneros bacterianos (Joly-Guillou, 2005).

Acinetobacter es el microorganismo gram negativo más frecuente que el personal de salud lleva consigo, llegando incluso a ser resistente a bactericidas como la clorhexidina (12%). A diferencia de otros miembros de la familia *Neisseriae* los requisitos de crecimiento de *Acinetobacter* spp. son muy simples (Mandell , 2012).

Expande su hábitat utilizando la variedad de fuentes de carbono con la que se encuentre a través de vías metabólicas, puede hallarse en objetos inanimados . Cabe mencionar que entre los factores de riesgo comunitarios asociados a infección por *Acinetobacter* se incluyen al tabaquismo, alcoholismo , enfermedad pulmonar crónica y diabetes (Mandell , 2012).

La mayor cifra de casos de “neumonía adquirida en la comunidad” se ha reportado de en países pertenecientes a regiones tropicales del planeta en especial en temporadas húmedas (Almasaudi S., 2016).

América latina demuestra poseer tasas más altas de resistencia a carbapenemes en comparación a otros continentes. Si bien América central presenta cifras bajas , reportes de estudios hechos en Brasil y argentina describen valores altos de resistencia. La red latinoamericana de vigilancia de resistencia a antimicrobianos (ReLAVRA) informó aumentos progresivos en tasas de resistencia desde el año 2000 hasta el 2013, aunque sin especificar las especies de *Acinetobacter* en estudio (Rodriguez C. *et al.*, 2017).

Es sabido que el género *Acinetobacter* está constituido por 33 genoespecies, sin embargo son sumamente difíciles de distinguir por pruebas bioquímicas, lo que se dificulta el estudio epidemiológico de especies. Dadas estas circunstancias se sugiere estudios moleculares (Rodriguez *et al.*, 2014).

2.2.3. FACTORES DE VIRULENCIA

○ Porinas

Las bacterias gram negativas poseen una membrana externa compuesta primordialmente por lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas de membrana (*Omps*) . Dentro del grupo de proteínas de membrana externa asociadas a permeabilidad celular, encontramos a las porinas. (Lee C. *et al* , 2017). Si bien la citotoxicidad de ejercida por *Acinetobacter baumannii* es a causa de diferentes proteínas, cabe resaltar dos en particular, la proteína *OmpA* y la proteína *Omp 33-36* (Rumbo C. *et al* , 2014).

Estudios previos realizados en *E. coli* demuestran que la proteína *OmpA* facilita la resistencia frente a proteínas séricas del huésped, adherencia a células epiteliales y prolifera en células sanguíneas para poder mantener elevados niveles de bacteriemia. Por otro lado estudios en *K. pneumoniae* indican que *OmpA* disminuye la producción de citoquinas en

células epiteliales del tracto respiratorio y por ende aumento en la carga bacteriana , esto fue demostrado en ratones. Los antecedentes expuestos sugieren que la *OmpA* de *Acinetobacter spp.* facilitan la formación de biofilms así como adherencia a células epiteliales del pulmón. En cuanto a la proteína *Omp33-36* , esta se asocia a resistencia frente a carbapenems , además de inducir a apoptosis y controlar la autofagia de células epiteliales (Sato Y. *et al*, 2017).

- **Polisacáridos y lipopolisacáridos capsulares**

Al margen de las proteínas de membrana como la *OmpA* parte del *Acinetobacter spp.*, se sabe que también cuenta con exopolisacaridos y lipopolisacáridos que la otorgan características de patogenicidad. Los polisacáridos capsulares son producidos por genes alojados en el locus *K*. Algunas cepas mutantes con deficiencia en la formación de polisacáridos capsulares han demostrado menor resistencia intrínseca a antibióticos. La expresión genética del locus *K* posee un sistema de regulación denominado *bfmRS*. Uno de sus componentes, el gen *bfmR* promueve la adherencia del patógeno al epitelio pulmonar, resistencia al complemento y resistencia a antimicrobianos como Colistin y meropenem. Por otro lado el componente *bfmS* está asociado con la resistencia ante el suero humano, formación de biofilms, adherencia a células (Lee C. *et al* , 2017).

En el caso de los lipopolisacáridos, estos se caracterizan por encontrarse en la membrana externa de muchas bacterias gram negativas, poseen característica inmunorreactiva debido a que inducen la producción de proteínas de fase aguda como interleucina 8 y factor de necrosis tumoral. Las mutaciones en esta molécula le otorgan la capacidad de hacer frente al suero humano como también generar resistencia a antibióticos importantes, entre ellos el Colistin (Lee C. *et al*, 2017).

- **Fosfolipasas**

Se denominan así a enzimas de carácter lipolítico capaces de hidrolizar enlaces éster de fosfolípidos. Son encontradas habitualmente en bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium Perfringens*, *Legionella monocytogenes* y *Acinetobacter baumannii*. Estas enzimas favorecen la ruptura de fosfolípidos que conforman la membrana celular así como también poseen la característica de degradar fosfolípidos presentes en mucosas que conforman la barrera primaria de inmunidad innata, dadas estas condiciones es muy fácil para el microorganismo ingresar a la célula huésped (Lee C. *et al.*, 2017; Barletta R. *et al.*, 2018).

- **Vesículas de membrana externa bacteriana**

Vesículas de forma esférica constituidas por lipopolisacáridos, pues pertenecieron en algún momento a la membrana externa bacteriana, poseen un tamaño que puede comprender desde 20 hasta 200 nm. Ellis y Kuehn en el 2010 describieron que tienen la función de movilizar diferentes factores de virulencia e interactuar con otros microorganismos sin la necesidad de un contacto cercano entre los mismos o con células del huésped. Estas vesículas están asociadas con la transmisión de genes carbapenemasa mediante transferencia horizontal llevada a cabo por *A. baumannii*. (Lee C. *et al.*, 2017; Rumbo *et al.* 2011).

- **Sistema de adquisición de metal**

Si bien el hierro es un elemento abundante en el medio ambiente, el hierro en estado férrico es limitado para el uso de las bacterias en condición aeróbica, es por este motivo que los patógenos tienen como factor de virulencia el producir quelantes de hierro de alta afinidad. *Acinetobacter baumannii* desarrolla su propio sideróforo denominado “acinetobactina”, mediante el gen *entA*, como factor de virulencia crítico, el cual le otorga la capacidad de permanecer en el alveolo pulmonar humano. Se ha registrado que la mayor producción de este sideróforo ha sido hallada en cepas multidrogoresistentes. Así como con el hierro,

Acinetobacter baumannii también adquiere zinc de las células del anfitrión mediante un sistema promovido por el gen *ZnuB* . por último mediante el gen *MumC* este patógeno puede evadir la acción de “calprotectin” , enzima encargada de inducir manganeso (Mn) para la inhibición en la transcripción de *A.baumannii* (Lee C. *et al.*, 2017).

- **Biofilms**

Comprenden una estructura tridimensional multicelular que se conforma en condiciones adversas, pueden establecerse en células del huésped y en superficies inanimadas como instrumentos de intervención médica o en diversos ambientes. El accionar de este importante factor de virulencia reduce el ingreso de antibióticos, por consiguiente el desarrollo de resistencia. Utiliza un sistema de ensamblaje organizador denominado *CsuA / BABCDE* regulado por enzimas *BfmS / BfmR*. La proteína Bap promueve la adhesión entre microorganismos, así promueve el desarrollo del biofilm y la evolución ante diferentes sustratos. (Nowak P. *et al.*, 2016).

2.2.4. PATOGENICIDAD

Antiguamente se consideraba al *Acinetobacter* como un organismo de baja virulencia , hoy se sabe que estos microorganismo pueden ser de alta patogenicidad en pacientes críticamente enfermos , a pesar de ello el estudio de los factores de virulencia de este organismo aun está en una etapa elemental. De manera general se conoce que cuenta con fimbrias, lo que le permite la adherencia a cualquier superficie. El polisacárido producido por *Acinetobacter* en sinergia con el exopolisacarido capsular le otorga resistencia al sistema del complemento. Son viables también en condiciones secas (Joly-Guillou, 2005). Poseen la capacidad de desarrollarse a bajas temperaturas y pH ácido, es así como invade tejidos desvitalizados. Pueden desarrollar biofilm en tejidos humanos o superficies inanimadas (Rada, 2016). La

membrana externa de *A. baumannii* es menos permeable a los antimicrobianos que la membrana externa de *E. coli* según Vila (2002).

2.2.5. IMPORTANCIA CLÍNICA

Acinetobacter spp como microorganismo generador de infecciones oportunistas ha sido aislado de diversos especímenes clínicos provenientes de casi todos los sistemas que conforman el organismo de un ser humano. Septicemia , neumonía , endocarditis , meningitis , infección de heridas , infección en piel y ojos , infección del tracto urinario , meningitis y , sobre todo , infección a los largo del tracto respiratorio ; son ejemplo de la patogenicidad que puede llegar a generar esta bacteria (Joly-Guillou, 2005).

○ VIAS RESPIRATORIAS

Acinetobacter spp ha generado un gran impacto como agente causal de neumonía intrahospitalaria, procedimientos como Intubación endotraqueal , traqueotomía , estancia prolongada en la unidad de cuidados intensivos (UCI) , cirugía reciente ; son factores predisponentes para su desarrollo.(Rada, 2016) Su propagación en UCI se da a través de los equipos de ventilación mecánica a pesar de existir mejoras en el manejo de pacientes y en procedimientos para la desinfección de equipos respiratorios (Bergogne &Towner, 1996).

○ BACTEREMIA

Procedimientos invasivos y uso de antimicrobianos de amplio espectro están asociados como factores de riesgo para la bacteriemia por *Acinetobacter baumannii*. No hay manifestación clínica específica de bacteriemia por *Acinetobacter*, las fuentes más comunes para este cuadro son los catéteres intravasculares e infecciones de la cavidad respiratoria. Es importante antes de iniciar el tratamiento de una bacteriemia por *Acinetobacter baumannii* la evaluación clínica del paciente para así descartar la posibilidad de una pseudobacteremia y poder evitar algún tratamiento innecesario. (Cisneros & Rodriguez, 2002).

○ **MENINGITIS**

La meningitis bacteriana por *Acinetobacter* se da típicamente en pacientes intervenidos en una neurocirugía, los pacientes con riesgo de contraer esta infección presentan fuga cerebrospinal, infección con incisión, cirugía con duración prolongada, drenaje ventricular externo prolongado, así como el uso previo de cefalosporinas de amplio espectro. Se indica que luego de un procedimiento neuroquirurgico son 12 días en promedio en los que se puede desarrollar meningitis (Kim *et al.*, 2009).

○ **INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO**

Este tipo de infección causado por *Acinetobacter spp* posee una frecuencia bastante baja. El uso de catéteres urinarios permanentes predispone a una infección en pacientes internados en UCI y comúnmente en pacientes ancianos debilitados. Se resalta el hecho de que no todos los aislamiento de *Acinetobacter spp*. en pacientes con uso de catéter uretral se correlaciona con la infección real (Bergogne &Towner, 1996).

2.2.6. RESISTENCIA BACTERIANA

La resistencia bacteriana es una condición utilizada por algunos microorganismos como mecanismo de defensa para soportar los efectos de antibióticos. Se sabe existía desde antes que los antibióticos fueran descubiertos, y que se ha intensificado debido a un fenómeno llamado “presión selectiva” contra las bacterias, generado por el mal uso de agentes antimicrobianos, este es considerado un factor importante en la aparición y propagación de la resistencia a los antibióticos (Rodriguez, 2014).

Las bacterias pueden adquirir resistencia por traspaso de genes de otros organismos, mutaciones de novo o adaptaciones metabólicas a fármacos, así como también pueden ser resistentes de forma intrínseca a uno o a varios agentes antimicrobianos (Becerra, 2009).

- **RESISTENCIA NATURAL**

Dentro de las betalactamasas de origen natural , *Acinetobacter baumannii* expresa una cefalosporinasa tipo AmpC no inducible o denominada también intrínseca , que en bajos niveles otorga resistencia a Ampicilina , sin embargo al generarse una sobreexpresión da lugar a resistencia frente cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos , pero no ante Cefepime o carbapenémicos. También se han investigado enzimas denominadas como AmpC de espectro extendido, las cuales si pueden generar resistencia a cefalosporinas de cuarta generación como Cefepime (Vanegas J., 2014).

Otra betalactamasa codificada cromosómicamente son las denominada “oxacilinasas” OXA – 51 , se han descrito mutaciones en esta enzima, y aunque en estado normal la actividad carbapenemasa es baja , al sobre expresarse pueden otorgar la capacidad de hidrolizar carbapenémicos (Vanegas J., 2014; Poirel L., 2011).

- **RESITENCIA ADQUIRIDA**

Los mecanismos de resistencia al grupo de antibióticos betalactámicos que pueden adquirir se dividen en enzimáticos y no enzimáticos.

- **MECANISMOS NO ENZIMATICOS**

En cuanto a mecanismos no enzimáticos más frecuentes que confieren resistencia a betalactámicos se encuentran los de alteración de las proteínas de membrana externa (OMPs) , bombas de E-flujo , modificación de porinas , alteración de PBPs (proteínas de unión a penicilina), entre otros. Estos mecanismos pueden dar lugar a patrones de resistencia ante antibióticos de familias diferentes a betalactámicos (Vanegas J. *et al.*, 2014).

❖ BOMBAS DE EFLUJO

Modo de operar usado por bacterias gram negativas, el mecanismo de acción es expulsar, de forma inespecífica, los productos químicos potencialmente dañinos para la pared, hacia el exterior y evitar que llegue a su sitio de acción. Poseen la capacidad de expulsar quinolonas, aminoglucosidos, tetraciclinas, cloranfenicol e incluso betalactámicos como imipenem. Están compuestas por proteínas de membrana interna, externa (porinas) y una lipoproteína que enlaza a ambas para su conformación. Entre las principales bombas con las que cuenta *Acinetobacter baumannii* podemos mencionar a *AdeABC* perteneciente a la familia de bombas tipo RND (Bonomo R., 2006 ; Peleg *et al.*, 2008).

❖ CAMBIOS EN LA PERMEABILIDAD DE LA MEMBRANA BACTERIANA

Los cambios en la conformación de las porinas producen alteración en la membrana externa para evitar el paso de antibióticos al espacio periplasmico a través de las porinas y evitar la llegada de antibióticos a las proteínas ligadoras de penicilina. Se ha demostrado que en *A. baumannii* los cambios en la conformación de porinas como *Omp 33-36*, *Omp 22-33* y *CarO* están asociadas a resistencia frente a carbapenems. Así como *OmpA* vinculado a otorgar resistencia a cloranfenicol, aztreonam y ácido nalidixico (Tafur *et al.*, 2008; Lee C. *et al.*,2017).

❖ ALTERACIONES DEL SITIO DE ACCIÓN

La alteración es de carácter físico – químico ,se disminuye la afinidad del antibiótico por el sitio de acción , ante la no manifestación de otros mecanismos, para

disminuir la actividad antimicrobiana. Este mecanismo es más común en bacterias gram positivas (Rossi & Andreazzi, 2006).

- Alteración de PBPs (“Penicilin-binding proteins”): la resistencia a carbapenems en *Acinetobacter baumannii* es relacionada con la disminución en la expresión de PBP2 trayendo consigo una menor afinidad entre esta proteína y el medicamento (Lee *et al.*, 2017).
- Metilación de 16S rRNA: Este mecanismo es responsable de la resistencia a aminoglucocidos.
- Protección ribosomal: las RPP o proteínas de protección ribosómica, generan resistencia a tetraciclina tras unirse al ribosoma para de este modo capturar al antibiótico antes de llegar a su sitio de acción. *A.baumannii* presenta una RPP tipo *TetM* (Martinez A., 2017).
- DNA girasa: los genes *gyrA* y *parC* median la resistencia a quinolonas modificando la estructura de moléculas como ADN girasa y topoisomerasa IV (Martinez A., 2017).
- Dihidrofolato reductasa: el causante de la resistencia a trimetoprim está codificado por el gen *dhfr*, transportado por ADN plasmídico.
- Lipopolisacárido (LPS): la pérdida de esta molécula y su modificación se da debido a mutaciones o pérdida de síntesis de lípido A, generan una disminución en la susceptibilidad ante polimixinas como es el caso del Colistin. Las alteraciones tienen como promotor al sistema *PmrA/PmrB* (Olaitan A. *et al.*, 2014).

❖ MECANISMOS DE RESISTENCIA FRENTE A ANTIBIÓTICOS NO BETALACTÁMICOS.

Los mecanismos de resistencia antes descritos son utilizados para contrarrestar efectos de otras familias de antimicrobianos distintos a los conformados por betalactámicos, tal como se expresa en la **Tabla N°1**.

Tabla N°1 Mecanismos de resistencia a antibióticos no betalactámicos.

Grupo de antibióticos	Mecanismo de resistencia	Variantes	Perfil de resistencia
Aminoglicosidos	Enzimas modificadoras de aminoglicosidos	AAC , ANT , APH	variable
	Metilación de 16S RNA	armA	Todos los aminoglicósidos
	Bombas de expulsión	AdeABC AdeM	Todos los aminoglicósidos gentamicina , kanamicina
Quinolonas	Mutación genética	gyrA , parC	variable
	Bombas de expulsión	AdeABC	Todas las quinolonas
		AdeM	variable
Tetraciclinas	Bombas de expulsión	Tet (A)	tetraciclina pero no minociclina
		Tet (B)	tetraciclina , minociclina
		AdeABC	tetraciclina , glicilciclina
Polimixinas	Protección ribosomal modificación lípido A modificación porinas	Tet (M)	tetraciclinas
		pmrA , pmrB	Colistin
		OmpW	celestina
Trimetoprim , sulfonamidas, cloranfenicol	alteracion del blanco	sul	sulfonamidas
		dnfr	trimetoprim
	bombas de expulsión	CraA AdeABC	cloranfenicol trimetoprim, cloranfenicol

Fuente: Tomado de Vanegas J. *et al*, 2014.

○ MECANISMOS ENZIMÁTICOS:

Estos pueden diseminarse mediante plásmidos , integrones y transposones, su accionar consiste en degradar al antibiótico betalactámico haciendo uso de enzimas betalactamasas tales como betalactamasas de clase A, B o D, según la clasificación hecha por Ambler (Vanegas J.*et al*.,2014).

2.2.7. MECANISMOS DE RESISTENCIA A BETALACTAMICOS

2.2.7.1 . BETALACTAMASAS

Es considerado el mecanismo más prevalente en *Acinetobacter spp.* Son denominadas betalactamasas las enzimas con a capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico, debido a esto inactivan al antibiótico antes de conformar una unión a las PBPs. De acuerdo con la naturaleza del patógeno *Acinetobacter spp.* otros mecanismos pueden expresarse al mismo tiempo para evadir el efecto del antibiótico betalactámico. Su producción puede codificarse de forma cromosómica o mediada por plásmidos.

Los microorganismos con betalactamasas de carácter cromosómico generalmente son inducibles y no son reconocidos como sustrato de inhibidores. Mientras que las betalactamasas mediadas por plásmidos pueden ser transferibles e inactivados por inhibidores. Se han agrupado en cuatro clases moleculares : A , B ,C ,D (Bush K. & Jacoby J.,2010 ; Lee C. et al., 2017 ; Peleg A. et al., 2008).

2.2.7.2. BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Un grupo importante dentro de las betalactamasas son las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), con la característica de hidrolizar y generar resistencia a amino y carboxi penicilinas, cefalosporinas de primera ,segunda y tercera generación , así como a aztreonam pero no a carbapenemicos ni cefamicinas (Garcia et al. ,2014).

Actualmente se clasifican en base a los sustratos que las enzimas pueden hidrolizar y en la inhibición dada por el acido clavulánico, EDTA , aztreonam u oxacilina, esta clasificación fue dada por Bush, Medeiros y Jacoby . Las proteínas descritas actualmente para estas betalactamasas son: TEM-1 ,TEM-92, GES-1 , GES-5 , GES-11 GES-12 ,GES-14 , PER-1, PER-2 , PER-7 , CTX-M-2 , CTX-M-15 ,SCO-1 ,VEB-1 , KPC-2 , KPC-10 , CARB-4 R ,CARB-10 (Morejon , 2013 ; Lee A. et al, 2017).

2.2.7.3. CEFALOSPORINASAS TIPO AmpC

Las betalactamasas de tipo ampC generan resistencia a cefalosporinas descritas como de tercera generación, aztreonam, cefamicinas , ácido clavulánico , pero no a cefalosporinas de cuarta generación ni carbapenems. Si bien presentan baja afinidad por los carbapenems, cuando esta enzima se produce en exceso, y ocurre el cierre de porinas , el antibiótico en baja cantidad presente en el espacio periplásmico permite que la enzima sea capaz de hidrolizarlo y así quede registrada la resistencia en este.(Suarez et. Al, 2006). Se clasifican en *AmpC* cromosómicas inducibles y constitutivas, según la localización y expresión del gen *AmpC*; así como también *AmpC* plasmídicos inducibles y *AmpC* plasmídicas constitutivas. Forman parte del *Acinetobacter* spp. otorgándole característica de resistencia natural, el gen *AmpC* es transcrito por una secuencia de inserción denominada *ISAbal* , todo esto mediado por la expresión aumentada del gen *bla_{ampC}* (Martinez , 2009).

2.2.7.4. BETALACTAMASAS TIPO CARBAPENEMASAS

Se puede definir a las carbapenemasas como betalactamasas con capacidad de hidrolizar carbapenémicos, penicilinas y cefalosporinas. Según la clasificación de Ambler se puede distinguir en clases : A ,B Y D. Las de clase A y D son serino enzimas ya que el sitio activo posee residuos de serina y las de clase B denominadas metaloenzimas, ya que necesitan de cationes divalentes como cofactor para efectuar su actividad enzimática. Las carbapenemasas más difundidas en *A. Baumannii* son las de clase D según clasificación hecha por Ambler, principalmente las tipo OXA-23 han sido señaladas como responsables de efectuar hidrólisis de los carbapenems en cepas endémicas. (Rodriguez et al. ,2014). La resistencia a carbapenems en *A. baumannii* puede ser producto de las modificaciones de la proteína de unión a porinas o penicilina. (Suarez et. al., 2006)

2.2.8. CLASIFICACIÓN DE LAS CARBAPENEMASAS SEGÚN AMBLER Y BUSH

2.2.8.1. Clase molecular D – grupo funcional 2df : Oxacilinasas.

Las carbapenemasas de la clase D pertenecen al grupo 2df de Bush-Jacoby. Estos se subdividen en grupos OXA-23 , OXA-24 , OXA-48 , OXA-58, OXA-72 y OXA-143. Casi todas las OXA tienen actividad carbapenemasa y se encuentran en especies de *Acinetobacter* spp. el nivel hidrolítico de las carbapenemasas OXA es bastante débil comparado con MBL, pueden ser susceptibles a cefalosporinas de espectro extendido y a monobactámicos . Usualmente requieren de mecanismo adicionales de resistencia (Peña, 2016).

2.2.8.2. Clase molecular A – grupo funcional 2f : Serincarbapenemasa.

Las enzimas hidrolíticas de carbapenems de la clase A pertenecen al grupo 2f de Bush-Jacoby, se pueden dividir en 5 grupos en base a su filogenética: GES, KPC, SME, IMI y NMC-A 27,33 ,34. Las enzimas SME, NMC e IMI están codificadas en cromosomas, mientras que las enzimas GES y KPC lo están en plásmidos. Tienen la capacidad de hidrolizar betalactámicos y son inhibidas por ácido clavulánico y tazobactam. Requiere una serina en su sitio activo para que el mecanismo hidrolítico pueda actuar (Peña, 2016).

2.2.8.3. Clase molecular B – grupo funcional 3 : Metalobetalactamasa.

Enzimas pertenecientes al Grupo 3 según clasificación funcional de Bush , Jacoby y Medeiros . y a la Clase Molecular B según Ambler. Su sitio activo contienen un ión de Zinc en lugar de Serina, como los de la clase A y D. También denominadas metalobetalactamasas (MBL),son sensibles a aztreonam e inhibidos por agentes quelantes de zinc ; es decir , EDTA y SMA (mercapto acetato de sodio). Poseen dos familias enzimáticas importantes la IMP y

VIM , estos le otorgan resistencia a todos los betalactámicos , se incluye aquí carbapenems, menos a aztreonam (Diaz, 2008).

Las enzimas denominadas carbapenemasas han sido agrupadas, en la actualidad, bajo el esquema propuesto por Ambler, el cual es utilizado para la clasificación de estas basado en las distintas clases moleculares descritas (Calvo J., 2011). La **Tabla N°2** señala a las enzimas más relevantes y el perfil de resistencia que otorgan fenotípicamente.

Tabla N°2. Clasificación de las carbapenemasas según Ambler.

Betalactamasa	Variantes	Perfil de resistencia
Clase A	Betalactamasas de amplio espectro : TEM-1 , TEM-2	Penicilinas
	CARB-5, VEB-1, PER-1, PER-2, TEM-92, TEM-116. SHV-5, SHV-12, CTX-M-2, CTX-M-43	Cefalosporinas de espectro extendido, aztreonam
	Carbapenemasas KPC	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam
Clase B	Carbapenemasas IMP, VIM, SPM, SIM y NDM	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas, no hidrolizan el aztreonam
Clase D	Carbapenemasas: OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-51	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas (débilmente cefalosporinas de tercera y cuarta generación)

Fuente: Tomado de Vanegas J. *et al.*, 2014.

2.2.9. DETECCIÓN FENOTÍPICA DE CARBAPENEMASAS

Antes de ejecutar alguna prueba fenotípica para identificar actividad carbapenemasa es importante tener en cuenta otros mecanismos de resistencia que puedan “enmascarar” la expresión in vitro que otorgan las carbapenemasas , tales como bombas de eflujo , alteración en la permeabilidad , cambios en las PBPs (Calvo *et al.*, 2011).

El estándar de oro para la detección de genes productores de carbapenemasas es llevado a cabo por métodos moleculares, sin embargo pocos laboratorios cuentan con estas herramientas (Birgy *et al.*, 2012).

- **Test de Hodge modificado**

La prueba de Hodge consiguió establecer un método simple para la detección de penicilinasas producida por *Neisseria gonorrhoeae* (Hodge et al., 1977) utilizando como cepa indicadora al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. No fue hasta el año 2000 en el que Lee y colaboradores realizaron modificaciones en dicha prueba, reemplazando la cepa indicadora de *Staphylococcus aureus* por la de *Escherichia coli* ATCC 25922 y colocando el disco de imipenem 10ug. , en lugar del disco de penicilina 10U utilizado por Wavell Hodge en su estudio (Lee *et al.* , 2001).

El test de Hodge consiste en diseminar una suspensión de *E. coli* ATCC 25922 en una placa de Mueller Hinton, siguiendo los lineamientos del método estandarizado para realizar un antibiograma por disco difusión; realizado esto se procede a colocar en el centro de la placa un disco con un carbapenemico (imipenem , meropenem o ertapenem) , y por último , se realiza una estría radial desde el disco hasta la periferie de la placa , de la cepa a evaluar en el estudio. Se considera positivo el test cuando se observa una zona de inhibición alterada en ambos lados de la estría como efecto del desarrollo de la cepa indicadora (CLSI M-100, 2016).

- **Test de Hodge modificado Triton**

Propuesto en el 2015 por Pasteran et al. teniendo como antecedentes la utilización de “Triton X-100” para solubilizar la membrana citoplasmática de *Escherichia coli*. Pues era necesario obtener información de proteínas de membrana aisladas (Schnaitman , 1971. ; Jones , 1999). Este método mejora la sensibilidad del test de Hodge modificado en la detección de cepas portadoras de Nueva Delhi metalobetalactamasas (NDM) y otras carbapenemasas ; ya que tiene la capacidad de solubilizar lipoproteínas adheridas a la membrada externa de la bacteria en estudio. Por tal motivo y para este fin se propuso la utilización de un tensioactivo no iónico denominado “Triton X-100”, el cual debía ser añadido y estriado de inmediato en toda la placa de Mueller Hinton antes de continuar con el método ya estandarizado de un test de Hodge modificado convencional (Pasteran *et al.*, 2016).

- **Método de inactivación del carbapenem (mCIM)**

En el 2015 Zwaluw et al. desarrollaron un ensayo fenotípico alternativo denominado método de inactivación del carbapenem o también llamado CIM.

El método consiste en sumergir un disco de meropenem (10 ug) en una suspensión de 400ul de agua destilada con la cepa en estudio. Luego de ser incubado durante 2 horas a 35°C, el disco es retirado y colocado en una placa de Mueller Hinton , estriada previamente, con una cepa indicadora susceptible a carbapenems, de *E. Coli* ATCC 29522. Si se observaba crecimiento de la cepa indicadora alrededor del disco, era suficiente evidencia de que la cepa en estudio era portadora de enzimas hidrolíticas que por consiguiente demostraban actividad carbapenemasa positiva (Zwaluw *et al.*,2015 ; CSLI M-100, 2016).

- **Método de inactivación del carbapenem – triton (t CIM)**

A mediados del 2017 , Liu M. *et al.* Propuso agregar “Triton X-100” al método CIM modificado ,para de esta forma impermeabilizar la membrana celular de las bacterias en estudio y así exponer las enzimas carbapenemasas para una mejor detección mediante el método ya establecido por la CLSI, este método se fundamenta en el estudio que realizo Liu M. y que demostró mejoras en la sensibilidad y especificidad otorgados por el CIM modificado convencional.(Liu M. *et al*, 2017).

2.2.10 HIPÓTESIS

Este estudio no plantea una hipótesis.

2.2.11 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- Bacteria multirresistente: Las bacterias multirresistentes son aquellas que son capaces de sobrevivir ante la presencia de más de tres familias distintas de antibióticos..
- Bacteria pan resistente : organismos con la capacidad de ser resistentes a todas las familias de antibióticos.
- Test de Hodge : método fenotípico utilizado para la detección de actividad hidrolítica ante un antibiótico por parte de una enzima.
- Método de inactivación del carbapenem : método fenotípico que consiste en la reducción en el halo de inhibición de un disco de algún carbapenem previamente expuesto a una suspensión de la cepa portadora del enzima.
- UCI : unidad de cuidados intensivos
- OMS: Organización mundial de la salud.
- TRITON: Detergente tensioactivo no iónico.

CAPÍTULO III

MÉTODO

3.1. TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO

Investigación de tipo cuantitativa, descriptiva, observacional de corte transversal.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. POBLACION

Aislamientos clínicos de *Acinetobacter spp* de un hospital de Lima 2016.

3.2.2. MUESTRA

Aislamientos de *Acinetobacter spp* que se recolectaran en el laboratorio de microbiología de octubre 2016 - diciembre 2016 de un hospital de Lima.

3.2.2.1. TIPO DE MUESTREO

No probabilístico por conveniencia

3.2.2.2 UNIDAD DE ANALISIS

Un asilamiento de de *Acinetobacter spp*.

3.2.3 CRITERIO DE SELECCIÓN

3.2.3.1 CRITERIOS DE INCLUSION

Cepas de coco bacilos gram negativos no fermentadores identificados como *Acinetobacter spp.*

3.2.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSION

Cepas que no puedan ser recuperadas de la preservación en crioviales.

3.3. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES Y MATRIZ DE CONSISTENCIA

3.3.1. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	DIMENSION	INDICADOR	NATURALEZA Y ESCALA	VALORES	MEDICION	INSTRUMENTO
<i>Acinetobacter spp</i>	PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD	RESISTENCIA A MAS DE DOS TIPOS ANTIBIOTICOS	CUALITATIVO /NOMINAL	SENSIBLE INTERMEDIO RESISTENTE	DIAMETRO DEL HALO	ANTIBIOGRAMA
	PROCEDENCIA CLINICA	ESPECIALIDAD	CUALITATIVO /NOMINAL	LO QUE INDICA LA BASE DE DATOS	BASE DE DATOS	

VARIABLES	NATURALEZA	INDICADOR	VALORES	INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN
DETECCION FENOTIPICA DE CARBAPENEMASAS	CUALITATIVO/ NOMINAL	DEFORMACION DEL HALO	POSITIVO NEGATIVO	TEST DE HODGE - Triton
	CUALITATIVO/ NOMINAL	CRECIMIENTO DE HALO	POSITIVO NEGATIVO	CIM - TRITON

3.3.2. MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES	TIPO DE ESTUDIO
<p>DETECCIÓN FENOTÍPICA DE CARBAPENEMASAS EN ACINETOBACTER SPP DE UN HOSPITAL DE LIMA 2016</p>	<p>¿Cuál es la frecuencia de Acinetobacter productor de carbapenemasas en aislamientos clínicos de un hospital en lima metropolitana?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Determinar la frecuencia de Acinetobacter spp productor de carbapenemasas en aislamientos clínicos de un hospital de lima 2016.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Describir el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de Acinetobacter spp. - Determinar la producción de carbapenemasas en Acinetobacter spp por el método de Hodge modificado y CIM – triton. - Describir los aislamientos según procedencia clínica 	<p>VARIABLE PRINCIPAL</p> <p>Detección fenotípica de carbapenemasas.</p> <p>VARIABLE SECUNDARIA</p> <p>Acinetobacter spp</p>	<p>Cuantitativo</p> <p>Descriptivo</p> <p>Observacional transversal</p>

3.4 RECOLECCIÓN DE DATOS E INSTRUMENTO

3.4.1 MÉTODO

Los métodos a utilizar serán la observación y documentación de la base datos de antibiogramas realizados en el laboratorio de microbiología, así como también datos que se generen mediante la aplicación de los ensayos fenotípicos.

3.4.2 INSTRUMENTO

La recolección de datos será a través del antibiograma.

3.4.3. RECOLECCIÓN DE DATOS

- Base de datos de los reportes del servicio de microbiología.
- Ficha que indica actividad de carbapenemasas. (Ficha de recolección de datos 1)

(Ver anexo1).

- Ficha que indica patrón de susceptibilidad antimicrobiana.

(Ficha de recolección de datos 2) (Ver anexo 2).

3.5 PROCEDIMIENTOS, MATERIALES Y EQUIPOS

3.5.1. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- Se obtuvieron 60 aislamientos clínicos de *Acinetobacter spp.* recolectados del laboratorio de microbiología, de octubre a diciembre del 2016, de un hospital de Lima con su respectiva base de datos.
- Las cepas fueron almacenadas en crioviales con agua destilada y a temperatura ambiente hasta completar el tiempo de recolección, para el posterior ensayo fenotípico de estas.
- Las cepas luego de ser reactivadas en agar Mueller Hinton incubadas a 35°C por 18 horas, se pudieron recuperar contando así con 60 cepas.
- De las cepas resistentes a Meropenem, 35 cepas fueron evaluadas mediante antibiogramas por disco difusión según el protocolo estandarizado que indica la CLSI en su manual M-100 2106, incluyendo el disco de Imipenem para confirmar la resistencia a carbapenémicos y el patrón de susceptibilidad antimicrobiana.(anexo1).
- Las cepas que presentaron un patrón de resistencia a carbapenems (imipenem y meropenem) fueron evaluadas mediante dos ensayos fenotípicos : Test de Hodge - Triton y Método de inactivación de la carbapenemasa – Triton (CIM - Triton) para de este modo evidenciar actividad carbapenemasa.(Anexo 2)

- La detección fenotípica de carbapenemasas fue llevada a cabo en el Laboratorio Central de la facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

3.5.2. MÉTODOS DE DETECCIÓN

A) Criterios

En la realización de los antibiogramas, por disco difusión, de *Acinetobacter spp.* se utilizaron los siguientes discos :

Discos para susceptibilidad antimicrobiana: Ceftazidima, Cefepime, Amikacina, Genamicina, Ciprofloxacino, Trimethoprim/Sulfamethoxazole, Piperacilina /Tazobactam, Aztreonam , Ceftriaxone , Cefotaxima , Ampicilina/ Sulbactam , Amoxicilina / Ac. Clavulánico, Imipenem, Meropenem.

Antes de ser sometidos a las pruebas fenotípicas para la detección de actividad carbapenemasa, primero se observó, en el antibiograma, los halos de inhibición de los antibióticos imipenem y meropenem, considerando sospechosos los que expresaban medidas de ≤ 18 y ≤ 14 mm respectivamente.

B) Métodos de detección

- **TEST DE HODGE TRITON.**

a) Procedimiento:

Se agregó 50 microlitros de “TritonX-100” en la superficie de la placa de Agar Mueller Hinton. Rápidamente se distribuyó mediante un hisopo, el TritonX-100 sobre toda la

superficie de la placa hasta su absorción completa (generalmente requiere entre 4 -6 hisopados en todas las direcciones).

Previamente se realizó una suspensión de turbidez equivalente al 0.5 Mac Farland de la cepa indicadora (*Escherichia coli* ATCC® 25922)

Mediante un hisopo se extendió el inóculo de la cepa indicadora sobre la superficie de la placa, siguiendo los lineamientos del CLSI para la realización de un antibiograma.

Se colocó en el medio de la placa un disco de Meropenem. El carbapenem indicado varía según la especie bacteriana de la cepa no conocida :

- Bacilo gram negativo no fermentador: podrá utilizarse indistintamente imipenem o meropenem.

Con un ansa estéril se tomó de 3 a 5 colonias de un cultivo fresco de la muestra objeto de estudio y realizó una estría desde el borde del disco hacia la periferia de la placa (la longitud permitida puede abarcar de 20-25mm.). Es posible ensayar hasta 4 cepas incógnitas en la misma placa. Por último, incubar la placa en aerobiosis a 35°C durante 16-18 horas.

b) Interpretación:

- Test de Hodge Triton positivo: se observara un sobre crecimiento de la cepa que se utilizó como indicadora hacia el disco de carbapenem en la intersección que conforma la estría con la zona de inhibición.

- Test de Hodge negativo: se observara la zona de inhibición sin alteración alguna en su intersección con la estría hecha con la cepa incógnita.

- Test de Hodge indeterminado: se observara una zona clara a lo largo de la estría de la cepa incógnita. Esto se debe a que algunas cepas pueden producir sustancias que inhiben el crecimiento de *E. coli* ATCC® 25922. (Pasteran et. al., 2016)

- **MÉTODO DE INACTIVACIÓN DEL CARBAPENEM (CIM- TRITON)**

En base a la bibliografía encontrada de los estudios realizados por Liu M. et al. en el 2017 se realizo una modificación agregando Triton X- 100 a la suspensión de la cepa en estudio .

- a) Procedimiento:**

Se agregó 200 micro litros de Triton X- 100 junto con 200 micro litros de agua destilada en crio viales.

Previamente se resuspendio una cantidad abundante de cepa en estudio, en los crio viales con Triton X-100.

Se sumergió en la suspensión un disco de meropenem (10ug) e incubar los crioviales a 35°C por 2 horas.

Luego de la incubación se retiró el disco de meropenem.

Se realizó una suspensión de turbidez equivalente al 0.5 Mac Farland de la cepa indicadora (*Escherichia coli* ATCC® 25922)

Mediante un hisopo se extendió el inóculo de la cepa indicadora sobre la extensión de la placa, siguiendo los lineamientos de la CLSI para el método Kirby Bauer del antibiograma.

Se colocaron discos de Meropenem, habiendo retirado previamente el exceso de suspensión.

Se incubó la placa en aerobiosis a 35°C durante 16-18 horas.

b) Interpretación:

- Actividad de carbapenemasa positiva : en caso se observe crecimiento alrededor del disco de Meropenem

- Actividad de carbapenemasa negativa : en caso se evidencie formación de un halo alrededor del disco de Meropenem

(Zwaluw, 2015; Liu M. *et al.*, 2017).

3.5.3. MATERIALES Y EQUIPOS

- Material biológico

- Cepa control: *Escherichia coli* ATCC® 25922.

- aislamientos de *Acinetobacter spp.*

- Materiales de laboratorio y equipos

- Crioviales
- Placas Petri
- agar Mueller Hinton
- Triton x-100
- hisopos
- Incubadora (37 °C)
- agua destilada (1000 mL)
- Discos para susceptibilidad antimicrobiana (BD) : Ceftazidima, Cefepime, Amikacina, Genamicina, Ciprofloxacino, Trimethoprim/Sulfamethoxazole, Piperacilina /Tazobactam, Aztreonam , Ceftriaxone , Cefotaxima , Ampicilina/ Sulbactam , Amoxicilina / Ac. Clavulánico, Imipenem, Meropenem.

3.6 Análisis de datos

La información obtenida de las fichas de recolección de datos de los aislamientos de *Acinetobacter* spp que cumplían con los criterios de inclusión planteados, pertenecientes al periodo de octubre a diciembre 2016 de un hospital de Lima, fueron ingresados a una base de datos utilizando como programa para este fin el Microsoft Excel 2010 para facilitar la obtención de porcentajes y la obtención de tablas y gráficos para una mejor interpretación.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. Frecuencia de *Acinetobacter spp.* productor de carbapenemasas

De un total de 60 aislamientos clínicos de *Acinetobacter spp.* obtenidos de Octubre a Diciembre del 2016 en un hospital de Lima. Se determinó en base a la susceptibilidad disminuida a carbapenemes (imipenem & meropenem), expresado en el antibiograma por disco difusión, y el posterior estudio por métodos fenotípicos; que en un 58% (35/60) de aislamientos se detectó actividad carbapenemasa tal como lo expresa el **Gráfico N°1**.

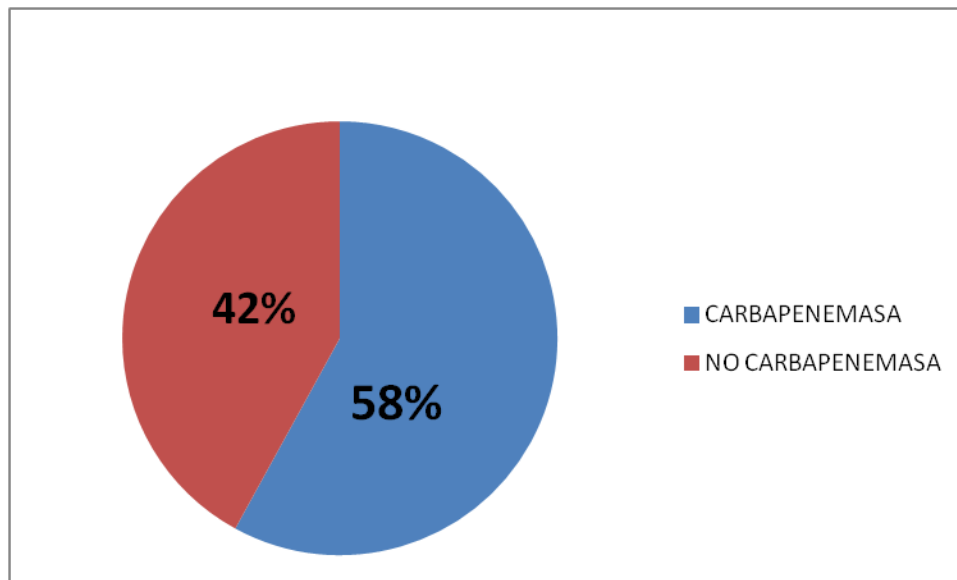


Gráfico N°1. Frecuencia de *Acinetobacter spp.* productor de carbapenemasas en aislamientos clínicos de un hospital de Lima, Octubre – Diciembre 2016

Fuente: Datos obtenidos de la investigación.

4.2. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana.

ANTIBIÓTICOS	%SENSIBLE	%INTERMEDIO	%RESISTENTE
MEROPENEM	42	0	58
TRIMETHOPRIM/SULFAMETHOXAZOLE	50	0	50
CEFEPIME	27	2	71
GENTAMICINA	42	12	46
CEFTAZIDIMA	17	10	73
AMIKACINA	43	10	47
AMOXICILINA/AC. CLAVULANICO (*)	0	0	100
AZTREONAM (*)	0	0	100
CIPROFLOXACINO	17	2	81
CEFTRIAXONE	22	5	73
AMPICILINA/SULBACTAM	48	25	27
CEFOTAXIMA	15	13	72
CEFOXITIN (*)	0	0	100

Tabla N° 3. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Acinetobacter* spp. de un hospital de Lima , Octubre - Diciembre 2016.

Fuente: Datos obtenidos de la realización del antibiograma por disco difusión.

(*) Antibióticos que corroboran resistencia natural.

En lo que respecta al perfil de susceptibilidad antimicrobiana, se logra apreciar que de los 60 aislamientos de *Acinetobacter* spp. , los antibióticos que describieron mayor resistencia, aparte de los carbapenemes (imipenem & meropenem) fueron : Ciprofloxacino (81%) , Ceftazidima (73%) , Ceftriaxone(73%), Cefepime (71%) , Cefotaxima (72%)

Además de estos también se describe los porcentajes de resistencia de los antimicrobianos Trimethoprim/Sulfamethoxazole (50%), Gentamicina (46%), Amikacina (47%) , Ampicilina/Sulbactam (27%) tal como lo describe el **Gráfico N°2**.

Así como también Amoxicilina / Ac. clavulanico , Aztreonam, y Cefoxitin , corroborando de este modo la resistencia natural intrínseca que posee el *Acinetobacter* spp.

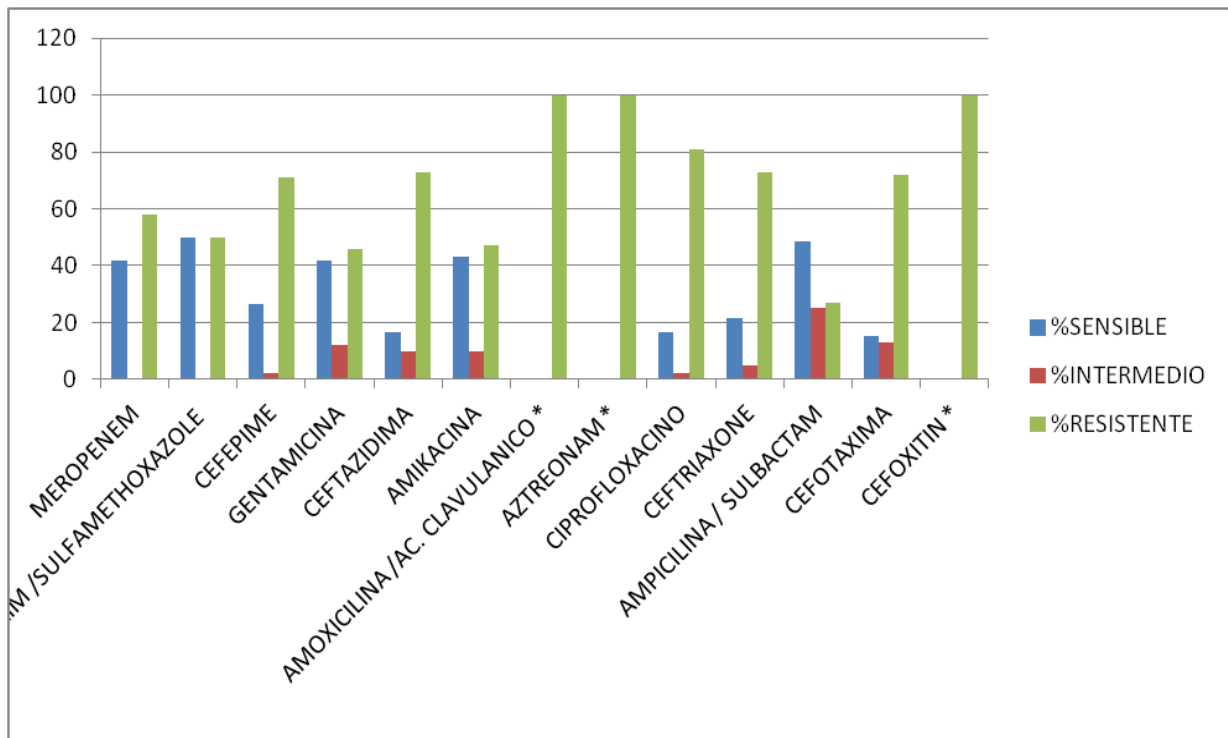


Gráfico N° 2. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de

Acinetobacter spp. de un hospital de Lima , Octubre - Diciembre 2016.

Ya que la base de datos no presentó resultados de ensayos con Imipenem y Piperacilina / tazobactam , en el antibiograma por disco difusión ; se vio por conveniente realizar dicho ensayo a los 35 aislamientos sospechosos de actividad carbapenemasa. Obteniendo así un 100% de resistencia a Imipenem (35/35) y un 74% de resistencia en lo que concierne a Piperacilina / Tazobactam (26/35) indicado en la **Tabla N°4**.

ANTIBIÓTICOS	%SENSIBLE	%INTERMEDIO	%RESISTENTE
TPZ	20	6	74
IMI	0	0	100

Tabla N° 4. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Acinetobacter spp.* realizados a los aislamientos sospechosos de actividad carbapenemasa.

Fuente: Datos obtenidos de la realización del antibiograma por disco difusión.

4.3. Determinación de producción de carbapenemasas en *Acinetobacter spp* por el método de Hodge modificado y CIM – triton.

Se observó la actividad carbapenemasa en 35 (58%) aislamientos clínicos de un total de 60 (35/60), mediante los métodos CIM-Triton y Hodge Modificado triton. Por otro lado también se determinó que 25 (42%) aislamientos no presentaron actividad carbapenemasa (25/60) , todo esto es descrito en la **Tabla N°5**.

Carbapenemasas en <i>Acinetobacter spp</i> .						
MÉTODO	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
HODGE MODIFICADO TRITON	35	58%	25	42%	60	100%
CIM - TRITON	35	58%	25	42%	60	100%

Tabla N°5. Producción de carbapenemasas en *Acinetobacter spp* por el método de Hodge modificado y CIM – triton.

Fuente: Datos obtenidos de la realización del test de Hodge modificado triton y CIM-triton

4.4. Aislamientos según procedencia clínica para este estudio.

AISLAMIENTOS CLÍNICOS SEGÚN PROCEDENCIA																					
S.BRO		URO		AS.BRO		HEM		AS. END		CULT. DIV		ESP		LIQ. PER.		CUL. HER		TOTAL			
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
16	26	11	18	7	12	10	17	6	10	1	2	3	5	3	5	3	5	60	100		

Tabla N°6. Frecuencia de aislamientos según procedencia clínica.

Fuente: Datos de la investigación.

S.BRO: Cultivo de secreción bronquial, URO: urocultivos, AS. BRO: cultivo de aspirado bronquial, AS. END: cultivo de aspirado endotraqueal, CULT. DIV: cultivos diversos, ESP: Cultivo de esputo, LIQ. PER: Cultivo de líquido peritoneal, CUL. HER: cultivo de herida.

La mayoría de aislamientos fueron obtenidos de muestras biológicas correspondientes a vías respiratorias bajas (58%) tales como son : secreción bronquial (26%) , aspirado bronquial (12%) y aspirado endotraqueal (10%). Destacan también en un porcentaje relativamente alto muestras para urocultivos (18%) y hemocultivos (17%).

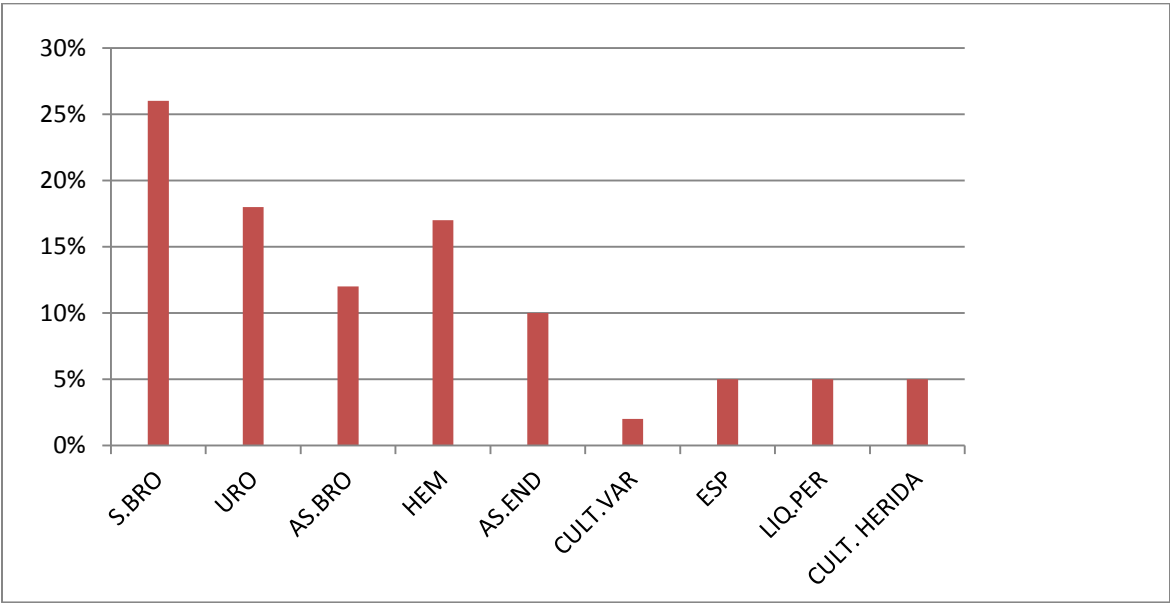


Grafico N°3. Distribución de aislamientos según procedencia clínica.

Fuente: datos de la investigación.

4.5. Actividad carbapenemasa según aislamientos clínicos.

Al analizar 60 (100%) aislamientos clínicos se pudo observar que los que manifestaron actividad carbapenemasa fueron, 11 (18%) secreción bronquial, 5(8%) aspirado bronquial, 8 (13%) urocultivos, 3 (5%) hemocultivos, 2 (3%) aspirado endotraqueal, 1 (2%) cultivos diversos, 2 (3%) cultivos de esputo, 1(2%) cultivo de liquido peritoneal y cultivo de herida 2 (3%) respecto del total. Datos indicados en la **Tabla N°7**.

ACTIVIDAD CARBAPENEMASA SEGÚN AISLAMIENTOS CLÍNICOS																				
	S.BRO		URO		AS.BRO		HEM		AS. END		CULT. DIV		ESP		LIQ. PER.		CUL. HER		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
CARBAPENEMASA	11	18	8	13	5	8	3	5	2	3	1	2	2	3	1	2	2	3	35	58
NO CARBAPENEMASA	5	8	3	5	2	3	7	12	4	7	0	0	1	2	2	3	1	2	25	42
TOTAL	16	26	11	18	7	12	10	17	6	10	1	2	3	5	3	5	3	5	60	100

Tabla N°7. Actividad carbapenemasa según aislamientos clínicos

Fuente: Datos de la investigación.

Las muestras biológicas destinadas a cultivos de secreción bronquial y urocultivos manifestaron mayor actividad carbapenemasa en los ensayos fenotípicos, siendo la frecuencia de 18% y 13% respectivamente. Porcentajes expresados en el **Gráfico N°4**.

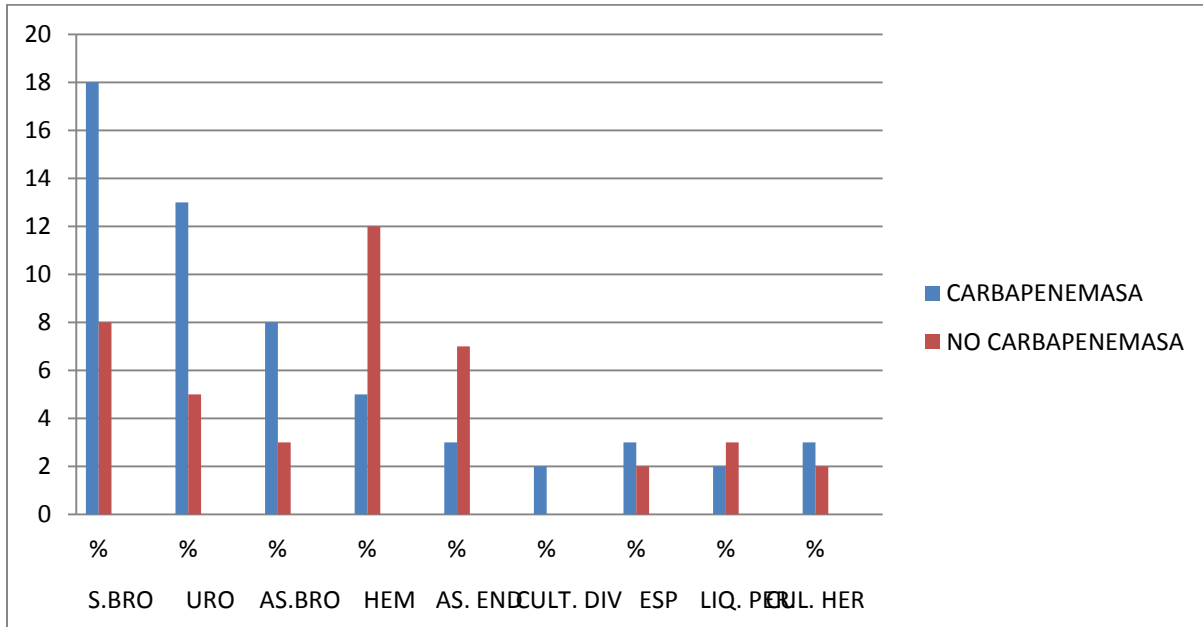


Gráfico N°4. Actividad carbapenemasa según aislamientos clínicos.

Fuente: datos de la investigación.

CAPITULO V

DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 DISCUSIÓN

Actualmente las especies de *Acinetobacter*, primordialmente *Acinetobacter baumannii*, es uno de los patógenos más complicados frente a la terapia antibiótica. La importancia de conocer sobre este microorganismo se ha incrementado debido a su capacidad de generar infecciones en pacientes hospitalizados inmunocomprometidos y de ser multirresistentes. Es sabido que predomina en establecimientos de salud por su capacidad de adquirir genes de resistencia a casi todos los antibióticos capaces de hacerles frente además de características propias de adaptabilidad. Últimamente se viene utilizando al Colistin como fármaco capaz de tratar infecciones originadas por el complejo *Acinetobacter* resistente a carbapenems; no obstante se han reportado ya cepas resistentes a este antibiótico (Evans *et al.* , 2013).

El presente estudio de carácter descriptivo, hizo uso de dos métodos fenotípicos (Test de Hodge Triton y CIM- Triton) , de este modo se detectó la frecuencia de *Acinetobacter spp.* productor de carbapenemasas en un hospital de Lima en el periodo de Octubre a Diciembre del año 2016. Es así como se observó que de los 60 aislamientos clínicos obtenidos, 35 fueron resistentes a carbapenems (Imipenem & Meropenem) al ser analizadas por el método de disco difusión , tal cantidad representó un 58% (35/60) del total de aislamientos.

En base a lo obtenido se puede comparar con los datos descritos en el estudio de Mohanty *et al.*, en el año 2013 ,en Nueva Delhi, India. Que de un total de 145 aislamientos entre *Pseudomona aeruginosa* (95) y *Acinetobacter spp.* (50), la frecuencia de resistencia a carbapenemes (IPM & MEM) descrita por el *Acinetobacter spp* fue de un 66%, esta cifra es

superior a la encontrada en nuestro estudio probablemente es a causa del número mayor de aislamientos provenientes de UCI (50.5%) mientras que para el presente estudio solo el 43% (26/60) de aislamientos provenientes de UCI. Por otro lado en el 2014 en Buenos Aires, Argentina. Rodriguez et al. Tras un análisis de 200 cepas de *Acinetobacter spp.*, concluyó que un 73% presento resistencia a carbapenems (IPM & MEM) la elevada tasa descrita en sus resultados puede estar asociada a que 66 (33%) de los aislamientos provinieron de pacientes con tratamiento previo con carbapenems. Así como también en el 2014 Lemos et al. Tras evaluar cultivos positivos de 137 muestras aisladas para *Acinetobacter spp.* de dos hospitales privados al noreste de Brasil, determinó los porcentajes de resistencia a carbapenémicos para ambos establecimientos, fue de un 87% y 59% respectivamente. Este incremento en la tasa de resistencia tiene como observación la mayor cantidad de muestras biológicas que provenían de vías respiratorias bajas (51.9%) mientras que nuestro estudio tiene como cifra un 48% de especímenes provenientes del mismo lugar.

Moosavian *et al.* (2016), identificaron 100 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* mostrando una tasa de resistencia a meropenem (96%) e imipenem (95%). La totalidad de aislamientos fueron evaluados mediante el Test de Hodge modificado (MTH) y se obtuvo como positivos para producción de carbapenemasas un 53%. Esta cifra en contraste con la presentada por este estudio que detecto un 100% de actividad carbapenemasa dentro de las cepas resistentes a carbapenems (35/60), se estima difiere por el uso de “Triton X-100” modificando así el test de Hodge convencional por el test de Hodge – triton (THT). Además presentó mayor resistencia a ciprofloxacina (98%) cifra similar a la obtenida en nuestro estudio (81%) del mismo antibiótico ensayado.

Los resultados obtenidos por Sun K. *et al.* (2017), tras analizar 51 cepas de *Acinetobacter baumannii* con susceptibilidades reducidas a carbapenems, describieron la producción de actividad carbapenemasa por el método de CIM en un 82.3% (42/51), al mismo tiempo el test de Hodge Triton demostró un 66.7% (34/51). En comparación con nuestro estudio el cual analiza a 35 cepas sospechosas de carbapenemasas (35/60), por la susceptibilidad disminuida a carbapenems demostrada en el antibiograma por disco difusión. Tanto el test de Hodge Triton como el método de CIM detectaron actividad carbapenemasa en un 100% (35/35), cabe indicar que la investigación de Sun K. *et al.* (2017), señala que las cepas en estudio eran poseedoras de genes de resistencia como son OXA-23 y OXA-51. Probablemente estas diferencias en la detección se deban a los subtipos y actividades propias de estas enzimas tipo OXA. Es también comparable con otro estudio realizado por McMullen *et al.* (2017) quien en un marco de 189 bacilos gram negativos resistentes a carbapenems, en donde 11 de estos eran *Acinetobacter baumannii*, la prueba de CIM señaló que el total de cepas de *Acinetobacter baumannii* (11/11) poseía actividad carbapenemasa señalando de esta manera un 100%. El reporte indicó que 4 de estas cepas poseían el gen carbapenemasa bla-NDM y 7 no fueron determinadas molecularmente.

En el 2016, Ciello G. & Araujo M., determinaron que de 694 cultivos positivos para *Acinetobacter baumannii* el 60.5% es decir 420 aislamientos clínicos obtenidos de un hospital en Minas Gerais –Brasil, eran resistentes a carbapenémicos, cifra que se acerca a nuestro estudio el cual presentó un 58% en el tiempo descrito. Este estudio indica también los porcentajes de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenems encontrados según espécimen clínico, describiendo un mayor porcentaje en secreciones de herida (25%), seguidas por muestras del tracto respiratorio inferior (21,4%), hemocultivos (16,8%), orina

(15,6%), secreción de herida(12,7%), líquido (0,7%) y otros (0,4%). En comparación con nuestro estudio en el cual se obtuvo un 21% de aislamientos resistentes a carbapenemes que pertenecían al tracto respiratorio inferior, coincidiendo esta cifra con la investigación en mención; y con diferencias significativas con los demás especímenes clínicos : hemocultivos (5%), urocultivos (13%), cultivos diversos (2%), cultivos de esputo (3%) , cultivo de liquido peritoneal (2%) y cultivo de herida (3%) respecto del total.

En nuestro país es escaso el reporte de aislamientos de *Acinetobacter spp* productores de carbapenemasas, sin embargo en un estudio realizado al norte del Perú, Gastelo R. *et al.* (2015), señala que de 21 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* sospechosos por la susceptibilidad disminuida a carbapenems observada por el método Kirby Bauer , el 100% fueron positivos a actividad carbapenemasa , ya que se aplicaron tres métodos para su identificación : aproximación de de discos, Test de Hodge modificado y Blue Carba. Comparando este resultado con nuestro estudio se puede establecer una semejanza ya que de igual manera la totalidad de aislamientos sospechosos (35/35) por la resistencia a carbapenems descrita nos indico actividad carbapenemasa en un 100% mediante los métodos Test de Hodge –Triton y CIM- Triton.

En lo que respecta a la resistencia a otras familias de antimicrobianos por parte de *Acinetobacter baumannii* , otro estudio realizado también al norte del Perú por Aguilar F. et al. , en el año 2016. Indica que los aislamientos del complejo *Acinetobacter spp.* casi en su totalidad presentaron niveles elevado de resistencia a quinolonas, aminoglucósidos, meropenem , sulfametoxazol/trimetoprim y tetraciclina. Indicando especialmente un 81.8% de resistencia para Piperacilina / tazobactam , mientras que en nuestro estudio , la misma combinación de antibióticos (Piperacilina /tazobactam) presentó un 74% de resistencia.

Un estudio elaborado por Chávez M. *et al.* (2015), en Colombia , señalan que tras analizar 54 cepas de *Acinetobacter baumannii* el 100% presentó resistencia a amikacina, gentamicina , trimetoprim / sulfametoxazol , cefepima , ceftazidima , e imipenem. Así como también ciprofloxacino(98%) , ampicilina/ sulbactam (94%) , y a meropenem (96%). Tomando el criterio de resistencia simultanea a imipenem o meropenem, amikacina , y cefalosporinas de tercera y cuarta generación , fueron considerados multirresistentes a fármacos un 50% , mientras que el 19% fue considerado pan - resistente debido a la resistencia simultanea a todos los antibióticos empleados. Comparando con los datos que obtuvimos en nuestro estudio tenemos porcentajes de resistencia de amikacina (47%), gentamicina (46%) ,trimetoprim / sulfametoxazol (50%) , cefepime (71%), ceftazidima (73%) . No coincidiendo con el estudio realizado por Chavez M. (2015) , debido probablemente a que el total de aislamientos obtenidos por la investigadora en el hospital colombiano provenían de la unidad de cuidados intensivos (UCI).

La resistencia a ciprofloxacino representó un 81% , ampicilina/ sulbactam (27%) y meropenem (58%) . La multirresistencia se manifestó en un 53% coincidiendo con los datos de la investigadora colombiana y solo un 5% fue panresistente , cifra que dista del 19% descrito por la investigadora en la comparativa de cifras.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS), en su informe anual de la red de monitoreo / vigilancia de la resistencia a antibióticos reportada en el 2014 , indico sobre el porcentaje de resistencia antimicrobiana de *Acinetobacter baumannii* en el Perú , señalando tasas de resistencia de meropenem (84%), imipenem (78%) , gentamicina (62%) , ciprofloxacino (87%) , trimetoprim/sulfametoxazol (89%) , amikacina (57%) , Cefepima (78%) , ceftazidima (88%) , ampicilina/sulbactam (42%). En base a estos datos cabe resaltar

la cercanía de resultado en cuanto a tasas de resistencia referentes a ciprofloxacino (81%) y Cefepime (71%) con nuestro estudio. Teniendo en cuenta esta información podemos añadir también que Xie et al. (2018), coincide con los datos otorgados por la OPS y advierte en base a estudio de 11 años (2006 – 2017) realizado, el porcentaje de resistencia a imipenem aumentó de 23% a 74% a nivel mundial.

Dentro de lo que concierne a aislamientos según procedencia clínica, el estudio de Prado A. *et al.* (2014), realizado en un hospital en Colombia, informó 28 aislamientos positivos de *Acinetobacter baumannii*, en el cual menciona que el tipo de aislamiento más frecuente fue de secreciones (53%), hemocultivo (17%), orina (14%), heridas (3%), líquido peritoneal (3%) y otros (3%). Al comparar los resultados, encontramos coincidencias significativas en aislamientos provenientes de secreciones (53%), hemocultivos (17%), orina (18%), herida (5%), líquido peritoneal (5%) y otros cultivos variados (2%).

En el 2015, Pasteran *et al.*, propusieron una mejora al test de Hodge modificado con la adición de “Triton X-100” a la placa de agar Mueller Hinton como paso previo a la realización de un test de Hodge modificado (MTH) convencional, con esto demostró actividad carbapenemasa en el 100% de aislamientos de *Acinetobacter spp*, caracterizados previamente por técnicas moleculares como portadores de genes carbapenemasas; aun cuando el MTH generó resultados falsos negativos. Nuestro estudio coincidió usando el novedoso método en mención en un 100% para la detección fenotípica de carbapenemasas en aislamientos de *Acinetobacter spp* con susceptibilidad disminuida a carbapenémicos.

5.2 CONCLUSIONES

1. La frecuencia de actividad carbapenemasa evaluada de 60 aislamientos clínicos de *Acinetobacter spp.* obtenidos de Octubre a Diciembre del 2016 en un hospital de Lima fue de un 58% (35/60).
2. El perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los 60 aislamientos clínicos en estudio, describió un mayor porcentaje de resistencia ante ciprofloxacino (81%), así como también en antimicrobianos pertenecientes a la familia de las cefalosporinas como ceftazidima (73%), ceftriaxone (73%), cefepime (71%) , cefotaxima (72%). En el caso de los aminoglicosidos , amikacina manifestó un 47% de resistencia mientras que gentamicina un 46%. Ampicilina/sulbactam fue el único en presentar un mayor porcentaje de sensibilidad (48%).
3. Los métodos fenotípicos utilizados: Test de Hodge modificado triton (THT) y método de inactivación de la carbapenemasa – triton (tCIM) , demostraron, en su totalidad 35/35 (100%) actividad de enzimas carbapenemasas.
4. Los aislamientos que provinieron de muestras biológicas de vías respiratorias bajas representaron un 58% , que fueron la mayoría , seguido de urocultivos (18%) , hemocultivos (17%) , liquido peritoneal (5%), cultivo de heridas (5%).

5.3 RECOMENDACIONES

1. La susceptibilidad antimicrobiana frente a *Acinetobacter baumannii* y la detección eficaz de actividad carbapenemasa, urge de un manejo y vigilancia a nivel mundial debido a la capacidad de los genes de resistencia en diseminarse fácilmente entre el ambiente hospitalario, esta labor debe estar consignada como primordial en cada establecimiento de salud.
2. Si bien el estándar para la detección de enzimas carbapenemasas es mediante métodos moleculares, los métodos fenotípicos descritos en esta investigación han demostrado efectividad para este fin, por lo cual es necesaria su implementación en los controles epidemiológicos de cada nosocomio. Así como a adquisición de “Triton X-100” para el uso rutinario en la detección de actividad carbapenemasa.
3. Capacitar al personal hospitalario con instrucción en el control de infecciones tales como una adecuada limpieza del ambiente, correcta esterilización de equipos que se pueden reutilizar y promoviendo el lavado de manos cada vez que se culmina la labor asistencial en un paciente para empezar con otro. De igual manera capacitar al personal de laboratorio en el uso de pruebas accesibles para la determinación de mecanismos de resistencia.

4. La implementación de protocolos para el control de infecciones y manejo de infecciones debe ser dirigido especialmente a pacientes que son provistos de ventilación mecánica, pacientes sometidos a algún procedimiento invasivo y a quienes tengan una estancia larga en servicios de cuidados intensivos.

5. Se sugiere realizar estudios moleculares para la identificación exacta de especies de *Acinetobacter*, de igual manera realizar estudios epidemiológicos de genes que otorgan resistencia a carbapenems diseminados entre cepas de *Acinetobacter spp.*

CAPITULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.1 REFERENCIAS

- Anwar, M., Ejaz, H., Zafar, A., & Hamid, H. (2016). Phenotypic detection of metallo-beta-lactamases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatric patients in Pakistan. *Journal of pathogens*, 2016.
- Anh N., Nga T., Tuan H. , Tuan N., Chau N., Baker S. & Duong H.(2017). Molecular epidemiology and antimicrobial resistance phenotypes of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in three hospitals in southern Vietnam. *Journal of medical microbiology*, 66(1), 46-53.
- Almasaudi S.(2018). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi journal of biological sciences*, 25(3), 586-596.
- Aguilar Gamboa, F. R., Aguilar Martinez, S. L., Cubas Alarcón, D. M., Coaguila Cusicanqui, L. Á., Fernández Valverde, D. A., Cecilio, M., ... & Segundo, R. (2016). Portadores de bacterias multirresistentes de importancia clínica en áreas críticas (UCI-UCIN) de un hospital al norte del Perú. *Horizonte Médico*, 16(3), 50-57.
- Rodriguez Buenahora, R. D., Bustillo Zarate, D. E., Caicedo Sanchez, D. C., Cadena Sarmiento, D. C., & Castellanos Gomez, C. (2016). *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. *Medicas UIS*, 29(2), 113-135.

- Birgy, A., Bidet, P., Genel, N., Doit, C., Decré, D., Arlet, G., & Bingen, E. (2012). Phenotypic screening of carbapenemases and associated beta-lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Journal of clinical microbiology*, JCM-06131.
- Bergogne-Berezin, E., & Towner, K. J. (1996). Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clinical microbiology reviews*, 9(2), 148.
- Becerra G., Plascencia A., Luévanos A., Domínguez M., & Hernández I. (2009). Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 29(2), 70-76.
- Bush K., & Jacoby G. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 969-976.
- Bonomo R., & Szabo, D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in Acinetobacter species and Pseudomonas aeruginosa. *Clinical infectious diseases*, 43(Supplement_2), S49-S56.
- Barletta R., Pérez L., Castro G., Pujol M., Barletta J., & Dueñas Y. (2018). Acinetobacter baumannii multirresistente: un reto para la terapéutica actual. *MediSur*, 16(2), 322-334.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). Performance Standards for Antimicrobial Testing: Twenty-Sixth Informational Supplement M100-S26.

- Ciello G., & Araújo M. (2016). Perfil epidemiológico do *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenems num hospital do interior mineiro. *Revista Família, Ciclos de Vida e Saúde no Contexto Social*, 4(3), 201-207.
- Cisneros J., & Rodríguez-Baño J. (2002). Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clinical Microbiology and Infection*, 8(11), 687-693.
- Calvo J., Cantón R., Fernández F., Mirelis B., & Navarro F. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38.
- Chincha O., Cornelio E., Valverde V., & Acevedo M. (2013). Infecciones intrahospitalarias asociadas a dispositivos invasivos en unidades de cuidados intensivos de un hospital nacional de Lima, Perú. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 30, 616-620.
- Chávez M., Gómez R., Cabrera C., & Esparza M. (2015, January). Patrones de resistencia a antibióticos de *Acinetobacter baumannii* en un hospital de Colombia. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 76, No. 1, pp. 21-26). UNMSM. Facultad de Medicina.
- Coaguila L., Rodríguez J., Ponce R., & Campos N. (2014). Infección intrahospitalaria por bacterias Gram negativas no fermentadoras en los pacientes hospitalizados en los Servicios de UCI-UCIN del Hospital Regional Lambayeque 2014 enero. *Rev Exp Med*, 1(2), 55-9.

- Catalán M., & Aguado J.(2010). Acinetobacter baumannii multirresistente:" un reto universal". *Medicina clínica*, 135(9), 406-407.
- Del Valle D. & Rojas M. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(2), 78-83.
- Díaz, J. (2008). Detección de metalobetalactamasas (MBLs) en Pseudomonas aeruginosa resistentes a los carbapenemas en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008. *Recuperado de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/243/Diaz_tj.pdf*.
- Dahdouh E., Hajjar M., Suarez M., & Daoud Z. (2016). Acinetobacter baumannii isolated from Lebanese patients: phenotypes and genotypes of resistance, clonality, and determinants of pathogenicity. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6, 163.
- Doughari H. , Ndakidemi P. , Human I. , & Benade S. (2011). The ecology, biology and pathogenesis of Acinetobacter spp.: an overview. *Microbes and environments*, 26(2), 101-112.
- Evans B., Hamouda A., & Amyes S. (2013). The rise of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii. *Current pharmaceutical design*, 19(2), 223-238.
- Fariñas M., & Martínez-Martínez L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(6), 402-409.

- González-Rocha G., Opazo A., Domínguez M., Bello H. Amyes S (2011). OXA-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in South America. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 6(04), 311-316.
- Ghasemian R., Ahanjan M., Fatehi E., & Shokri M. (2016). Prevalence and antibiotic resistance pattern of *Acinetobacter* isolated from patients admitted in ICUs in Mazandaran, Northern Iran. *Global journal of health science*, 8(11), 112.
- García Castellanos T., Castillo Marshal A., & Salazar Rodríguez D. (2014). Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. *Revista Cubana de Salud Pública*, 40(1), 129-135.
- Gallego L., Canduela M., Sevillano E., Pujana I., Calvo F., Umaran A., & Martínc G. (2004). Detección de carbapenemasas en clones de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 22(5), 262-266.
- Gerner-Smidt, P., Tjernberg, I., & Ursing, J. (1991). Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *Journal of clinical microbiology*, 29(2), 277-282.
- Gastelo-Acosta, R. M., Díaz-Sipi3n, R. S., & Maguiña Vargas, C. (2016). Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014-julio 2015. *Acta Médica Peruana*, 33(3), 183-188.

- Hinrichsen S. , Falcao E. , Aguiar T. , Conceição L. , dos Santos B. , Da Silva P. (2014). Occurrence of Acinetobacter in two private tertiary hospitals in Northeastern Brazil. *Revista Panamericana de Infectología*, 16(3), 174-179.
- Jones, M. (1999). Surfactants in membrane solubilisation. *International journal of pharmaceuticals*, 177(2), 137-159.
- Karbasizade V., Heidari L., & Jafari R. (2015). Detection of OXA-Type Carbapenemase Genes in Acinetobacter baumannii Isolates from Nosocomial Infections in Isfahan Hospitals, Iran. *Journal of Medical Bacteriology*, 4(5, 6), 31-36.
- Kim B., Peleg A., Lodise T., Lipman J., Li J., Nation R., & Paterson D. (2009). Management of meningitis due to antibiotic-resistant Acinetobacter species. *The Lancet infectious diseases*, 9(4), 245-255.
- Kishii K., Kikuchi K., Yoshida A., Okuzumi K., Uetera Y., Yasuhara H., & Moriya K. (2014). Antimicrobial susceptibility profile of Acinetobacter species isolated from blood cultures in two Japanese university hospitals. *Microbiology and immunology*, 58(2), 142-146.
- Lee K., Chong Y., Shin H., Kim Y., Yong D., & Yum J.(2001). Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of Pseudomonas and Acinetobacter species. *Clinical microbiology and infection*, 7(2), 88-91.
- Lee C. , Lee J. , Park M., Park K. , Bae I. , Kim Y. , ... & Lee S. (2017). Biology of Acinetobacter baumannii: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 55.

- Liu M., Song Q., Wu L., Li M., Chen Z., Kang M., & Xie Y. (2018). Triton X-100 and increased volume of test bacteria in CIM enhanced the detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* complex. *Journal of Clinical Microbiology*, JCM-01982.
- Lyu Y., Gao L., & Li Y. (2017). Trends in drug resistance of *Acinetobacter baumannii* over a 10-year period: nationwide data from the China surveillance of antimicrobial resistance program. *Chinese medical journal*, 130(6), 659.
- Lemos E., De la Hoz Restrepo F., Alvis N., Quevedo E., Cañon O., & León Y. (2011). Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30, 287-294.
- López-Pueyo M., Barcenilla-Gaite F., Amaya-Villar R., & Garnacho-Montero J. (2011). Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Medicina Intensiva*, 35(1), 41-53.
- Maraki S., Mantadakis E., Mavromanolaki V. , Kofteridis D. , & Samonis G. (2016). A 5-year surveillance study on antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from a tertiary Greek hospital. *Infection & chemotherapy*, 48(3), 190-198.
- Morejon M. (2013). Betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Medicina*. 2013;52(4): 272-280.
- Mohanty S., Maurya V., Gaiind R., & Deb M. (2013). Phenotypic characterization and colistin susceptibilities of carbapenem-resistant of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 7(11), 880-887.

- McMullen A., Yarbrough M. , Wallace M., Shupe A., & Burnham C. (2017). Evaluation of genotypic and phenotypic methods to detect carbapenemase production in Gram-negative bacilli. *Clinical chemistry*, clinchem-2016.
- Maguiña Vargas, Ciro. (2016). Infecciones nosocomiales. *Acta Médica Peruana*, 33(3),175-177.
- Mandel, G., Bennett, J., & Dolin, R. (2012). Enfermedades infecciosas principios y práctica. *Editorial Panamericana*.
- Martinez A. (2017). Resistencia a antibióticos en *Acinetobacter baumannii*: mecanismos de resistencia y opciones de tratamiento (Trabajo de fin de grado). Universidad Complutense – Facultad de Farmacia. Madrid (España).
- Moosavian M., Shams N., & Sirous M. (2014). Detection of Carbapenemases Emerging in *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates by Modified Hodge Test. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 2(4), 163-166.
- Nowak P., & Paluchowska P. (2016). *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance—role of carbapenemases. *Folia histochemica et cytobiologica*, 54(2), 61-74.
- Nicola F. , Nievas J., & Smayevsky J. (2012). Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas KPC en *Klebsiella pneumoniae*. *Revista argentina de microbiología*, 44(4), 290-302.
- Olaitan A., Morand S., & Rolain J. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in microbiology*, 5, 643.

- Potron A., Poirel L., & Nordmann P. (2015). Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *International journal of antimicrobial agents*, 45(6), 568-585.
- Pasteran F., Gonzalez L. J., Albornoz E., Bahr G., Vila A. , & Corso A. (2016). Triton Hodge test: improved protocol for modified Hodge test for enhanced detection of NDM and other carbapenemase producers. *Journal of clinical microbiology*, 54(3), 640-649.
- Poirel L., & Nordmann P. (2006). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(9), 826-836.
- Pena Viña I. (2016). *Enterobacterias productoras de carbapenemasas: tipos, epidemiología molecular y alternativas terapéuticas* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Prado A., Arias N. L., Chávez M., Cabrera C. E., & Gómez R. F. (2014). Caracterización fenotípica de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* en una institución de salud de alta complejidad de Cali. *Biomédica*, 34(1).
- Rocha C., Reynolds N. , & Simons M. (2015). Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32, 139-145.
- Rumbo C., Fernández-Moreira E., Merino M., Poza M., Mendez J. , Soares N., ... & Bou G. (2011). Horizontal transfer of the OXA-24 carbapenemase gene via outer membrane vesicles: a new mechanism of dissemination of the carbapenem resistance genes in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, AAC-00929.

- Rodríguez-Noriega E., León-Garnica G., Petersen-Morfín S., Pérez-Gómez H., González-Díaz E., & Morfín-Otero R. (2014). La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*, 34(1).
- Rodríguez C. H., Nastro M., Dabos L., Vay C., & Famiglietti A. (2014). Frecuencia de aislamiento y resistencia a los antimicrobianos de *Acinetobacter* spp. recuperadas de pacientes atendidos en un hospital universitario de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. *Revista argentina de microbiología*, 46(4), 320-324.
- Rodríguez R., Bustillo D., Caicedo D., Cadena D., & Castellanos C. (2016). *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. *Medicas UIS*, 29(2), 113-135.
- Rossi F., & Andreazzi D. (2005). Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. In *Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma*. Editora Atheneu.
- Schnaitman C. (1971). Solubilization of the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli* by Triton X-100. *Journal of bacteriology*, 108(1), 545-552.
- Suárez C., & Gudiol F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(2), 116-129.
- Sato Y., Unno Y., Kawakami S., Ubagai T., & Ono Y. (2017). Virulence characteristics of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates vary with the expression levels of omps. *Journal of medical microbiology*, 66(2), 203-212.
- Suárez C., Kattán J., Guzmán A., & Villegas M. (2011). Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infectio*, 10(2).

- Salehi M., Ferdosi-Shahandashti E., Yahyapour Y., Khafri S., Pournajaf A., & Rajabnia R. (2017). Integron-Mediated Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Intensive Care Unit Patients, Babol, North of Iran. *BioMed research international*, 2017.
- Sun K., Xu X., Yan J., & Zhang L. (2017). Evaluation of six phenotypic methods for the detection of carbapenemases in Gram-negative bacteria with characterized resistance mechanisms. *Annals of laboratory medicine*, 37(4), 305-312.
- Turton J., Ward M., Woodford N., Kaufmann M., Pike R., Livermore D., & Pitt T. (2006). The role of IS Aba1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS microbiology letters*, 258(1), 72-77.
- Vila J., & Marco F. (2002). Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 20(6), 304-312.
- Vanegas J., Villamil G., & Quiceno J. (2014). *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *CES Medicina*, 28(2), 233-246.
- Xie R., Zhang X., Zhao Q., Peng B., & Zheng J. (2018). Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries. *Emerging microbes & infections*, 7(1), 31.
- Yagui M., Castilla T., & Llanos-Zavalaga F. (2001). Análisis de situación de las infecciones intrahospitalarias en Perú 1999-2000. *Lima: Oficina General de Epidemiología, Ministerio de Salud*.

Zarrilli R., Giannouli M., Tomasone F., Triassi M., & Tsakris A. (2009). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 3(05), 335-341.

Zwaluw K., de Haan A., Pluister G. N., Bootsma H., de Neeling A. J., & Schouls L. (2015). The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One*, 10(3), e0123690.

ANEXOS

ANEXO 1

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS 1

DATOS GENERALES:

CÓDIGO DE AISLAMIENTO:

CÓDIGO ASIGNADO:

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA:

NEGATIVO

POSITIVO

TEST DE HODGE MODIFICADO TRITON:

MÉTODO DE mCIM TRITON:

ANEXO 2

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS 2

DATOS GENERALES:

- CÓDIGO DE AISLAMIENTO:
- CÓDIGO ASIGNADO:
- PROCEDENCIA DE LA MUESTRA :
- SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBINA DE LAS CEPA EN ESTUDIO:

ANTIBIÓTICOS		DIAMETRO DEL HALO (mm)	S	I	R
IMIPENEM	IPM				
MEROPENEM	MEM				
TRIMETHOPRIM /SULFAMETHOXAZOLE	SXT				
CEFEPIME	FEP				
GENTAMICINA	CN				
CEFTAZIDIMA	CAZ				
AMIKACINA	AK				
AMOXICILINA /AC. CLAVULANICO *	AMC				
AZTREONAM *	ATM				
PIPERACILINA + TAZOBACTAM	PTZ				
CIPROFLOXACINO	CIP				
CEFTRIAXONE	CRO				
AMPICILINA / SULBACTAM	SAM				
CEFOTAXIMA	CTX				
CEFOXITIN *	FOX				

ANEXO 3

ENSAYOS FENOTÍPICOS

TEST mCIM -TRITON



CIM Positivo

Control negativo

TEST Hodge modificado - TRITON

Test de Hodge triton positivo

Control negativo

