



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Detección de genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like y blaOXA58-like en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, junio – septiembre 2019

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTORES

Sheylla Gabriela DONAYRE VILLANUEVA

Katerin Milagros JULCA ALCANTARA

ASESORES

Dra. María Elena SALAZAR SALVATIERRA

QF. Liz Inés ALIAGA TABRAJ (Coasesora)

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Donayre S, Julca K. Detección de genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like y blaOXA58-like en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, junio – septiembre 2019 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2021.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Sheylla Gabriela Donayre Villanueva
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70363441
URL de ORCID	-
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Katerin Milagros Julca Alcántara
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	48468340
URL de ORCID	-
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Maria Elena Salazar Salvatierra
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08675623
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5661-4752
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Liz Ines Aliaga Tabraj
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	20101083
URL de ORCID	-
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Juan Manuel Parreño Tipián
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10326579

Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Gabriela Norma Solano Canchaya
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41679636
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Carlos Arturo Castañeda Altamirano
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09873222
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Nelson Bautista Cruz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10260086
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.6.4. Epidemiología molecular de la resistencia bacteriana
Grupo de investigación	Biofilms Bacterianos en el Perú - BIOBACT
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Microbiología País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2019 - 2021
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01

INFORMACIÓN GENERAL	
Título de la tesis	"Detección de genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like y blaOXA- 58-like en cepas de <i>Acinetobacter baumannii</i> resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, junio – septiembre 2019"
Área de investigación (*)	Microbiología
Líneas de Investigación (*)	Identificación y caracterización molecular de microorganismos
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Jesus María, Lima – Perú Laboratorio de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Lima - Perú
Institución que financia si corresponde	Ninguna
Año o rango de años que abarcó	2019 – 2020
DATOS DEL TESISISTA I	
Apellidos y Nombres	Donayre Villanueva Sheylla Gabriela
Número de matrícula	11040010
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	Egresado
Código ORCID (opcional)	-
DATOS DEL TESISISTA II	
Apellidos y Nombres	Julca Alcantara Katerin Milagros
Número de matrícula	13040061
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	Egresado
Código ORCID (opcional)	-
DATOS DEL ASESOR I	
Nombres y Apellidos	Maria Elena Salazar Salvatierra
Código docente: 0A0045 Categoría: Principal Clase: T.C. 40h	
Máximo grado alcanzado	Doctora en Farmacia y bioquímica
URL ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5661-4752
Título profesional	Químico Farmacéutico
Departamento Académico al que pertenece	Microbiología y parasitología básica y aplicada
Instituto de Investigación	Instituto de Investigación en Química Aplicada, Microbiología y Biotecnología "Marco A. Garrido Malo"

Grupo de investigación	Biofilms Bacterianos en el Perú - BIOBACT
DATOS DEL ASESOR II	
Nombres y Apellidos	Liz Ines Aliaga Tabraj
Código docente: No aplica	Categoría: No aplica
	Clase: No aplica
Máximo grado alcanzado	Especialista en Farmacia Clínica
Título profesional	Químico Farmacéutico

DEDICATORIA

A la vida, por darme la oportunidad de aprender, disfrutar y sentir, enseñándome que cada día es diferente y el cambio es lo único permanente.

A mis padres, Julio e Isabel, por su infinito amor. Agradecerles por todas las oportunidades que me brindaron, su total confianza y su apoyo incondicional en cada paso que daba. Este logro siempre será de ustedes.

A mis hermanas, por acompañarme en cada etapa de mi vida y apoyarme para seguir avanzando.

A mi familia, “Los Donayre” y “Los Villanueva”, son los mejores. Papá Clérigos y Máximo, por darme la motivación de llegar cada vez más lejos. En su memoria, este logro también es para ustedes, gracias.

Sheylla Gabriela, Donayre Villanueva

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mis padres, Benito y Bethsabe, por siempre brindarme ese apoyo incondicional y las fuerzas para seguir; así mismo a mi hermano Edward por siempre estar ahí para mí, a mi Mami Panchi por darme su cariño incondicional y el empujón que me faltaba, este logro se los dedico a ustedes por ser el motor y motivo para seguir creciendo profesionalmente.

Katerin Milagros, Julca Alcantara

AGRADECIMIENTOS

A nuestra familia, por ser nuestro pilar y motivo en completar cada etapa de nuestra vida profesional.

A nuestra querida asesora, Dra. María elena Salazar, por brindarnos la oportunidad de concluir este trabajo bajo su supervisión, compartiéndonos sus conocimientos, experiencia profesional y sobretodo amistad. Por ser tan comprensiva y seguir motivándonos para llegar a la meta final.

A nuestra estimada Coasesora QF. Liz Aliaga por sus consejos brindados y apoyo al abrirnos las puertas de la institución de estudio.

A nuestra prestigiosa Decana de América “Universidad Nacional Mayor de San Marcos” y todos los maestros que os brindaron educación con la mas alta calidad.

A nuestros amigos y a todos los que nos apoyaron y alentaron en seguir adelante

Muy agradecidas por todo y un cordial saludo.

**Sheylla Gabriela, Donayre Villanueva
Katerin Milagros, Julca Alcántara**

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	3
II.1 Antecedentes del estudio	3
II.1.1 Antecedentes internacionales	3
II.1.2 Antecedentes nacionales	4
II.3 Bases teóricas.....	5
II.3.1 Moraxellaceae	5
II.3.1.1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	5
II.3.1.1.1 Taxonomía	5
II.3.1.1.2 Características microbiológicas.....	6
II.3.1.1.3 Hábitat.....	7
II.3.1.1.4 Infecciones por <i>Acinetobacter baumannii</i>	8
II.3.1.1.5 Factores de virulencia	10
II.3.1.1.5.1 Mecanismos de resistencia	15
II.3.1.1.5.1.1 Betalactamasas.....	15
II.3.1.1.5.1.2 Bomba de eflujo	17
II.3.1.1.5.1.3 Defectos de la permeabilidad	18
II.3.1.1.5.1.4 Alteración de la proteína de unión a penicilina (PBP)	18
II.3.1.1.5.1.5 Elementos genéticos móviles en <i>A. baumannii</i> involucrados con la resistencia a carbapenémicos.....	18
Elementos transponibles	18
Elementos de inserción (IS)	18
Transposones	19
Integrones	19
II.1 Hipótesis	21

III.2 Variables	21
III.2.1 Variable dependiente	21
III.2.2 Variable independiente.....	21
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
IV.2 Diseño de investigación	22
IV.3 Población y muestra	22
IV.3.1 Material biológico.....	22
IV.3.2 Cepa control	22
IV.4 Método.....	22
IV.4.1 Obtención y conservación de cepas clínicas	22
IV.4.2 Reactivación de las cepas	23
IV.4.3 Caracterización bioquímica.....	23
IV.4.4 Evaluación Fenotípica de carbapenemasas	23
IV.4.5.2 Detección de Carbapenemasas D (Tipo OXA)	26
V. RESULTADOS	28
V.1 Evaluación fenotípica de carbapenemasas	28
V.2 Evaluación Genotípica de carbapenemasas.....	29
VI. DISCUSIONES	32
VII. CONCLUSIONES	36
VIII. RECOMENDACIONES.....	36
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
X ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de <i>Acinetobacter</i> que pertenece a la familia <i>Moraxellaceae</i>	6
Tabla 2. Propiedades Bioquímicas del <i>Acinetobacter baumannii</i>	7
Tabla 3 Microorganismos ESKAPE	8
Tabla 4 Implicancia de los factores fisicoquímicos en la formación de biopelículas en <i>Acinetobacter baumannii</i>	12
Tabla 5. Tipos de sistema de secreción	14
Tabla 6. Cebadores empleados en la detección de genes blaOXA.....	26
Tabla 7. Reactivos y volúmenes finales utilizadas para una reacción de PCR (Mix PCR).	26
Tabla 8. Etapas de la PCR y condiciones de amplificación para los genes blaOXA.....	27
Tabla 9. Evaluación fenotípica.....	28
Tabla 10. Fenotipo y genotipo de las cepas de <i>Acinetobacter baumannii</i> según procedencia.....	31
Tabla 11. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de <i>Acinetobacter baumannii</i> de pacientes clínicos procedentes del HNERM	49
Tabla 12. Características clínico-epidemiológicas de las cepas clínicas de <i>A. baumannii</i> procedentes del HNERM	51
Tabla 13. Matriz de operacionalización de variables	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. (A) Crecimiento de <i>A. baumannii</i> (B) Tinción gram.	6
Figura 2. Estructura del lipopolisacárido.	11
Figura 3. Representación de los sistemas de secreción.	15
Figura 4. Clasificación de Ambler	16
Figura 5. Función de la bomba de eflujo adeABC en la pared celular de <i>A. baumannii</i>	17
Figura 6. Extracción de ADN por GF-1 Bacterial DNA Extraction Kit - Vivantis....	25
Figura 7. Método de Inactivación de Carbapenemasa (MIC) Control positivo y control negativo.....	28
Figura 8. M6, M7, M8 y M9 Cepas productoras de carbapenemasas	29
Figura 9. Distribución porcentual de los genes bla _{OXA-23-like} , del bla _{OXA-24-like} y bla _{OXA-58-like} en <i>A. baumannii</i>	29
Figura 10. Electroforesis de PCR múltiple: Gen bla _{OXA} de 246bp y 599bp.	30
Figura 11. Electroforesis de PCR múltiple: Gen bla _{OXA} de 246bp.....	30

ABREVIATURAS

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

OMS: Organización mundial de la salud

OXA: Oxacilinas

SENTRY: Programa de vigilancia antimicrobiana

MBL: Metabelactamasa

MDR: Multidrogoresistente

UCI: Unidad de cuidados intensivos

HMC: Hamad Medical Corporation

CRAB: Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*

ReLAVRA: Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos

LRTI: Infecciones al tracto respiratorio superior

ADN: Ácido desoxirribonucleico

IDSA: Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas

ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp.*

ITU: Infecciones del tracto urinario

LPS: Lipopolisacárido

OMVs: Vesículas de membrana externa

Fe: Hierro

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

Zn: Zinc

ESBLs: Extended spectrum β - lactamases

ESAC: Extended – spectrum Ampc

CHDLs: Carbapenem-hydrolyzing class D β - lactamases

RND: Superfamilia resistencia- nodulación-división

MATE: Extrusión de compuestos tóxicos de múltiples fármacos

MFS: Superfamilia de facilitadores principales

SMR: Pequeños transportadores de resistencia a múltiples fármacos

PBP: Proteína de unión a penicilina

EGM: Elementos genéticos-móviles

IS: Elementos de inserción

CVC: Catéter venoso central

TSB: Caldo Tripticasa Soya

ATTC: American Type Culture Collection

MIC: Método de inactivación de los carbapenémicos

MEM: Meropenem

Pb: Pares de bases

TBE: Tris- Ácido bórico-EDTA

RESUMEN

En el presente estudio se efectuó la detección de la presencia de genes carbapenemasas clase D (*bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} y *bla*_{OXA-23-like}) en 20 aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos proporcionados por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins durante el periodo junio – septiembre 2019, las cuales fueron recepcionadas en los medios de cultivos sólidos: agar Mueller Hinton y agar MacConkey. Se logró determinar la presencia de carbapenemasas fenotípicamente usando el método de inactivación de los carbapenémicos (MIC) y la determinación genotípica se realizó por medio de la técnica de PCR multiplex donde se amplificaron los genes Oxacilinasas para las familias *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} y *bla*_{OXA-23-like}, haciendo uso de sus respectivos cebadores. De acuerdo al análisis fenotípico se mostró que 100% (20/20) de las cepas poseían carbapenemasas clase D, asimismo el análisis genotípico evidenció que 80% de las cepas presentaban solo *bla*_{OXA-24-like}, 20% solo *bla*_{OXA-58-like} y no se detectó la presencia de *bla*_{OXA-23-like}. Con base en los resultados se obtiene que los aislados de *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos en el periodo junio – septiembre 2019 procedentes del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins no son portadoras de los genes *bla*_{OXA-23-like}, pero poseen los genes *bla*_{OXA-58-like} y *bla*_{OXA-24-like}, siendo este último el de mayor frecuencia.

Palabras claves: Carbapenemasas, *Acinetobacter baumannii*, *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like}, *bla*_{OXA-23-like}.

SUMMARY

In the current study, the presence of class D carbapenemase genes (*bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} and *bla*_{OXA-23-like}) was detected in 20 clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* provided by the Microbiology Laboratory from the Edgardo Rebagliati Martins National Hospital during the period June – September 2019, which were received in solid growth medium such as Mueller Hinton agar and MacConkey agar. The presence of carbapenemases was phenotypically determined using the carbapenem inactivation method (CIM) and the genotypic determination was performed by the multiplex PCR technique where the oxacillinase coding genes for the *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} and *bla*_{OXA-23-like} families were amplified, making use of their respective primers. According to the phenotypic analysis, it was shown that 100% (20/20) of the strains had class D carbapenemases, likewise the genotypic analysis showed that 80% of the strains presented *bla*_{OXA-24-like} and 20% *bla*_{OXA-58-like} and the presence of *bla*_{OXA-23-like} coding genes was not detected. Based on the results, it is obtained that the clinical isolates of *A. baumannii* resistant to carbapenems in the period June - September 2019 from the Edgardo Rebagliati Martins National Hospital do not carry the *bla*_{OXA-23-like} genes, but have the *bla*_{OXA-58-like} genes and the *bla*_{OXA-24-like} genes, the latter one with the highest frequency.

Keywords: Carbapenemases, *Acinetobacter baumannii*, *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like}, *bla*_{OXA-23-like}.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 Planteamiento del problema

Durante las últimas décadas, el *Acinetobacter* ha generado interés por su notable capacidad para adquirir resistencia¹ y actualmente es considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un microorganismo de prioridad crítica debido a que representa una gran amenaza para la salud pública y ante esto se requiere con urgencia nuevos antibióticos². Otra particularidad de este patógeno es que ha obtenido múltiples formas de supervivencia que le facilita una rápida propagación hospitalaria, y lo que conlleva lastimosamente a altos índices de mortalidad³, estos factores ocasionaron que sea catalogado dentro de los microorganismos más peligrosos, nombrados “patógenos ESKAPE”⁴ (lista hecha público por IDSA) siglas que derivan de la primera letra del nombre científico, entre ellos se encuentran “*Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* especies”. Los antibacterianos de elección generalmente usados son los carbapenémicos; sin embargo se reporta una gran resistencia frente a este grupo de antibacterianos y esto conlleva a que las opciones terapéuticas se vuelvan bastante limitadas⁵ y además, la mayoría de los laboratorios clínicos en el país no tienen disponible ensayos moleculares como el PCR, para una mejor detección de estos genes OXA.

I.2 Objetivos

I.2.1 Objetivo general

- ✓ Detectar la presencia de genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-58-like en aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins proporcionadas durante el periodo de junio – septiembre 2019.

I.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Realizar la detección fenotípica de carbapenemasas en aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos.
- ✓ Realizar la detección genotípica de carbapenemasas en aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos.

I.3 Importancia y alcance de la investigación

Estas implicancias en la salud y la escasez de estudios en los hospitales a nivel nacional, generan la necesidad de realizar investigaciones como el presente estudio, con el fin de incrementar información que será de provecho en la práctica clínica; es decir, orientar y contribuir en la toma de decisiones al momento de elegir el antibiótico para el tratamiento del paciente así como también conocer la epidemiología de las enzimas carbapenemasas reportadas en Perú, ya que el manejo es específico de acuerdo al tipo de carbapenemasas⁶. Adicionalmente, conocer el comportamiento genético brindará a las autoridades institucionales formular medidas preventivas para evitar la diseminación y posibles brotes de esta bacteria.

I.4 Limitaciones de la investigación

Debe mencionarse que el estudio presentó varias limitaciones referidas al tamaño de muestra. Esto se debió a que el muestreo total fue durante 8 meses, desde marzo hasta diciembre 2019, y en enero se empezaron a realizar las pruebas fenotípicas y genotípicas. Lamentablemente, a raíz de la Pandemia mundial generada por Covid 19, nuestro país se mantuvo en Estado de Emergencia desde Marzo del 2020 hasta la actualidad; en consecuencia, sólo se pudieron completar las pruebas a 20 muestras, no pudiéndose con la evaluación de todas las muestras obtenidas.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

II.1 Antecedentes del estudio

II.1.1 Antecedentes internacionales

En los últimos años se ha incrementado la incidencia de bacterias gram negativas resistentes a múltiples fármacos⁷, Shamsizadeh Z. *et al* (2017) diseñaron un estudio para detectar los genes en *A. baumannii* asociados a la resistencia, se evidenció una resistencia superior con 92,5% (37/40) a la ceftazidima. Además, 80% (32/40) y 85% (34/40) de los aislados al igual presentaron resistencia a la gentamicina y al imipenem, respectivamente ⁸. El gen bla_{OXA-23-like} se encuentra más extendido que el gen bla_{OXA-24-like}, sin embargo con mayor frecuencia hay informes que reportan los genes bla_{OXA-24-like} en diferentes regiones del mundo⁶.

En 2016, se realizó una revisión de los informes publicados del 2002 al 2013 sobre el comportamiento genotípico de cepas de *A. baumannii* con resistencia a antibióticos carbapenémicos, concluyendo que la resistencia a carbapenémicos se debe principalmente a las oxacilinasas OXA-23, OXA-58 y (en Brasil) OXA-143⁹. En ese sentido, Swe K. *et. al.* (2017) publicaron un estudio sobre la presencia de los genes que codifican las OXA-23 y OXA-58 así como su asociación con la propagación de especies de *Acinetobacter* resistentes a múltiples fármacos (MDR) en UCIs en un centro académico hospitalario. En los resultados obtenidos se detectó al gen OXA-23 concluyendo que la resistencia a carbapenémicos fue asociada a la presencia de este gen ¹⁰, estos resultados concuerdan con Zafari M. *et al* (2017) donde demostró que el gen bla_{OXA-23} es un gen de resistencia dominante en un hospital durante 2015-2016 ¹¹.

Respecto a la epidemiología y prevalencia de carbapenemasas de *A. baumannii* en la región de América latina, Hernan R. *et. al.* (2017) reportaron altas tasas de resistencia del gen OXA 23 que está presente en casi todos los países de Latinoamérica y está frecuentemente asociado a los clones endémicos CC113 / CC79, CC104 / CC15, CC110 / ST25 y CC109 / CC1. Según la informes de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) se evidenció un aumento progresivo y considerable en los porcentajes de resistencia reportados durante el período 2000-2013 ⁵.

II.1.2 Antecedentes nacionales

El año 2018 se publicaron por primera vez en Perú casos de carbapenemasas tipo OXA, los cuales fueron reportados desde el Instituto de Enfermedades Neoplásicas y el Hospital Arzobispo Loayza ⁶. Gastelo R. *et. al.* (2016) examinaron 80 de muestras de secreciones y líquidos, de las cuales todas las cepas de *A. baumannii* (21 en total) presentaron oxacilinasas¹². Acorde a la información descrita por Castillo Y. *et. al.* (2019) determinaron que de las 112 muestras de *A. baumannii*, 44 portaban el gen bla_{OXA-23-like} y sólo un aislamiento portaba el gen bla_{OXA-24-like}. Cabe mencionar que todos los aislamientos OXA-23 fueron resistentes a β -lactámicos y a ciprofloxacina pero el único aislamiento OXA-24 fue resistente a carbapenémicos pero sensible a las cefalosporinas¹³. Asimismo, Otiniano C. *et. al.* (2021) llevaron a cabo un estudio en 40 cepas de *A. baumannii* con resistencia a carbapenémicos, donde se encontró la presencia de genes bla_{IMP}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-24} y bla_{OXA-23} con una prevalencia de 5 % (2/40), 100 % (40/40), 75,5 % (29/40) y 35 % (14/40), respectivamente. No se detectó genes bla_{VIM} y bla_{OXA-58}. Los autores concluyeron que los genes de mayor prevalencia fueron el bla_{OXA-24} (75,5 %) y bla_{OXA-51} (100 %), respecto a los genes bla_{IMP} (5 %) y bla_{OXA-23} (35 %)¹⁴.

Por el contrario, en 2019 Casas G. *et. al.* exhibieron en su estudio a los genes bla_{OXA-24-like} en 38/51 (74,5%) y bla_{OXA-58-like} en 5/51 (9,8%), 2 genes en 5/51 (9,8%) corresponden a bla_{OXA-58-like} y bla_{OXA-24-like}; mas no hallaron los genes bla_{OXA-23-like}¹⁵

II.3 Bases teóricas

II.3.1 Moraxellaceae

La familia *Moraxellaceae* son organismos que pertenecen al orden Pseudomonadales, la clase *Gammaproteobacteria* y el filo *Proteobacteria* y comprende a los géneros *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Psychrobacter*, *Enhydrobacter* y *Alkanindiges*¹⁶. Los integrantes que pertenecen a la familia *Moraxellaceae* se caracterizan por estar ampliamente repartidos en diversos ambientes y ser de importancia clínica, muchas especies nuevas, especialmente dentro de los géneros *Acinetobacter* y *Psychrobacter*, han sido aisladas y clasificadas recientemente, como por ejemplo *Acinetobacter portensis* sp. nov y *Acinetobacter guerrae* sp. nov ^{17,18}.

Este grupo heterogéneo de bacterias ha pasado por una historia compleja desde su primera descripción a principios del siglo XX ³ (como una bacteria involucrada en la infección ocular en forma de bastón ¹⁹). Mas tarde en 1968, Henriksen y Bøvre propusieron que el género *Moraxella* se clasificara en la familia *Neisseriaceae* debido a similitudes fenotípicas y morfológicas, sin embargo para 1989, el género *Moraxella* terminó siendo excluida de esta familia, eventualmente, en 1991, gracias a los estudios de hibridación ADN-ARNr, Rossau *et. al.* propusieron una nueva familia, la *Moraxellaceae* logrando acomodar al género *Moraxella* ¹⁶.

II.3.1.1 *Acinetobacter baumannii*

II.3.1.1.1 Taxonomía

En 1954, Brisou y Prevot por primera vez designaron al género *Acinetobacter*, intentando distinguir de la tribu "*Achromobactereae*", hasta que, en 1968, se publicó el estudio de Baumann y colaboradores donde concluían que los organismos descritos anteriormente correspondían a un único género, denominándolos *Acinetobacter*. Además, mencionaron que realizar una clasificación basándose únicamente en características fenotípicas no era factible ^{20,21}. Finalmente, gracias a dichos hallazgos, en 1971 se otorgó el reconocimiento oficial del género *Acinetobacter* por el "Subcomité de Taxonomía de *Moraxella* y bacterias relacionadas" ^{22,23}. (Ver tabla 1)

Tabla 1 Clasificación taxonómica de *Acinetobacter* que pertenece a la familia *Moraxellaceae*

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Pseudomonadales</i>
Familia	<i>Moraxellaceae</i>
Género	<i>Acinetobacter</i>
Especie	<i>Acinetobacter baumannii</i>

Adaptado de Asif *et. al*²⁴

II.3.1.1.2 Características microbiológicas

Los *Acinetobacter* pueden identificarse como cocobacilos gramnegativos ampliamente distribuidos en la naturaleza, se caracterizan por ser microorganismos aeróbicas, no fermentativas, inmóviles, catalasas positivas, indol y oxidasas negativas con colonias mucoides blanco grisáceas²⁵. Crece optimamente en medios de laboratorio habituales, como agar chocolate, agar sangre y agar MacConkey. En agar sangre forma las típicas colonias mucoides brillantes, incoloras, no hemolíticas, lisas en contextura con un diámetro de 1-2 mm después de 18-24 horas de incubación a 37 ° C. En agar MacConkey Produce colonias incoloras que son mucoides brillantes, lo que indica su gran capacidad de fermentación sin lactosa, la sensibilidad en este agar presenta el 91% de sensibilidad en comparación al agar sangre de oveja ²⁴. (Ver figura 1, tabla 2)

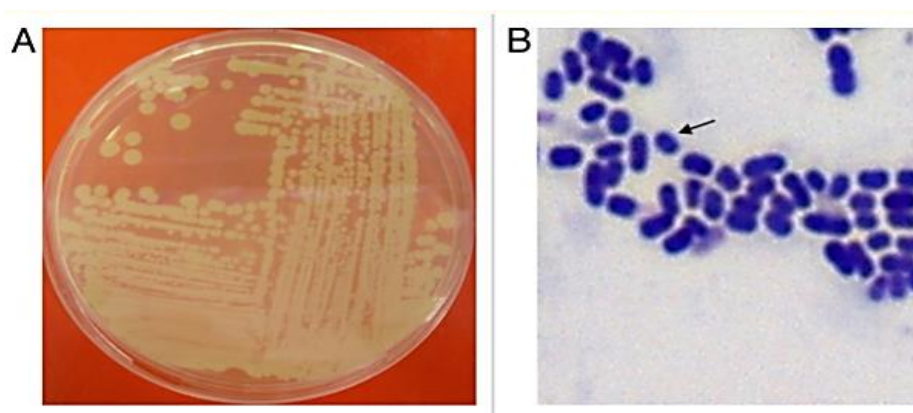


Figura 1. (A) Crecimiento de *A. baumannii* (B) Tinción gram.

Tomado de Howard *et. al.*²⁶

Las pruebas bioquímicas para la identificación de *A. baumannii*, se describen a continuación:

Tabla 2. Propiedades Bioquímicas del *Acinetobacter baumannii*

PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Morfología	Cocobacilo
Motilidad	No móvil
Fermentativo/ Oxidativo	O
Catalasa	+
Oxidasa	-
Crecimiento en:	
Agar Mac Conkey	+
Glucosa	+
Manitol	-
Lactosa	+
Maltosa	V
Agar triple azúcar – Hierro	-
Citrato de Simmons	+
Urea de Christensen	V
Reducción de nitratos	-

Palabras clave: O = oxidativo; + = reacción positiva; - = reacción negativa ; V= reacción variable

Adaptado de Constantiniu *et. al.* ²⁷

II.3.1.1.3 Hábitat

El género *Acinetobacter* es muy diverso, la mayoría de las especies son organismos ambientales no patógenos por ello se consideran típicamente saprofitos de vida libre, las especies que se han relacionado con patologías en el ser humano son: *Acinetobacter baumannii* seguido por *A. calcoaceticus* y *A. lwoffii* ²⁵. Generalmente, *Acinetobacter baumannii* habita en las membranas mucosas, faringe o las secreciones respiratorias, solo en ocasiones raras se encuentran como parte de la microflora normal de la piel²³. Además, puede sobrevivir en superficies seca durante períodos largos de tiempo, de este modo se aísla de equipos médicos reutilizables y de la piel del personal sanitario, colchones, almohadas y en todo tipo de equipos de ventilación^{23,26}.

II.3.1.1.4 Infecciones por *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii es un patógeno nosocomial reconocido como causante de numerosas infecciones nosocomiales graves, siendo el principal responsable de la neumonía, junto con las infecciones de quemaduras y otras herida ²⁸. Sin embargo, las infecciones más importantes, con las más altas tasas de mortalidad, son la neumonía asociada al ventilador y las infecciones del torrente sanguíneo. Éstas infecciones son más comunes en pacientes que padecen alguna enfermedad subyacente o que se hayan sometido a procedimientos quirúrgicos importantes ²³.

La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas o mejor conocida por sus siglas IDSA, en su listado de los patógenos más peligrosos denominados “ESKAPE” incorporó al *A. Baumannii*, por ser uno de los principales causantes de las infecciones hospitalarias a nivel global potencialmente mortales⁴. (Ver tabla 3)

Tabla 3 Microorganismos “ESKAPE”

<i>Enterococcus faecium</i> resistente a vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Enterobacter especies</i>

Adaptado Sirijan *et. al.* ⁴

Por otro lado, la OMS publicó a nivel mundial un documento donde declara a los patógenos de carácter prioritario resistentes a los antibióticos, mediante esta lista se da a conocer a las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana siendo consideradas las tres primeras (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*) debido a que son considerados de alta peligrosidad, causando infecciones que pueden llegar a ser mortales ².

Los factores de riesgo que predisponen a la colonización o infección son: cirugía mayor, traumatismo, ventilación mecánica, estadia hospitalaria larga, uso de dispositivos médicos invasivos como catéteres o tubos de drenaje, cirugías y una terapia antimicrobiana previa ^{54,55}.

A. Neumonía asociada a ventilador por *Acinetobacter*

Esta infección es una de las más comunes adquiridas en UCI siendo *A. Baumannii* uno de los patógenos más prevalentes y con mayor tasa de mortalidad. La incidencia varía en las distintas regiones geográficas, aunque en un inicio se pensó que estaba asociada con climas húmedos, en las últimas décadas, esta infección también se ha extendido rápidamente en climas templados³¹.

B. Bacteriemia (infección del torrente sanguíneo)

Este patógeno se aísla en un gran porcentaje de las bacteriemias hospitalarias, y siendo UCI, el lugar donde se reporta la mayoría de casos³².

En un estudio de vigilancia en México, esta bacteria fue considerada el segundo agente etiológico más aislado³³. Las fuentes de infección generalmente están relacionadas a las co-morbilidades: neumonía, infección del tracto urinario o infección de la herida y puede ingresar fácilmente al cuerpo a través de heridas abiertas, etc ³⁴.

C. Infecciones al tracto Urinario

A. baumannii no es un agente habitual de infecciones del tracto urinario (ITU); sin embargo, puede causar infección en pacientes con infecciones prolongadas relacionadas con el uso catéter permanente ²⁴.

D. Meningitis

La meningitis es una de las complicaciones más frecuentes en los pacientes neuroquirúrgicos y entre las bacterias gramnegativas *A. baumannii* actualmente es uno de los patógenos más comunes responsable de la meningitis nosocomial. La mortalidad oscila entre el 15% y el 70% y es particularmente alta en los países en desarrollo ³⁵.

E. Otras manifestaciones

Existen informes de algunos casos de endocarditis causados por *Acinetobacter*. La mayoría de los casos, se deben al uso de válvulas protésicas ^{36,37}. Algunos reportes mencionan queratitis y peritonitis pero son menos frecuentes^{38,39}.

II.3.1.1.5 Factores de virulencia

Si bien *Acinetobacter* spp. es hoy en día considerado un agente de baja patogenicidad, las siguientes características mencionadas le confieren un aumento en su virulencia ²⁴.

A. Proteínas de membrana externa (OmpA)

Es el más abundante de la membrana externa y el mejor estudiado. Las OmpA se unen con mayor facilidad a la célula epitelial y mitocondrias de la célula huésped generando edemas y disfunciones mitocondriales hasta llegar a la apoptosis que es una de las principales vías para que el patógeno pueda generar infección ²⁴. Adicionalmente, también contribuye a la persistencia y crecimiento del *A. baumannii* en el suero, debido a que tiene una mayor interacción con la vía alternativa del complemento específicamente con los llamados inhibidores solubles, esto permite evitar la muerte regulada por el complemento ¹.

B. Lipopolisacáridos (LPS)

El lipopolisacárido o endotoxina es uno de los principales componentes de la pared celular de las bacterias gram negativas. Presenta 3 regiones: lípido A (componente hidrofóbico), core (núcleo de oligosacáridos), antígeno O (región variable) (Ver figura 2). La capacidad toxica del LPS se basa en activar el sistema de complemento y estimular la liberación de las proteínas inflamatorias, también llamadas citoquinas, desencadenando de esta forma un proceso inflamatorio que genera un shock séptico en el huésped ²⁴. Los recientes estudios afirman que las mutaciones en los genes relacionados en la síntesis del lípido A como *lpxA*, *lpxC*, *lpxD*, generan resistencia a la colistina por la pérdida del LPS, gracias a esto *Acinetobacter* es el tercer patógeno gram negativo capaz de sobrevivir en ausencia del lípido A ⁴⁰.

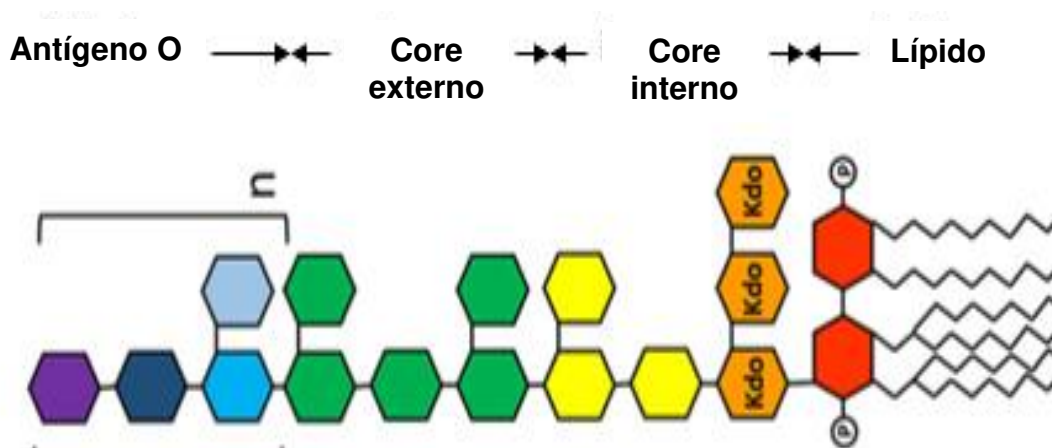


Figura 2. Estructura del lipopolisacárido.

Adaptado de Tzu *et. al.* ⁴¹

C. Polisacárido capsular

Factor de virulencia esencial para la patogenicidad de *A. baumannii*, siendo el locus K el responsable de la producción del polisacárido ¹. Además de proporcionar la facultad de evadir las defensas inmunes del huésped, es importante porque confiere resistencia contra los diferentes tratamientos y la supervivencia en entornos adversos. El polisacárido capsular permite una mejor tolerancia a la desecación debido a que proporciona una barrera física que facilita la retención de agua ayudando de esta forma a esta bacteria a prevalecer por mucho más tiempo en las superficies abióticas, y esta característica le confiere una alta patogenicidad ⁴². Este factor de virulencia también tiene una función clave en la formación de biofilms⁴³.

D. Fosfolipasas C y D

Enzimas lipolíticas, permiten la degradación de los fosfolípidos (desestabiliza a la membrana de la célula huésped y puede ocasionar cambios en su respuesta inmune) que se encuentran en las barreras mucosas y la membrana de la célula hospedera, lo que facilita una rápida invasión ¹.

E. Vesículas de membrana externa (OMVs)

Secretadas por las bacterias gram negativas durante su crecimiento de forma espontánea, está compuesta en mayor cantidad de lipopolisacáridos, ácidos nucleicos, proteínas y lípidos²⁴. Un gran porcentaje de *Acinetobacter baumannii* secretan OMVs, éstos contienen diversos factores de virulencia siendo los más abundantes OmpA, fosfolipasas, proteasas. Durante el proceso de infección, la interacción de la vesícula con la células huésped permite que el patógeno libere

todo su contenido en el interior de las célula, es por ello, que además de generar una importante citotoxicidad, el proceso también engloba señalización y respuestas inmunes celulares tanto innatas como adaptativas ⁴³.

F. Formación de biopelículas (biofilms)

A. baumannii tiene la capacidad de sobrevivir, adherirse a superficies abióticas y superficies bióticas como las células epiteliales. La alta capacidad de adherencia le permite la formación de biopelículas, que son una asociación de complejas estructuras tridimensionales donde las células se encuentran en estrecho contacto una de otra y embebidas en una matriz extracelular (exopolisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas) producidas por ellas mismas, que protegen a la bacteria permitiéndole sobrevivir a las diferentes condiciones adversas como sucedería en un proceso de infección, cuando se administran antimicrobianos, permitiéndoles que sean más resistentes debido a que esos agentes no llegan a penetrar con facilidad ⁴³ (Ver tabla 4).

Tabla 4 Implicancia de los factores fisicoquímicos en la formación de biopelículas en *Acinetobacter baumannii*

FACTORES GENERALES	EFFECTOS FISICOQUIMICOS
Temperatura	Mejora la hidrofobicidad, absorción de nutrientes
Tipo y disponibilidad de nutrientes	<p><u>Aumentan la formación:</u> Los medios deficientes de nutrientes La presencia de sacarosa, calcio y fosfato</p> <p><u>Disminuyen la formación:</u> Las concentraciones más altas de nutrientes debido al desprendimiento y la competencia reducida entre los aislados bacterianos.</p>
Superficie de crecimiento	<p><u>Aumentan la formación:</u> La rugosidad de la superficie</p> <p><u>Disminuyen la formación:</u></p>

	El revestimiento de la superficie lisa
Agentes antimicrobianos / desinfectantes	Constituye estrés para una mayor formación de biopelículas
Interacciones electrostáticas	Las bacterias se adhieren rápida y firmemente a superficies cargadas positivamente.
Contenido de iones	Los iones catiónicos divalentes mejoran la unión de las bacterias a las superficies.

Tomado de Eze. E. *et. al.* ⁴⁴

G. Sistema de captación de Hierro

El hierro (Fe) como micronutriente, lo podemos encontrar en dos estados disponibles: Fe⁺² es su forma soluble que le permite difundirse con mayor facilidad a través de las membranas celulares o en su otro estado como Fe⁺³ siendo este la forma insoluble. Su disponibilidad se ve disminuida ya que debido a la presencia de oxígeno y un pH neutro tiende a oxidarse a su estado insoluble o férrico siendo esta forma poco provechosa para las bacterias o en la célula hospedera cuando el hierro está ligado a la hemoglobina, transferrina o se almacena como ferritina. El patógeno se ha visto obligado a desarrollar otros mecanismos de captación de hierro ante la poca disponibilidad del metal debido a que el huésped restringe la disponibilidad de este nutriente en un esfuerzo por reducir la proliferación bacteriana. Por ello, *A. baumannii* expresa los denominados sideróforos (agentes quelantes Fe⁺³) que son sistema de captación de hierro de alta afinidad de bajo peso molecular (su captación está relacionada con la persistencia, virulencia y proliferación del patógeno) ⁴⁵. Los sistemas de captación de hierro encontrados en *A. baumannii* son la baumannoferrina, fimsbactina y acinetobactina, siendo el más estudiado y mejor caracterizado este último ⁴⁶. Pero la captación de hierro mediada por sideróforos no es suficiente debido a que la disponibilidad de hierro libre en los vertebrados es limitada. Ante este problema el patógeno se ha visto en la necesidad de utilizar el grupo hemo de la hemoglobina. La asimilación de estos compuestos presenta 2 mecanismos, uno de ellos es la captación directa del grupo hemo o también puede ser la captura pero asociado a hemoproteínas. Para ello el *A. baumannii* secreta exotoxinas que ayudan a liberar al grupo hemo partiendo de estas proteínas portadoras. El siguiente mecanismo es a través de hemóforos

que son proteínas específicas que permiten captar de diferentes fuentes el grupo hemo. Otra forma de captar hierro en su forma soluble es mediante el sistema FeO que es codificada por los genes *feoA* y *feoB* ¹.

H. Sistemas de secreción

Son estructuras complejas que unidas a la membrana facilitan el transporte al espacio extracelular de diversas proteínas y macromoléculas. El sistema de secreción tipo II (T2SS) consta entre doce a quince proteínas que secretan múltiples sustratos como las lipasas y proteasas. El sistema de secreción tipo V (T5SS) también denominado autotransportador, involucrado en la adherencia y formación de biofilms⁴⁷. En el sistema de secreción tipo VI (T6SS) cuya función mejor documentada es el suministro de toxinas antibacterianas, como las muramidasa o glucósido hidrolasas que hidrolizan la pared celular bacteriana, nucleasas que permiten la escisión de los ácidos nucleicos, y lipasas que degradan las estructuras de la membrana, promoviendo de esta forma la competición bacteriana (Ver tabla 5 y figura 3). Pueden matar una amplia variedad de bacterias, entre ellas a *E. coli*, diferentes cepas del mismo género *Acinetobacter* y a otros patógenos nosocomiales⁴⁸.

Tabla 5. Tipos de sistema de secreción

Sistema de secreción tipo II	Supervivencia
Sistema de secreción tipo V	Formación de biofilms, adherencia y supervivencia
Sistema de secreción tipo VI	Colonización del huésped, competición bacteriana

Tomado de Lewis *et. al.* ⁴⁸

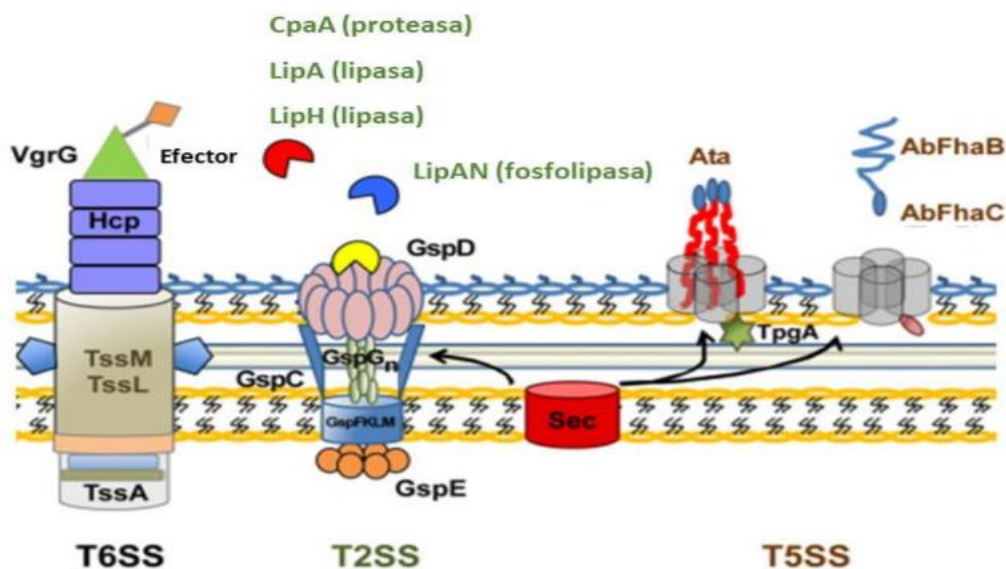


Figura 3. Representación de los sistemas de secreción.

Tomado de Elhosseiny *et. al.* ⁴⁹

II.3.1.1.5 Mecanismos de resistencia

Durante los últimos 20 años se ha observado un aumento en la resistencia del *A. baumannii*, por ende las infecciones provocadas por estas bacterias gramnegativas son actualmente difíciles de tratar ⁵⁰. La resistencia a los antibióticos está mediada por una mayor degradación por las betalactamasas, la alteración de las proteínas de unión a la penicilina, los cambios en las porinas de la membrana externa para disminuir la permeabilidad, bombas de eflujo y los elementos genéticos móviles²⁴.

II.3.1.1.5.1 Betalactamasas

Es el principal mecanismo de resistencia a los betalactámicos. Son proteínas especializadas con estructura cuaternaria y se caracterizan por hidrolizar el anillo betalactámico. Están divididas en las clases A, C, D que tienen una serina en su sitio activo y la clase B que presenta metaloenzimas ⁵¹ (Ver figura 4).

Las **Betalactamasas Clase A**, tienen una preferencia por las penicilinas, en este grupo se han identificado betalactamasas como TEM, GES, CTX, SHV, PER, SCO, VEB, KPC y CARB. Este grupo es sensible a la inhibición por ácido clavulánico y tazobactam ⁵¹.

Las **Betalactamasas clase C** también llamadas cefalosporinasas son derivadas del gen ampC, tienen acción frente a las cefalosporinas de tercera generación y

monobactámicos (aztreonam). Son resistentes al ácido clavulánico y el sulbactam³.

Las Betalactamasas Clase B son hidrolasas, que poseen al metal Zn⁺² en el centro activo, se caracterizan porque hidrolizan carbapenémicos. Al tener un metal como centro activo su acción es inhibida por un agente quelante como el EDTA, siendo los mas importantes y abundantes el “IMP, VIM y NDM”⁵¹.

Las Betalactamasas Clase D también llamadas enzimas tipo Oxacilinasas (OXA), debido a que tienen una gran afinidad para hidrolizar a la cloxacilina y oxacilina. Los genes que codifican estas OXAs están integrados en cromosoma, integrones o plásmidos lo que permite su máxima difusión⁵¹.

Entre ellos destacab OXA-51 (intrínsecas), OXA-23, OXA-24, OXA-58 y OXA143 (adquiridas). En 1985 se describió a la OXA-23 como la primera betalactamasa de un aislamiento de *A. baumannii*. El gen bla_{oxa-23} se puede ubicar en el cromosoma o en los plásmidos siendo geográficamente la más diseminada. La OXA-51 se codifica a nivel del cromosoma y se encuentra de forma intrínseca en el microorganismo. La sobreexpresión de estos genes está mediada por la secuencia de inserción ISAba1⁵².

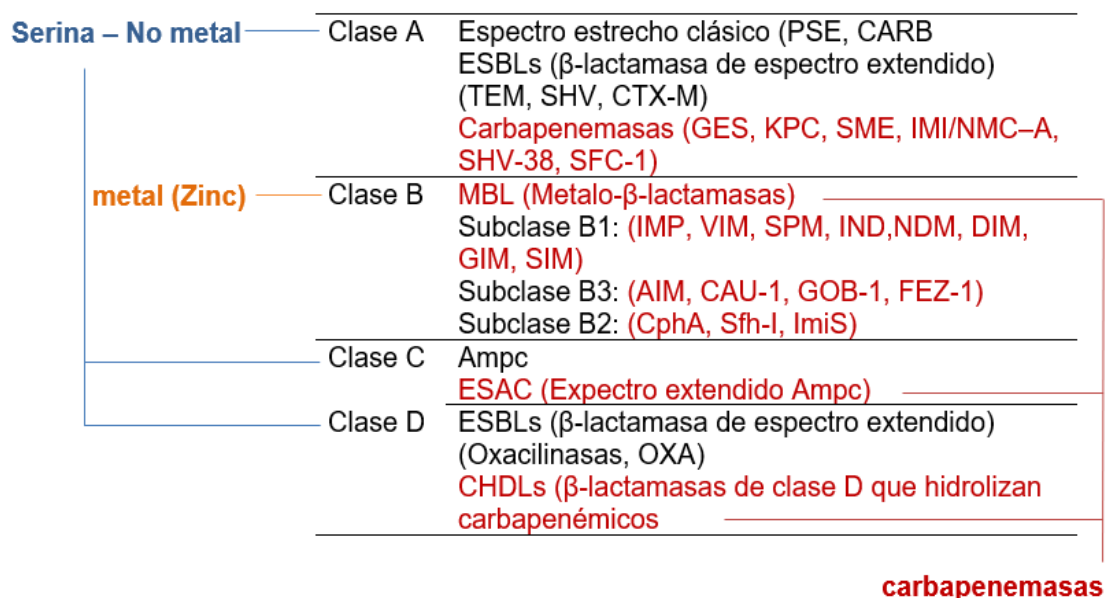


Figura 4. Clasificación de Ambler.

Adaptado de Sawa *et. al.*⁵⁰

II.3.1.1.5.2 Bomba de eflujo

Este mecanismo le confiere la propiedad de generar resistencia a diferentes tipos de antibióticos debido a que son capaces de expulsar, de manera relativamente inespecífica, un amplio número de sustratos no relacionados estructuralmente entre ellos antimicrobianos. Los sistemas de bombas de eflujo están codificados por genes cromosómicos y se han identificado 4 familias: RND (superfamilia resistencia-nodulación-división), MATE (extrusión de compuestos tóxicos y de múltiples familia de fármacos), MFS (superfamilia de facilitadores principales) y SMR (pequeños transportadores de resistencia a múltiples fármacos), pero la más importante es la bomba de eflujo AdeABC (perteneciente a la familia RDN), generando resistencia a muchas clases de antibióticos (cefotaxima, cloranfenicol, eritromicina, aminoglicósidos y fluoroquinolonas). La bomba de eflujo está compuesta de AdeA, AdeB y AdeC, donde AdeA actúa como proteína de fusión de membrana, AdeB como transportador de múltiples fármacos y AdeC como proteína de membrana externa⁵³ (ver figura 5). Una sobreexpresión de AdeABC también le confiere cierta resistencia a carbapenémicos²⁴.

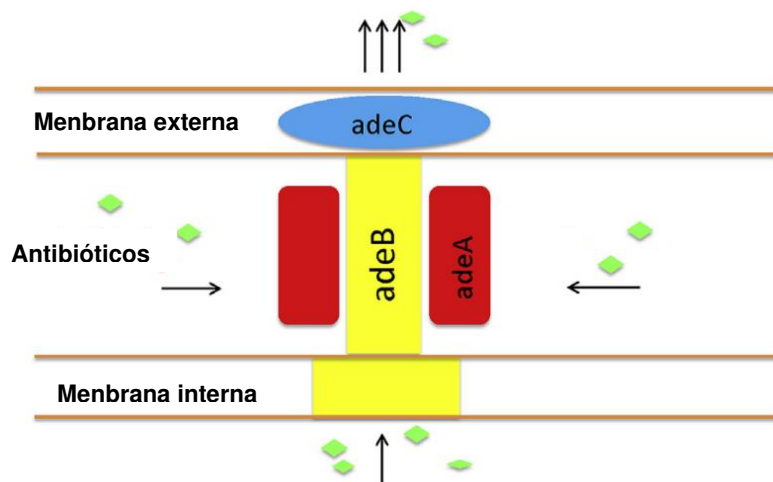


Figura 5. Función de la bomba de eflujo adeABC en la pared celular de *A. baumannii*.

Adaptado de Xu *et. al.*⁵³

II.3.1.1.5.3 Defectos de la permeabilidad

La disminución del grado de permeabilidad de la membrana puede aumentar la resistencia, debido a que tiene una importante función al regular el transporte de las moléculas. La disminución de la densidad de porinas de membrana (Omp22-23, Omp43, Omp44, Omp47, Omp33-36, Omp37 y CarO) se asocia con un aumento en la resistencia de carbapenémicos. Un grupo de porinas implicadas en la patogenia de *A. baumannii* y mejor estudiadas son las OmpA⁵⁴. También se ha visto que una disminución en la expresión de oprD de 43 kDa y una proteína CarO de 29kDa le confiere una mayor resistencia a carbapenems²⁴.

II.3.1.1.5.4 Alteración de la proteína de unión a penicilina (PBP)

Esta alteración juega un papel importante en la resistencia debido a que disminuye su afinidad por los antibióticos β -lactámicos (acetilan un sitio de serina en la estructura de las proteínas de unión a penicilina)⁵⁴. Las PBP catalizan el paso final de polimerización (transglicosilación) y entrecruzamiento mediante transpeptidación de peptidoglicano, y es un componente esencial de la pared celular bacteriana⁵⁵. Se ha reportado que se podría conferir cierta resistencia a meropenem e imipenem por la ausencia de la PBP2a así como también la carencia de esta proteína y de la PBP2b de forma simultánea puede asociarse con altos niveles de resistencia⁵⁶. La resistencia de *A. baumannii* al sulbactam se asocia con una expresión reducida de PBP2²⁵.

II.3.1.1.5.5 Elementos genéticos móviles en *A. baumannii* involucrados con la resistencia a carbapenémicos

Elementos transponibles: Son fragmentos de ADN con capacidad de cambiar su posición dentro del genoma, se caracteriza por permitir una mayor diseminación de la resistencia a antibióticos⁵⁸. La enzima que cataliza este proceso es transposasa⁵⁷.

Elementos de inserción (IS)

Son segmentos de ADN pequeños y móviles que contienen genes que codifican las enzimas que se requieren para la transposición. En ambos extremos del segmento tiene una región pequeña de nucleótidos en orientación invertida, conocida como “repeticiones invertidas”. La transposición del elemento IS puede inactivar productos génicos mediante su inserción dentro del gen, esta inactivación genética es responsable de cambios en el metabolismo bacteriano, resistencia a los antimicrobianos y virulencia⁵⁹.

Los elementos de inserción están asociados a la diseminación y sobreexpresión de β -lactamasas tipo OXA, cefalosporinasa y se han descrito alrededor de 30 tipos. La IS_{Aba1} es un miembro de la familia IS4 IS ha sido la más identificada asociada a los genes *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, y *bla*_{OXA-24}. La inserción de distintas IS en el extremo 5' de los genes *bla*_{OXA} generando secuencias promotoras fuertes es la causa más frecuente de una expresión incrementada de estos genes y la expresión del fenotipo de resistencia a carbapenémicos por estas enzimas ^{59,60}.

Transposones

Están involucrados en la diseminación de genes de resistencia, generalmente al insertarse en los elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos. Estos pueden ser conjugativos o no conjugativos⁶¹, el gen *bla*_{OXA23} se ha relacionado con tres trasposones: Tn *2006*, Tn *2007* y Tn *2008*. En Tn *2006*, el gen *bla*_{OXA-23} está flanqueado por dos copias de IS *Aba1* (en direcciones opuestas). Tn *2008* es similar a Tn *2006* pero no presenta la segunda copia de IS *Aba1*. Por último, en el Tn *2007*, el gen *bla*_{OXA-23} está asociado con una copia de IS *Aba4*. Según varios estudios, concluyen que en la actualidad el Tn *2006* es el transposón más común de resistencia a carbapenémicos ⁶².

Integrones

Son denominados sistemas de recombinación específicos de sitio y participan en el reconocimiento, captura y expresión de casetes (son genes que se incorporan a los integrones). Se han determinado cinco clases de integrones móviles, siendo las clases 1, 2 y 3 las implicadas en la diseminación de genes de resistencia³. Se ha demostrado que la clase 1 es la mayor diseminada en Estados Unidos, Asia y Europa ⁶².

II.3 Glosario de términos

Oxacilinasas: Es el otro término que se conoce a las carbapenemasas de clase D, por su gran afinidad para hidrolizar a la cloxacilina y oxacilina⁶³.

Saprófitos: Son aquellas bacterias que se alimentan de materia orgánica muerta o en descomposición⁶⁴.

Meningitis: Es una inflamación de las leptomeninges y colonización del líquido cefalorraquídeo (LCR) debido a diferentes agentes, entre ellos por bacterias o virus⁶⁵.

Edemas: Es el aumento de líquido en el intersticio, que puede tener diversas causas⁶⁶.

Sideróforo: son sistema de captación de hierro de alta afinidad y de bajo peso molecular que en presencia de otros metales captan el hierro y lo reducen a su forma soluble Fe^{2+} ⁴⁵.

Hemoforo: Tiene la capacidad de secuestrar el grupo heme de diversas fuentes y unirlos a receptores específicos, al tener un parecido estructural con los sideróforos se le denomina hemoforo⁶⁷.

Muramidasa: La lisozima o también llamada muramidasa es parte del grupo de hidrolasas glicosídicas y cataliza la hidrólisis del enlace β (1-4) entre la N-acetilglucosamina y el ácido N-acetilmurámico de las paredes celulares bacterianas⁶⁸.

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

III.1 Hipótesis

Los aislados de *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins proporcionadas durante el periodo de junio – septiembre 2019 presentan los genes de resistencia tipo OXAs (*bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} y *bla*_{OXA-23-like}).

III.2 Variables

III.2.1 Variable dependiente

- Los aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos

III.2.2 Variable independiente

- Presencia de los genes *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} y *bla*_{OXA-23-like}

III.3 Operacionalización de variables

- Tabla N° 13 (Ver Anexo 04)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1 Área de estudio

El presente estudio de investigación fue aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins de la Red Prestacional Rebagliati, de acuerdo a la carta N° 325-GRPR-ESSALUD-2019. Ver Anexo 01.

IV.2 Diseño de investigación

De tipo observacional, descriptivo y transversal.

IV.3 Población y muestra

IV.3.1 Material biológico

20 aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos procedentes del Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins desde junio – septiembre del 2019, aisladas de muestras de hisopados sistémicos (sangre, secreciones bronquiales, secreción traqueal, CVC, orina, secreción de heridas).

IV.3.2 Cepa control

- ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922 (cepa de referencia para la evaluación Fenotípica)
- ✓ *Klebsiella spp* - cepa clínica (control positivo para la evaluación Fenotípica).
- ✓ *Acinetobacter baumannii* – cepa aislada sensible a carbapenémicos del HNERM (control negativo para la evaluación Fenotípica).

IV.4 Método

IV.4.1 Obtención y conservación de cepas clínicas

20 aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos (cabe mencionar que adicionalmente se recolectó 1 cepa sensible, como control negativo para el MIC) fueron proporcionados por el Laboratorio de Microbiología del hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins durante los meses de Junio a Septiembre del 2019 en Agar Mueller Hinton y agar MacConkey. Luego en el Laboratorio de Microbiología (perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM) se conservaron en crioviales con Caldo Trypticase Soya (TSB) y glicerol 20% a una temperatura de -20°C para su posterior análisis.

IV.4.2 Reactivación de las cepas

Los aislados fueron reactivadas cultivando 50 µL de TSB/glicerol 20% en 5 mL de TSB, se incubó a 37°C por 24 horas. Seguidamente, fueron sembradas en Agar MacConkey e incubadas a 37°C por 24 horas, para poder utilizar estas cepas en los ensayos posteriores.

IV.4.3 Caracterización bioquímica

Se confirmó la identificación de los aislados de *Acinetobacter baumannii*, realizando las pruebas que se describen a continuación:

IV.4.3.1 Crecimiento a 44 °C

Los aislados se sembraron en Agar Tripticasa Soya (TSA), se llevó a incubación a 44°C por 24 horas. Para *A. baumannii*, se logró observar crecimiento bacteriano.

IV.4.3.2 Prueba de oxidasa

Los aislados previamente sembrados en TSA a 37°C por 24 horas, se transfirieron a continuación, tomándo una colonia y luego colocándola sobre un papel filtro, se adicionó 11 gotas de reactivo (dihidrocloruro de NNN'N 'tetrametil-p-fenilendiamina), siendo el objetivo de la prueba, detectar la presencia de la enzima citocromo oxidasa. Para *A. baumannii* se considera reacción negativo, ya que no se llega a visualizar cambio de color.

IV.4.3.3 Prueba de la catalasa

Se sembraron en TSA a 37°C por 24 horas. Posteriormente, con ayuda de un asa de siembra, se transfirió una colonia de cada cepa hacia un portaobjetos y se adicionó una gota de peróxido de hidrógeno (10 volúmenes). Para *Acinetobacter baumannii*, que es catalasa positivo, se evidencia la formación de burbujas de oxígeno

IV.4.4 Evaluación Fenotípica de carbapenemasas

MIC: Método de inactivación de los carbapenémicos

El sustento del método se basa en la capacidad que presenta la carbapenemasa de hidrolizar una concentración de 10 µg de MEM (meropenem) contenida en un sensidisco de papel de filtro.

Para ello, primero en un medio de agua estéril se incubó el disco de meropenem con la muestra a analizar. Luego se incubó el mismo disco de MEM con la cepa contral ATCC 25922 de *E. coli* sembrada en placa. La

detección de la carbapenemasa se basó en la presencia o ausencia de un halo de inhibición⁶⁹.

Interpretación:

- ✓ Carbapenemasa positivo: la lectura se da en base a una zona de inhibición de 6-15 mm o una zona de 16-18 mm en donde se detecta la presencia en esta zona de colonias. Se interpreta que se ha dado la hidrólisis del meropenem por ende no hay inhibición del crecimiento de *E. coli* ATCC 25922 ⁷⁰.
- ✓ Carbapenemasa negativo: zona ≥ 19 mm esto quiere decir que el meropenem en el disco no se hidrolizó por lo que inhibe el crecimiento de *E. coli* ATCC 25922 ⁷⁰.

IV.4.5 Evaluación genotípica

Extracción de ADN

Se utilizó el kit de extracción GF-1 Bacterial DNA para la obtención de ADN cromosomal a partir de los aislados de *Acinetobacter baumannii* ⁹⁴.

Previamente, *A. baumannii* fueron inoculados en tubos de ensayo conteniendo caldo tripticasa de soya (TSB) a 37°C para su reactivación. Después de 24 horas, se centrifugó 1,5mL de cultivo bacteriano en un tubo eppendorff a 6000 x g por 2 minutos, el sobrenadante se decantó por completo conservándose solo el pellet.

Luego, los pellets se resuspendieron completamente, adicionando 100 μ L de Buffer R1. Se añadió 10 μ L de lisozima (50mg/mL), y se centrifugó a 10 000 x g por tres minutos y el sobrenadante se eliminó en su totalidad. Se resuspendió el pellet con 180 μ L de Buffer R2 y 20 μ L de proteinasa K, se mezcló y se llevó por 20 minutos a baño maría a una temperatura de 65°C; en agitación constante. Pasado ese tiempo, se añadió 400 μ L de Buffer BG y se volvió a mezclar la solución e incubó a baño maría a una temperatura de 65°C por 10 minutos. Se adicionó 200 μ L de etanol absoluto y se homogenizó en vortex.

Seguidamente, se trasvasó la solución a una columna ensamblada, se centrifugó a 1000 x g durante un minuto y se descartó el flujo; la columna se lavó añadiendo 650 μ L de Wash Buffer (resuspendido previamente con 5,6mL de etanol absoluto), se procedió a centrifugar a 10000 x g durante 1 minuto, se descartó el sobrenadante y se centrifugó a la misma velocidad por 1 minuto adicional para remover por completo el etanol residual. Se ubicó la columna de centrifugado en

un tubo recolección y se agregó 100 μ L de Elution Buffer (precalentado a 65°C por un minuto) directamente a la columna, se dejó reposar a temperatura de ambiente por 2 minutos. Posterior a ello, se centrifugó 10000 x g durante 1 minuto para eluir el ADN (Figura 8). Se almacenó el eluído conservándolo a baja temperatura (entre - 20°C a 4°C)⁷¹. (Ver figura 6)

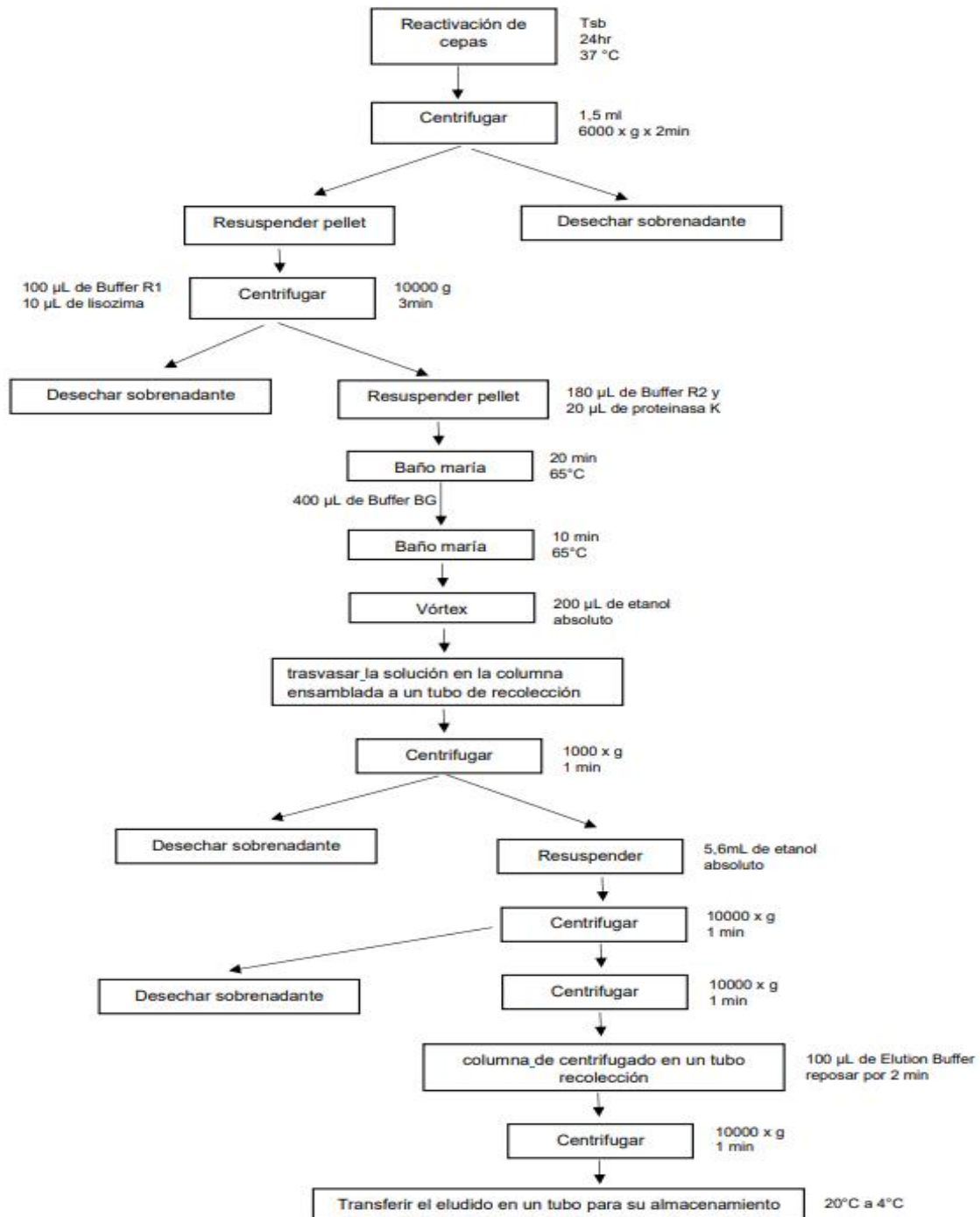


Figura 6. Extracción de ADN por GF-1 Bacterial DNA Extraction Kit - Vivantis

IV.4.5.2 Detección de Carbapenemasas D (Tipo OXA)

Mediante la técnica del PCR mutiplex o también llamada reacción en cadena de la polimerasa múltiplex se amplificaron los genes que codifican las familias bla_{OXA-23-like}, bla_{OXA-24-like}, bla_{OXA-58-like}, por medio del uso de los siguientes cebadores: (Ver tablas 6, 7 y 8)

Tabla 6. Cebadores empleados en la detección de genes bla_{OXA}

Adaptado de Handal *et. al.*⁷² & Mostachio *et. al.*⁷³

CEBADOR	SECUENCIA (5' a 3')	TAMAÑO DEL PRODUCTO (pb)
OXA-23 F	5'-GATCGGATTGGAGAACCAGA	501
OXA-23 R	5'-ATTTCTGACCGCATTTCAT	
OXA-24 F	5'-GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	246
OXA-24 R	5'-AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	
OXA-58 F	5'-AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599
OXA-58 R	5'-CCCCTCTGCGCTCTACATAC	

Tabla 7. Reactivos y volúmenes finales utilizadas para una reacción de PCR (Mix PCR).

Adaptado de Handal *et. al.*, Mostachio *et. al.* & Serrato *et. al.*^{73,74}

REACTIVO	CONCENTRACIÓN	VOLUMEN
Buffer*	10X	2.5µL
MgCl₂*	100mM	1µL
Mix dNTPs^{&}	10mM	0.5µL
Primer F (bla _{OXA-23-like}) [#]	10 pmol/µL	1µL
Primer R (bla _{OXA-23-like}) [#]	10 pmol/µL	1µL
Primer F (bla _{OXA-24-like}) [#]	10 pmol/µL	1µL
Primer R (bla _{OXA-24-like}) [#]	10 pmol/µL	1µL
Primer F (bla _{OXA-58-like}) [#]	10 pmol/µL	1µL
Primer R (bla _{OXA-58-like}) [#]	10 pmol/µL	1µL
ADN		1µL
Agua para inyección		13.8µL
Taq Polimerasa*	5U/µL	0.2µL

* Procedentes de GeneOn

Procedentes de Invitrogen by Thermo Fisher Scientific

& Procedentes de Promega

Tabla 8. Etapas de la PCR y condiciones de amplificación para los genes blaOXA.

Adaptado de Handal *et. al.*⁷²& Mostachio *et. al.*⁷³

PROCESO*	N° CICLOS	TIEMPO	TEMPERATURA
Desnaturalización inicial	01 ciclo	5 minutos	94°C
Desnaturalización		25 segundos	94°C
Alineación	33 Ciclos	40 segundos	53°C
Amplificación		50 segundos	72°C
Elongación final		6 minutos	72°C

*Se empleó Termociclador Eppendorf Mastercycler

V. RESULTADOS

V.1 Evaluación fenotípica de carbapenemasas

La detección fenotípica de los 20 aislados recolectados dio como resultados positivos 20/20 (100%). Esto indicaría que en los aislados hay una mayor prevalencia de las enzimas carbapenemasas (Ver tabla 9, figura 7, figura 8)

Tabla 9. Evaluación fenotípica

Fenotipo productor de	Cantidad	Porcentaje (%)
Carbapenemasa positivo	20	100
Carbapenemasa negativo	0	0
Total	20	100

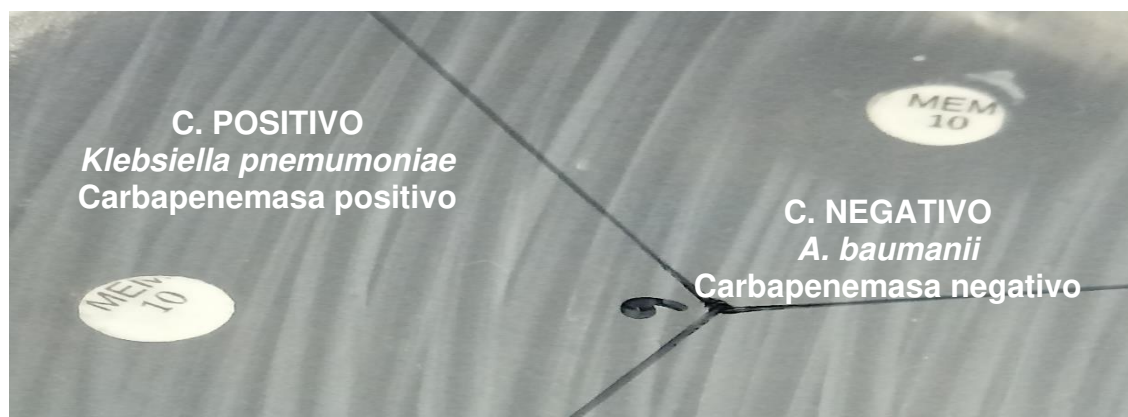


Figura 7. Control positivo y control negativo – por el Método de Inactivación de Carbapenemasa (MIC)

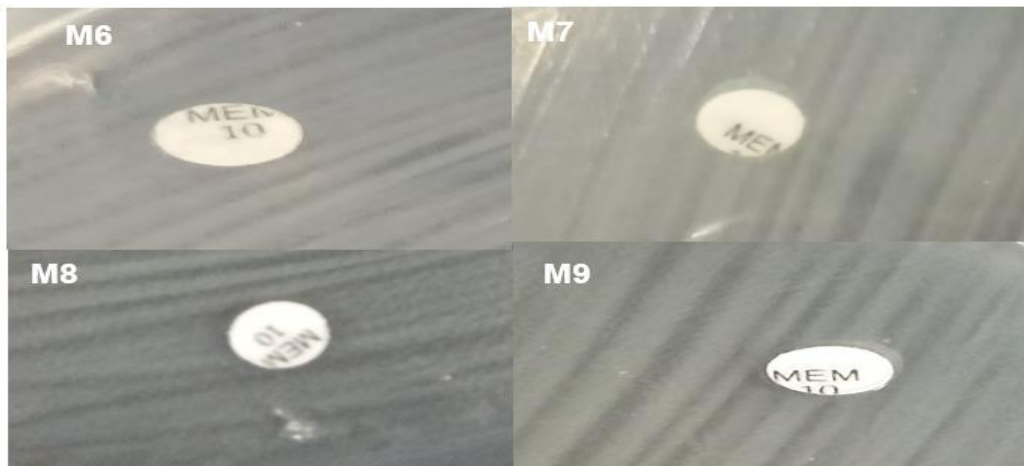


Figura 8. M6, M7, M8 y M9 Cepas productoras de carbapenemasas

V.2 Evaluación Genotípica de carbapenemasas

La detección genotípica de los genes de resistencia *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24-like} y *bla*_{OXA-58-like} confirmó la ausencia de cepas clínicas portadoras del gen *bla*_{OXA-23-like}, y 16/20 (80%) cepas clínicas en estudio portadoras del gen *bla*_{OXA-24-like} y 4/20 (20%) portadoras del gen *bla*_{OXA-58-like}. (Ver figura 9, figura 10, figura 11 y tabla 10)

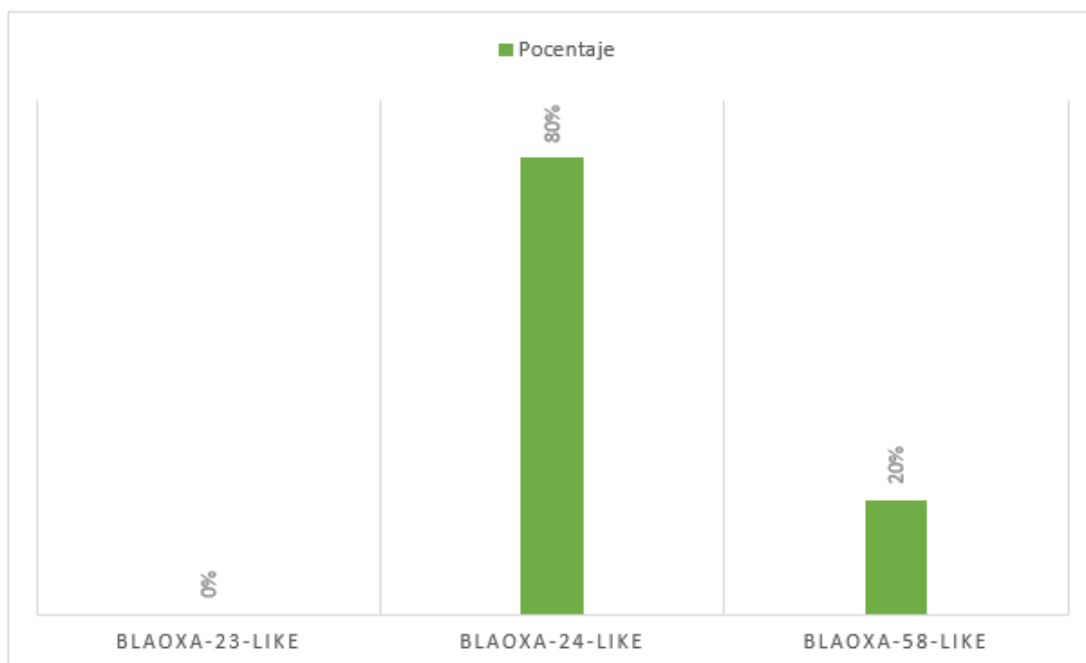


Figura 9. Distribución porcentual de los genes *bla*_{OXA-23-like}, del *bla*_{OXA-24-like} y *bla*_{OXA-58-like}

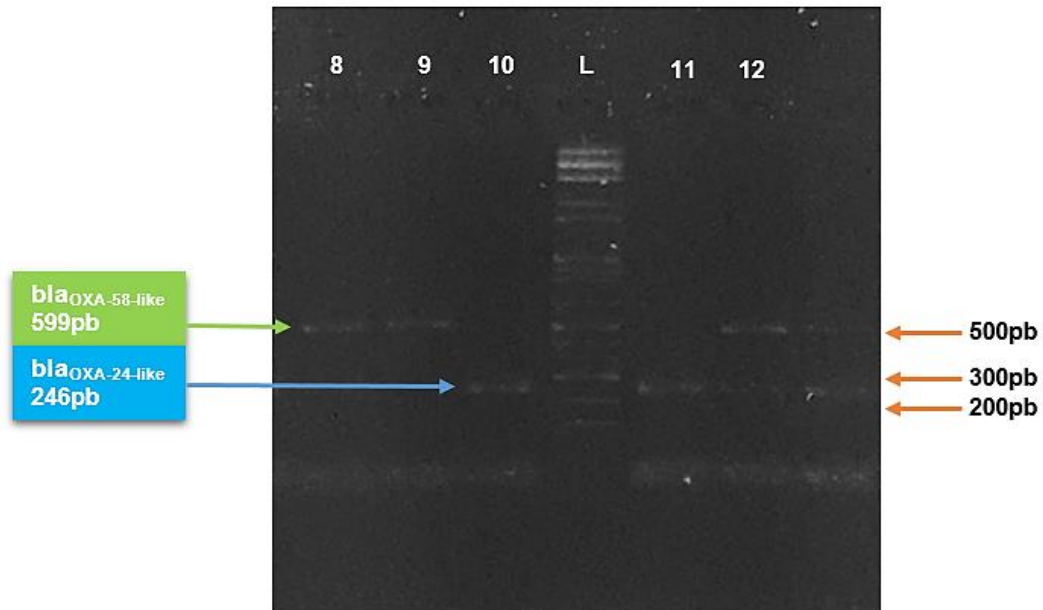


Figura 10. Electroforesis de PCR múltiple para el gen bla_{OXA} de 246bp y 599bp. Pocillos 8,9,12: aislados de *A. baumannii* positiva para el gen bla_{OXA-58-like}. Pocillos 10,11: aislados de *A. baumannii* positiva para el gen bla bla_{OXA-24-like}. Pocillo L: Ladder de 100 pares de bases (bp).

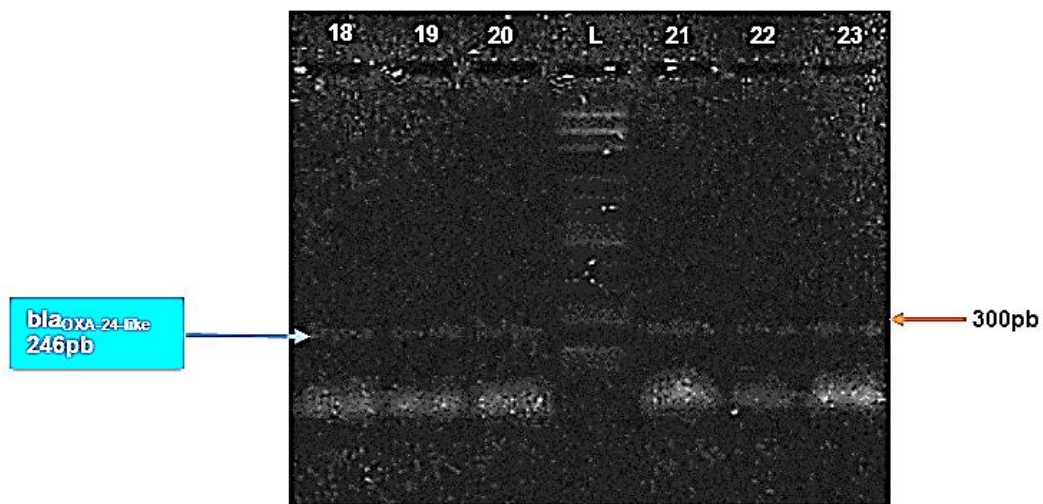


Figura 11. Electroforesis de PCR múltiple para el gen bla_{OXA} de 246bp. Pocillos 18, 19, 20, 21, 22 y 23: aislados de *A. baumannii* positivas para gen bla_{OXA-24-like}, Pocillo L: Ladder de 100 pares de bases (bp)

Tabla 10. Fenotipo y genotipo de las cepas de *Acinetobacter baumannii* según procedencia

Cepa N°	Fenotipo	Genotipo		
		bla OXA-23-like	bla OXA-24-like	bla OXA-58-like
6	Carbapenemasa	-	-	+
7	Carbapenemasa	-	+	-
8	Carbapenemasa	-	-	+
9	Carbapenemasa	-	-	+
10	Carbapenemasa	-	+	-
11	Carbapenemasa	-	+	-
12	Carbapenemasa	-	-	+
13	Carbapenemasa	-	+	-
14	Carbapenemasa	-	+	-
15	Carbapenemasa	-	+	-
16	Carbapenemasa	-	+	-
17	Carbapenemasa	-	+	-
18	Carbapenemasa	-	+	-
19	Carbapenemasa	-	+	-
20	Carbapenemasa	-	+	-
21	Carbapenemasa	-	+	-
22	Carbapenemasa	-	+	-
23	Carbapenemasa	-	+	-
24	Carbapenemasa	-	+	-
25	Carbapenemasa	-	+	-

* N°: Número de muestra adaptado para el estudio, +: positivo, -: negativo

VI. DISCUSIONES

En el reporte realizado por el programa de vigilancia SENTRY se señalan aumentos de resistencia contra imipenem y meropenem en Brasil, Chile y Argentina mostrando un incremento de 12,6 %, 0,0 % y 6,4 % en el 2008 a 71,4 %, 50,0 % y 84,9 % en 2010. Diversos estudios han reportado que en Latinoamérica se observan altas tasas de resistencia a carbapenémicos ⁹. Asimismo, los informes de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) mostraron un progresivo aumento en los porcentajes de resistencia reportados durante el período 2000-2013⁵, esto puede deberse al uso masivo de antibióticos en hospitales y a la gran habilidad de este patógeno para adquirir mecanismos de resistencia ⁶³. Todas las muestras de *A. baumannii* del nuestro estudio son resistentes a la mayoría de antibióticos.

Respecto al origen de las muestras, la mayor parte de los aislados procedían de muestras respiratorias (60%), seguido de sangre (20%), otros estudios han descrito resultados similares como Fernández et al., que obtuvieron 44% de los aislados de muestras respiratorias, 23% de exudados de herida, 8% de hemocultivos y 15% de otras muestras de pacientes con sospecha de infección o colonización por *Acinetobacter spp* ⁷⁵, los datos anteriormente mencionados también concuerdan con los publicados por Figueiredo et al. y Villalón et al ^{76,77}. Esto podría estar relacionado por un lado con inadecuadas medidas preventivas para evitar la colonización de diversos patógenos, pero también podría asociarse al uso de ventilador mecánico, alterando las barreras defensivas locales de las vías respiratorias.

Por otro lado, para realizar la identificación fenotípica de carbapenemasas se empleó la adaptación de van der Zwaluw del método de inactivación de los carbapenémicos (MIC) que permite aumentar la sensibilidad en aislamientos con actividad carbapenemasa débil ⁷⁸, la cual es una modificación de la prueba Carba NP para *Acinetobacter spp* ⁷⁹. Es un método económico y de fácil interpretación por lo que es considerado un método reproducible en los laboratorios microbiológicos clínicos con recursos limitados, debido a que no es necesario la manipulación de equipos o reactivos especializados ^{15,80}. Una de las principales desventajas es que no es un ensayo de detección rápida y se tiene que tener

cuidado con la contaminación cruzada⁸¹. El tiempo de incubación del MIC fue 2 horas acorde al método de Zwaluw⁶⁹, según Simner (2018) *et. al* usó el método MIC en 30 cepas de *A. baumannii* pero en este caso debido a que dieron falsos negativos en un primer momento, se dio un tiempo de incubación adicional de 4 horas⁸², pero Zwaluw sugiere no aumentar el tiempo de incubación porque en algunos casos puede disminuir la especificidad, por lo mencionado anteriormente la débil capacidad hidrolítica de las OXAs puede considerarse como una limitación del MIC según el autor⁶⁹. Por otro lado Aktas *et. al* (2017) en su estudio empleó en un inicio un tiempo de incubación adicional de 2 horas para los 12 aislamientos de *A. baumannii*, pero salieron falsos negativos, posterior a ello realizó la segunda prueba con 4 horas adicionales y todos salieron positivos para bla_{OXA-58-like} y bla_{OXA-23-like} estos resultados guardaron concordancia con lo obtenido por medio de PCR⁸³. En el presente estudio, de las 20 recolectadas, se reportó que 100% fueron positivas para la detección de carbapenemasas, este mismo método fue utilizado por Zwaluw *et. al* así como por Madkour *et. al*, ellos reportaron en sus estudios realizados en 30 y 203 aislados gram negativos respectivamente, que los resultados obtenidos en el MIC tuvo una alta similitud con la PCR multiplex^{69,86}. De igual importancia, el estudio realizado por Sun K. (2017) *et al.* demostró que de las 51 cepas de *A. baumannii*, la detección positiva se dio solo en 42/51 cepas aisladas (82.3%), faltando detectar 2 cepas asociadas a los genes bla_{OXA-23-like} y 6 de bla_{OXA-51-like}, y adicional a ello una cepa que albergó ambos genes, por lo que los autores reforzaron la idea que las cepas posiblemente poseían carbapenemasas con una capacidad hidrolítica débil⁸⁴. Por consiguiente, se recomienda que se usen pruebas moleculares como la PCR multiplex para poder validar los resultados obtenidos en el MIC^{81,85}.

En un estudio realizado (2013) por Bocanegra P. en Nuevo León se obtuvo como resultado, 154 cepas de *A. baumannii* identificadas como bla_{OXA}, y a través del PCR se obtuvo que 25.3% (39/154) portaba el gen bla_{OXA-24-like}, 27.9% (43/154) el gen bla_{OXA-58-like} y ningún gen bla_{OXA-23-like}. La mayoría de las cepas procedían de muestras de lavados bronquiales 56% (86/154) y 79% (121/154) pertenecían al servicio de UCI⁸⁶. Por otro lado, en Bogotá (2016) Saavedra C. *et. al* reportaron un estudio donde se obtuvieron 165 aislamientos de *A. baumannii*, y se determinó molecularmente (PCR) que 78.18% (129/165) portaban el gen

bla_{OXA-23-like}, 0.6% (1/165) bla_{OXA-24-like} y ningún aislamiento amplificó para bla_{OXA-58-like}, además las cepas eran procedentes del servicio de UCI y principalmente de muestras de sangre ⁸⁷. Ambos estudios reportan al gen bla_{OXA-24-like} aunque no reportan prevalencia. Por el contrario, el presente estudio reporta que de 20 aislados de *A. baumannii* analizadas, se detectó que 80% (16/20) portaban el gen bla_{OXA-24-like}, resultando predominante sobre el gen bla_{OXA-23-like}, y bla_{OXA-58-like}; asimismo, 81% (17/21) eran procedentes del servicio de Cuidados Intensivos, siendo este último resultado, de amplia similitud con los dos estudios antes mencionados. Por tanto, la estancia prolongada en los hospitales, en especial la unidad de cuidados intensivos (UCI) se consideraría como factor de riesgo de colonización o infección por especies de *Acinetobacter* tal como lo describen Maragakis *et. al* ⁸⁸. Dentro de este marco, Ellis *et. al* aseveran que las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (HAI), confieren un alto riesgo de morbilidad y mortalidad a los pacientes. Es decir, el tratamiento invasivo y las técnicas de diagnóstico, el uso de dispositivos de soporte vital o de monitoreo directo o indirecto, como los ventiladores y equipos de succión pueden dar lugar a reservorios ambientales de cepas resistentes^{89,90}.

Se conoce que la familia bla_{OXA-58-like} se encuentra ampliamente distribuida en Europa, desde su primera aparición el 2003 en Francia ⁹¹. En nuestro estudio, donde 20% (4/20) de los aislados fueron portadoras del gen bla_{OXA-58-like}, fue la segunda familia con mayor frecuencia. También, presenta un resultado similar a lo reportado por Rodríguez (2014) en 58 cepas recolectadas de 4 hospitales de tercer nivel ubicados en México, durante el periodo de Diciembre 2009-2012⁹². A pesar de que la carbapenemasa más frecuente y con mayor repercusión mundial que se identifica en *A. baumannii* resistente a carbapenems es la OXA-23-like^{93,94}. En nuestros resultados no se ha detectado presencia de este tipo de gen, lo cual concuerda con lo reportado por Klauss *et. al* y García *et. al* ^{15,95}. Asimismo, existen diversos estudios señalando que el gen bla_{OXA-23-like}, está siendo progresivamente reemplazado por el gen bla_{OXA-58-like} en Latinoamérica⁹⁶. De hecho, reportes de países Sudamericanos, principalmente procedentes de Bolivia y Chile, indican mayor prevalencia de este gen⁹⁷, de la misma forma se ha descrito su predominio en Venezuela ⁹⁸. El estudio realizado por Levy-Blitchein *et. al* (2018) en Perú, demostró que 81.3% (65/80) de cepas de *A. baumannii* analizadas fueron positivas para el gen bla_{OXA-24-like}, 13.8% (11/80)

para el gen bla_{OXA-23-like} y ni una presentó al gen bla_{OXA-58-like}. El resultado para el gen bla_{OXA-24-like} se aproxima al obtenido en el presente estudio en el que 80% (16/20) de los aislados de *A. baumannii* estudiadas portaban el gen bla_{OXA-24-like} pero el 20% (4/20) resultó positiva para gen bla_{OXA-58-like} y ninguna cepa positiva para bla_{OXA-23-like}⁹⁹, notando en estos últimos una importante diferencia al compararlo con el estudio de Levy-Blitchein *et.al*; sin embargo, ambos estudios demuestran una alta prevalencia del gen bla_{OXA-24-like} sobre los otros genes.

VII. CONCLUSIONES

Se detectó la presencia de genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-58-like en aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins proporcionadas durante el periodo de junio – septiembre 2019

El 100% (20/20) de los aislados en estudio de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos se detectaron mediante análisis fenotípico las enzimas carbapenemasas.

Se determinó mediante PCR múltiple que 4/20 (20%) de los aislados portaban genes codificantes de bla_{OXA-58-like} y 16/20 (80%) bla_{OXA-24-like} y no fue detectada la presencia de genes codificantes bla_{OXA-23-like}.

VIII. RECOMENDACIONES

Conjuntamente con la identificación fenotípica, es necesario realizar la identificación molecular debido a que es más exacta y permite la identificación definitiva de los genes de *A. baumannii*.

La identificación de genes generadores de resistencia sugiere que se deban tomar medidas preventivas, evitando en los hospitales la transmisión de estas infecciones resistentes.

Se debe investigar en aislamientos de *A. baumannii*, los genes codificantes de otras carbapenemasas como la clase B (IMP, VIM, NDM, SIM) y clase A (KPC, GES) que cada vez toman mayor protagonismo en la resistencia así como también, la secuencia de inserción IS_{Aba1} y su relación con diferentes carbapenemasas de la clase D, que según últimos estudios, la presencia de esta inserción en los genes mencionados potencia la resistencia a carbapenémicos.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morris FC, Dexter C, Kostoulias X, Uddin M, Peleg AY. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019;10(2):1–20.
2. Organización Mundial de la salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Centro de Prensa Organización Mundial de la Salud [Internet]. Who. 2017. p. 2–5. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
3. Moubareck CA, Halat DH. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics.* 2020;9(3):4–29.
4. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int.* 2016;2016(3):1–8.
5. Rodríguez CH, Nastro M, Famiglietti A. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2018;50(3):327–33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.006>
6. Angles Yanqui E, Huaranga Marcelo J, Sacsquispe Contreras R, Pampa-Espinoza L. Panorama de las carbapenemasas en Perú. *Rev Panam Salud Publica.* 2020;44(2):1–10.
7. Moreno J, Castillo Yelitzka et al. B-Lactamasas De Espectro Extendido Y Carbapenemasas En Gérmenes Gramnegativos Aislados De Muestras Clínicas En Los Servicios De Hospitalización. *Bol Venez Infectol.* 2015;26(2):65–76.
8. Shamsizadeh Z, Nikaeen M, Esfahani BN, Mirhoseini SH, Hatamzadeh M, Hassanzadeh A. Detection of antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospital environments: Potential sources for transmission of acinetobacter infections. *Environ Health Prev Med.* 2017;22(1):1–7.
9. Labarca JA, Salles MJC, Seas C, Guzmán-Blanco M. "Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America". *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(2):276–92.

10. Swe-Han KS, Pillay M, Schnugh D, Mlisana KP, Baba K, Pillay M. Horizontal transfer of OXA-23-carbapenemase-producing *Acinetobacter* species in intensive care units at an academic complex hospital, Durban, KwaZulu-Natal, South Africa . *South African J Infect Dis* [Internet]. 2017;32(4):119–26. Available from: <http://doi.org/10.1080/23120053.2017.1335482>
11. Zafari M, Feizabadi MM, Jafari S, Abdollahi A, Sabokbar A. High prevalence of OXA-type carbapenemases among *Acinetobacter baumannii* strains in a teaching hospital of Tehran. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2017;64(4):385–94.
12. Gastelo-Acosta RM, Díaz-Sipi3n RS, Maguiña Vargas C. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios cr3ticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. *Acta Medica Peru*. 2016;33(3):183.
13. Castillo Y, Nieto C, Astocondor L, Jacobs J, Garc3a C. Bacteriemia por *Acinetobacter baumannii* productor de oxacilinasas en hospitales de Lima, Per3. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2019;36(2):364.
14. Otiniano Cordova C, Rivera Puma X. Prevalencia de genes OXA , VIM e IMP en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapen3micos del Hospital Nacional Hip3lito Unanue . Agosto - diciembre 2019. [Tesis de grado]. Per3: 2021.
15. Casas Moya GD, Pardo Castillo KF. Prevalencia de genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like y blaOXA- 58-like en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapen3micos de un Hospital Nacional de Referencia en Lima durante diciembre 2017 – marzo 2018. [Tesis de grado]. Per3: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019.
16. Rossau R, Van Landschoot A, Gillis M, De Ley J. Taxonomy of *Moraxellaceae* fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and related organisms. *Int J Syst Bacteriol*. 1991;41(2):310–9.
17. Song J, Choo YJ, Cho JC. *Perlucidibaca piscinae* gen. nov., sp. nov., a freshwater bacterium belonging to the family *Moraxellaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2008;58(1):97–102.
18. Carvalheira A, Gonzales-Siles L, Salvà-Serra F, Lindgren Å, Svensson-

- Stadler L, Thorell K, et al. *Acinetobacter portensis* sp. Nov. and *acinetobacter guerrae* sp. nov., isolated from raw meat. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2020;70(8):4544–54.
19. Whitcher JP, Cevallos V. *Moraxella*, down but not out - The eye bug that won't go away. *Br J Ophthalmol.* 2006;90(10):1215–6.
 20. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the "*Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*)". *J Bacteriol.* 1968;95(5):1520–41.
 21. Fariba Akrami, Amirmorteza Ebrahimzadeh Namvar. *Acinetobacter baumannii* as Nosocomial Pathogenic Bacteria. *Mol Genet Microbiol Virol.* 2019;34(2):84–96.
 22. Rodriguez Buenahora R, Bustillo Zarate D, Caicedo Sánchez D, Cadena Sarmiento D, Castellanos Gomez C. *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. *Rev Médicas Uis.* 2016;29(2):135–135.
 23. Almasaudi SB. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J Biol Sci [Internet].* 2018;25(3):586–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.009>
 24. Asif M, Alvi IA, Ur Rehman S. Insight into *acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist.* 2018;11:1249–60.
 25. Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Vignon-Whaley JJJ, Vaamonde JAA, Alonzo LAP, Reséndiz AR, et al. *Acinetobacter baumannii* resistance: A real challenge for clinicians. *Antibiotics.* 2020;9(4):1–22.
 26. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii* An emerging opportunistic pathogen. *Virulence.* 2012;3(3):243–50.
 27. Constantiniu S, Romaniuc A, Smaranda I, Filimon R, Tarași I. Cultural and Biochemical Characteristics of *Acinetobacter* Spp . Strains Isolated From Hospital Units. *J Prev Med.* 2004;12(3–4):35–42.
 28. Hamidian M, Nigro SJ. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *acinetobacter baumannii*. *Microb Genomics.* 2019;5(10):1–13.
 29. Reyes A. *Acinetobacter baumannii*: amenaza para la salud humana

- Acinetobacter baumannii: threat to human health. Rev Arch Med Camaguey [Internet]. 2018;22(6):695–8. Available from: <http://revistaamc.sld.cu/>
30. Martín-Aspas A, Guerrero-Sánchez FM, García-Colchero F, Rodríguez-Roca S, Girón-González JA. Differential characteristics of Acinetobacter baumannii colonization and infection: Risk factors, clinical picture, and mortality. Infect Drug Resist. 2018;11(2):861–72.
 31. Čiginskienė A, Dambrauskienė A, Rello J, Adukauskienė D. Ventilator-associated pneumonia due to drug-resistant acinetobacter baumannii: Risk factors and mortality relation with resistance profiles, and independent predictors of in-hospital mortality. Med. 2019;55(2):2–13.
 32. Sun R, Song P, Walline J, Wang H, Xu Y, Zhu H, et al. Morbidity and mortality risk factors in emergency department patients with Acinetobacter baumannii bacteremia. World J Emerg Med. 2020;11(3):164.
 33. Colín-castro C, Chávez-heres T, Magaña JJ, Franco-cendejas R. Microorganismos bacterianos asociados a infección del torrente sanguíneo en pacientes con quemaduras de un centro de referencia de la Ciudad de México. Investig en Discapac. 2017;6(2):50–6.
 34. Finello M, Suasnabar DF, García M de J, Díaz MV, Richetta L, Toranzo A, et al. Clinical and microbiological characteristics of bloodstream infections in adult neutropenic patients. Rev Argent Microbiol [Internet]. 2021;20:1–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.11.001>
 35. Sharma R, Goda R, Borkar SA, Katiyar V, Agarwal S, Kumar A, et al. Outcome following postneurosurgical Acinetobacter meningitis: An institutional experience of 72 cases. Neurosurg Focus. 2019;47(2):1–7.
 36. Ioannou P, Mavrikaki V, Kofteridis DP. Infective endocarditis by Acinetobacter species: a systematic review. J Chemother [Internet]. 2021;33(4):203–15. Available from: <https://doi.org/10.1080/1120009X.2020.1812804>
 37. Lahmidi I, Charmake D, Elouafi N, Bazid Z. Acinetobacter Baumannii Native Valve Infective Endocarditis: A Case Report. Cureus. 2020;12(11):1–5.
 38. Murat Yasar T, Meral Merve O, Mevlut C. Acinetobacter Iwoffii Peritonitis in a Patient on Automated Peritoneal Dialysis: A Case Report and Review

- of the Literature. *Case Reports Nephrol Dial.* 2020;2017(3):2.
39. Kang JY, Song JH, Nam KY, Lee SU, Lee SJ. Polymicrobial keratitis of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Ochrobactrum anthropi*. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2019;60(5):474–9.
 40. Zhang W, Aurosree B, Gopalakrishnan B, Balada-Llasat J-M, Pancholi V, Pancholi P. The role of LpxA/C/D and pmrA/B gene systems in colistin-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *Front Lab Med [Internet].* 2017;1(2):86–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.flm.2017.07.001>
 41. Lin TL, Shu CC, Chen YM, Lu JJ, Wu TS, Lai WF, et al. Like Cures Like: Pharmacological Activity of Anti-Inflammatory Lipopolysaccharides From Gut Microbiome. *Front Pharmacol.* 2020;11(April):1–9.
 42. Ramirez MS, Bonomo RA, Tolmasky ME. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules.* 2020;10(5):2–32.
 43. Singh JK, Adams FG, Brown MH. Diversity and function of capsular polysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019;10:1–8.
 44. Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME. *Acinetobacter baumannii* biofilms: Effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. *Infect Drug Resist.* 2018;11:2277–99.
 45. Sheldon JR, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* can use multiple siderophores for iron acquisition, but only acinetobactin is required for virulence. Vol. 16, *PLoS Pathogens.* 2020. 1–32 p.
 46. Bohac TJ, Fang L, Giblin DE, Wenczewicz TA. Fimsbactin and Acinetobactin Compete for the Periplasmic Siderophore Binding Protein BauB in Pathogenic *Acinetobacter baumannii*. *ACS Chem Biol.* 2019;14(4):674–87.
 47. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol [Internet].* 2018;16(2):91–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
 48. Lewis JM, Deveson Lucas D, Harper M, Boyce JD. Systematic identification and analysis of *Acinetobacter baumannii* type VI secretion system effector and immunity components. *Front Microbiol.* 2019;10:1–23.

49. Elhosseiny NM, Attia AS. Acinetobacter: An emerging pathogen with a versatile secretome review-article. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):1–15.
50. Sawa T, Kooguchi K, Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J Intensive Care.* 2020;8(1):1–13.
51. Rada AM, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas MV. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomédica.* 2019;39:199–220.
52. Royer S, Amaral de Campos P, Araújo BF, Ferreira ML, Gonçalves IR, William da Fonseca Batistão D, et al. Molecular characterization and clonal dynamics of nosocomial blaOXA-23 producing XDR *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One.* 2018;13(6):1–14.
53. Xu C, Bilya SR, Xu W. adeABC efflux gene in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbes New Infect.* 2019;30(2):1–2.
54. Vrancianu CO, Gheorghe I, Czobor IB, Chifiriuc MC. Antibiotic resistance profiles, molecular mechanisms and innovative treatment strategies of *acinetobacter baumannii*. *Microorganisms.* 2020;8(6):1–40.
55. Welsh MA, Taguchi A, Schaefer K, Van Tyne D, Lebreton F, Gilmore MS, et al. Identification of a Functionally Unique Family of Penicillin-Binding Proteins. *J Am Chem Soc.* 2017;139(49):1–9.
56. Barletta R, Pérez L, Castro G, Pujol M, Barletta J, Dueñas Y. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: un reto para la terapeutica actual. *MediSur [Internet].* 2018;16(2):322–34. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2018000200015
57. Bourque G, Burns KH, Gehring M, Gorbunova V, Seluanov A, Hammell M, et al. Ten things you should know about transposable elements 06 Biological Sciences 0604 Genetics. *Genome Biol.* 2018;19(1):1–12.
58. Leal NC, Campos TL, Rezende AM, Docena C, Mendes-Marques CL, de Sá Cavalcanti FL, et al. Comparative Genomics of *Acinetobacter baumannii* Clinical Strains From Brazil Reveals Polyclonal Dissemination and Selective Exchange of Mobile Genetic Elements Associated With Resistance Genes. *Front Microbiol.* 2020;11(June):1–21.
59. Oh MH, Choi CH, Lee JC. The effect of ISAbal-mediated adeN gene

- disruption on *Acinetobacter baumannii* pathogenesis. *Virulence* [Internet]. 2017;8(7):1088–90. Available from: <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1339859>
60. Khurshid M, Rasool MH, Ashfaq UA, Aslam B, Waseem M. Emergence of ISAbal1 harboring carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Pakistan. *Future Microbiol.* 2017;12(14):1261–9.
 61. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos Díaz L. Structural and physiological implications of bacterial cell in antibiotic resistance mechanisms. *Int J Morphol.* 2017;35(4):1214–23.
 62. Pagano M, Martins AF, Barth AL. Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Brazilian J Microbiol.* 2016;47(4):785–92.
 63. Rada Cuentas J. *Acinetobacter* un patógeno actual. *Rev la Soc Boliv Pediatría.* 2016;55(1):29–48.
 64. Pfenning LH, Abreu M De. Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas. In: *Manual de biología de suelos tropicales.* 2011. p. 243–80.
 65. Oordt-Speets AM, Bolijn R, Van Hoorn RC, Bhavsar A, Kyaw MH. Global etiology of bacterial meningitis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2018;13(6):1–16.
 66. Daruich A, Matet A, Moulin A, Kowalczyk L, Nicolas M, Sellam A, et al. Mechanisms of macular edema: Beyond the surface. *Prog Retin Eye Res* [Internet]. 2018;63(3):20–68. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.10.006>
 67. Alimentos T e I de los. RECITEIA: Revisiones de la ciencia. Vol. 8. 2008. p. 1–87.
 68. Gálvez-Iriqui AC, Plascencia-Jatomea M, Bautista-Baños S. Lysozymes: characteristics, mechanism of action and technological applications on the control of pathogenic microorganisms. *Rev Mex Fitopatol Mex J Phytopathol.* 2020;38(3):360–83.
 69. Van Der Zwaluw K, De Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, De Neeling AJ, Schouls LM. 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.* 2015;10(3):1–13.

70. Walker RD. Standards for antimicrobial susceptibility testing. Vol. 60, American journal of veterinary research. 1999. 1034 p.
71. Vivantis. GF-1 Bacterial DNA Extraction User Guide [Internet]. Nucleic Acid Extraction Kit Handbook. 2014. p. 1–8. Available from: https://www.vivanttechnologies.com/images/Resources/roomtempmanual/gf1_bacterial_dna_extraction_kit.pdf
72. Handal R, Qunibi L, Sahouri I, Juhari M, Dawodi R, Marzouqa H, et al. Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Hospitalized Patients in Palestine. *Int J Microbiol.* 2017;2017(2006):1–7.
73. Mostachio AK, Van Der Heidjen I, Rossi F, Levin AS, Costa SF. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding oxacillinases and metallo- β -lactamases in carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. *J Med Microbiol.* 2009;58(11):1522–4.
74. Amelia C, Alejandra S, Beatriz R, Martha R. Herramientas moleculares aplicadas en Ecología: Aspectos teóricos y prácticos. Mexico: INECC. 2014.
75. Fernández-Cuenca F, Gómez-Sánchez M, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Vila J, Bou G, et al. Epidemiological and clinical features associated with colonisation/ infection by *Acinetobacter baumannii* with phenotypic heterogeneous resistance to carbapenems. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;40(3):235–8.
76. Figueiredo S, Poirel L, Papa A, Koulourida V, Nordmann P. Overexpression of the naturally occurring blaOXA-51 gene in *Acinetobacter baumannii* mediated by novel insertion sequence ISAb9. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(9):4045–7.
77. Villalón P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Rubio V, Vindel A, Saez-Nieto JA. Clonal diversity of nosocomial epidemic *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Spain. *J Clin Microbiol.* 2011;49(3):875–82.
78. McMullen AR, Yarbrough ML, Wallace MA, Shupe A, Burnham CAD. Evaluation of genotypic and phenotypic methods to detect carbapenemase production in gram-negative bacilli. *Clin Chem.* 2017;63(3):723–30.
79. Poirel L, Nordmann P. Rapidec carba NP test for rapid detection of carbapenemase producers. *J Clin Microbiol.* 2015;53(9):3003–8.

80. Pierce VM, Simner PJ, Lonsway DR, Roe-Carpenter DE, Johnson JK, Brasso WB, et al. Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2017;55(8):2321–33.
81. Gauthier L, Bonnin RA, Dortet L, Naas T. Retrospective and prospective evaluation of the Carbapenem inactivation method for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *PLoS One.* 2017;12(2):1–12.
82. Simner PJ, Kristie Johnson J, Brasso WB, Anderson K, Lonsway DR, Pierce VM, et al. Multicenter evaluation of the modified carbapenem inactivation method and the carba NP for detection of carbapenemase-producing pseudomonas aeruginosa and acinetobacter baumannii. *J Clin Microbiol.* 2018;56(1):1–10.
83. Aktaş E, Malkoçoğlu G, Otlu B, Çiçek AÇ, Külah C, Cömert F, et al. Evaluation of the Carbapenem Inactivation Method for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria in Comparison with the RAPIDEC CARBA NP. *Microb Drug Resist.* 2017;23(4):457–61.
84. Sun K, Xu X, Yan J, Zhang L. "Evaluation of six phenotypic methods for the detection of carbapenemases in gram-negative bacteria with characterized resistance mechanisms". *Ann Lab Med.* 2017;37(4):305–12.
85. Howard JC, Creighton J, Ikram R, Werno AM. Comparison of the performance of three variations of the Carbapenem Inactivation Method (CIM, modified CIM [mCIM] and in-house method (iCIM)) for the detection of carbapenemase-producing Enterobacterales and non-fermenters. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;21:78–82.
86. Bocanegra P. Caracterización fenotípica y molecular de aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos en un hospital de tercer nivel en Nuevo León. . [Tesis de Doctoral]. Mexico: Universidad de Nuevo León; 2013.
87. Saavedra Trujillo CH, Arias León G, Gualtero Trujillo SM, Leal AL, Saavedra-Rojas SY, Murcia MI. "Factores de riesgo para infección o colonización por *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos en pacientes adultos hospitalizados en Unidades de Cuidado Intensivos", Bogotá, Colombia. *Infectio.* 2016;20(4):238–49.

88. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis*. 2008;46(8):1254–63.
89. Ellis D, Cohen B, Liu J, Larson E. Risk factors for hospital-acquired antimicrobial-resistant infection caused by *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Resist Infect Control* [Internet]. 2015;4(1):2–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13756-015-0083-2>
90. Duszynska W, Rosenthal VD, Szczesny A, Zajackowska K, Fulek M, Tomaszewski J. Device associated –health care associated infections monitoring, prevention and cost assessment at intensive care unit of University Hospital in Poland (2015–2017). *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):1–10.
91. Coelho J, Woodford N, Afzal-Shah M, Livermore D. Occurrence of OXA-58-like carbapenemases in *Acinetobacter* spp. collected over 10 years in three continents. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(2):756–8.
92. Rodríguez Medina NN. Identificación de carbapenemasas en aislamientos clínicos multirresistentes de *Acinetobacter baumannii* [Tesis de Maestría]. Mexico: Instituto Nacional de Salud Pública Escuela de Salud Pública de México Identificación. 2014;1–65.
93. Ning N zhi, Liu X, Bao C mei, Chen S ming, Cui E bo, zhang J ling, et al. Molecular epidemiology of bla OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a single institution over a 65-month period in north China. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2017;17(1):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-016-2110-1>
94. Hu S, Niu L, Zhao F, Yan L, Nong J, Wang C, et al. Identification of *Acinetobacter baumannii* and its carbapenem-resistant gene bla OXA-23-like by multiple cross displacement amplification combined with lateral flow biosensor. *Sci Rep* [Internet]. 2019;3:1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-54465-8>
95. Garcia Lucas T. "Estudio de la Epidemiología Molecular y Resistencia Antibiótica de Aislamientos Clínicos de *Acinetobacter baumannii* del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca". [Tesis de Doctoral]. España: Universidad de Murcia. 2015.
96. Rodríguez CH, Balderrama Yarhui N, Nastro M, Nuñez Quezada T, Castro

- Cañarte G, Ventura RM, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in South America. *J Med Microbiol.* 2016;65(10):1088–91.
97. Sevillano E, Fernández E, Bustamante Z, Zabalaga S, Rosales I, Umaran A, et al. Emergence and clonal dissemination of carbapenem-hydrolysing OXA-58-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Bolivia. *J Med Microbiol.* 2012;61(1):80–4.
98. Vanegas-Múnera JM, Roncancio-Villamil G, Jiménez-Quiceno J. *Acinetobacter baumannii*: Clinical importance, resistance mechanisms and diagnosis. *CES Med.* 2014;28(2):233–46.
99. Levy-Blitchtein S, Roca I, Plasencia-Rebata S, Vicente-Taboada W, Velásquez-Pomar J, Muñoz L, et al. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru article. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):1–10.

X ANEXOS

ANEXO 1

DOCUMENTO DE APROBACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DEL HNERM


"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

CARTA Nº 315 -GRPR-ESSALUD-2019
05 FEB 2019

Lima,

Señorita Interno de Farmacia
SHEYLA GABRIELA DONAYRE VILLANUEVA
Investigador Principal
Presente.-

Asunto: **APROBACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

De mi consideración:

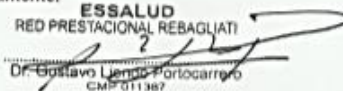
La presente tiene el objeto dar respuesta a su solicitud de Aprobación y Autorización de Ejecución del Estudio Observacional titulado: "PREVALENCIA DE GENES A NIVEL CROMOSÓMICO ASOCIADOS A RESISTENCIA EN CARBAPENÉMICOS DE CEPAS CLÍNICAS DE ACINETOBACTER BAUMANNII, PROCEDENTES DEL HOSPITAL NACIONAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS".

Al respecto, manifestarle que el presente proyecto ha sido evaluado y aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins de la Red Prestacional Rebagliati, el cual vela por el cumplimiento de las directrices metodológicas y éticas correspondientes, incluyendo las buenas prácticas clínicas, los principios de protección de los sujetos de investigación contenidos en la declaración de Helsinki, y con los deberes y responsabilidades estipulado en las normas legales e institucionales vigentes.

En ese sentido, la Gerencia de la Red Prestacional Rebagliati, manifiesta su **Aprobación y Autoriza la Ejecución** del presente proyecto de investigación en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins.

Cabe señalar que una vez ejecutado y concluido el proyecto, deberá presentar el **Informe Final**, a la Oficina de Investigación y Docencia, para conocimiento y fines correspondientes.

Sin otro en particular, quedo de usted.

Atentamente,
ESSALUD
RED PRESTACIONAL REBAGLIATI

Dr. Gustavo Lendo Portocarrero
CMP 011367
GERENTE

GLP/EVCQ /rdm
C.c. Archivo

Área	Año	Correlativo
832	2018	1145

ANEXO 2

Tabla 11. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* de pacientes clínicos procedentes del HNERM

N°	AMK		SAM		FEP		CTX		CAZ		CIP		GEN		IPM		LVX		MEM		TOB		SXT	
	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In	CIM	In
6	> 16	R	-	-	-	-	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
7	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
8	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
9	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
10	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	<= 4	S	> 8	R	> 4	R	> 8	R	<= 4	S	<= 2/38	S
11	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
12	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
13	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
14	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
15	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
16	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	<= 4	S	> 8	R	> 4	R	> 8	R	<= 4	S	<= 2/38	S
17	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R

18	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
19	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
20	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
21	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
22	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
23	> 32	R	> 16/8	R	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
24	> 32	R	16/8	I	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	> 8	R	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R
25	32	I	<= 8/4	S	> 8	R	> 16	N/R	> 16	R	> 2	R	8	I	> 8	R	> 4	R	> 8	R	> 8	R	> 2/38	R

* N°: Número de muestra adaptado para el estudio; CIM: concentración inhibitoria mínima mcg/mL, S: sensible, I: intermedio, R: resistente, N/R: No informado, -: no probado, AMK: Amicacina; SAM: Ampicilina+Sulbactam; FEP: Cefepima; CTX: Cefotaxima;; CIP: Ciprofloxacina; GEN: Gentamicina; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem; LVX: Levofloxacina; TOB: Tobramicina; SXT: Trimetoprima+sulfametoxazol; MEM: Meropenem

ANEXO 3

Tabla 12. Características clínico-epidemiológicas de las cepas clínicas de *A. baumannii* procedentes del HNERM

N°	Muestra	Sexo	Procedencia	Servicio	FRSM
6	Orina	M	H	UCI 7B	17/06/2019
7	Secreción Bronquial	M	H	02C UCI	19/06/2019
8	Sangre	M	H	13B UCI Neurocirugía	19/06/2019
9	Secreción Bronquial	M	H	02C UCI	22/06/2019
10	Pta. CVC	F	H	02C UCI	22/06/2019
11	Secreción Bronquial	M	H	02C UCI	22/06/2019
12	Secreción Bronquial	M	H	UCI Pediátrica	22/06/2019
13	Sangre	M	H	13B UCI Neurocirugía	27/06/2019
14	Secreción Bronquial	M	E	Sala de Emergencia	27/06/2019
15	Secreción Bronquial	M	H	02C UCI	04/07/2019
16	Sangre	M	H	13B UCI Neurocirugía	25/07/2019
17	Secreción traqueal	M	E	Sala de Emergencia	05/08/2019
18	Secreción Bronquial	M	E	Sala de Emergencia	05/08/2019
19	Secreción Bronquial	F	H	02C UCI	06/08/2019
20	Secreción Bronquial	F	H	02C UCI	09/08/2019

21	Sangre	M	E	Sala de Emergencia	13/08/2019
22	Secreción Bronquial	M	H	UCI 7B	28/08/2019
23	Secreción Bronquial	M	H	UCI 7B	19/09/2019
24	Secreción de Herida	M	H	02C UCI	20/09/2019
25	Secreción Bronquial	M	H	UCI 7B	30/09/2019

* N°: Número de muestra adaptado para el estudio, M: Masculino, F: Femenino, H: Hospitalización, E: Emergencia, FRSM: Fecha de recepción en el Servicio de Microbiología del HNERM

ANEXO 4

Tabla 13. Matriz de operacionalización de variables

Variables independientes		Definición Conceptual	Definición Operacional	Método		Indicador	Categorías	Criterios de medición	Tipo	Escala de medición
Carbapenemasas	OXA 23 OXA 24 OXA 58	Genes que codifican enzimas capaces de hidrolizar carbapenems	Identificación de la producción de enzimas mediante los genes que las codifican a través de pruebas fenotípicas y técnica de PCR.	Fenotípico	MIC	Valor del diámetro del halo de inhibición	P	16-15 mm	C	N
							A	≥ 19 mm		
							I	16-18 mm		
				Genotípico	Técnica de PCR - electroforesis	Peso del amplicón	OXA 23	501	C	N
							OXA24	246	C	N
							OXA58	599	C	N

P: Presencia, A: Ausencia, I: Indeterminado, C: Cualitativa, N: Nominal