

Lectura interpretativa del antibiograma en el
complejo *Acinetobacter/calcoaceticus baumannii*

Jimmy Campoverde Arias & Eduardo Villacís

LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
1. GENERALIDADES EN <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	1
1.1. Principales sitios de infección por <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	1
1.2. Clasificación del orden <i>Pseudomonadales</i>	3
1.3. Identificación de <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	4
2. <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	13
2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	13
2.2. <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	14
2.3. <i>Acinetobacter pittii</i>	15
2.4. <i>Acinetobacter nosocomialis</i>	16
2.5. <i>Acinetobacter seifertii</i>	16
2.6. <i>Acinetobacter dijksboorniae</i>	17
3. RESISTENCIA BACTERIANA EN <i>Acinetobacter calcoaceticus/ baumannii complex</i>	19
3.1. Resistencia intrínseca	21
3.1.1. Enzimas que inactivan antibióticos	21
3.1.2. Resistencia mediada por bomba de eflujo	25
3.1.3. Proteínas de la Membrana externa	26
3.2. Resistencia adquirida	27
3.2.1. Alteración del sitio diana o de las funciones celulares por mutaciones genéticas	27
3.2.2. Enzimas modificadoras de aminoglucósidos	28
3.2.3. Resistencia a quinolonas	29
3.3. Epidemiología	29
4. LECTURA INTERPRETATIVA DEL ANTIBIOGRAMA	32
4.1. Disposición de discos y antibióticos recomendados para estudios de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby Bauer en <i>Acinetobacter spp.</i>	32
4.2. Lectura interpretativa del antibiograma en <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	33
4.2.1. Identificación fenotípica de mecanismos de resistencia a betalactámicos	35
4.2.2. Identificación fenotípica de mecanismos de resistencia en no betalactámicos	43
4.3. Comentarios de reporte	49
5. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	53
5.1. Pruebas complementarias	53
5.1.1. E-test	53
5.1.2. Prueba de Carba NP modificada (CarbAcineto NP)	54
5.1.3. Represión de carbapenémicos	55
5.1.4. Test EDTA en <i>Acinetobacter</i>	57
5.1.5. Prueba de Hodge modificada	58
6. ANEXOS	60
6.1. Otros fenotipos de resistencia presentes en <i>Acinetobacter baumannii</i>	60
6.2. Fenotipo clásico en <i>A. baumannii</i>	60
6.3. <i>A. baumannii</i> hiperproductora de cefalosporinasa AmpC endógena.	61
6.4. <i>A. baumannii</i> productora de penicilinas de espectro reducido	61
6.5. <i>A. baumannii</i> hiperproductora de cefalosporinasa AmpC endógena. y productora de penicilinas TEM-1 adquirida	61
6.6. <i>A. baumannii</i> productora de betalactamasa de espectro extendido VEB-1.	62
6.7. <i>A. baumannii</i> productora de betalactamasa de espectro extendido RTG-4.	62
6.8. <i>A. baumannii</i> productora de carbapenemasa adquirida OXA-23	63
6.9. <i>A. baumannii</i> productora de carbapenemasa adquirida OXA-40	63
6.10. <i>A. baumannii</i> productora de carbapenemasa adquirida IMP-4	64
7. Referencias	65

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Factores y fuentes de riesgo y colonización por <i>Acinetobacter spp.</i>	2
Tabla 2	Taxonomía de <i>Acinetobacter spp.</i>	3
Tabla 3	Características para la identificación presuntiva de <i>Acinetobacter spp.</i>	9
Tabla 4	Especies de <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	12
Tabla 5	Muestras clínicas y fuentes en las que se aisló <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	18
Tabla 6	Mecanismos de resistencia en <i>A. baumannii</i> para antibióticos β -lactámicos y no β -lactámicos	20
Tabla 7	Resistencias intrínsecas a fármacos en <i>Acinetobacter spp.</i>	21
Tabla 8	Clasificación de las β -lactamasas bacterianas	22
Tabla 9	Clasificación de betalactamasas de espectro extendido	23
Tabla 10	Ubicación de genes de resistencia en aminoglucósidos	28
Tabla 11	Fármacos utilizados para la determinación de perfiles de susceptibilidad antibiótica en <i>Acinetobacter spp.</i>	33
Tabla 12	Posibles fenotipos de resistencia en <i>Acinetobacter spp.</i>	34
Tabla 13	Fenotipos de resistencia en antibióticos betalactámicos presentes en <i>Acinetobacter baumannii</i>	37
Tabla 14	Fenotipos de resistencia en antibióticos no betalactámicos presentes en <i>Acinetobacter baumannii</i> 46	
Tabla 15	Cepas control que se deben usar según la CLSI y EUCAST	50
Tabla 16	Antimicrobianos recomendados según el sitio de infección	50
Tabla 17	Reporte para <i>Acinetobacter spp.</i> Multirresistente.....	51
Tabla 18	Interpretación de los Resultados de la prueba de inactivación a carbapenémicos modificada	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Clasificación del orden Pseudomonadales.....	4
Figura 2 Aislamiento de <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i> en agar MacConkey.....	5
Figura 3 Aislamiento de <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i> en agar sangre.....	6
Figura 4 Diagrama de identificación presuntiva de <i>Acinetobacter spp.</i>	7
Figura 5 Mapa de identificación fenotípica en <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex</i>	8
Figura 6 Microorganismos no fermentadores oxidasa negativo e inmóviles.....	10
Figura 7 Factores de virulencia en <i>Acinetobacter spp.</i>	14
Figura 8 Árbol de decisión diagnóstica para la identificación de mecanismos de resistencia en <i>Acinetobacter baumannii-betalactámicos</i>	36
Figura 9 Disposición de discos antibióticos placa 1 <i>Acinetobacter baumannii</i> - Betalactámicos.....	38
Figura 10 Hiperproducción de AmpC + Penicilinas de espectro reducido.....	39
Figura 11 Hiperproducción de AmpC + BLEE.....	40
Figura 12 Betalactamasas de clase D hidrolizantes de carbapenem (CHDL) / O no enzimático.....	41
Figura 13 Betalactamasa de espectro extendido BLEE.....	42
Figura 14 Penicilinas de espectro reducido.....	43
Figura 15 Árbol de decisión para la identificación de mecanismos de resistencia en <i>Acinetobacter baumannii</i> - Fluoroquinolonas.....	44
Figura 16 Árbol de decisión diagnóstica para la identificación de mecanismos de resistencia en <i>Acinetobacter baumannii</i> -Aminoglucósidos.....	45
Figura 17 Disposición de discos antibióticos placa 2 <i>Acinetobacter baumannii</i> - no betalactámicos.....	48
Figura 18 Modificación del antimicrobiano por acción de la enzima <i>aph A6/APH (3')-VI+</i> Mutación en <i>gyrA</i> ± bombas de expulsión.....	48
Figura 19 Modificación del antimicrobiano por acción de EMA+ acción de bomba de eflujo (<i>AdeABC</i>)- Mutaciones en <i>gyrA</i> y <i>parC</i> + bombas de expulsión.....	49
Figura 20 E-test MBL.....	54
Figura 21 Prueba de represión de carbapenémicos positiva.....	57
Figura 22 Test de EDTA positivo.....	58
Figura 23 Prueba de hodge.....	59

1. GENERALIDADES EN *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*

A lo largo de los años, *Acinetobacter* ha experimentado varios cambios en su taxonomía hasta obtener su denominación actual de *Acinetobacter spp.* Estas bacterias pertenecen al orden *Pseudomonadales*, de la familia *Moraxellaceae* y del género *Acinetobacter* que contiene a más de 50 especies, varias de ellas estrechamente relacionadas entre sí (Rada, 2016). Además, incluye a microorganismos ubicuos capaces de sobrevivir en condiciones ambientales adversas y que habitan en la tierra, agua e incluso colonizan la piel humana. Inicialmente, los *Acinetobacter spp.* fueron considerados como patógenos comensales oportunistas, de baja virulencia y mínima importancia clínica; no obstante, la capacidad de resistencia que tienen los convierte en un potencial patógeno causante de infecciones asociadas con la atención en salud (IAAS) (Wong et al., 2017).

1.1. Principales sitios de infección por *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*

Por lo general, las infecciones ocasionadas por *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex* (Complejo ACB) son de carácter nosocomial y se presentan con frecuencia en pacientes inmunocomprometidos y en aquellos con estancia prolongada en unidades de cuidados Intensivos (UCI). En su mayoría, dichas infecciones son causadas por *Acinetobacter baumannii*, la especie clínicamente más relevante dentro del complejo, aunque también tienen gran participación *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis*, *Acinetobacter seifertii*, *Acinetobacter dijksboorniae* y la especie ambiental *Acinetobacter calcoaceticus*, que poseen múltiples factores de virulencia que aportan a su diseminación, colonización y persistencia en el ambiente hospitalario (Shebl y Gulick, 2022; Rodríguez et al., 2016).

Los microorganismos del complejo ACB se han convertido así en importantes patógenos oportunistas que habitan en distintos ambientes, por ejemplo *A. baumannii*, *A. pittii* y *A. nosocomialis* se encuentran por lo general en el ambiente hospitalario, mientras que *A. calcoaceticus* está presente en fuentes líquidas y el suelo (Ayoub y Hammoudi, 2020). En términos generales, entre las infecciones más relevantes de este complejo es posible nombrar a la neumonía intrahospitalaria (NIH), bacteriemia, sepsis e infecciones relacionadas con catéter venoso central (Kyriakidis et al., 2021). Con respecto a los factores de riesgo asociados con IAAS sobresalen los pacientes sometidos a ventilación mecánica invasiva, aquellos

inmunocomprometidos, quienes presentan enfermedades crónicas, personas con tratamiento con fármacos de amplio espectro, individuos con traumatismo mayor, con traumatismo por quemadura y los de estancia en UCI. Cabe indicar que estos factores cambian según el patrón de susceptibilidad presente en cada microorganismo (Rada, 2016; Dijkshoorn et al., 2007) (Tabla 1).

Tabla 1

Factores y fuentes de riesgo y colonización por Acinetobacter spp.

Factores y fuentes de riesgo, colonización o infección	
Factores	Estancia hospitalaria prolongada
	Pacientes con ventilación mecánica
	Exposición a fármacos antimicrobianos de amplio espectro
	Procedimientos invasivos/ traumatismos
	Comorbilidades
	Pacientes inmunocomprometidos
Fuentes	Manos del personal de salud
	Equipos de terapia respiratoria
	Alimentos
	Colchones, almohadas, cortinas, camas, mantas
	Manijas
	Piso de hospital

Nota. Datos obtenidos de Manchanda et al. (2010) y Dijkshoorn et al. (2007)

De las infecciones antes nombradas, la neumonía intrahospitalaria (NIH) es una de las más comunes del complejo ACB. Aparece aproximadamente 48 horas posterior al ingreso del paciente a la unidad de salud y, por lo general, afecta el tracto respiratorio inferior: tráquea, bronquios o pulmones. Además, está asociada al uso de dispositivos de ventilación mecánica (Radar, 2016; Shebl y Gulick, 2022).

También las infecciones a nivel del torrente sanguíneo suelen relacionarse con el uso de catéter venoso central y tienen un alto porcentaje de frecuencia en el ambiente hospitalario; tal es su incidencia que en Estados Unidos más de un tercio de las muertes por IAAS están vinculadas con este hecho (Ferrer y Almirante, 2014). La mayoría de estas infecciones son originadas por microorganismos nosocomiales multirresistentes del tipo no fermentador, como *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter spp.*, y están relacionadas directamente con el paciente, el tipo de catéter y el área de hospitalización (Alsan y Klompas, 2010).

Por otra parte, no hay que dejar de nombrar a la especie *Acinetobacter baumannii*, que es una de las más reportadas dentro del complejo ACB al ser causante de bacteriemia (otra infección

común de este complejo) y afectar principalmente a pacientes sometidos a procedimientos invasivos y a quienes están con ventilación mecánica en UCI (Rada, 2016; Ho et al., 2020).

1.2. Clasificación del orden *Pseudomonadales*

El orden bacteriano *Pseudomonadales* está conformado por un extenso grupo de bacterias Gram negativas, entre ellas las de la clase *Gammaproteobacteria* y sus familias *Pseudomonadaceae* y *Moraxellaceae*, mismas que contienen bacterias de interés clínico, como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (Rodríguez et al., 2016) (Tabla 2).

Tabla 2

Taxonomía de Acinetobacter spp.

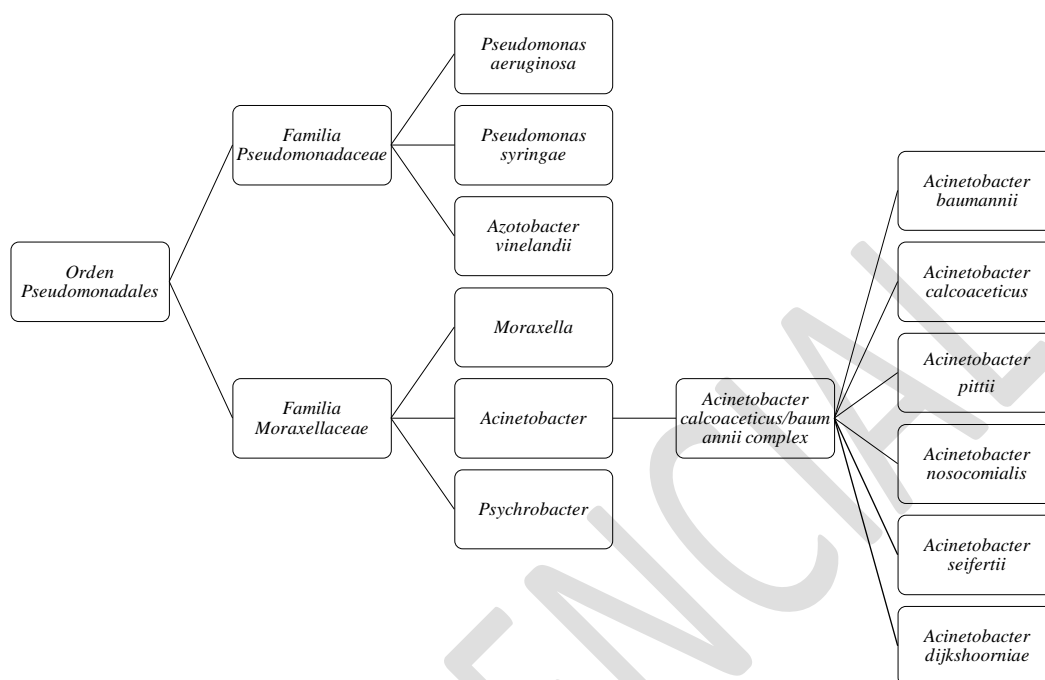
	Clasificación
Dominio	Bacteria
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Pseudomonadales</i>
Familia	<i>Moraxellaceae</i>
Género	<i>Acinetobacter</i>

Nota. Datos obtenidos de National Center of Biotechnology Information (NCBI, 2021) y Rodríguez et al. (2016).

Entre las bacterias que hacen parte de la familia *Pseudomonadaceae* están las *Pseudomonas aeruginosa*, importante patógeno nosocomial, y la *Pseudomonas syringae*, fitopatógeno responsable de pérdidas en cultivos. En cambio, en la familia *Moraxellaceae* hay varios géneros bacterianos de gran importancia clínica, por ejemplo *Moraxella*, *Acinetobacter spp.* y *Psychrobacter* (Cutíño-Jiménez y Peña, 2019) (Figura 1).

Figura 1

Clasificación del orden Pseudomonadales



Nota. Datos obtenidos de Liao et al. (2020), Cosgaya et al. (2016) y Nemeč et al. (2015)

1.3. Identificación de *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*

Acinetobacter baumannii ocupa el segundo lugar de los no fermentadores aislados en los laboratorios de microbiología, con una frecuencia significativamente menor en contraste con *Pseudomonas aeruginosa*. Su discriminación de las otras especies del complejo ACB es difícil basándose únicamente en pruebas bioquímicas, dado que sus especies poseen características similares. Es por esta razón que su identificación a nivel fenotípico debe hacer referencia a la nomenclatura de *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*, pero solo cuando su identificación señala *A. baumannii* o a cualquier especie dentro del complejo. Entre los métodos de identificación fenotípica se encuentran las técnicas microscópicas, macroscópicas, pruebas bioquímicas y perfiles de resistencia antibiótica (Nemeč et al., 2015; Vijayakumar et al., 2019).

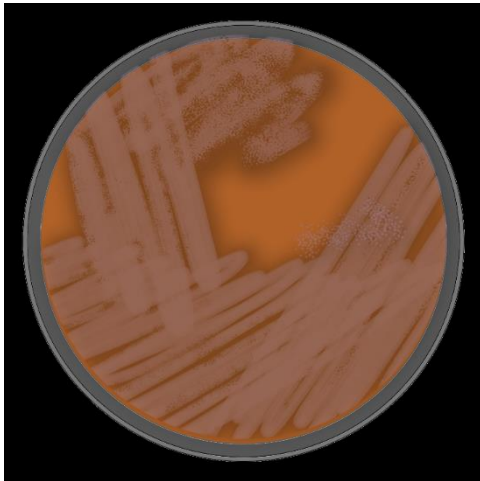
En lo que respecta a pruebas microscópicas, el uso de tinciones diferenciales y la identificación de las características morfológicas ayudan a tener un reconocimiento bacteriano preliminar (Ayoub y Hammoudi, 2020). Por ejemplo, *Acinetobacter spp.* se presentan bajo el microscopio

como Gram negativos, con morfología coco bacilar, inmóviles y dispuestos o no en parejas. En múltiples ocasiones pueden inicialmente identificarse de manera errónea como cocos Gram positivos en muestras clínicas y en frotis preparados a partir de frascos de hemocultivo positivos (Washington et al., 2008).

Por otro lado, las técnicas macroscópicas consisten en un análisis directo de las colonias aisladas en el medio de agar y se basan específicamente en características como el tamaño, forma, consistencia, color y pigmento (Bou et al., 2011). En ese sentido, cabe mencionar que el aspecto de las *Acinetobacter spp.* y de todas las especies del complejo ACB guarda un gran parecido con las colonias de algunas enterobacterias y alcanzan hasta un tamaño promedio de entre 1 a 3 mm por colonia. Es así que en agar MacConkey poseen un tono ligeramente rosado y en agar sangre las colonias son opacas y sin pigmentación (Rodríguez et al., 2016; Washington et al., 2008) (Figuras 2 y 3).

Figura 2

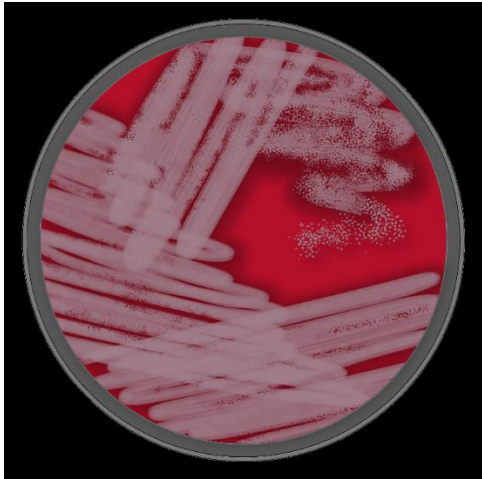
Aislamiento de Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex en agar MacConkey



Nota. Aislamiento de Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex en agar MacConkey.

Figura 3

Aislamiento de Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex en agar sangre



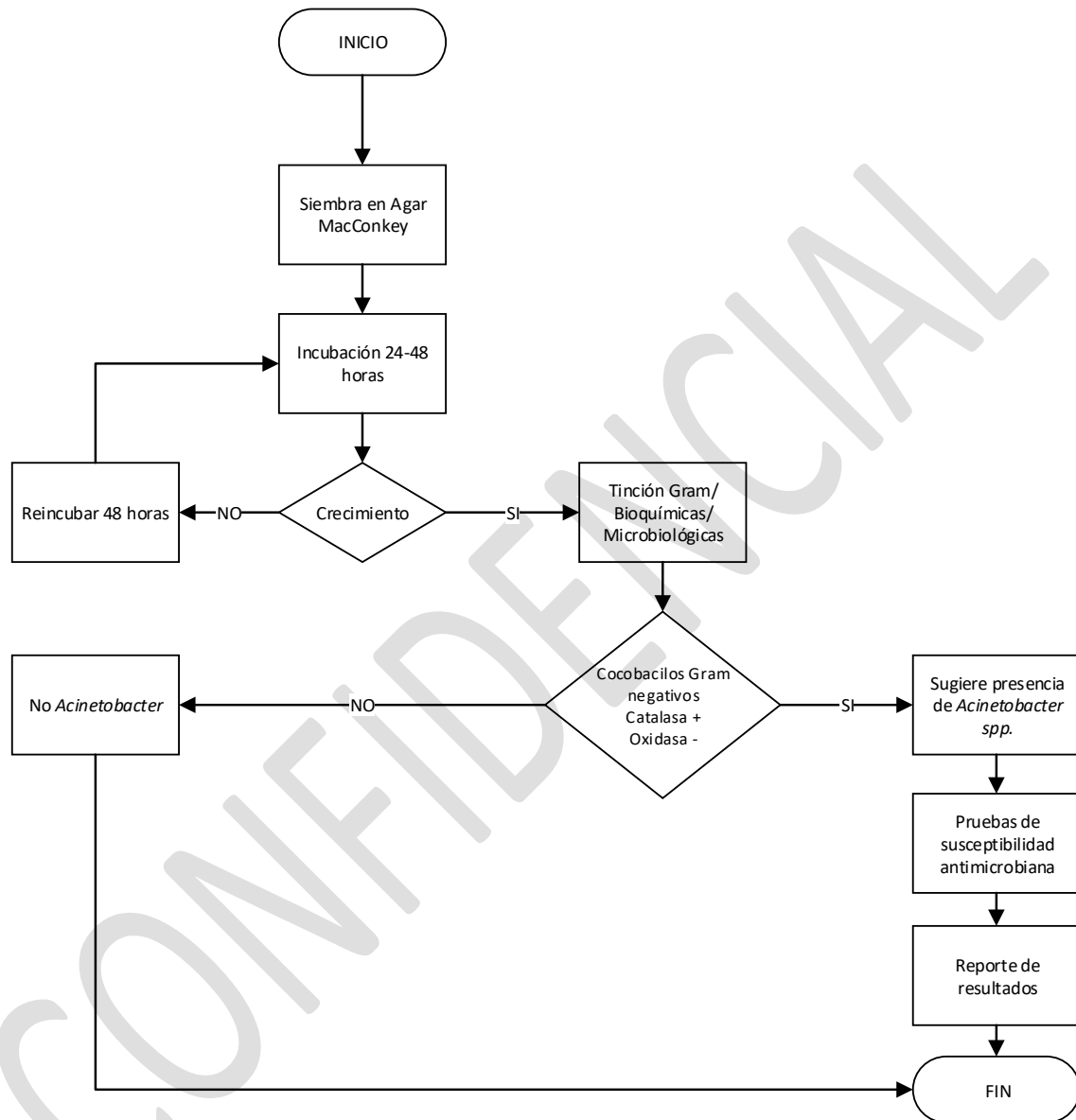
Nota. *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex* en agar sangre.

Para lograr el desarrollo de *Acinetobacter spp.* se debe considerar temperaturas óptimas de crecimiento -entre 20 °C a 44 °C- y medios de cultivo bacteriológicos de uso común, como agar MacConkey, TSA y agar nutritivo. Además, es posible utilizar medios diferenciales que cuentan con mayor selectividad para facilitar el aislamiento del microorganismo al momento de analizar muestras de importancia clínica, por ejemplo el medio de Leeds *Acinetobacter* (LAM) que es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano no deseado y aislar cepas de *Acinetobacter spp.* de los grupos de ADN 1, 2, 3 y 13 (Jawad et al., 1994).

Por otro lado, los test bioquímicos ayudan a realizar una identificación presuntiva al ser utilizados en conjunto con las pruebas macroscópicas y microscópicas. Existen un sinnúmero de métodos bioquímicos y paneles para identificar fenotípicamente a ciertos microorganismos, por ejemplo las pruebas basadas en el metabolismo que pueden ser manuales o automatizadas y en donde son utilizados equipos que permiten evidenciar el género, especie y perfil de sensibilidad antibiótica del microorganismo (Asif et al., 2018). A continuación, la Figura 4 expone un algoritmo de guía para la identificación presuntiva de *Acinetobacter spp.*

Figura 4

Diagrama de identificación presuntiva de *Acinetobacter* spp.

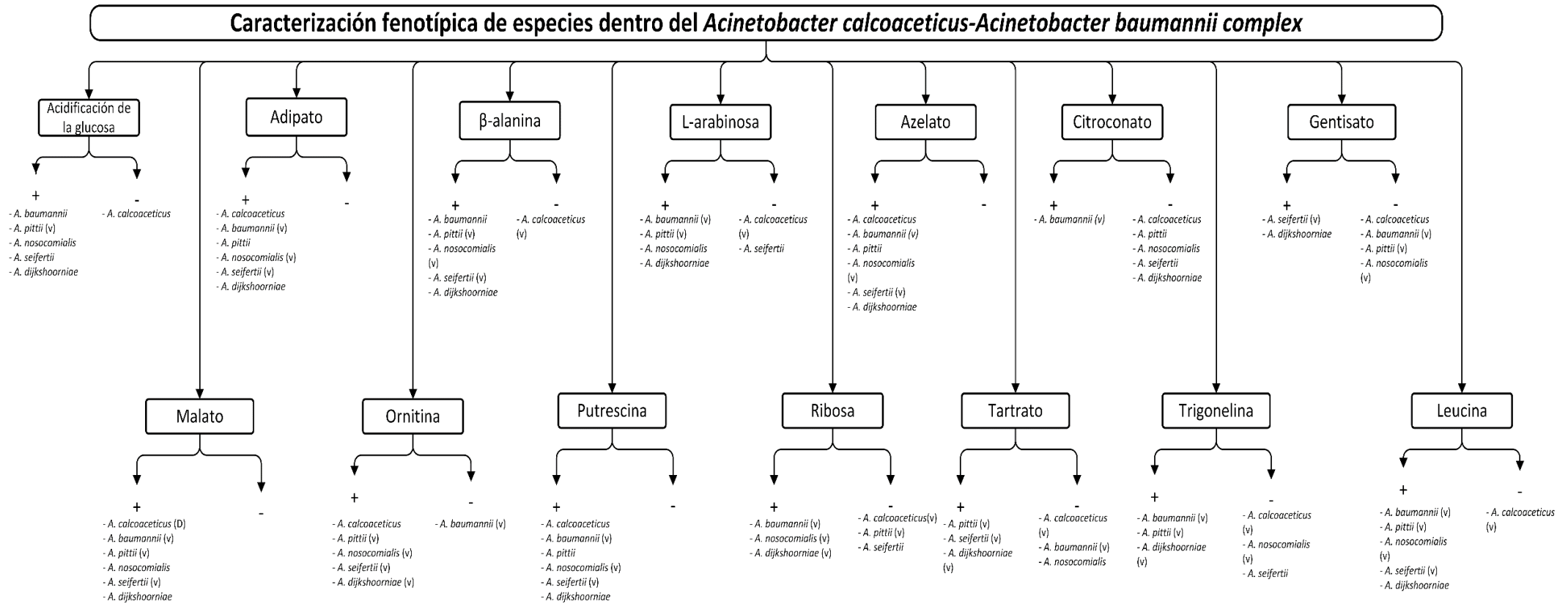


Nota. Datos obtenidos de Oteo et al. (2017) y Marcos (s.f.).

En el caso del complejo ACB, varios equipos hacen uso de taxones mixtos debido a que su perfil bioquímico es el mismo para todas las especies que lo conforman. Es importante enfatizar que es necesario aplicar pruebas complementarias para la identificación definitiva de especies debido a que varias de ellas comparten características fenotípicas similares (Vijayakumar et al., 2019) como lo muestra la Figura 5.

Figura 5

Mapa de identificación fenotípica en *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii* complex



Nota. D: dudoso, V: variable. Datos obtenidos de Nemeč et al. (2011), Vijayakumar et al., (2019) y Washington et al. (2008).

Con respecto a las características microbiológicas de *Acinetobacter spp.*, estas bacterias se identifican como microorganismos estrictamente aeróbicos, no exigentes, de catalasa positiva, oxidasa negativa, no fermentan la glucosa, son negativos a la producción de citocromo oxidasa, poseen resistencia a la penicilina y cuentan con una increíble capacidad de usar fuentes de carbono de múltiples compuestos orgánicos (Ayoub y Hammoudi, 2020; Washington et al., 2008). De acuerdo a Oteo et al. (2017) es necesario tomar en cuenta que la identificación definitiva a nivel de genoespecies requiere métodos moleculares o de proteómica, como MALDI-TOF. A continuación, la Tabla 3 expone las características para la identificación presuntiva de *Acinetobacter spp.* y en la Figura 6 puede observarse un esquema de los microorganismos no fermentadores oxidasa negativa e inmóviles.

Tabla 3

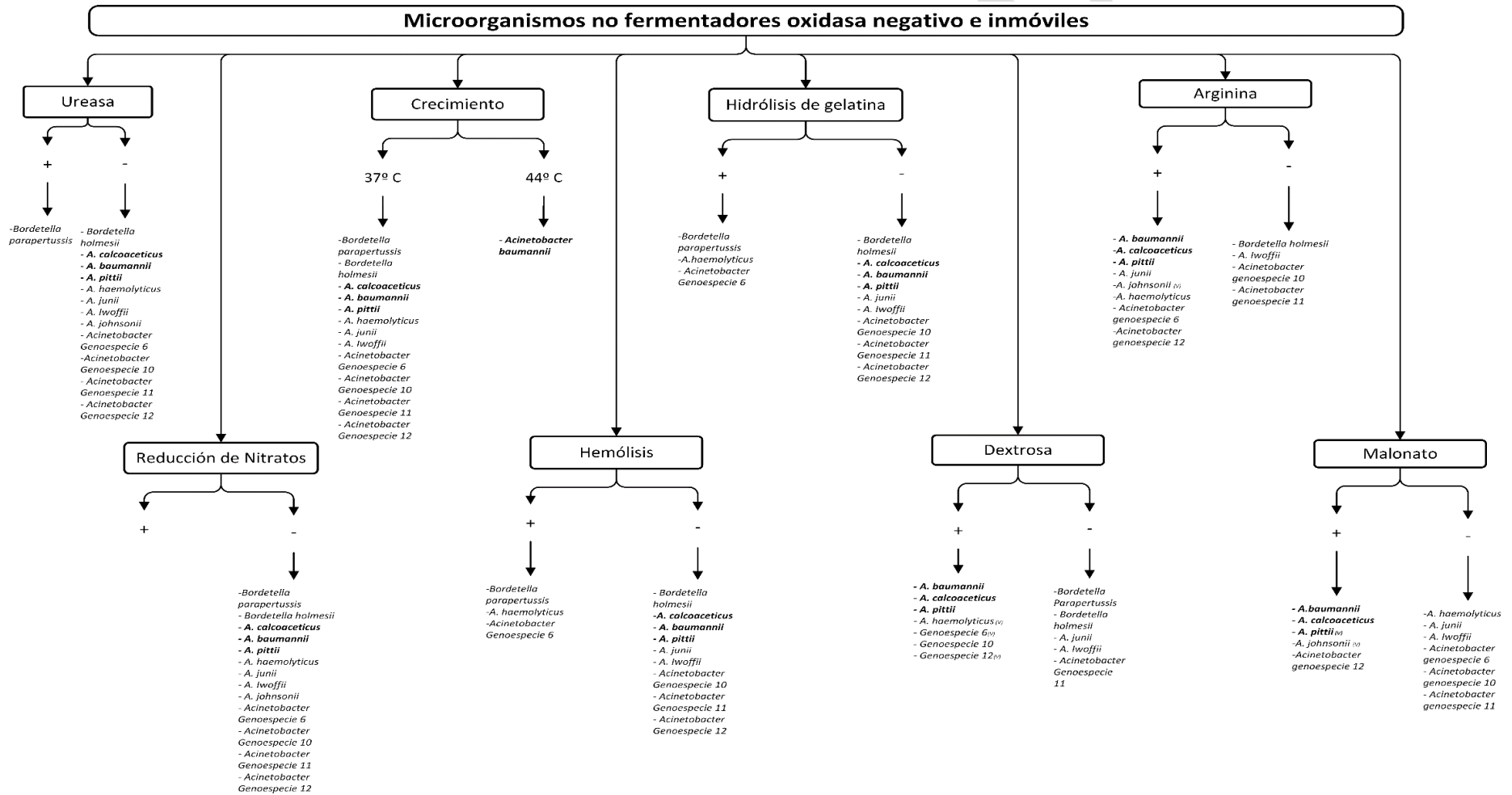
Características para la identificación presuntiva de Acinetobacter spp.

Prueba bioquímica/microbiológica/microscópica/macrocópica	Características
Oxidasa	-
Catalasa	+
Motilidad	-
Pigmentación	+
Crecimiento en Agar MacConkey	+
NO3 reducido	-
Morfología	Coco bacilar
Respiración	Aeróbica estricta

Nota. Datos obtenidos de Washington et al. (2008)

Figura 6

Microorganismos no fermentadores oxidasa negativo e inmóviles



Nota. Datos obtenidos de Washington et al. (2008).

Actualmente existe una amplia gama de pruebas para la identificación definitiva del principal patógeno de interés clínico y, en general, de las especies del complejo ACB, que van desde métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) hasta espectrometría de masas de tiempo de vuelo de desorción-ionización láser asistida por matriz (MALDITOF- MS). De manera más específica, hay varias técnicas de tipificación en *Acinetobacter spp.* que conllevan a una eficiente monitorización de brotes hospitalarios, generalmente causados por *A. baumannii* multirresistente, por ejemplo la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), el polimorfismo de longitud de fragmento amplificado (AFLP) y la tipificación del gen *bla_{OXA-51}* (Rolain et al., 2016). No obstante, el esquema de hibridación ADN-ADN, sugerido por Bouvet y Grimont (1986), aún se mantiene como el método de identificación válido para la detección de varias especies de *Acinetobacter spp.*

De las técnicas antes mencionadas, el polimorfismo de longitud de fragmento amplificado (AFLP) es bastante útil para la identificación de *Acinetobacter spp.* y habitualmente utilizado en estudios epidemiológicos a gran escala, pero no para la identificación de pequeños brotes. Este método consiste en marcar los fragmentos amplificados, someterlos a electroforesis en gel de agarosa para producir huellas dactilares de ADN de alta resolución y así identificar la especie de interés; este proceso cuenta con un alto poder discriminatorio según el tipo de microorganismo. No obstante, hay que reconocer que desde el punto de vista técnico se considera un método costoso y complejo (Fernández et al., 2013).

Por otra parte, uno de los métodos para la identificación y discriminación de *Acinetobacter baumannii* es identificar el gen intrínseco *bla_{OXA-51}* (o *bla_{OXA-51} like*) que se ha encontrado en la gran mayoría de las cepas aisladas de esta especie, por lo que es concebido como un marcador de *A. baumannii* y puede utilizarse como un método de discriminación dentro del complejo ACB (Hamidian y Hall, 2013; Wang et al., 2014). No obstante, la presencia de secuencias de inserción, como IS *Aba1*, limita el uso de este gen al momento de identificar a esta especie (Da Silva y Domingues, 2016).

Una de las técnicas *gold standard* para la identificación de especies desconocidas es la secuenciación del gen *16S rRNA*. Sin embargo, como lo indican Vijayakumar et al. (2019), la desventaja de este gen en *Acinetobacter spp.* es que se encuentra demasiado conservado para diferenciar entre las especies genómicas que están estrechamente relacionadas en el complejo ACB y que se encuentran detalladas en la Tabla 4.

Tabla 4*Especies de Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*

Género	Especie
<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>A. baumannii</i>
	<i>A. calcoaceticus</i>
	<i>A. nosocomialis</i>
	<i>A. pittii</i>
	<i>A. seifertii</i>
	<i>A. dijkschoorniae</i>

Nota. Tomado de NCBI (2021).

El método considerado apropiado para identificar especies de *Acinetobacter spp.* es la secuenciación del *rpoB* (gen de la subunidad β de la ARN polimerasa) que ha sido investigado como biomarcador de diagnóstico debido a su alta variabilidad (Rodríguez et al., 2016; Wang et al., 2014).

CONFIDENCIAL

2. *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*

La denominación de *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex* fue propuesta inicialmente por Gerner-Smidt et al. (1991). En ese entonces, este grupo de bacterias estaba conformado por cuatro especies genómicas altamente relacionadas entre sí: *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter pittii* y *Acinetobacter nosocomialis*, todas dentro del género *Acinetobacter spp.* Más adelante, en 1993, se informó de dos especies genómicas adicionales, *Acinetobacter dijkschoorniae* y *Acinetobacter seifertii*, la primera muy cercana a las especies *A. calcoaceticus* y *A. pittii* y la segunda cercana a *A. nosocomialis*. Todas las especies dentro de este complejo han sido recuperadas de muestras clínicas y otras fuentes, como suelo, agua y equipo hospitalario (Nemec et al., 2011; Vijayakumar et al., 2019).

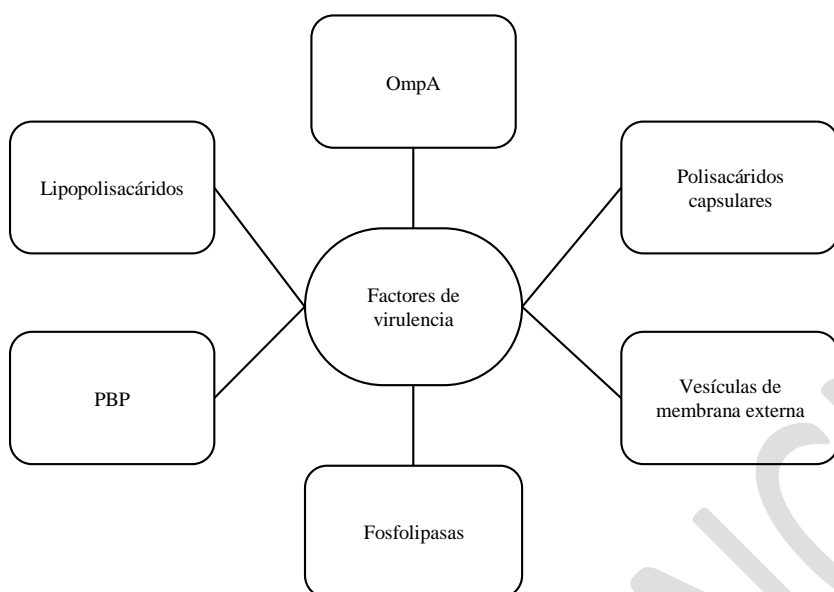
2.1. *Acinetobacter baumannii*

La taxonomía de *Acinetobacter spp.* ha experimentado cambios significativos a lo largo del tiempo, pues originalmente fue descrita como *Micrococcus*, pero la designación de *A. baumannii* no fue formalizada sino hasta 1986 (Bouvet y Grimont, 1986). *Acinetobacter baumannii* es la especie clínicamente más relevante dentro del género *Acinetobacter spp.* y dentro del complejo ACB debido a que produce infecciones nosocomiales: bacteriemia, infecciones del tracto urinario, meningitis y neumonía asociada a ventilador. Es considerada como un patógeno de prioridad crítica por lo que es requerido de manera urgente el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas (Fernández Cuenca et al., 2018; Kyriakidis et al., 2021).

El hecho de que *A. baumannii* sea un gran causante de infecciones nosocomiales se debe sustancialmente a su genoma plástico y la capacidad que tiene de mutar rápidamente ante estímulos que ocasionan estrés en sus funciones biológicas, sean estos productos o no de la acción de antimicrobianos (Ayoub y Hammoudi, 2020). Además, han sido descubiertos factores de virulencia fundamentales como la capacidad hidrofóbica de su superficie celular, enzimas, polisacáridos de limo tóxico, verotoxinas, sideróforos, proteínas de la membrana externa, la formación de biopelículas entre otros detallados en la Figura 7.

Figura 7

Factores de virulencia en *Acinetobacter spp.*



Nota. Datos obtenidos de Rodríguez et al., (2016).

La resistencia intrínseca a los antibióticos permite que *A. baumannii* sea inmune ante varias familias de fármacos, hecho que también lo convierte en uno de los patógenos nosocomiales más importantes, con gran impacto en el ambiente hospitalario y de gran inclinación al desarrollo de multiresistencia, resistencia extendida y panresistencia (Harding et al., 2018; Alsan y Klompas, 2010; Kyriakidis et al., 2021).

2.2. *Acinetobacter calcoaceticus*

Acinetobacter calcoaceticus es una especie del género *Acinetobacter spp.* -parte del complejo ACB- que ha sido aislada de muestras de suelo, agua y en raras ocasiones de muestras clínicas. Es considerado un microorganismo ambiental y no es común que esté implicado en infecciones hospitalarias o adquiridas en la comunidad; no obstante, cuando aparece, suele hacerlo en pacientes con inmunosupresión (Nemec et al., 2011).

En Líbano fue registrado el caso de un paciente con agammaglobulinemia congénita, quien al suspender el tratamiento con infusiones de inmunoglobulina se volvió propenso a contraer infecciones por microorganismos atípicos. En este caso, la característica de la cepa aislada fue la susceptibilidad, pues era sensible a varios antimicrobianos de uso empírico, hecho que

demuestra que la infección fue adquirida en la comunidad y no en el ambiente hospitalario, debido a que las infecciones invasivas están dadas por cepas susceptibles y no por resistentes (El Gharib et al., 2021).

Las aplicaciones de *A. calcoaceticus* llaman la atención de la comunidad científica por su capacidad de producir ramnolípidos, pues cuentan con una gran cantidad de actividades biológicas sobre células eucariotas y bacterias. Además, es utilizado en el área dermatológica debido a sus propiedades emulsionantes, humectantes, baja irritación, capacidad de aumentar la saturación de oxígeno en heridas, contribuir a la cicatrización y compatibilidad con la piel humana (Zhu et al., 2022).

2.3. *Acinetobacter pittii*

Acinetobacter pittii, anteriormente conocido como *Acinetobacter* genoespecie 3, debe su nombre al microbiólogo médico Tyrone Pitt. Esta especie comparte las mismas características microbiológicas y bioquímicas del género *Acinetobacter spp*: coco bacilos Gram negativos inmóviles, estrictamente aeróbicos, catalasa positiva, oxidasa negativa y asociado como causante de infección humana y transporte intestinal (Chopjitt et al., 2021). Dentro del complejo ACB, la especie *A. pittii* ha tenido desde el pasado bajas tasas de prevalencia y resistencia, mientras que *A. baumannii* es la que siempre ha liderado el mayor número de casos de infecciones nosocomiales (Nemec et al., 2011).

De acuerdo a Manchanda et al. (2010), algunos métodos basados en el ADN han demostrado que es posible aislar *A. pittii* de muestras clínicas y evidencian que puede estar asociado a brotes en hospitales en conjunto con resistencia antimicrobiana. Cabe indicar que a diferencia de otras especies del complejo ACB, como *A. baumannii* y *A. nosocomialis*, *A. pittii* es más diverso pues ha sido posible aislarlo del medioambiente, de ciertos alimentos como vegetales, del suelo, agua e incluso de la piel humana.

Recientemente se ha observado un aumento de casos de infecciones nosocomiales por *A. pittii* resistente a los carbapenémicos (CRAP). Esta especie está asociada con colonización humana por su implicación en IAAS, exclusivamente en UCI. En algunos países, como Taiwán, el porcentaje de *A. pittii* reportado aumentó un 4,6% y las tasas de resistencia a los carbapenémicos se elevaron de 4,5% en 2010 a 9,3% en 2012 y 25,8% en 2014 (Chopjitt et al.,

2021). Además, de acuerdo a Chen et al. (2019), se ha reportado enzimas de tipo OXA-58 y MBL como las principales causantes de resistencia en *A. pittii*, y también los genes de tipo *bla_{OXA-23}* y *bla_{OXA-24}* son cada vez más comunes en esta especie y en *A. nosocomialis*.

2.4. *Acinetobacter nosocomialis*

Después de *A. baumannii*, *Acinetobacter nosocomialis* es el patógeno oportunista más relevante del complejo ACB; su nombre proviene de las palabras nosocomio y hospital. Comparte características microbiológicas y bioquímicas con las otras especies del complejo, es coco bacilo Gram negativo, sin motilidad y capaz de crecer en medio minerales en donde el acetato funciona como única fuente de carbono y el amoníaco como única fuente de nitrógeno. Anteriormente, esta especie era conocida como *Acinetobacter* genoespecie 13TU, pero en 2011 fue renombrada al nombre actual debido a su relevancia clínica y al impacto que tiene su actividad como patógeno nosocomial oportunista (Nemec et al., 2011).

Los aislamientos ambientales reportados de *A. nosocomialis* son extremadamente raros dado que su comportamiento es como un patógeno hospitalario, tal es el caso que de acuerdo a Nemec et al. (2011) son pocos los informes que confirman este aislamiento. Además, Kim et al. (2016) detallan que esta especie tiene menor resistencia y mortalidad que *A. baumannii* debido a que sus características biológicas y factores de virulencia le brindan la capacidad de secretar factores citotóxicos a través de vesículas de membrana externa. Inclusive, es posible que hayan otros factores de virulencia implicados en infecciones de esta especie pero que aún son desconocidos, uno de ellos puede ser la principal proteína de la membrana externa OmpA de *A. nosocomialis*, que posiblemente es parte de la patogenia de esta especie debido a que contribuye a la formación de biopelículas, tiene adherencia celular y aporta a la colonización e infección por este patógeno.

2.5. *Acinetobacter seifertii*

Acinetobacter seifertii, anteriormente conocida como especie genómica cercana a la especie genoespecie 13TU (*A. nosocomialis*) de *Acinetobacter spp.*, fue añadida recientemente dentro del *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex* dada sus estrechas características fenotípicas con las demás especies que conforman este complejo. Su nombre se debe al microbiólogo alemán Harald Seifert y sus características corresponden a la del género

Acinetobacter spp: coco bacilos Gram negativos, aerobios estrictos, oxidasa negativos, catalasas positivas, el ácido se produce a partir de D-glucosa y no se observa hemólisis en medio de agar suplementado con sangre de oveja. Al igual que el resto de las demás especies, *A. Seifertii* ha logrado ser aislado de muestras clínicas, como de secreción traqueal o esputo, y se ha descrito como un patógeno emergente implicado en diferentes infecciones humanas, específicamente asociada a la bacteriemia (Nemec et al., 2015).

2.6. *Acinetobacter dijkschoorniae*

La *Acinetobacter dijkschoorniae* era anteriormente conocida como especie relacionada con genoespecies 1 y 3: *A. calcoaceticus* y *A. pittii*; sin embargo, se ha demostrado un mayor grado de relación genética con esta última. Debe su nombre a la microbióloga holandesa Lenie Dijkshoorn y, al igual que *A. seifertii*, recientemente fue incluida dentro del complejo ACB pues comparte características fenotípicas muy similares que el resto de especies. En este caso, ha podido ser aislada de muestras clínicas humanas (Cosgaya et al., 2016).

Como ha sido ya mencionado en este capítulo no es posible diferenciar entre especies del complejo ACB mediante métodos fenotípicos, pero algunas cepas de la especie *A. dijkschoorniae* pueden distinguirse por la capacidad que tienen de usar la triptamina como única fuente de carbono (Cosgaya et al., 2016). A continuación, la Tabla 5 expone las muestras clínicas y fuentes en las que se ha aislado las especies antes mencionadas.

Tabla 5

Muestras clínicas y fuentes en las que se ha aislado Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex

Especie	Muestra	Secreción traqueal	Ambiente hospitalario	Orina	Espujo	Herida	Suelo	Agua	Carne	Vegetales
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>					X	X	X	X		
<i>Acinetobacter baumannii</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Acinetobacter pittii</i>			X	X	X	X	X	X		X
<i>Acinetobacter nosocomialis</i>			X	X	X					
<i>Acinetobacter seifertii</i>		X	X		X		X	X		
<i>Acinetobacter dijkschoorniae</i>			X	X	X					

Nota. Datos obtenidos de Dijkshoorn et al. (2007), Nemec et al. (2015) y Cosgaya et al. (2016).

3. RESISTENCIA BACTERIANA EN *Acinetobacter calcoaceticus/ baumannii complex*

La resistencia bacteriana es el conjunto de características que les permite a los microorganismos proliferar inclusive ante la presencia de altas concentraciones de antibióticos, por lo que es un hecho de gran relevancia a nivel científico y considerado como prioridad crítica de salud pública (Da Silva y Domingues, 2016; Kyriakidis et al., 2021). La capacidad de *Acinetobacter spp.* para sobrevivir en el ambiente hospitalario y su rápida habilidad para adquirir mecanismos de resistencia a los antimicrobianos convierten a este género en uno de los patógenos oportunistas más peligrosos, pues tiene resistencias intrínsecas y adquiridas, por ejemplo mecanismos enzimáticos -betalactamasas y enzimas modificadoras- y no enzimáticos -modificación de blanco, bombas de eflujo, etc.- (Manchanda et al., 2010) (Tabla 6).

CONFIDENCIAL

Tabla 6

Mecanismos de resistencia en A. baumannii para antibióticos β-lactámicos y no β-lactámicos

Mecanismos de resistencia a Betalactámicos			
Betalactamasas	Mecanismo implicado	Tipos	Resistencia
Enzimas de Clase A	Betalactamasas de amplio espectro:	TEM-1, TEM-2, CARB-5, VEB-1, PER-1, PER-2, TEM-92, TEM-116. SHV-5, SHV-12, CTX-M-2, CTX-M-43	Penicilinas Cefalosporinas de espectro extendido y aztreonam
	Carbapenemasas	KPC	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.
Enzimas de Clase B	Metalobetalactamasas MBL	Carbapenemasas IMP, VIM, SPM, SIM y NDM	Carbapenémicos, penicilinas, Cefalosporinas
Enzimas de Clase D	Oxacilinasas OXA	Carbapenemasas: OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-51	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas, hidrolisis débil en contra de cefalosporinas de tercera y cuarta generación.
Mecanismos de Resistencia para no Betalactámicos			
Otros mecanismos de resistencia	Mecanismo implicado	Tipos	Resistencia
Aminoglucósidos	Enzimas modificadoras de aminoglucósidos EMA,	AAC, ANT, APH	Resistencia variable
	Metilación 16S RNA,	<i>armA</i>	Todos los aminoglucósidos
	Bombas de expulsión	Bomba AdeABC Bomba AdeM	Todos los aminoglucósidos Resistencia para Gentamicina y kanamicina
Quinolonas	Genético	Mutación en <i>gyrA</i> , <i>parC</i>	Resistencia variable
	Bombas de eflujo	Bomba AdeABC Bomba AdeM	Resistencia a todas las quinolonas Resistencia variable
Tetraciclinas y glicilciclinas	Bombas de expulsión	Tet (A) Tet (B) AdeABC	Tetraciclina no afecta a minociclina Tetraciclina y minociclina Tetraciclinas y glicilciclinas
	Protección ribosomal	tet(M)	Tetraciclinas
Trimetoprim, sulfonamidas, Cloranfenicol	Alteración de sitio diana	<i>sul</i> <i>dnfr</i>	Resistencia para Sulfonamidas Resistencia para Trimetoprim
	Bombas de expulsión	CraA AdeABC	Resistencia a cloranfenicol Trimetoprim y cloranfenicol

Nota. Obtenido de Manchanda et al. (2010) y Vanegas-Múnera et al. (2014).

3.1. Resistencia intrínseca

La resistencia intrínseca es todo mecanismo de defensa presente de manera natural en varios géneros bacterianos y es independiente de la selectividad del antimicrobiano. Uno de los principales mecanismos en microorganismos Gram negativos es el estado de su membrana externa, la alteración en la permeabilidad, la alteración del sitio diana y la inactivación enzimática (Leclercq et al., 2013).

Acinetobacter spp. cuenta con una cefalosporinasa natural de tipo AmpC capaz de generar resistencia de bajo nivel a ampicilina. No obstante, cuando está sobre expresada produce resistencia a distintos fármacos, entre ellos la cefalotina, piperacilina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2022). En general, el complejo ACB tiene resistencia intrínseca a varios antimicrobianos como se detalla en la Tabla 7.

Tabla 7

Resistencias intrínsecas a fármacos en Acinetobacter spp.

Ampicilina, Amoxicilina	Amoxicilina/ clavulánico	Aztreonam	Ertapenem	Trimetropin	Cloranfenico 1	Fosfomicina
R	R	R	R	R	R	R

Nota. Datos obtenidos de CLSI (2022) y European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2022).

3.1.1. Enzimas que inactivan antibióticos

Las bacterias Gram negativas tienen la capacidad de producir moléculas que inactivan a los antibióticos y cuyo mecanismo de resistencia más importante son las betalactamasas (también lo es en *Acinetobacter spp.*), enzimas muy conocidas en el ámbito de la microbiología. Actualmente, son utilizados dos sistemas clasificatorios para estas enzimas que están relacionados entre sí. Uno de ellos es el descrito por Bush Jacoby Medeiros en 1989, revisado en 1995 y actualizado en 2010, que se basa específicamente en las características funcionales de las enzimas y su afinidad hacia los diferentes sustratos (Navarro et al., 2011).

El segundo método es el sistema de Ambler, descrito en 1980, que clasifica a las betalactamasas según la interacción enzima-sustrato y a la secuencia de sus aminoácidos. Es así que se obtienen cuatro diferentes clases moleculares descritas desde la A a la D: las enzimas de clase A, C y D (serin betalactamasas) emplean un mecanismo de acetilación-desacetilación e hidrolizan mediante la formación de una acil enzima por medio de una serina en el sitio activo, mientras que las de clase B (metalo betalactamasas) utilizan iones de zinc en el sitio activo para la hidrólisis de los fármacos betalactámicos (Tooke et al., 2019; Bush y Jacoby, 2010).

Las betalactamasas son enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico al inhibir la función bactericida del fármaco antes de que llegue a su sitio diana, que en el caso de los betalactámicos son las proteínas de unión a penicilina PBP del microorganismo (Tooke et al., 2019). En bacterias Gram negativas, como *Acinetobacter spp.*, la producción de betalactamasas es el método de resistencia más común debido a que posee las cuatro clases de enzimas de acuerdo a la clasificación de Ambler: A (penicilinasas), B (Metalobetalactamasas), C (Cefalosporinasas) y D (Oxacilinasas) (Zurita, 2015). A continuación, la Tabla 8 detalla esta clasificación.

Tabla 8

Clasificación de las β -lactamasas bacterianas

Clasificación Grupo Bush- Jacoby	Clase molecular Ambler	Sustratos	Inhibido		Enzimas de importancia
			AC/TZB	EDTA	
1	C	Cefalosporinas	NO	NO	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefalosporinas	NO	NO	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	SI	NO	PC1
2b	A	Penicilinas y generaciones tempranas de cefalosporinas	SI	NO	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	SI	NO	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-
2br	A	Penicilina	NO	NO	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	NO	NO	TEM-50
2c	A	Carbenicilina	SI	NO	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilina/cefepima	SI	NO	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	+/-	NO	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido	+/-	NO	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenémicos	+/-	NO	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	SI	NO	CepA

Clasificación Grupo Bush- Jacoby	Clase molecular Ambler	Sustratos	Inhibido		Enzimas de importancia
			AC/TZB	EDTA	
2f	A	Carbapenémicos	+/-	NO	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B	Carbapenémicos	NO	SI	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	B	Carbapenémicos	NO	SI	CphA, Sfh-1

Nota. Datos obtenidos de Bush y Jacoby (2010)

a. Betalactamasas de clase A

Las betalactamasas de clase A son enzimas encargadas de mediar la resistencia a penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos e incluso carbapenémicos. Este tipo de betalactamasas suelen tener un espectro estrecho (TEM-1, TEM-2 y CARB-5) aunque sí pueden adquirir actividad de espectro extendido (BLEE) (VEB-1, PER-1, TEM-92 y CTX-M-2 y de tipo KPC) por medio de mutaciones (Tabla 9). Aquellas de espectro estrecho basan su actividad principalmente en contra de las penicilinas mientras que las de espectro extendido BLEE abarcan una mayor cantidad de sustratos a hidrolizar, como ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, también el aztreonam y pueden ser inhibidas por la acción del ácido clavulánico (Kyriakidis et al., 2021).

Tabla 9

Clasificación de betalactamasas de espectro extendido

Clasificación de Ambler	Principal sustrato	Inhibición por el ácido clavulánico	Enzimas relacionadas
A	Cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos	+	SHV, TEM, CTX-M, PER, VEB
A	Cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos	-	CTM
D	Cefalosporinas de amplio espectro	+/-	OXA

Nota. Datos obtenidos de Bush y Jacoby (2010) y Navarro et al. (2011)

b. Betalactamasas de clase B

Las enzimas MBL metalo- β -lactamasas del Grupo 3 usan un ion zinc en su sitio activo y poseen un destacado desempeño debido a su amplio espectro de actividad (Da Silva y Domingues, 2016). Entre las principales enzimas hidrolíticas se encuentran las IMP y VIM, que son capaces de inhibir la acción de todos los betalactámicos a excepción del aztreonam (Navarro et al.,

2011). Otra característica importante es que no se ven inhibidas por la acción del ácido clavulánico o tazobactam, pero sí por los quelantes como el EDTA y los compuestos tiólicos. Estas enzimas están clasificadas por subfamilias de acuerdo a sus características estructurales: B1, B2 y B3; también, se clasifican de acuerdo a su función ejercida en 3a, 3b y 3c (Bush y Jacoby, 2010). En *A. baumannii* se han descrito cuatro tipos de MBL: IMP, VIM, NDM y SIM, todas codificadas por plásmidos e integrones (Tooke et al., 2019; Kyriakidis et al., 2021).

c. *Betalactamasas de clase C*

Las cefalosporinasas del grupo 1 están clasificadas según la clase molecular C de Ambler y se encuentran codificadas en el cromosoma bacteriano de varios microorganismos (Bush y Jacoby, 2010); por lo general, las enzimas de este grupo no logran inhibirse mediante la acción del ácido clavulánico. En bacterias como la *Pseudomonas aeruginosa*, la exposición a antibióticos betalactámicos, por ejemplo la amoxicilina, ampicilina, imipenem y el ácido clavulánico, puede inducir a la sobreexpresión de AmpC, mientras que en microorganismos como la *Acinetobacter spp.*, al poseer AmpC de forma intrínseca, su hiperproducción se da por la secuencia de inserción IS *Aba1* (Hamidian y Hall, 2013; Kyriakidis et al., 2021).

d. *Betalactamasas de clase D*

Las enzimas del subgrupo 2d son conocidas como enzimas OXA por su capacidad de degradación de la cloxacilina y oxacilina; además, son la segunda familia de betalactamasas con mayor número de enzimas. El subgrupo de enzimas 2de está derivado de la enzima OXA-10 e incluye enzimas OXA-11 y OXA-15. En el caso de las enzimas OXA, pertenecientes al subgrupo 2df, poseen la capacidad de hidrolizar a carbapenémicos, especialmente de los grupos OXA-23 y OXA-24, y se encuentran con mayor frecuencia en el género *Acinetobacter spp.* con más prevalencia en la especie *A. baumannii* (Bush y Jacoby, 2010; Evans y Amyes, 2014; Tooke et al., 2019).

En *A. baumannii*, la primera enzima OXA identificada que otorgó la resistencia a carbapenémicos fue la OXA-23, caracterizada en Reino Unido en 1985. Por otro lado, la OXA-51 fue identificada en un aislado de *A. baumannii* -considerado el grupo más extenso de betalactamasas de este tipo- que se encuentra de forma intrínseca en el cromosoma bacteriano de esta especie y cumple un papel importante en su identificación entre las demás especies de

Acinetobacter spp. (Evans y Amyes, 2014; Hamidian y Hall, 2013; Ferreira et al., 2017; Wang et al., 2014).

3.1.2. Resistencia mediada por bomba de eflujo

En las bacterias Gram negativas la membrana externa limita la tasa de antimicrobiano que ingresa por las bombas de eflujo debido a que fármacos de distintas clases son exportados activamente fuera de la bacteria (Abdi et al., 2020). Este proceso protege al microorganismo de los efectos tóxicos, farmacológicos y otras sustancias que traten de dañar la integridad de la célula (Kyriakidis et al., 2021). Además, bien menciona Zurita (2015) que cumplen con funciones fisiológicas, como la captación de nutrientes, y facilitan la salida de otras sustancias al exterior de la bacteria, por ejemplo los desechos producidos por el metabolismo.

La multirresistencia en *Acinetobacter spp.* está asociada con la sobreexpresión de bombas de eflujo, lo que reduce significativamente la acumulación de fármacos al interior de la bacteria. Entre los fármacos más comunes expulsados por las bombas de eflujo se encuentran los macrólidos, tetraciclinas y quinolonas, aunque en realidad constituyen un mecanismo de resistencia para casi todos los antibióticos (Kyriakidis et al., 2021).

Como lo indica Abdi et al. (2020), las bombas de eflujo reconocen una amplia gama de fármacos, proteínas y enzimas, y existen múltiples transportadores que están clasificados en cinco grupos según la filogenética basada en su secuencia de proteínas:

- Bomba de tipo ABC (ATP binding cassette)
- Bomba de tipo MFS (major facilitator superfamily)
- Bomba de tipo RND (resistance nodulation cell division)
- Bomba de tipo MATE (multidrug and toxic compound extrusion)
- Bomba de tipo SMR (small multidrug resistance)

La mayoría de transportadores involucrados en la salida de fármacos pertenecen a la familia de tipo ABC, bombas que también se encargan de la entrada y salida de solutos dependientes de ATP y que se dividen en heterodiméricos y homodiméricos (Abdi et al., 2020).

En cambio, las bombas MFS brindan resistencia a la minociclina, tetraciclina y cloranfenicol, y las presentes en *A. baumannii* son principalmente la bomba Tet (A) y Tet (B) (Zurita, 2015). De acuerdo a Abdi et al. (2020), algunos estudios han demostrado que estas bombas se comportan como mecanismos imperativos en lo que respecta a la resistencia a fosfomicina, y es AbaF el principal causante de resistencia de *A. baumannii* a este fármaco gracias a la expulsión activa de fosfomicina por medio del transportador MFS AbaF.

Por su parte, las bombas de tipo RND poseen una amplia gama de sustratos independientemente de su estructura. Uno de los miembros más importantes de este grupo es la bomba AdeABC, que como su nombre lo indica posee las proteínas AdeA, AdeB y AdeC, cada una con diferentes roles: AdeA es la proteína fusión de membrana, AdeB es la transportadora de múltiples fármacos y AdeC es la proteína de membrana externa OMP. En lo que respecta a *A. baumannii* puede expulsar diversos betalactámicos, entre ellos el carbapenémico, pero es menos efectiva para expulsar aminoglucósidos, un claro ejemplo es la amikacina -con naturaleza hidrófila- en contraste con los betalactámicos. Cabe indicar que las bombas RND, en conjunto con las MFS, son las más comunes en *Acinetobacter spp.* (Zurita, 2015; Abdi et al., 2020).

En cuanto a las bombas de tipo MATE tienen la capacidad de eliminar a los aminoglucósidos y fluoroquinolonas. Además, la presencia de la bomba AbeM, perteneciente a esta familia, confiere un incremento mayor a 4 veces en la CIM de ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina y gentamicina (Abdi et al., 2020).

Finalmente, las bombas de eflujo de tipo SMR, o anti portadores de protones y fármacos, utilizan la fuerza motriz del protón para ejercer su función de salida, es por ello que las principales bombas involucradas en la resistencia a múltiples fármacos pertenecen a este grupo (Abdi et al., 2020; Zurita, 2015).

3.1.3. Proteínas de la Membrana externa

Las porinas son proteínas o canales encargados de transportar moléculas a través de la membrana de microorganismos, proporcionan una gran cantidad de funciones en la bacteria y pueden actuar en la adhesión celular y en la unión de compuestos bactericidas a la superficie bacteriana (Rumbo et al., 2014). Las variaciones en su estructura son estrategias de supervivencia que han adquirido las bacterias, por ejemplo como mecanismo para escapar de

la presión antibacteriana o la regulación de la expresión de porinas en respuesta a la presencia de antimicrobianos (Kyriakidis et al., 2021).

Las porinas pueden desempeñar un papel importante en los mecanismos de resistencia de *A. baumannii* y poseen múltiples Omp en su membrana externa, entre los principales están CarO y OprD (Wong et al., 2017). Cabe indicar que una de las limitaciones con respecto a estas Omp es la falta de información que existe.

Como lo indican Rumbo et al. (2014) se ha identificado que la citotoxicidad de *A. baumannii* está dada por la presencia de dos proteínas de membrana externa: OmpA y Omp 33-36. Además, la membrana externa de *A. baumannii* es menos permeable a los agentes antimicrobianos que la de otros microorganismos, como *Escherichia coli*. Entonces, dado que el coeficiente de permeabilidad a las cefalosporinas es entre 2 y 7 veces mayor en *P. aeruginosa* que en *Acinetobacter spp.* puede atribuirse que la causa intrínseca de la resistencia a ciertos agentes antimicrobianos tiene que ver con el número y tamaño de las porinas de la membrana externa de *A. baumannii*.

3.2. Resistencia adquirida

La resistencia adquirida es la capacidad que tiene un microorganismo de obtener mecanismos de defensa en contra de ciertos antimicrobianos, ya sea a través de plásmidos, transposones, integrones o mutaciones genéticas (Kyriakidis et al., 2021). Por lo general, la mayoría de estas resistencias se encuentran en varios microorganismos, incluso *Acinetobacter spp.*, y pueden llegar a trasladarse entre diferentes géneros y especies bacterianas (Rada, 2016).

3.2.1. Alteración del sitio diana o de las funciones celulares por mutaciones genéticas

En el caso de *Acinetobacter spp.* las alteraciones en el sitio diana otorgan resistencia a múltiples fármacos. Un claro ejemplo de ello son las mutaciones en PBP o proteínas fijadoras de penicilina: la mutación sobre alguna PBP con baja afinidad hacia cierto fármaco puede conferir resistencia hacia el mismo, por ejemplo al imipenem, debido a que en el caso de los carbapenémicos la PBP disminuye la afinidad hacia los betalactámicos (Ayoub y Hammoudi, 2020; Kyriakidis et al., 2021).

También, uno de los mecanismos causantes de la resistencia a tetraciclinas es la protección ribosomal, que ocurre cuando una proteína del citoplasma se une al ribosoma e impide que la tetraciclina se una a su sitio diana. En el caso de *A. baumannii*, el gen *tetM* es el que está relacionado directamente con la resistencia a estos fármacos (Kyriakidis et al., 2021).

3.2.2. Enzimas modificadoras de aminoglucósidos

En conjunto con los carbapenémicos, los aminoglucósidos son una alternativa eficaz para el tratamiento de infecciones causadas por *Acinetobacter* MDR, pues las especies de este género son naturalmente susceptibles a estos fármacos (Kyriakidis et al., 2021). Sin embargo, existen algunas excepciones, como aquellas especies pertenecientes a grupos genómicos 6, 14, 15, 16, 17, y *Acinetobacter haemolyticus* (Nass y Nordmann, 2010). La resistencia en contra de los aminoglucósidos está mediada por varios mecanismos de acción, entre ellos la alteración del sitio de acción ribosomal, reducción de la captura y modificación enzimática, y es este último el que más prevalencia tiene en cepas multirresistentes (Rodríguez et al, 2016).

Las enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMA) basan su mecanismo de acción en la modificación de los grupos hidroxilo o amino presentes en estos fármacos, y la inactivación enzimática se lleva a cabo por enzimas de tipo acetiltransferasas, fosfotransferasas y adeniltransferasas que están codificadas principalmente por plásmidos, integrones, transposones, elemento conjugativo integrador, cromosomas e islas genómicas (Aliakbarzade et al., 2014; Kyriakidis et al., 2021) (Tabla 10).

Tabla 10

Ubicación de genes de resistencia en aminoglucósidos

Ubicación	Genes
Plásmidos	<i>aac (3)-Ia, aac(3)-IVa, AAC(6')-Ia family, aac(6')-Ib, aac(6')-Ib-cr, aac(6')-Ih, aac(6')-IIc, ant(2'')-Ia, ant(3'')-Ia, aadA1, aadA2, aadA5, aadA13, aadA16, aph(3')-VIa, aph(3')-VIb, aph(3'')-Ib, aph(4)-Ia, aph(6)-Id, y arma</i>
Integrones	<i>aac (3)-Ia, AAC (6')-Ia family, aac (6')-Ib, aac (6')-Ib', aac (6')-Ib3, aac (6')-Ib-cr, aac (6')-IIc, ant (2'')-Ia, ant (3'')-Ia, aadA1, aadA2, aadA5, aadA11, aadA13, y aadA16</i>
Transposones	<i>aac (3)-Ia, AAC (6')-Ia family, aac (6')-Ib, aac (6')-Ib-cr, ant (3'')-Ia, aadA1, aadA5, aph (3')-Ia, aph (3')-IIa, aph (3'')-Ib, and arma</i>
Elemento conjugativo integrador	<i>aph (6)-Id, and aph (3'')-Ib</i>
Cromosoma	<i>aac (2')-Ib, and aph (3'')-</i>
Islas genómicas	<i>aph (6)-Id</i>

Nota. Datos obtenidos de Kyriakidis et al. (2021)

3.2.3. Resistencia a quinolonas

Las mutaciones presentes en la secuencia de aminoácidos de los genes *gyrA* y *parC* son las encargadas de codificar para la subunidad A de la girasa y subunidad C de la topoisomerasa IV, que por su parte modulan el estado del ADN y se encuentran en la región determinante de la resistencia a las quinolonas o QRDR (Vila y Marco, 2010; Martínez y Máttar, 2010).

3.3. Epidemiología

Es posible encontrar *Acinetobacter spp.* en múltiples medios animados e inanimados: suelo, agua, alimentos congelados, vegetales, carnes, diversos equipos hospitalarios como aparatos de ventilación mecánica, catéteres, humidificadores, baños de dializado peritoneal, objetos que facilitan la micción, camas de pacientes hospitalizados, toallas, almohadas, cortinas y dispensadores de jabón (Rada, 2016).

A nivel mundial, este género ha sido clasificado como un microorganismo perteneciente al grupo ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y especies de *Enterobacter*. Además, Kyriakidis et al. (2021) enfatizan que es considerado como un patógeno de prioridad crítica por la Organización Mundial de la Salud (OMS), por lo que resulta necesario desarrollar de manera urgente nuevas terapias antimicrobianas.

Si bien ha podido evidenciarse brotes de infecciones hospitalarias asociadas con *A. baumannii* en salas de medicina general y salas de cirugía, las áreas UCI son las más afectadas (Marcos, s.f.). La colonización por especies del complejo ACB puede ser continua a una infección invasiva con una alta mortalidad, por ejemplo esto suele ser común en unidades de pacientes quemados (Gong et al., 2021).

Acinetobacter spp. era anteriormente considerado un microorganismo de baja importancia clínica, pero hoy en día es uno de los patógenos oportunistas de difícil control y tratamiento debido a su acelerada capacidad para adquirir diversos mecanismos de resistencia (Gales et al., 2019). Es así extremadamente complicado establecer un conocimiento conciso en la epidemiología del género *Acinetobacter spp.* debido a la aleatoriedad de sus brotes

hospitalarios, por lo que es sustancial ejecutar estudios epidemiológicos locales y tomar medidas de control eficientes en contra de esta bacteria.

Precisamente, el uso de procesos moleculares constituye un gran avance en el aspecto epidemiológico en vista de que identifican de forma exacta la variabilidad genética de los microorganismos problema y son muy eficaces para el estudio y control de la diseminación de las especies de *Acinetobacter spp.* en el ambiente hospitalario (Vanegas-Múnera et al., 2014).

De acuerdo a cifras de la Organización Panamericana de la Salud (s.f.), en Latinoamérica el porcentaje de resistencia a los antimicrobianos y aislados en *Acinetobacter spp.* superó a Estados Unidos y a algunos países europeos. Es así que, de acuerdo a datos proporcionados por 19 países de América Latina, hay 121 901 cepas identificadas como *Acinetobacter spp.*

Pero el panorama no se detiene ahí, pues de acuerdo a Rodríguez et al. (2018) la tasa de resistencia a los carbapenémicos en esta región se posiciona como una de las más altas en todo el mundo, hecho totalmente alarmante y que representa un grave problema de salud, dado que estos fármacos son los utilizados contra las cepas de *Acinetobacter* multidrogoresistente AMDR. Tal es la magnitud de esta situación, que el rango de resistencia varía entre 1% a 90 %, y son Argentina y Brasil los países que encabezan los porcentajes más altos.

Según datos proporcionados por la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) (como se citó por Rodríguez et al., 2018) existe un aumento significativo en los porcentajes de resistencia en el período 2000-2019, evidenciándose que las infecciones nosocomiales causadas por *A. baumannii* tienen un porcentaje superior al 90 %.

En el caso de Ecuador, una de las estrategias para hacer frente a esta problemática es el Plan Nacional para la prevención y control de la RAM 2019-2023 liderado por La Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica y el Centro Nacional de Referencia de Resistencia a los antimicrobianos (CRN-RAM) del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI, 2019). El propósito es disminuir el riesgo de emergencia y el aumento de la resistencia a los antimicrobianos en humanos, animales, vegetales y el medioambiente.

Según cifras de la OPS (s.f.), entre 2010 y 2019 se registraron en Ecuador 195 720 aislamientos bacterianos pertenecientes a *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*,

Haemophilus, Klebsiella, Neisseria, Pseudomonas, Salmonella, Shigella, Staphylococcus y *Streptococcus*, de los cuales 3 766 pertenecen al género *Acinetobacter spp.*, específicamente a la especie *A. baumannii*. Cabe indicar que 2019 fue el año en el que hubo un crecimiento exponencial de aislamientos de cepas de *Acinetobacter spp.* con un total de 903 casos.

CONFIDENCIAL

4. LECTURA INTERPRETATIVA DEL ANTIBIOGRAMA

La lectura interpretativa del antibiograma es una práctica llevada a cabo en los laboratorios de microbiología clínica que ayuda principalmente a identificar mecanismos de resistencia presentes en determinados microorganismos para de esta manera establecer medidas epidemiológicas, adecuación de tratamientos y aplicación de políticas de antibióticos (Cantón, 2010).

El proceso de lectura responde a una serie de pasos esquematizados (no se debe confundir con la interpretación de los resultados de pruebas de susceptibilidad) que inicia con el aislamiento del microorganismo problema, su identificación y antibiograma. Este último utiliza criterios de susceptibilidad antimicrobiana como sensible (S), intermedio (I) y resistente (R), para evaluar los estándares de desempeño (CLSI, 2022). Posteriormente se da la deducción del fenotipo observado, la inferencia del mecanismo de resistencia y la definición del fenotipo presente. Finalmente se debe redefinir con la interpretación clínica del resultado obtenido, comprobar la susceptibilidad a fármacos que no hayan sido incluidos y concluir con el reporte de resultados (Courvalin, 1996).

4.1. Disposición de discos y antibióticos recomendados para estudios de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby Bauer en *Acinetobacter spp.*

En el *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex* el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana radica en la evaluación directa de ciertos antimicrobianos mediante el método de difusión en disco de Kirby Bauer, en donde se omiten aquellos antibióticos a los que las especies del complejo son intrínsecamente resistentes. Para realizar el antibiograma previamente tiene que haberse hecho la identificación del microorganismo, en este caso a nivel de *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*, en donde debe tomarse en cuenta cuatro aspectos esenciales: posibles mecanismos de resistencia, resistencias intrínsecas a antimicrobianos, sitio de infección y antimicrobianos disponibles (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2022).

A continuación, la Tabla 11 detalla los agentes antimicrobianos sugeridos para las pruebas de susceptibilidad *Acinetobacter spp.* establecidos por el CLSI (2022) y tomados en cuenta en el

Manual de Vigilancia del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos (CRN-RAM) del INSPI (2019). Además, en los apartados posteriores es posible observar ejemplos de la disposición de discos antimicrobianos para identificación de mecanismos de resistencia.

Tabla 11

Fármacos utilizados para la determinación de perfiles de susceptibilidad antibiótica en Acinetobacter spp.

Grupo Antibiótico	Antibiótico	Siglas	Contenido en disco
Penicilinas	Piperacilina	PIP	100 ug
	Ampicilina-sulbactam	SAM	10/10 ug
Agentes Combinados betalactámicos	Piperacilina-tazobactam	TZP	100/10 ug
	Ticarcilina-clavulanato	TIM	75/10 ug
	Ceftazidima	CAZ	30 ug
Cefemas Incluyendo cefalosporinas I, II, III y IV (Parenteral)	Cefepima	FEP	30 ug
	Cefotaxima	CTX	30 ug
	Ceftriaxona	CRO	30 ug
	Cefiderocol	FDC	30 ug
	Doripenem	DOR	10 ug
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 ug
	Meropenem	MEM	10 ug
	Gentamicina	GM	10 ug
Aminoglucósidos	Tobramicina	TM	10 ug
	Amikacina	AN	30 ug
	Netilmicina	NET	-
Tetraciclinas	Doxiciclina	DO	30 ug
	Minociclina	MI	30 ug
	Tetraciclina	TE	30 ug
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	CIP	5 ug
	Levofloxacino	LVX	5 ug
	Gatifloxacina	GAT	5 ug
Antagonista de la vía del folato	Trimetoprim-sulfametoxazol	SXT	1,25/23,75 ug

Nota. Datos obtenidos de CLSI (2022), Antimicrobianos aprobados por el CLSI para ensayar e informar en *Acinetobacter spp.*

4.2. Lectura interpretativa del antibiograma en *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex*

Para tener una correcta lectura interpretativa del antibiograma es necesario conocer con antelación los posibles mecanismos de resistencia que puede presentar el microorganismo problema y una valoración fenotípica del mismo (Crespo, 2002) (Tabla 12). El microorganismo estudiado debe ser aislado, identificado correctamente, calcularse su CMI, elegir un fenotipo

de sensibilidad e inferir las posibilidades de los diversos fenotipos de resistencia que puede presentar. Este proceso tiene que realizarse según la especie o complejo bacteriano, pues de hacerlo con base en el género existirían múltiples posibilidades y fenotipos de resistencia (Cantón, 2010; Courvalin, 1996).

Tabla 12

Posibles fenotipos de resistencia en Acinetobacter spp.

Microorganismo	Posible fenotipo
Complejo <i>Acinetobacter calcoaceticus/baumannii</i>	Hiperproducción de AmpC
	BLEE Betalactamasas de Espectro Extendido
	OXA Oxacilinasas
	MBL Metalo Betalactamasas
	EMA Enzimas Modificadoras de Aminoglucósidos
	Mutaciones <i>gyrA/parC</i> /Bomba de eflujo/

Nota. Datos obtenidos de Nass y Nordmann (2010), Kyriakidis et al. (2021) y Courvalin (1996).

En ciertos casos, en la lectura interpretativa del antibiograma con fines de identificación de mecanismos de resistencia, es factible utilizar antimicrobianos como marcadores de resistencia en algunos microorganismos. Por ejemplo, en las enterobacterias se usa quinolonas (fármacos sintéticos de amplio espectro cuya diana es la síntesis de ADN) como el ácido nalidíxico y la kanamicina, pues la resistencia a estos fármacos es un claro indicativo de resistencias a las quinolonas en enterobacterias por mutaciones producidas en la enzima ADN girasa (Cantón, 2010).

Es importante recordar que el género *Acinetobacter spp.* pertenece a un grupo de microorganismos Gram negativos que son incapaces de fermentar múltiples hidratos de carbonos como la glucosa (bacilos Gram negativos no fermentadores). Además, al ser estrictamente aeróbicos están en toda la naturaleza y hacen parte de la microbiota normal en el ser humano. El *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex* está conformado por seis genoespecies del género *Acinetobacter spp.*: *A. calcoaceticus* (genoespecie 1), *A. baumannii* (genoespecie 2), *A. pittii* (genoespecie 3), *A. nosocomialis* (genoespecie 13TU), *A. seifertii* (cerca a genoespecie 13TU) y *A. dijkschoorniae* (relacionada con genoespecies 1 y 3) que son prácticamente indistinguibles fenotípicamente (Rada, 2016).

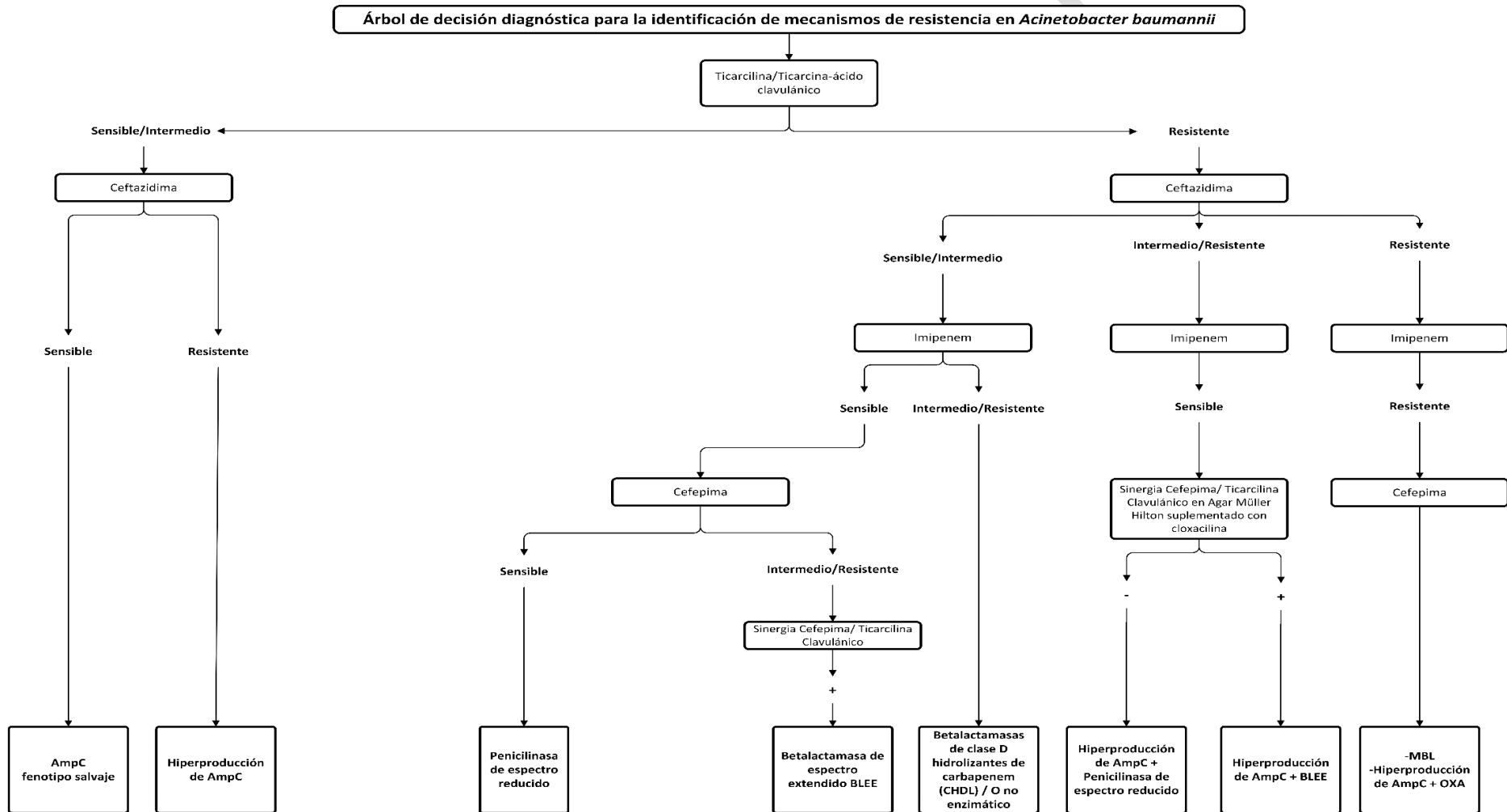
4.2.1. Identificación fenotípica de mecanismos de resistencia a betalactámicos

La resistencia a los antibióticos betalactámicos es el mecanismo más frecuente de *A. baumannii* y, por lo general, está dada por la acción de enzimas betalactamasas, carbapenemasas, oxacilinasas, metalobetalactamasas y enzimas modificantes de aminoglucósidos. No obstante, la resistencia antimicrobiana también puede ocurrir por métodos no enzimáticos, como la modificación del blanco, bombas de expulsión activa y proteínas de membrana externa (Navarro et al., 2011).

A continuación, la Figura 8 expone un ejemplo de árbol de decisión para la identificación de diferentes mecanismos de resistencia en *Acinetobacter* en contra de los betalactámicos y que consta de distintos fenotipos: hiperproducción de AmpC, presencia de betalactamasas de espectro extendido, producción de enzimas de espectro reducido y enzimas hidrolizantes de amplio espectro de acción como oxacilinasas y metalobetalactamasas. Además, la Tabla 13 detalla los fenotipos de resistencia en antibióticos betalactámicos presentes en *Acinetobacter baumannii*.

Figura 8

Árbol de decisión diagnóstica para la identificación de mecanismos de resistencia en *Acinetobacter baumannii*-betalactámicos



Nota. Datos obtenidos de Vila y Marco (2010) y Nass y Nordmann (2010).

Tabla 13

Fenotipos de resistencia en antibióticos betalactámicos presentes en Acinetobacter baumannii

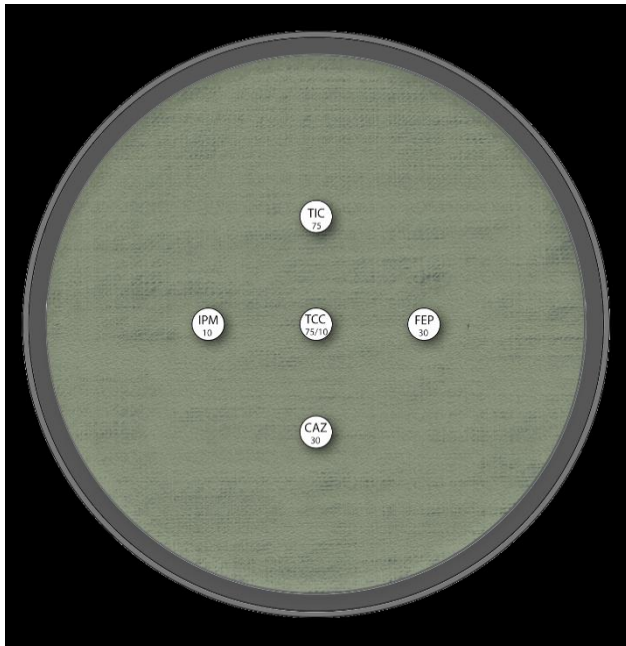
Grupo antibiótico	Antibiótico	Siglas	Concentración	Resultado	Comentarios	Interpretación
Penicilinas/inhibidor	Ticarcilina	TIC	75 µg	RESISTENTE		Hiperproducción de AmpC + Penicilinas de espectro reducido
	Ticarcilina-ácido clavulánico	TCC	75/10 µg	RESISTENTE		
Cefalosporinas	Ceftazidima	CAZ	30 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE		
	Cefepima	FEP	30 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE		
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 µg	SENSIBLE		
Penicilinas/inhibidor	Ticarcilina	TIC	75 µg	RESISTENTE	Sinergia Cefepima/ Ticarcilina Clavulánico en Agar Müller Hilton suplementado con cloxacilina (+)	Hiperproducción de AmpC + BLEE
	Ticarcilina -ácido clavulánico	TCC	75/10 µg	RESISTENTE		
Cefalosporinas	Ceftazidima	CAZ	30 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE	La cloxacilina inhibe la actividad intrínseca de la AmpC permitiendo observar la sinergia entre fármacos.	
	Cefepima	FEP	30 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE		
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 µg	SENSIBLE		
Penicilinas/inhibidor	Ticarcilina	TIC	75 µg	RESISTENTE		Betalactamasas de clase D hidrolizantes de carbapenem (CHDL) / o mecanismo no enzimático
	Ticarcilina-ácido clavulánico	TCC	75/10 µg	RESISTENTE		
Cefalosporinas	Ceftazidima	CAZ	30 µg	SENSIBLE/INTERMEDIO		
	Cefepima	FEP	30 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE		
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE		
Penicilinas/inhibidor	Ticarcilina	TIC	75 µg	RESISTENTE	Sinergia Cefepima/ Ticarcilina Clavulánico (+)	Betalactamasa de espectro extendido BLEE
	Ticarcilina -ácido clavulánico	TCC	75/10 µg	RESISTENTE		
Cefalosporinas	Ceftazidima	CAZ	30 µg	INTERMEDIO		
	Cefepima	FEP	30 µg	INTERMEDIO/RESISTENTE		
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 µg	SENSIBLE		
Penicilinas/inhibidor	Ticarcilina	TIC	75 µg	RESISTENTE		Penicilinas de espectro reducido
	Ticarcilina -ácido clavulánico	TCC	75/10 µg	RESISTENTE		
Cefalosporinas	Ceftazidima	CAZ	30 µg	SENSIBLE /INTERMEDIO		
	Cefepima	FEP	30 µg	SENSIBLE		
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 µg	SENSIBLE		
Penicilinas/inhibidor	Ticarcilina	TIC	75 µg	RESISTENTE	Enzimas IMP y VIM tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos betalactámicos con la excepción del aztreonam y no se inhiben por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. (Zurita, 2015).	Metalobetalactamasas Hiperproducción de AmpC + Oxacilinasas
	Ticarcilina -ácido clavulánico	TCC	75/10 µg	RESISTENTE		
Cefalosporinas	Ceftazidima	CAZ	30 µg	RESISTENTE		
	Cefepima	FEP	30 µg	RESISTENTE		
Carbapenémicos	Imipenem	IPM	10 µg	RESISTENTE		

Nota. CAZ, ceftazidima; FEP, Cefepima; IPM, Imipenem; TIC, ticarcilina; TCC, Ticarcilina clavulánico. Todo mecanismo de resistencia determinado fenotípicamente debe ser confirmado mediante métodos moleculares, pues la presencia de varios mecanismos de resistencia en una sola cepa puede resultar difícil de identificar. Las pruebas de susceptibilidad realizadas a temperatura ambiente (37 °C) permiten un mejor desarrollo de sinergia. En la parte de Anexos se puede encontrar otros fenotipos descritos en *A. baumannii*. Datos obtenidos de Vila y Marco (2010) y Nass y Nordmann (2010).

Por otro lado, en la Figura 9 es posible visualizar la disposición de discos antibióticos para fármacos betalactámicos.

Figura 9

Disposición de discos antibióticos placa 1 Acinetobacter baumannii- Betalactámicos



Nota. TIC, Ticarcilina de 75 μ g; TCC, Ticarcilina clavulánico de 75/10 μ g; CAZ, Ceftazidima de 30 μ g; FEP, Cefepima de 30 μ g; IPM, Imipenem de 10 μ g.

a. Hiperproducción de AmpC

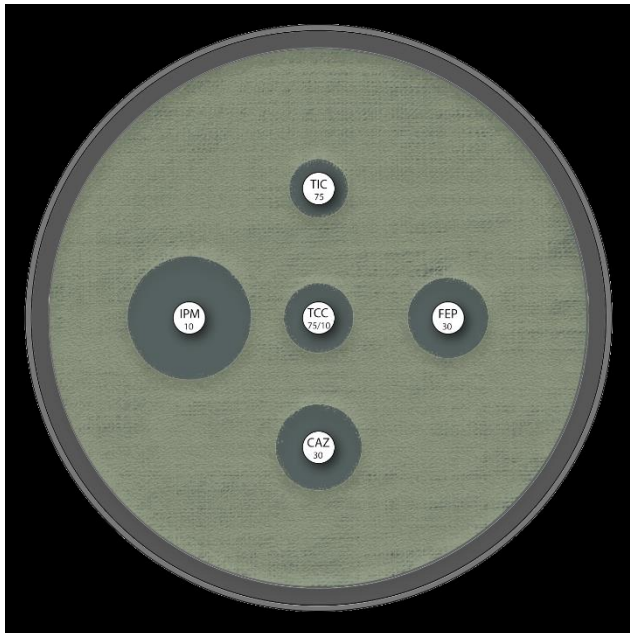
Acinetobacter posee una cefalosporinasa de tipo AmpC cromosómica no inducible, su fenotipo se caracteriza por dotar de resistencia a ampicilina, cefalotina, cefotaxima, ceftazidima y piperacilina, y al tener un bajo nivel de expresión esta enzima no confiere resistencia hacia a ceftazidima. Según Vila y Marco (2010), el 50% de los aislamientos obtenidos de *Acinetobacter baumannii* tiene la capacidad de hiperproducir AmpC debido a la sobreexpresión del gen *blaampC*, a causa de la presencia de la secuencia de inserción IS *Aba1* en su promotor. Dicha hiperproducción es la responsable de otorgar resistencia a los fármacos como la ticarcilina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam, hecho que depende de su expresión y no afecta a los carbapenémicos ni a cefepima (Vanegas-Múnera et al., 2014; Nass y Nordmann, 2010).

En la Figura 10 y 11 es posible observar fenotipos de hiperproducción de AmpC sumado a la expresión de penicilinasas de espectro reducido y betalactamasas de espectro extendido. Estas

últimas exponen su acción con la presencia de sinergia entre el clavulanato y la cefalosporina de cuarta generación gracias a la acción de la cloxacilina como inhibidor del AmpC.

Figura 10

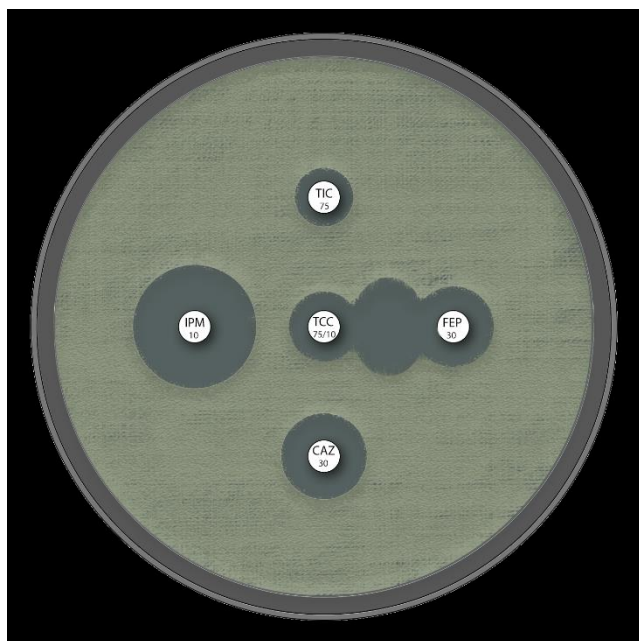
Hiperproducción de AmpC + Penicilinas de espectro reducido



Nota. TIC, Ticarcilina de 75 μg con 11 mm (Resistente); TCC, Ticarcilina clavulánico de 75/10 μg con 13 mm (Resistente); CAZ, Ceftazidima de 30 μg con 15 mm (Intermedio); FEP, Cefepima de 30 μg con 15 mm (Intermedio); IPM, Imipenem de 10 μg con 23 mm (Sensible).

Figura 11

Hiperproducción de AmpC + BLEE



Nota. TIC, Ticarcilina de 75 μg con 11 mm (Resistente); TCC, Ticarcilina clavulánico de 75/10 μg con 13 mm (Resistente); CAZ, Cef tazidima de 30 μg con 15 mm (Intermedio); FEP, Cefepima de 30 μg con 15 mm (Intermedio); IPM, Imipenem de 10 μg con 23 mm (Sensible), sinergia entre TCC/FEP positiva (+).

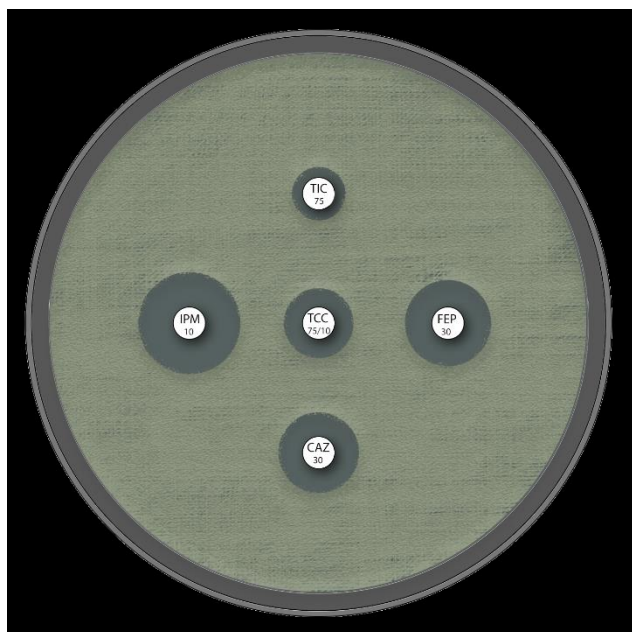
b. Betalactamasas de clase D hidrolizantes de carbapenem (CHDL)

La resistencia a carbapenémicos en *A. baumannii* generalmente es causada por enzimas carbapenemasas de clase D, también conocidas como oxacilinasas (OXA) de tipo OXA-23, OXA-24, OXA-51 y OXA-58 y metalobetalactamasas MBL. Estas últimas son las más comunes en causar resistencia a todos los carbapenémicos en *A. baumannii* y su presencia reduce drásticamente las opciones terapéuticas.

Uno de los puntos más importantes en el género *Acinetobacter* es la resistencia hacia los carbapenémicos en *A. baumannii*, que ocurre en gran medida por la presencia de enzimas hidrolizantes, que a su vez son el resultado de la adquisición de genes encargados de codificar betalactamasas de tipo OXA. No obstante, la Figura 12 evidencia un fenotipo de resistencia que puede presentarse con actividad carbapenemasa, mediado por la presencia de enzimas hidrolizantes de carbapenémicos de clase D o por mecanismos no enzimáticos. De acuerdo a Thirapanmethee et al. (2020), las betalactamasas de clase D hidrolizantes de carbapenem suelen presentar un bajo nivel de actividad de Carbapenemasa.

Figura 12

Betalactamasas de clase D hidrolizantes de carbapenem (CHDL) / O no enzimático



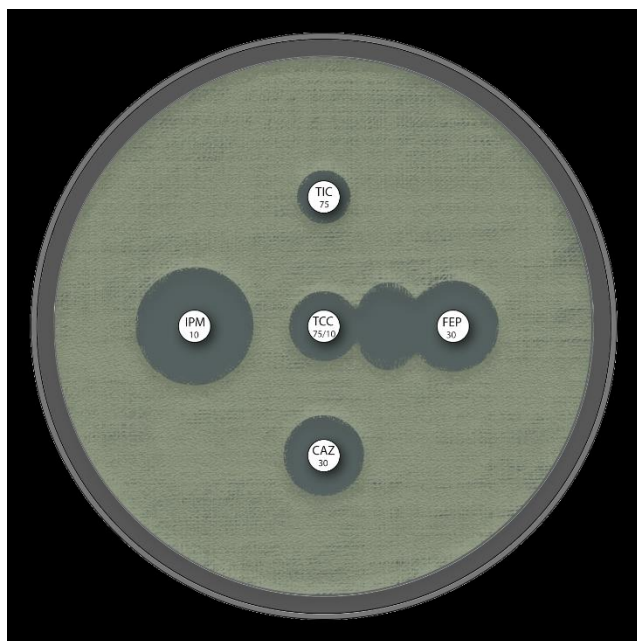
Nota. TIC, Ticarcilina de 75 μg con 10 mm (Resistente); TCC, Ticarcilina clavulánico de 75/10 μg con 13 mm (Resistente); CAZ, Cefotazidima de 30 μg con 15 mm (Intermedio); FEP, Cefepima de 30 μg con 16 mm (Intermedio); IPM, Imipenem de 10 μg con 19 mm (Intermedio).

c. Betalactamasa de espectro extendido BLEE

Las enzimas betalactamasas de espectro extendido BLEE, que se muestra en la Figura 13, también han sido descritas en aislamientos de *A. baumannii*. Una de las dificultades en el laboratorio al momento de evaluar su verdadera prevalencia se da principalmente por las cepas hiperproductoras de AmpC, pero este hecho es posible resolverlo al añadir cloxacilina al medio de agar, pues se encarga de inhibir la actividad de la AmpC intrínseca. Es importante indicar que estas enzimas tienen la capacidad de generar altos niveles de resistencia a penicilinas y cefalosporinas (Nass y Nordmann, 2010).

Figura 13

Betalactamasa de espectro extendido BLEE



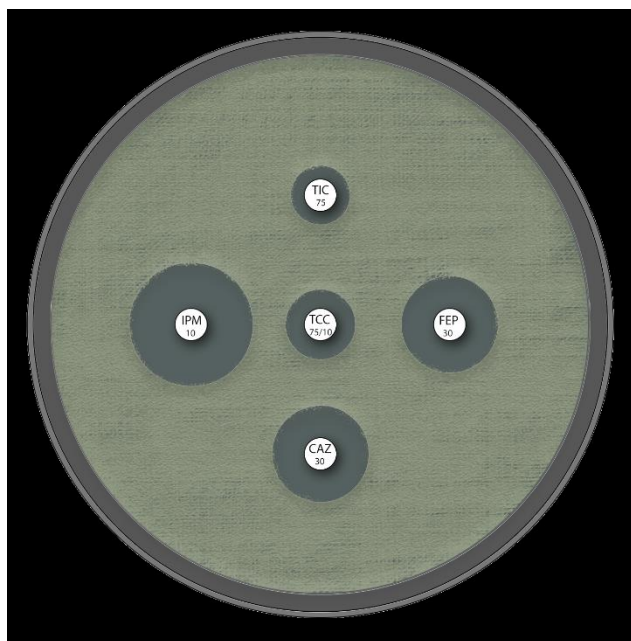
Nota. TIC, Ticarcilina de 75 μg con 10 mm (Resistente); TCC, Ticarcilina clavulánico de 75/10 μg con 13 mm (Resistente); CAZ, Cefotaxima de 30 μg con 15 mm (Intermedio); FEP, Cefepima de 30 μg con 17 mm (Intermedio); IPM, Imipenem de 10 μg con 22 mm (Sensible), sinergia entre TCC/FEP positiva (+).

d. Penicilinasas de espectro reducido

Hoy en día, el registro de penicilinasas de espectro reducido es escaso entre Gram negativas. La mayoría de estas enzimas pertenecen a la clase A, según el sistema de clasificación de Ambler, y son de tipo TEM, SHV y CARB. Además, varias de ellas prevalecen en *Acinetobacter spp.* y se ven inhibidas por la acción del ácido clavulánico (Poirel et al., 2007). A continuación, la Figura 14 expone un ejemplo de penicilinasas de espectro reducido.

Figura 14

Penicilinas de espectro reducido



Nota. TIC, Ticarcilina de 75 μg con 11 mm (Resistente); TCC, Ticarcilina clavulánico de 75/10 μg con 13 mm (Resistente); CAZ, Ceftazidima de 30 μg con 18 mm (Sensible); FEP, Cefepima de 30 μg con 18 mm (Sensible); IPM, Imipenem de 10 μg con 23 mm (Sensible).

4.2.2. Identificación fenotípica de mecanismos de resistencia en no betalactámicos

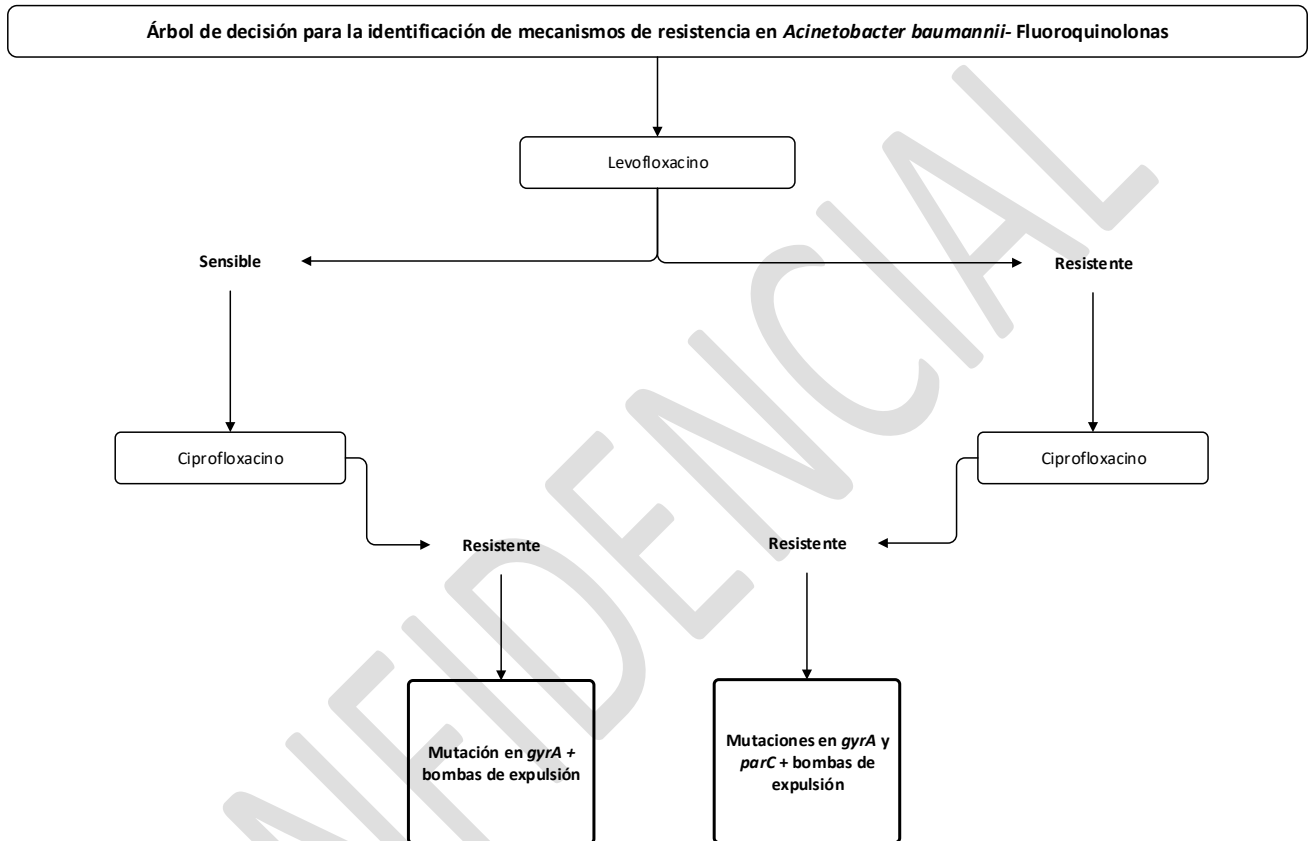
Acinetobacter spp. es capaz de desarrollar resistencia hacia otras familias de antimicrobianos diferentes a los betalactámicos, por ejemplo las fluoroquinolonas y los aminoglucósidos. En el caso de las fluoroquinolonas, las mutaciones en el ADN girasa (*gyrA*) y la topoisomerasa IV (*parC*) pueden conferir un alto nivel de resistencia hacia estos fármacos (Figura 15); en cambio, en los aminoglucósidos el mecanismo de resistencia más común está dado por enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Con respecto a los *Acinetobacter*, la enzima aminoglucósido-3'-fosfotransferasa VI o APH (3')-VI rara vez se encuentra en géneros bacterianos diferentes a *Acinetobacter spp.* (Vila et al., 1999) (Figura 16). La Tabla 14 detalla los mecanismos de resistencia en antibióticos no betalactámicos.

Por otra parte, la resistencia hacia los aminoglucósidos también puede ocurrir cuando, diferentes fenotipos de resistencia trabajan en conjunto para producir un fenotipo de multiresistencia, como es el caso de la producción de EMA y la presencia de bombas de eflujo, las cuales logran identificarse cuando la CMI de netilmicina tiene un valor de 16 mg/l (bomba AdeABC); ante la presencia de una enzima modificante los valores de CMI pueden ser de ≥ 32

mg/L. Cabe indicar que una cepa con dos o más enzimas modificantes es difícil e incluso imposible de reconocer únicamente con el perfil fenotípico obtenido.

Figura 15

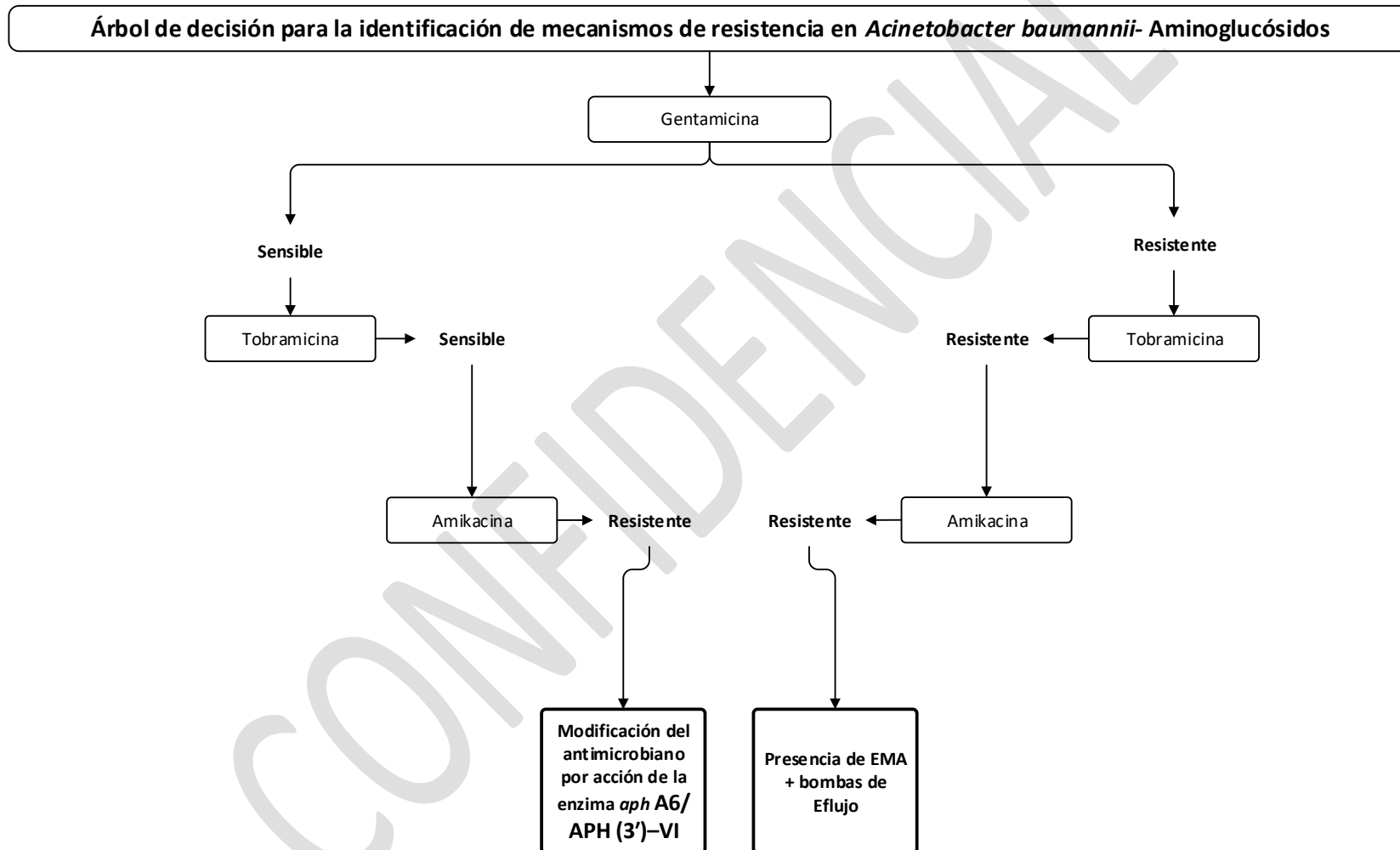
Árbol de decisión para la identificación de mecanismos de resistencia en *Acinetobacter baumannii*- Fluoroquinolonas



Nota. Datos obtenidos de Vila y Marco (2010) y Nass y Nordmann (2010)

Figura 16

Árbol de decisión diagnóstica para la identificación de mecanismos de resistencia en *Acinetobacter baumannii*-Aminoglucósidos



Nota. Datos obtenidos de Vila y Marco (2010) y Nass y Nordmann (2010).

Tabla 14

Fenotipos de resistencia en antibióticos no betalactámicos presentes en Acinetobacter baumannii

Grupo antibiótico	Antibiótico	Siglas	Concentración	Resultado	Comentarios	Interpretación
Aminoglucósidos	Gentamicina	GM	10 µg	SENSIBLE		Modificación del antimicrobiano por acción de la enzima <i>aph A6/APH (3')-VI</i>
	Tobramicina	TM	10 µg	SENSIBLE		
	Amikacina	AN	30 µg	RESISTENTE		
	Gentamicina	GM	10 µg	RESISTENTE	Evaluar la susceptibilidad hacia la netilmicina puede ser un buen indicativo de la presencia y sobreexpresión de la bomba de eflujo AdeABC cuando su CMI es de 16 mg/l.	Modificación del antimicrobiano por acción de EMA+ acción de bomba de eflujo (AdeABC)
	Tobramicina	TM	10 µg	RESISTENTE		
	Amikacina	AN	30 µg	RESISTENTE		
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino	CIP	5 µg	RESISTENTE	Mutación + Sobreexpresión de una o varias bombas de eflujo Bomba AdeABC Bomba AdeM	Mutación en <i>gyrA</i> ±bombas de expulsión
	Levofloxacino	LVX	5 µg	SENSIBLE		
	Ciprofloxacino	CIP	5 µg	RESISTENTE	Doble mutación + Sobreexpresión de bombas de eflujo (Bomba AdeABC y Bomba AdeM) otorga niveles elevados de resistencia a las fluoroquinolonas	Mutaciones en <i>gyrA</i> y <i>parC</i> + bombas de expulsión
	Levofloxacino	LVX	5 µg	RESISTENTE		

Nota. La susceptibilidad de *Acinetobacter* a la netilmicina debe ser evaluada mediante el método de concentración mínima inhibitoria (CMI) porque el CLSI y el EUCAST no proporcionan datos de sensibilidad o resistencia hacia este fármaco al utilizar el método de difusión en disco. AN: amikacina; GM: gentamicina; TM: tobramicina; CIP: ciprofloxacino; LVX: levofloxacino. En los Anexos se puede encontrar otros fenotipos descritos en *A. baumannii*. Datos obtenidos de Vila y Marco (2010) y Nass y Nordmann (2010).

a. Fluoroquinolonas

En *A. baumannii*, el principal determinante de resistencia a fluoroquinolonas se da por mutaciones en las regiones específicas QRDR, en el ADN girasa (*gyrA*) y la topoisomerasa IV (*parC*) (una doble mutación en *gyrA* Ser-83, *GyrA* y *parC* [Ser-80 o Glu-84 en *parC*]), lo que puede conferir un elevado nivel de resistencia hacia las fluoroquinolonas (Kakuta et al., 2020; Singh et al., 2013) (Figura 17, 18 y 19).

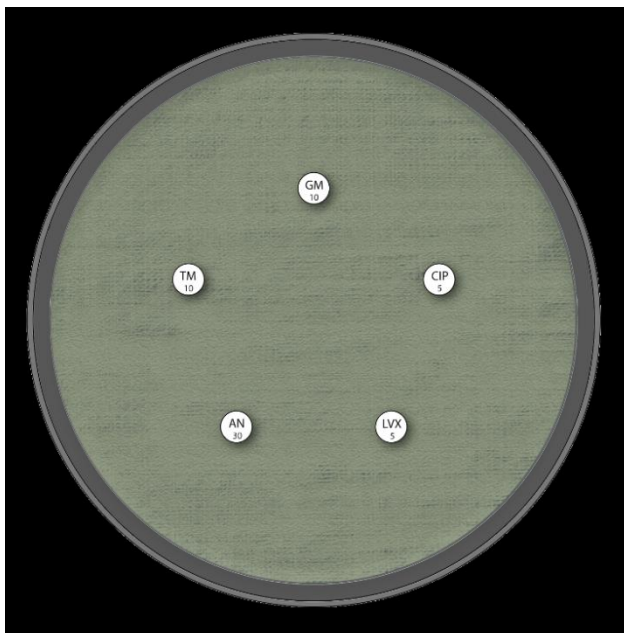
b. Aminoglucósidos

La amikacina es uno de los antimicrobianos más activos en contra de las infecciones causadas por *Acinetobacter spp*; no obstante, se ha visto afectada por la acción de ciertas EMA que son capaces de inhibir su acción (Kyriakidis et al., 2021). La EMA encontrada con mayor frecuencia en *Acinetobacter spp.* es la enzima APH (3')-VI (Figura 18) que tiene como sustrato principal a la amikacina, aunque también es capaz de inactivar a kanamicina, neomicina, paromomicina, ribostamicina, butirosina y gentamicina B (Vila et al., 1999).

Las cepas multirresistentes reportadas por brotes nosocomiales tienen la capacidad de albergar a más de una EMA, sumado a la expresión de la bomba de eflujo AdeABC (Figura 19), lo que se refleja en su fenotipo de multirresistencia. También es importante indicar que evaluar la susceptibilidad hacia la netilmicina puede ser un buen indicativo de la presencia y sobreexpresión de la bomba de eflujo AdeABC cuando su CMI es de 16 mg/l (Nass y Nordmann, 2010; Aliakbarzade et al., 2014).

Figura 17

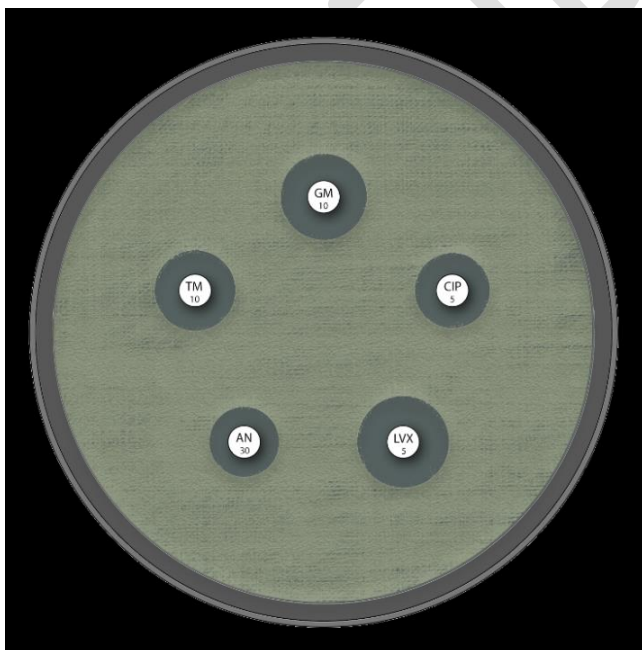
Disposición de discos antibióticos placa 2 Acinetobacter baumannii- no betalactámicos



Nota. AN: Amikacina de 30 µg; GM: Gentamicina de 10 µg; TM: Tobramicina de 10 µg; CIP: Ciprofloxacino de 5 µg; LVX: Levofloxacino de 5 µg.

Figura 18

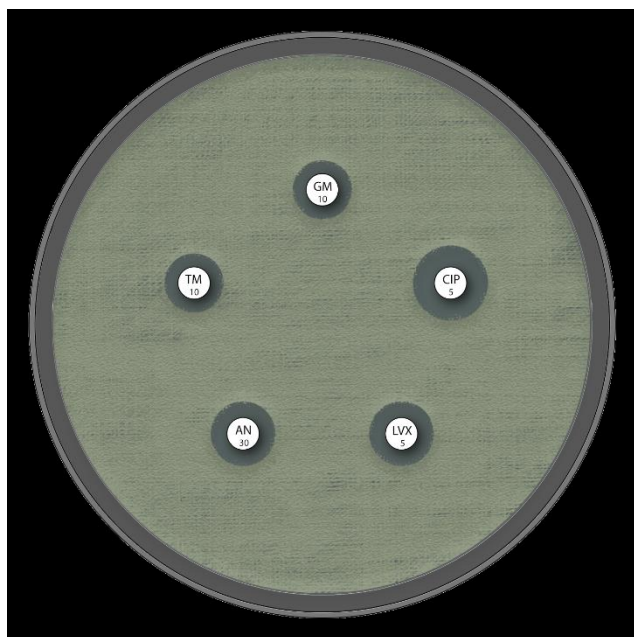
Modificación del antimicrobiano por acción de la enzima aph A6/APH (3')-VI+ Mutación en gyrA ± bombas de expulsión



Nota. AN: Amikacina de 30 µg con 13 mm (Resistente); GM: Gentamicina de 10 µg con 16 mm (Sensible); TM: Tobramicina de 10 µg con 15mm (Sensible); CIP: Ciprofloxacino de 5 µg con 14 mm (Resistente); LVX: Levofloxacino de 5 µg con 17mm (Sensible).

Figura 19

Modificación del antimicrobiano por acción de EMA+ acción de bomba de eflujo (AdeABC)-
Mutaciones en *gyrA* y *parC* + bombas de expulsión



Nota. AN: Amikacina de 30 µg con 12 mm (Resistente); GM: Gentamicina de 10 µg con 11 mm (Resistente); TM: Tobramicina de 10 µg con 11 mm (Resistente); CIP: Ciprofloxacino de 5 µg con 14 mm (Resistente); LVX: Levofloxacino de 5 µg con 12 mm (Resistente).

Nota: los diagramas e ilustraciones presentados en el capítulo deben ser usados como ayuda para la identificación de mecanismos de resistencia en *Acinetobacter*, más no como un método confirmatorio de la presencia de uno en específico, en vista de que varios mecanismos pueden trabajar en conjunto para expresar un fenotipo distinto a los expuestos. Las diferentes resistencias que pueda alcanzar este complejo deben ser confirmadas por otros métodos, como los moleculares, dado que los fenotipos presentados están basados en *Acinetobacter baumannii*, especie clínicamente más relevante dentro del complejo ACB.

4.3. Comentarios de reporte

Organismos internacionales como el CLSI (2022) y el EUCAST (2022) proponen puntos de corte para los diferentes antimicrobianos que pueden ser testados en *Acinetobacter*, así como estándares para la realización y el control de calidad del antibiograma en este género. Es importante mencionar que cada laboratorio debe implementar cepas de control que aseguren el buen comportamiento del método utilizado, por lo que la Tabla 15 detalla las cepas de ATCC (*American Type Cultures Collection*), recomendadas por estos organismos para evaluar el

control de calidad de rutina en *Acinetobacter spp.* dado que presentan patrones de sensibilidad conocidos.

Tabla 15

Cepas control que se deben usar según la CLSI y EUCAST

Organismo	Cepa ATCC
CLSI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
EUCAST	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853

Nota. Datos obtenidos de CLSI (2022) y EUCAST (2022)

Además, el CLSI (2022) recomienda cierta cantidad de discos a usar en el método de difusión de disco según la dimensión de la caja Petri a utilizar: máximo 12 discos para cajas de 150 mm y máximo 6 discos para cajas de 100 mm. Las medidas y posiciones de los antimicrobianos deben tener una separación mínima de 24 mm entre cada disco para obtener halos medibles debido a que las zonas superpuestas dificultan la medición de los mismos (para más información dirigirse al capítulo de control de calidad del antibiograma o Guía de lectura de difusión en disco M02).

Por su parte, el EUCAST (2022) también recomienda ciertos fármacos que pueden ser aplicados con el fin de obtener mayor efectividad en el tratamiento según el sitio de la infección, por ejemplo en el tracto urinario, meningitis e incluso infecciones sistémicas (Tabla 16).

Tabla 16

Antimicrobianos recomendados según el sitio de infección

Antimicrobiano	Siglas	Sitio de infección
Meropenem	MEM	Meningitis
Amikacina	AN	Infecciones sistémicas / Infecciones originadas en el tracto urinario
Gentamicina	GM	Infecciones sistémicas / Infecciones originadas en el tracto urinario
Tobramicina	TM	Infecciones sistémicas / Infecciones originadas en el tracto urinario
Tetraciclina	TE	Infecciones originadas en el tracto urinario

Nota. Datos obtenidos de CLSI (2022) y EUCAST (2022). Antimicrobianos usados para la terapia según el tipo de infección en *Acinetobacter spp.*

El listado de antimicrobianos sugeridos previamente en la Tabla 11 disponen de los agentes de primera y segunda línea, así como urinarios para utilizarse en el panel de pruebas de susceptibilidad y en el posterior tratamiento de infecciones por *Acinetobacter spp.*, que además

tienen que tomarse en cuenta para informes de resultados de laboratorio (Radice et al., 2011). El uso de dichos antimicrobianos ha de realizarse con base en su disponibilidad y aprobación para su uso clínico por las organizaciones reguladoras del país, tomando en cuenta consideraciones del CLSI (2022), INSPI (2019) y otros organismos.

Una vez realizada la identificación a nivel de especie de *Acinetobacter*, género *Acinetobacter spp.* o *Acinetobacter calcoaceticus/ baumannii complex*, se procede con las pruebas de susceptibilidad antibiótica. Cabe resaltar que la multirresistencia en *Acinetobacter spp.* puede definirse como la resistencia a los carbapenémicos independientemente de que exista o no resistencia hacia otras familias antimicrobianas (Oteo et al., 2017) (Tabla 17).

Tabla 17

Reporte para Acinetobacter spp. Multirresistente

Informe/Reporte para <i>Acinetobacter spp.</i> Multirresistente	
Sin crecimiento después de reincubación a 48 horas	No se aísla <i>Acinetobacter spp.</i>
Aislamiento de cepa no multirresistente	No se aísla <i>Acinetobacter spp.</i> multirresistente
Aislamientos de especies o género de <i>Acinetobacter spp.</i> que presenten multirresistencia	Se aísla <i>Acinetobacter spp.</i> multirresistente.

Nota. Datos obtenidos de CLSI (2022) y Oteo et al. (2017)

Nota: de existir la sospecha de que los resultados obtenidos son erróneos, ya sea por los métodos utilizados, error humano o contaminación, tienen que aplicarse métodos alternativos para su identificación y para su perfil de susceptibilidad (Cavalieri et al., 2005; Oteo et al., 2017).

El CLSI (2022) expone que las bacterias que demuestran sensibilidad frente al betalactámico individual también deben ser consideradas sensibles a la combinación con agentes betalactámicos. En cambio, en microorganismos sensibles al agente de combinación betalactámico no debe asumirse que son sensibles al betalactámico individual. Finalmente, aquellas bacterias que poseen fenotipos intermedios o resistentes al betalactámico individual pueden ser sensibles a la combinación de agente betalactámico.

En cuanto a las tetraciclinas, los microorganismos sensibles a este fármaco deben también ser considerados sensibles para la doxiciclina y la minociclina; no obstante, aquellas cepas que se presenten como intermedias o resistentes a la tetraciclina pueden ser sensibles a la minociclina y doxiciclina. En el caso del ciprofloxacino, este fármaco debe utilizarse como parte de la

terapia combinada en infecciones graves y su sensibilidad puede ser extrapolable al resto de fluoroquinolonas (CLSI, 2022; INSPI, 2019; Radice et al., 2011).

Con relación al E-test MBL, la presencia de esta enzima se observa mediante la relación de la concentración inhibitoria de IP/IPI (imipenem y imipenem+EDTA) de ≥ 8 o ≥ 3 diluciones logarítmicas; sin embargo, es requerida la confirmación por otros métodos como el PCR. Cabe indicar que Etest MBL IP/IPI está enfocado únicamente para pruebas de fenotipo y no para la determinación de la CMI de imipenem (Nass y Nordmann, 2010; Biomérieux, s.f.).

Ante la presencia de microorganismos con resistencia a carbapenémicos con carbapenemasa positivo (Sinergia EDTA) se debe notificar al departamento de epidemiología y control de infecciones, y el aislamiento tiene que ser posteriormente enviado al CRN-RAM u organización pertinente. La información es validada solo cuando el CRN-RAM proporciona el resultado definitivo (INSPI, 2019). Nota: solo para las cepas aisladas de sangre y fluidos estériles.

La baja actividad que tenga el microorganismo en al menos un carbapenémico posiblemente esté vinculada a la presencia de oxacilinasas intrínsecas, como OXA-51, que solo son investigadas con fines epidemiológicos (CLSI, 2022; INSPI, 2019).

Finalmente, La resistencia a penicilinas, cefamicinas (excepto cefepima y carbapenémicos) y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación es sugestivo a un mecanismo de resistencia de hiperproducción de la cefalosporinasa cromosómica AmpC por presencia de secuencia de inserción IS *aba1* (Radice et al., 2011).

5. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

5.1. Pruebas complementarias

5.1.1. E-test

También conocido como test de Épsilon es un método alternativo para determinar la susceptibilidad antimicrobiana, que está fundamentado específicamente en la técnica de difusión de disco, y es capaz de establecer directamente su concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante lectura directa del test. Su tira está compuesta por una concentración específica de antimicrobiano y contiene 15 diluciones a diferentes concentraciones.

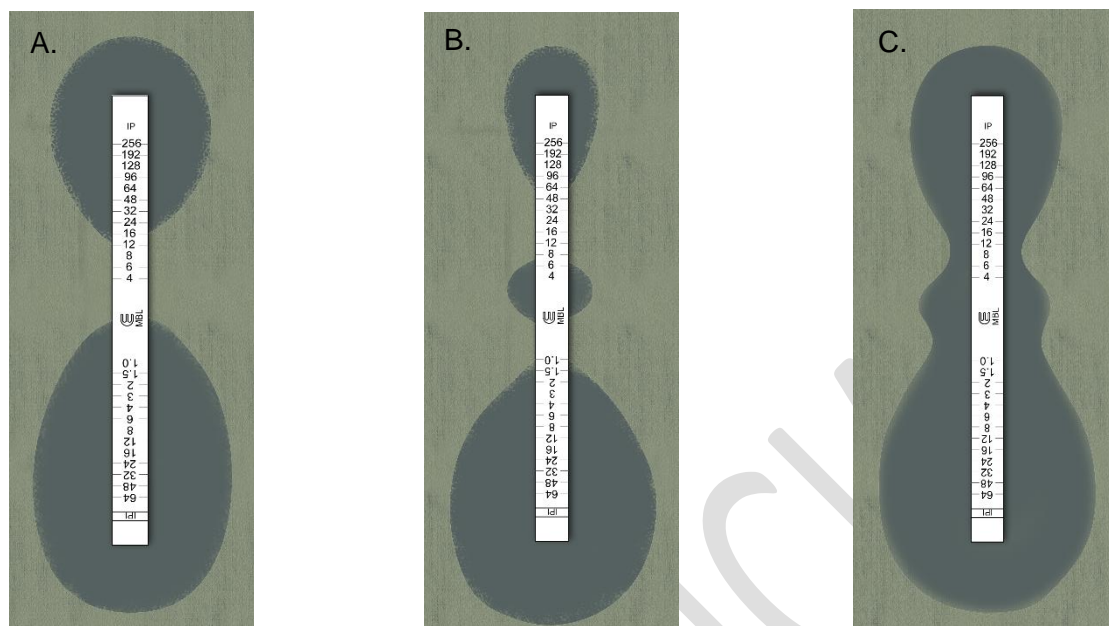
Para aplicar este test tiene que utilizarse una suspensión bacteriana (0.5 McFarland) igual a la usada en el método de difusión en disco en agar Müller Hilton. La placa debe ser inoculada con dicha suspensión para posteriormente colocar la tira de E-test con el antimicrobiano escogido en la superficie del agar. Una vez cumplido el tiempo de incubación, el valor obtenido en el test corresponde al CMI del microorganismo para ese antimicrobiano y el resultado se interpreta por el valor en el punto, lugar en donde se forma una elipse producto de la inhibición del crecimiento bacteriano con la tira (Picazo, 2000).

El E-test de MBL se realiza con el fin de identificar la producción de enzimas MBL con base en la inhibición por EDTA. La tira E-test MBL es útil en la detección de MBL de tipo IMP y VIM en la especie *A. baumannii*, aunque el efecto intrínseco del EDTA en esta especie puede llegar a interferir con la especificidad de la prueba, tal es el caso que se han observado falsos positivos en cepas productoras de OXA-23 probablemente por dicha actividad (Bonnin et al., 2012).

Es posible aplicar un test modificado mediante dos discos de imipenem con o sin 10 µL de EDTA 0.5 M debido a que puede presentar resultados similares a los obtenidos con las tiras Etest MBL. En este caso es considerado como positivo un aumento de 10 mm en el diámetro de la zona de inhibición en presencia del quelante (Massik et al., 2021). No obstante, Nass y Nordmann (2010) enfatizan que varios estudios sugieren que los resultados obtenidos con las tiras Etest MBL deben ser interpretados con precaución en organismos no fermentadores, por ejemplo *A. baumannii*. A continuación, la Figura 20 expone el E-test MBL.

Figura 20

E-test MBL



Nota. MBL positivo, relación: $IP/IPI IC = 16 / < 1 \Rightarrow 16$. (Figura 13-A). La zona fantasma entre IP/IPI es indicativo de producción MBL. (Figura 13-B). La deformación de la elipse es indicativo de producción de MBL. (Figura 13-C)

5.1.2. Prueba de Carba NP modificada (CarbAcineto NP)

La detección de enzimas carbapenemasas en el género *Acinetobacter spp.* resulta más compleja que en otras especies bacterianas, como *P. aeruginosa* o *Enterobacteriaceae*, debido a la baja permeabilidad intrínseca que poseen sus especies. Tal es el caso que para su identificación han sido modificadas técnicas fenotípicas para la búsqueda de estas enzimas, por ejemplo la prueba de Carba NP (Dortet et al., 2014).

Carba NP ha sido validada a nivel mundial en *Enterobacteriaceae* y *P. aeruginosa*, pero no totalmente en *Acinetobacter spp.*, debido a que sus tasas de hidrólisis de imipenem obtenidas con CHDL son demasiado bajas para ser detectadas por Carba NP en su versión original (se han logrado resultados efectivos con el test modificado de CarbAcineto NP) (Dortet et al., 2014). La principal ventaja de esta prueba es que los resultados son obtenidos el mismo día porque se omite el paso de incubación, pues su fundamento se basa principalmente en la detección de la hidrólisis del anillo betalactámico del imipenem por medio de un indicador colorimétrico a través del pH.

La prueba modificada fue realizada con NaCl 5 M, se sustituyó al tampón de lisis, fue duplicado el inóculo bacteriano de un tercio a la mitad de un asa calibrada de 10 uL con el fin de obtener una producción enzimática elevada y fue utilizada una solución reveladora de rojo fenol. Como lo indica Simner et al. (2017), esta prueba constituye una solución rápida y rentable para la identificación de carbapenemasas en especies de *Acinetobacter spp.*

5.1.3. Represión de carbapenémicos

Existen varios métodos de identificación fenotípica para enterobacterias productoras de enzimas carbapenemasas que pueden ser aplicadas en bacterias Gram negativas no fermentadoras, como *Acinetobacter spp.* y *P. aeruginosa*; entre estos métodos está el de inactivación de carbapenémicos modificado y la prueba de carba NP. Una de las ventajas del método de represión de carbapenémicos modificado es su accesibilidad, debido a que utiliza reactivos e insumos fácilmente disponibles y obtiene resultados más objetivos. Por otro lado, en el método de Kirby Bauer se utiliza el diámetro de la zona para interpretar los resultados obtenidos posterior a la incubación. La represión o inactivación de los carbapenémicos se basa en la facultad de los distintos microorganismos de producir enzimas carbapenemasas con la capacidad de degradar a estos fármacos (Reyes-Chacón et al., 2017).

El procedimiento inicia con la suspensión del microorganismo de estudio en agua destilada. Luego, es sumergido el disco de 10 microgramos de meropenem y se incuba durante dos horas a una temperatura de 35 °C. Posteriormente, se retira el disco de la suspensión para ser colocado en una caja Petri que contiene la cepa indicadora, generalmente *E. coli* ATCC, y se incuba a la misma temperatura. Si el aislamiento bacteriano produce carbapenemasa, el meropenem en el disco es inactivado y permite el crecimiento desinhibido de la cepa indicadora susceptible. Finalmente, la interpretación de resultados se realiza si el microorganismo de estudio cuenta con la capacidad de producción de carbapenemasas (Reyes-Chacón et al., 2017; Simner et al., 2017) (Tabla 18).

Tabla 18*Interpretación de los Resultados de la prueba de inactivación a carbapenémicos modificada*

Resultado	Interpretación
Halo de inhibición entre 6-15 milímetros/ ≤18 mm con colonias puntiformes en la zona de inhibición	Positivo La cepa productora de carbapenemasas
Halo de inhibición ≥19 mm	Negativo La cepa no es productora de carbapenemasa
Halo de inhibición 16-18 mm/ Halo de inhibición ≥19 mm con colonias puntiformes	Indeterminado requiere confirmación mediante el uso de pruebas complementarias

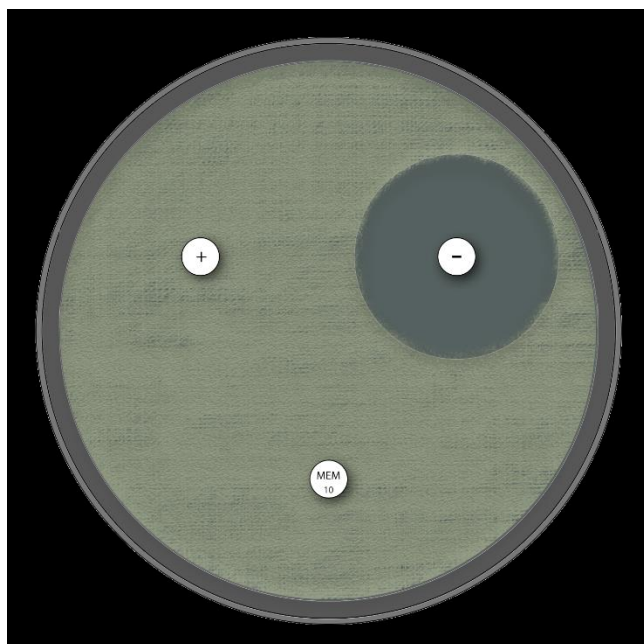
Nota. Datos obtenidos de Simner et al. (2017)

Para aplicar la prueba de inactivación de carbapenémicos se recomienda hacer uso de una cantidad mayor de inóculo bacteriano, con un asa de 10 uL, para la detección de carbapenemasas entre no fermentadores. Un estudio indicó una mayor sensibilidad y menor especificidad al utilizar el asa de 10 uL para la toma del inóculo bacteriano en contraste con el asa de 1 uL (Simner et al., 2017).

Es importante indicar que debido a que en *A. baumannii* es requerido más inóculo bacteriano para aumentar la sensibilidad del test se sacrifica especificidad del método, que inicialmente tiene 100 % con un asa de 1uL, pero que al aplicarlo de esta manera alcanza 63 % con un asa de 10uL. Es recomendable utilizar en conjunto las pruebas de represión de carbapenémicos (por su alta sensibilidad) y el test de carba NP (por su especificidad), en este orden, para identificar posibles aislamientos de *A. baumannii* productores de carbapenemasa (Simner et al., 2017) (Figura 21).

Figura 21

Prueba de represión de carbapenémicos positiva



Nota., (+): control positivo izquierda, (-): control negativo derecha, MEM, Meropenem abajo (muestra) Producción de carbapenemasa positiva.

5.1.4. Test EDTA en *Acinetobacter*

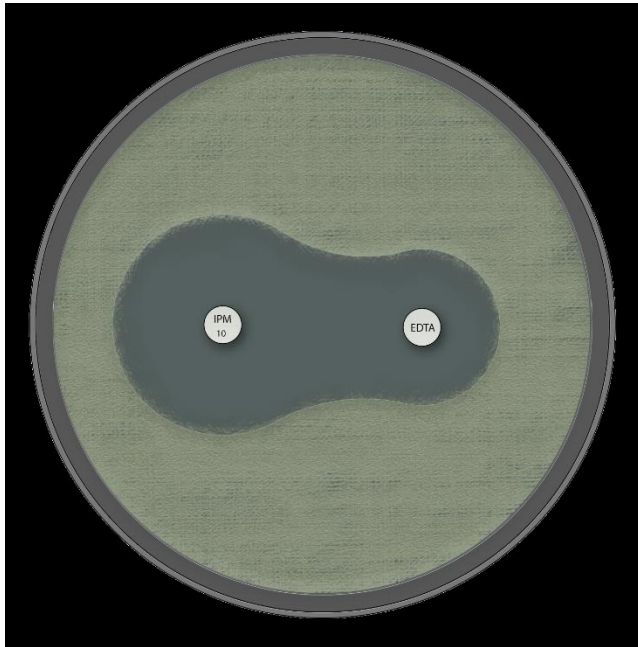
Acinetobacter spp. es capaz de producir enzimas MBL de tipo VIM o IMP, por lo que su rápida detección es fundamental para prevenir su diseminación puesto que los genes MBL están presentes en casetes de genes móviles insertados en integrones (Yong et al., 2002). Algunas técnicas han tenido un buen desempeño en la detección de estas enzimas MBL y en este caso el test está basado en el uso de quelantes, como el EDTA, y su capacidad para interactuar con la molécula de zinc que se encuentra en el sitio activo de la enzima. Para ejecutar esta técnica se hace uso de carbapenémicos.

El procedimiento consiste en estandarizar la cepa de estudio a una escala de 0,5 McFarland, sembrar placa de agar Mueller Hinton al igual que un antibiograma convencional y, posteriormente, colocar el disco de EDTA junto al disco de imipenem (Lee et al., 2003). Como es posible observar en la Figura 22, el resultado es positivo debido a que existe sinergia entre el disco de carbapenémico y el que contiene EDTA, lo que corrobora la presencia de MBL. De acuerdo a Massik et al. (2021), un resultado positivo se da por la presencia de una zona de agrandamiento del halo en el disco que contiene EDTA. Cabe mencionar que el uso combinado

con SMA o ácido mercaptoacético sódico ha demostrado ser mejor para detectar metalo-β-lactamasas en *A. baumannii*, especialmente al usar un disco IPM y un disco EDTA + SMA el rendimiento de la prueba mejora (Vanegas-Múnera et al., 2014).

Figura 22

Test de EDTA positivo



Nota. Sinergia entre el disco de carbapenémico y el que contiene EDTA. Es importante indicar que el test de sinergia con EDTA puede dar resultados falsos positivos, sobre todo en especies no fermentadoras como *Acinetobacter spp* y *P. aeruginosa*, pero es posible evitarlo al añadir Zn^{2+} al medio de agar.

5.1.5. Prueba de Hodge modificada

Varios mecanismos pueden trabajar en conjunto para desarrollar resistencia hacia los carbapenémicos, pero la producción de enzimas carbapenemasas del tipo B y D son los más comunes en *A. baumannii* (Abouelfetouh et al., 2019). Es indudable que la detección de enzimas carbapenemasas en *A. baumannii* es compleja; no obstante, es posible detectarlas por métodos fenotípicos y genotípicos, aunque son estos últimos los más confiables.

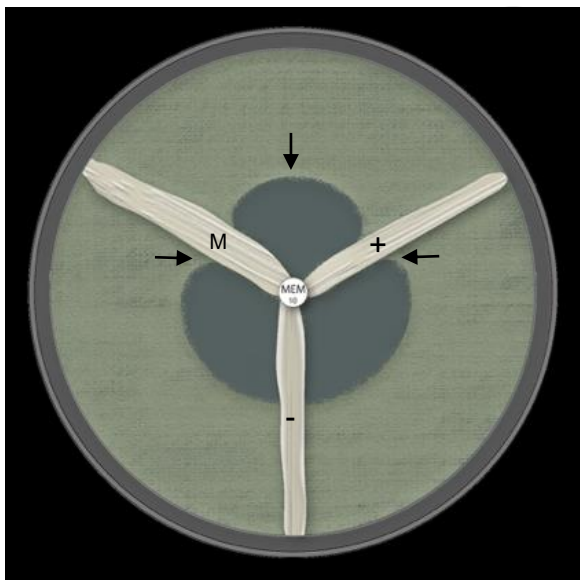
Precisamente, entre los test fenotípicos se encuentra la prueba de Hodge modificada (MHT), que es muy fácil de realizar en el laboratorio. Para este método es necesario una dilución de concentración 0,5 McFarland de *E. coli* ATCC 25922 en 5 mL de solución salina, que debe ser

extendida en agar Müller Hilton y luego realizar un antibiograma. Posteriormente, hay que añadir un disco de meropenem de 10 µg de concentración en el medio de la caja con la finalidad de sembrar en línea recta la colonia sospechosa de producir carbapenemasa. Finalmente, debe incubarse por la noche a 35 °C durante 24 horas (Amjad et al., 2011).

Una prueba es considerada positiva ante el crecimiento en forma de trébol de *E. coli* ATCC 25922 a lo largo de la cepa productora de carbapenemasa, mientras que un resultado negativo no muestra ningún crecimiento (Amjad et al., 2011). Es necesario que en aquellas cepas que evidencien sensibilidad disminuida, con diámetros de ≤ 13 mm, en el método de difusión en disco, sea analizada la producción de posibles carbapenemasas mediante la aplicación de esta técnica. Pero claro, el uso de métodos moleculares es esencial para la confirmación y para limitar la propagación de cepas resistentes (Moulana et al., 2020) (Figura 23).

Figura 23

Prueba de Hodge



Nota. M: muestra, (+): control positivo, (-): control negativo. Test de Hodge positivo, parte superior de la caja, el crecimiento en forma de trébol (flechas) de *E. coli* ATCC 25922 a lo largo del inóculo de la muestra indica una cepa productora de carbapenemasa.

6. ANEXOS

6.1. Otros fenotipos de resistencia presentes en *Acinetobacter baumannii*

Para identificar la resistencia de los agentes microbianos aislados se requiere realizar pruebas fenotípicas o genotípicas con el fin de detectar los mecanismos responsables y, de esta forma, obtener información necesaria para establecer un tratamiento eficaz y dar seguimiento a la resistencia epidemiológica. El género *Acinetobacter spp.* posee fenotipos multirresistentes mediante elementos genéticos, como plásmidos e integrones, que son elementos móviles asociados fuertemente con la diseminación de la resistencia a los antibióticos, en vista de que la mayoría de ellos se adquieren por contacto directo con otros géneros bacterianos como *Pseudomonas spp.* (Poirel et al., 2003). Es así que *Acinetobacter spp.* posee múltiples mecanismos frente a los antibióticos relacionados directamente al tamaño de su genoma, por ejemplo en *A. baumannii* se ha evidenciado que posee genes agrupados en islas de resistencia, hecho que facilita a desarrollar mayor fuerza a otros géneros y especies bacterianas.

Las enzimas que inactivan los fármacos se conocen como betalactamasas, las cuales hidrolizan y confieren resistencia a varias familias de antimicrobianos: penicilinas, cefalosporinas sintéticas y carbapenémicos. La resistencia a los carbapenémicos se observa debido a una gran cantidad de enzimas de tipo OXA de clase D y algunas MBL de clase B, lo que implica una amenaza significativa de ubicaciones fácilmente transferibles de las enzimas en el gen bacteriano (Rolain et al., 2016; Singh, et al., 2013).

6.2. Fenotipo clásico en *A. baumannii*

La mayoría de las cepas de *Acinetobacter spp.* poseen de manera intrínseca una cefalosporinasa cromosómica de tipo AmpC no inducible, conocida también como cefalosporinasa derivada de *Acinetobacter* o ADCs (por sus siglas en inglés) (Vanegas-Múnera et al., 2014). Esta enzima es la encargada de hidrolizar principalmente a las cefalosporinas de primera y segunda generación y no se ve afectada por la acción de inhibidores de betalactamasas como el clavulanato. Este es el clásico perfil de resistencia observado en cepas de *Acinetobacter*, aunque siempre hay diferencias en sus concentraciones de CMI debido a las características que pueden presentarse entre enzimas AmpC y la expresión de la misma, ya sea que exista o no hiperproducción (Nass y Nordmann, 2010).

6.3. *A. baumannii* hiperproductora de cefalosporinasa AmpC endógena.

A. baumannii posee una diferencia notable de AmpC con respecto a las demás bacterias Gram negativas debido a que lo tiene de manera intrínseca y no de forma inducible como la mayoría de estas bacterias (Hamidian y Hall, 2013). Así, su sobreexpresión se ve reforzada por la presencia de la secuencia de inserción IS *Aba1*, lo que genera resistencia a cefalosporinas de espectro extendido, aunque fármacos como el cefepima (cefalosporina de cuarta generación) y carbapenémicos no parecen afectarse por dicha sobreexpresión (Rolain et al., 2016; Nass y Nordmann, 2010).

6.4. *A. baumannii* productora de penicilinas de espectro reducido

Actualmente, el registro de enzimas betalactamasas de tipo penicilinas de espectro reducido es limitado en Gram negativas. La mayoría de estas enzimas pertenecen a la clase A, y son de tipo TEM, SHV y CARB. Varias de ellas prevalecen en especies de *Acinetobacter spp.* Precisamente, este es el caso de SCO-1, encargada de hidrolizar en un alto nivel a penicilinas y que fue identificada a partir de aislados de *Acinetobacter spp.* (Poirel et al., 2007).

De acuerdo a Nass y Nordmann (2010), su importancia clínica es limitada dada la potencia de otros determinantes de resistencia, pero se han identificado penicilinas SCO-1 sensibles al ácido clavulánico en *Acinetobacter spp.*, incluyendo *A. baumannii*, *A. junii*, *A. baylyi* y *A. johnsonii*. Es así que hidroliza significativamente las penicilinas y, en menor medida, la cefalotina, ceftazidima y cefepima.

6.5. *A. baumannii* hiperproductora de cefalosporinasa AmpC endógena. y productora de penicilinas TEM-1 adquirida

En *Acinetobacter* también puede ocurrir un fenotipo combinado con diferentes mecanismos de resistencia. Un claro ejemplo de ello es la producción de una betalactamasa tipo TEM de espectro reducido más la combinación de la hiperproducción de AmpC, lo cual provee de resistencia a betalactámicos y sin afectar a los carbapenémicos (Nass y Nordmann, 2010).

6.6. *A. baumannii* productora de betalactamasa de espectro extendido VEB-1.

Estas betalactamasas pertenecen al grupo A de la clasificación de Ambler y están encargadas de generar resistencia a cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, pero son inhibidas por la acción del ácido clavulánico. Entre las BLEE tradicionales se encuentran las TEM (Temoneira), SHV (sulfidrilo variable), OXA (oxacilinasas), PER (Resistencia extendida para *Pseudomonas*) y las VEB (betalactamasas de espectro extendido vietnamita). Cabe indicar que la primera BLEE VEB-1 en *Acinetobacter spp.* fue reportada en Francia en 2003 por Laurent Poirel (Poirel et al., 2003; Naas et al., 2006).

La evaluación de la prevalencia de esta enzima resulta realmente complicada de identificar en el laboratorio, sobre todo en aquellas cepas que cuentan con hiperproducción de AmpC. La producción de BLEE en *A. baumannii* puede contribuir a la resistencia a las penicilinas y cefalosporinas de espectro extendido y a MDR, debido a que los genes de BLEE a menudo están asociados con genes de resistencia a aminoglucósidos (Nass y Nordmann, 2010).

6.7. *A. baumannii* productora de betalactamasa de espectro extendido RTG-4.

Las CARB, o betalactamasas hidrolizantes de carbenicilina, son enzimas pertenecientes al grupo A del sistema clasificatorio de Ambler. Esta familia se subdivide en 2 subgrupos, CARB y RTG, sus propiedades son similares entre sí al momento de hidrolizar antibióticos. Las enzimas hidrolizantes de carbenicilina CARB fueron identificadas principalmente en aislados clínicos de *P. aeruginosa*, aunque actualmente los genes codificantes de estas enzimas (*bla* CARB) se encuentran extendidos en varios géneros y especies a nivel mundial y están poco o nada relacionadas con *P. aeruginosa* (Potron et al., 2009).

La betalactamasa RTG-4 (CARB-10), que corresponde a la primera enzima reportada de espectro extendido CARB, fue identificada gracias a la clonación y expresión del contenido del gen de betalactamasa del aislado de *A. baumannii* KAR en *Escherichia coli* TOP10. RTG-4 es codificada por un plásmido en cuatro sustituciones de aminoácidos: Lys5Gln, Val49Ala, Ser69Thr e Ile290Val y es considerada una BLEE atípica al ser resistente a la cefepima y la cefepima, pero no a la ceftazidima ni a la cefotaxima (Potron et al., 2009; Nass y Nordmann, 2010).

6.8. *A. baumannii* productora de carbapenemasa adquirida OXA-23

La resistencia de *A. baumannii* hacia los carbapenémicos es el mayor problema que posee esta especie. *A. baumannii* tiene la capacidad de producir bajas cantidades de betalactamasas de origen natural (oxacilinasas) OXA-LIKE-51 que tiene bajo nivel de carbapenemasa, pero al sobre expresar su actividad se ven envueltas en la resistencia a carbapenémicos. Estas oxacilinasas pertenecen a la clasificación B y D del sistema de clasificación de Ambler y también son conocidas como oxacilinasas hidrolizantes de carbapenem o CHDL y como MBL (Corvec et al., 2007).

Se han evidenciado tres clases de genes de carbapenemasas en *A. baumannii*: *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24} y *bla*_{OXA-58-like}. La primera betalactamasa de tipo carbapenemasa fue reportada en 1985 como una enzima de tipo OXA, conocida principalmente como ARI-1, pero posteriormente cambió su nombre a OXA-23. El gen de esta carbapenemasa se lo encuentra a nivel mundial en el cromosoma del microorganismo, aunque en conjunto con *bla*_{OXA-58} tiene mayor presencia en plásmidos. La OXA-23 es una de las más difundidas en esta región y la primera encontrada en Latinoamérica, y los aislados que por lo general la presentan suelen tener valores elevados de CMI para los carbapenémicos (Rodríguez et al., 2018; Nass y Nordmann, 2010).

6.9. *A. baumannii* productora de carbapenemasa adquirida OXA-40

Como ya se mencionó, las carbapenemasas de tipo OXA se ubican en la clasificación D del sistema clasificatorio de Ambler y 2df del sistema de Bush y Jacoby. en *A. baumannii* se han evidenciado varias clases de OXA: desde intrínsecas como OXA-51 hasta adquiridas como OXA-23, OXA-40 y OXA 58. Todas están relacionadas directamente con la resistencia a los carbapenémicos (Bush y Jacoby, 2010; Hamidian y Hall, 2013; Kyriakidis et al., 2021).

OXA-40 (anteriormente conocido como OXA-24) es el segundo grupo de enzimas de este tipo dentro de *A. baumannii* y que tiene presencia en Portugal, España, Irán y Estados Unidos. Aunque esta enzima se encontró en aislados de *A. baumannii*, nuevos estudios encontraron genes *bla* *OXA-40 like* en otros microorganismos, específicamente en plásmidos como *P. aeruginosa* y especies de *Acinetobacter spp.* (Evans y Amyes, 2014; Cicek et al., 2014).

La resistencia mediada por carbapenemasas está asociada sobre todo a la producción de enzimas carbapenemasas de clases D, específicamente OXA-23-like, OXA-40-like, OXA-58-like y MBL. Por otro lado, el contenido G-C encontrado en genes *bla* OXA-40 es de 34.1 %, es decir que no es muy probable el origen de estos genes en *A. baumannii*. Los aislados portadores de betalactamasas OXA-40-like por lo general son resistentes a los carbapenémicos, y en estudios en los que se ha inactivado el gen *bla*_{OXA-40} los aislamientos aumentan su sensibilidad hacia penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, lo que es un indicio del rol fundamental que tiene este gen para otorgar resistencia aumentada a los betalactámicos. Finalmente, al igual que en el caso de OXA-23, OXA-40 puede trabajar en conjunto con diferentes mecanismos de resistencia para generar un fenotipo multirresistente (Evans y Amyes, 2014; Ferreira et al., 2017; Hamidian y Hall, 2013).

6.10. *A. baumannii* productora de carbapenemasa adquirida IMP-4

En *A. baumannii* las enzimas de tipo MBL llegan a ser identificadas en menor medida que las OXA; no obstante, su capacidad de hidrólisis hacia los carbapenémicos es mucho mayor. La MBL IMP-4 fue descrita por primera vez en Hong Kong en una cepa de *A. baumannii*, cuenta con una fuerte actividad en contra del imipenem y meropenem y es capaz de inactivar a todos los betalactámicos, a excepción de los monobactámicos (Aztreonam), hecho que puede ser de gran ayuda al momento de su detección en el laboratorio (Koh et al., 2007; Nass y Nordmann, 2010; Houang et al., 2003).

En el estudio de Chu et al. (2001) se identificó el gen *bla* IMP-4 en diferentes grupos de ADN genómico, lo que da indicio a transferencia horizontal en este gen. Una de las características más preocupantes evidenciadas fue que el gen *bla* IMP-4 se localizaba en un integrón de tipo I residente en un plásmido conjugativo. Es así que la caracterización adicional realizada al gen demostró que se encontraba en una matriz de casetes con otros 3 casetes de genes de resistencia (*qacG2*, *aacA4* y *catB3*) en dicho integrón. Además, cuenta con una homología de secuencia de aminoácidos de 95.6 y 89.3 % con respecto a IMP-1 e IMP-2.

7. Referencias

- Abdi, S., Ghotaslou, R., Ganbarov, K., Mobed, A., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M. y Kafil, H. (2020). Acinetobacter baumannii Efflux Pumps and Antibiotic Resistance. *Infection and Drug Resistance*, 13, 423-434.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S228089>
- Abouelfetouh, A., Torky, A. y Aboulmagd, E. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates from Egypt. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8, 185.
<https://doi.org/10.1186/s13756-019-0611-6>
- Aliakbarzade, K., Farajnia, S., Karimi, A., Zarei, F. y Tanomand, A. (2014). Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in Acinetobacter baumannii Isolates. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(10), 1-6. <https://doi.org/10.5812/JJM.11924>
- Alsan, M. y Klompas, M. (2010). Acinetobacter baumannii: An emerging and important pathogen. *Journal of Clinical Outcomes Management*, 17(8), 363-369.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4782967/>
- Amjad, A., Mirza, I., Abbasi, S., Farwa, U., Malik, N. y Zia, F. (2011). Modified Hodge test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production. *Iranian Journal of Microbiology*, 3(4), 189-193.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3330182/>
- Anwar, M., Ejaz, H., Zafar, A. y Hamid, H. (2016). Phenotypic Detection of Metallo-Beta-Lactamases in Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii Isolated from Pediatric Patients in Pakistan. *Journal of Pathogens*, 2016, 1-7.
<https://doi.org/10.1155/2016/8603964>
- Asif, M., Alvi, I. y Rehman, S. (2018). Insight into Acinetobacter baumannii: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*, 11, 1249-1260.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S166750>
- Ayoub, C. y Hammoudi, D. (2020). Insights into Acinetobacter baumannii: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics*, 9(3), 1-29. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030119>

- Biomérieux. (s.f.). *Etest® para la Detección de Resistencia Antimicrobiana (ARD)*.
<https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/etest-para-la-deteccion-de-resistencia-antimicrobiana-ard>
- Bonnin, R., Naas, T., Poirel, L. y Nordmann, P. (2012). Phenotypic, Biochemical, and Molecular Techniques for Detection of Metallo- β -Lactamase NDM in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1419-1421. <https://doi.org/10.1128/JCM.06276-11>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. y Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Bouvet, P. y Grimont, P. (1986). Taxonomy of the Genus *Acinetobacter* with the Recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36(2), 228-240. <https://doi.org/10.1099/00207713-36-2-228>
- Bush, K. y Jacoby, G. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Cantón, R. (2010). Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(6), 375-385. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.01.001>
- Cavaliere, S., Harbeck R., McCarter, Y., Ortez, J., Rankin, I., Sautter, R., Sharp, S. y Spiegel, C. (2005). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiano*. American Society for Microbiology. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Cicek, A., Saral, A., Iraz, M., Ceylan, A., Duzgun, A., Peleg, A. y Sandalli, C. (2014). OXA- and GES-type β -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(5), 410-415. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12338>
- Clark, N., Zhanel, G. y Lynch, J. (2016). Emergence of antimicrobial resistance among *Acinetobacter* species: A global threat. *Current Opinion in Critical Care*, 22 (5), 491-499. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000337>

- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2022). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. (32^{da} ed.). CLSI
- Cortivo, G., Gutberlet, A., Ferreira, J., Ferreira, L., Deglmann, R., Campos, R., Westphal, G. y Condeixa de França, P. (2015). Antimicrobial resistance profiles and oxacillinase genes in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in Santa Catarina, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(6), 699-705. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0233-2015>
- Corvec, S., Poirel, L., Naas, T., Drugeon, H. y Nordmann, P. (2007). Genetics and Expression of the Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinase Gene blaOXA-23 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(4), 1530-1533. <https://doi.org/10.1128/AAC.01132-06>
- Cosgaya, C., Marí-Almirall, M., Van, A., Fernández-Orth, D., Mosqueda, N., Telli, M., Huys, G., Higgins, P., Seifert, H., Lievens, B., Roca, I. y Vila, J. (2016). *Acinetobacter dijkschoorniae* sp. Nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(10), 4105-4111. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001318>
- Courvalin, P. (1996). Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme). *Clinical Microbiology and Infection*, 2(1), S26-S34. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1996.tb00872.x>
- Crespo, M. (2002). La lectura interpretativa del antibiograma: Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colombia Médica*, 33(4), 179-193. <https://bit.ly/3dFduRe>
- Cutiño-Jiménez, A y Peña, H. (2019). Inserciones en secuencias de proteínas para la taxonomía y filogenia de las familias Pseudomonadaceae y Moraxellaceae (Orden Pseudomonadales). *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 50(2), 143-157. <https://bit.ly/3R5NEUU>
- Chen, F-J, Huang, W-C., Liao, Y-C., Wang, H-Y., Lai, J-F., Kuo, S-C., Lauderdale, T-L. y Sytwu, H-K. (2019). Molecular epidemiology of emerging carbapenem resistance in *Acinetobacter nosocomialis* and *Acinetobacter pittii* in Taiwan, 2010 to 2014. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(4). <https://doi.org/10.1128/AAC.02007-18>
- Chopjitt, P., Putthanachote, N., Ungcharoen, R., Hatrongjit, R., Boueroy, P., Akeda, Y., Tomono, K., Hamada, S. y Kerdsin, A. (2021). Genomic characterization of clinical

- extensively drug-resistant *Acinetobacter pittii* isolates. *Microorganisms*, 9(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020242>
- Chu, Y-W., Afzal-Shah, M., Houang, E., Palepou, M-F., Lyon, D., Woodford, N. y Livermore, D. (2001). IMP-4, a Novel Metallo- β -Lactamase from Nosocomial *Acinetobacter* spp. Collected in Hong Kong between 1994 and 1998. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 710-714. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.710-714.2001>
- Da Silva, G. y Domingues, S. (2016). Insights on the horizontal gene transfer of carbapenemase determinants in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*, 4(3), 1-23. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4030029>
- Dijkshoorn, L., Nemeč, A. y Seifert, H. (2007). An increasing threat in hospitals: Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, 5(12), 939-951. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>
- Dortet, L., Poirel, L., Errera, C. y Nordmann, P. (2014). CarbAcineto NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(7), 2359-2364. <https://doi.org/10.1128/JCM.00594-14>
- El Gharib, K., Masri, K., Daoud, Z. y Sfeir, T. (2021). Community-acquired *Acinetobacter calcoaceticus* pneumonia in a patient with agammaglobulinaemia. *New Microbes and New Infections*, 41, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100870>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EUCAST]. (2022). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0*. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf
- Evans, B. y Amyes, S. (2014). OXA β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(2), 241-263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
- Fernández, F., López, L. y Pascual, Á. (2013). Técnicas de tipificación molecular para la vigilancia y control de la infección. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(1), 20-25. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(13\)70110-1](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(13)70110-1)
- Fernández-Cuenca, F., Tomás, M., Caballero-Moyano, F., Bou, G., Pascual, Á. y Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. (2018). Reporting antimicrobial susceptibilities and resistance phenotypes in *Acinetobacter* spp: A nationwide proficiency study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(3), 692-697. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx464>

- Ferreira, O., Wagner, S., Sánchez, C. y Dias, S. (2017). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination in an intensive care unit. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 50(2), 167-172. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0329-2016>
- Ferrer, C. y Almirante, B. (2014). Infecciones relacionadas con el uso de los catéteres vasculares. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(2), 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.12.002>
- Gales, A., Seifert, H., Gur, D., Castanheira, M., Jones, R. y Sader, H. (2019). Antimicrobial Susceptibility of *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* Complex and *Stenotrophomonas maltophilia* Clinical Isolates: Results From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2016). *Open Forum Infectious Diseases*, 6(1), S34-S46. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy293>
- Gerner-Smidt, P., Tjernberg, I. y Ursing, J. (1991). Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(2), 277-282. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.2.277-282.1991>
- Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R. y Pavilonis, A. (2011). Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. *Medicina*, 47(3), 137-146. <https://doi.org/10.3390/medicina47030019>
- Gong, Y., Peng, Y., Luo, X., Zhang, C., Shi, Y., Zhang, Y., Deng, J., Peng, Y., Luo, G. y Li, H. (2021). Different Infection Profiles and Antimicrobial Resistance Patterns Between Burn ICU and Common Wards. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.681731>
- Hamidian, M. y Hall, R. (2013). ISAbal targets a specific position upstream of the intrinsic ampC gene of *Acinetobacter baumannii* leading to cephalosporin resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(11), 2682-2683. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt233>
- Harding, C., Hennon, S. y Feldman, M. (2018). Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 16(2), 91-102. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
- Ho, V., Kaafarani, H., Rattan, R., Namias, N., Evans, H. y Zakrison, T. (2020). Sepsis 2019: What Surgeons Need to Know. *Surgical Infections*, 21(3), 195-204. <https://doi.org/10.1089/sur.2019.126>
- Houang, E., Chu, Y., Lo, W., Chu, K., y Cheng, A. (2003). Epidemiology of Rifampin ADP-Ribosyltransferase (arr-2) and Metallo- β -Lactamase (blaIMP-4) Gene Cassettes in Class 1 Integrons in *Acinetobacter* Strains Isolated from Blood Cultures in 1997 to

2000. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(4), 1382-1390. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.4.1382-1390.2003>
- Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública [INSPI]. (2019). *Manual de vigilancia del centro de referencia nacional de resistencia a los antimicrobianos (CRN-RAM)*. <http://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/ram/wp-content/uploads/2019/02/Manual-de-vigilancia-2019.pdf>
- Jawad, A., Hawkey, P., Heritage, J. y Snelling, A. (1994). Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(10), 2353-2358. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.10.2353-2358.1994>
- Kakuta, N., Nakano, R., Nakano, A., Suzuki, Y., Tanouchi, A., Masui, T., Horiuchi, S., Endo, S., Kakuta, R., Ono, Y. y Yano, H. (2020). A Novel Mismatched PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Assay for Rapid Detection of *gyrA* and *parC* Mutations Associated with Fluoroquinolone Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Annals of Laboratory Medicine*, 40(1), 27-32. <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.1.27>
- Kim, S., Oh, M., Jun, S., Jeon, H., Kim, S, Kim, K. y Lee, Y. (2016). Outer membrane Protein A plays a role in pathogenesis of *Acinetobacter nosocomialis*. *Virulence*, 7(4), 413-426. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1140298>
- Koh, T., Sng, L., Yeng, G., Hsu, L. y Zhao, Y. (2007). IMP-4 and OXA β -lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Singapore. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(4), 627-632. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl544>
- Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. y Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3), 1-31. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>
- Leclercq, R., Cantón, R., Brown, D., Giske, C., Heisig, P., MacGowan, A., Mouton, J., Nordmann, P., Rodloff, A., Rossolini, G., Soussy, C., Steinbakk, M., Winstanley, T. y Kahlmeter, G. (2013). EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(2), 141-160. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>
- Lee, K., Lim, Y., Yong, D., Yum, J. y Chong, Y. (2003). Evaluation of the Hodge Test and the Imipenem-EDTA Double-Disk Synergy Test for Differentiating Metallo- β -Lactamase-

- Producing Isolates of *Pseudomonas* spp. And *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10), 4623-4629. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4623-4629.2003>
- Liao, H., Lin, X., Li, Y., Qu, M. y Tian, Y. (2020). Reclassification of the Taxonomic Framework of Orders Cellvibrionales, Oceanospirillales, Pseudomonadales, and Alteromonadales in Class Gammaproteobacteria through Phylogenomic Tree Analysis. *mSystems*, 5(5), 1-14. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00543-20>
- Manchanda, V., Sanchaita, S. y Singh, N. (2010). Multidrug resistant *Acinetobacter*. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(3), 291-304. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.68538>
- Marcos, M. (s.f.). *Acinetobacter baumannii*. Control y Calidad SEIMC. <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/acinetobacter.pdf>
- Martínez, P. y Máttar, S. (2010). Mutación en el gen *gyrA* de aislamientos hospitalarios de *Acinetobacter baumannii* en Montería, Colombia. *Infectio*, 14(2), 97-104. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70097-7](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70097-7)
- Massik, A., Hibaoui, L., Arhoun, B., Yahyaoui, G., Oumokhtar, B. y Mahmoud, M. (2021). Detection of metallo-beta lactamases and oxacillinase genes in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Morocco. *Pan African Medical Journal*, 40(210). <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.40.210.28663>
- Moulana, Z., Babazadeh, A., Eslamdost, Z., Shokri, M. y Ebrahimpour, S. (2020). Phenotypic and genotypic detection of metallo-beta-lactamases in Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 11(2), 171-176. <https://doi.org/10.22088/cjim.11.2.171>
- Murray, P., Rosenthal, K. u Pfaller, M. (2017) *Microbiología médica*. (8^{va} ed.) Elsevier.
- Naas, T., Coignard, B., Carbonne, A., Blanckaert, K., Bajolet, O., Bernet, C., Verdeil, X., Astagneau, P., Desenclos, J. y Nordmann, P. (2006). VEB-1 extended-spectrum β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerging Infectious Diseases*, 12(8), 1214–1222. <https://doi.org/10.3201/eid1708.051547>
- Nass, T. y Nordmann, P. (2010). *Acinetobacter* and β -lactams. En P. Courvalin, R. Leclercq y L. Rice, *Antibiogram* (pp. 407– 420). Eska Publishing.
- National Center of Biotechnology Information [NCBI]. (s.f.). Genome. Recuperado el 28 de mayo de 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F. y Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos.

- Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524-534.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.011>
- Nemec, A., Krizova, L., Maixnerova, M., Sedo, O., Brisse, S. y Higgins, P. (2015). *Acinetobacter seifertii* sp. Nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(3), 934-942.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.000043>
- Nemec, A., Krizova, L., Maixnerova, M., van der Reijden, T., Deschaght, P., Passet, V., Vaneechoutte, M., Brisse, S. y Dijkshoorn, L. (2011). Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. Nov. (Formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. Nov. (Formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Research in Microbiology*, 162(4), 393-404.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.02.006>
- Nodarse, R. y Fuerte, M. (2015). Identificación fenotípica de cepas de *Acinetobacter* circulantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 44(1), 33-40. <https://bit.ly/3Khlh3P>
- Organización Panamericana de la Salud [OPS]. (s.f.). *Resistencia antimicrobiana. Número de aislamientos por patógeno y año para los países y territorios de las Américas*. <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/resistencia-antimicrobiana/567-amr-vig-es.html>
- Oteo, J., Bou, G., Chaves, F. y Oliver, A. (2017). Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(10), 667-675. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.12.013>
- Paterson, D. y Bonomo, R. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases: A Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657-686.
<https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Picazo, J. (Ed.). (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Poirel, L., Corvec, S., Rapoport, M., Mugnier, P., Petroni, A., Pasteran, F., Faccone, D., Galas, M., Drugeon, H., Cattoir, V. y Nordmann, P. (2007). Identification of the Novel Narrow-Spectrum β -Lactamase SCO-1 in *Acinetobacter* spp. From Argentina.

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(6), 2179-2184.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01600-06>
- Poirel, L., Menuteau, O., Agoli, N., Cattoen, C. y Nordmann, P. (2003). Outbreak of Extended-Spectrum β -Lactamase VEB-1-Producing Isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(8), 3542-3547.
<https://doi.org/10.1128/JCM.41.8.3542-3547.2003>
- Potron, A., Poirel, L., Croizé, J., Chantepedrix, V. y Nordmann, P. (2009). Genetic and Biochemical Characterization of the First Extended-Spectrum CARB-Type β -Lactamase, RTG-4, from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(7), 3010-3016. <https://doi.org/10.1128/AAC.01164-08>
- Rada, J. (2016). *Acinetobacter* un patógeno actual. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 55(1), 29-48. <https://bit.ly/3woJTcb>
- Radice, M., Marín, M., Giovanakis, M., Vay, C., Almuzara, M., Limansky, A., Casellas, J., Famiglietti, A., Quinteros, M., Bantar, C., Galas, M., Kovensky, J., Nicola, F., Pasterán, F., Soloaga, R. y Gutkind, G. (2011). Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gram negativos no fermentadores de importancia clínica: Recomendaciones de la Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas, Asociación Argentina de Microbiología. *Revista argentina de microbiología*, 43(2), 136-153. <https://bit.ly/3PIASuG>
- Reyes-Chacón, J., Villacís-Acuña, J., Chicaiza-Alomoto, S., Satán-Salazar, C., Salas-Iglesias, S., Ushiña-Cueva, L., Villavicencio-Zambrano, F., Tamayo-Trujillo, R., Rivera-Villalba, R., Esparza-Sánchez, G. y Escalante-Vanoni. (2017). Inactivación del carbapenémico, un método alternativo para detectar carbapenemasa tipo KPC en Enterobacteriaceae. *Infectio*, 21(4), 251-254. <https://doi.org/10.22354/in.v21i4.688>
- Rodríguez, C., Nastro, M. y Famiglietti, A. (2018). Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 327-333. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.006>
- Rodríguez, R., Bustillo, D., Caicedo, D., Cadena, D. y Castellanos, C. (2016). *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. *Médicas UIS*, 29(2), 135-135. <https://doi.org/10.18273/revmed.v29n2-2016010>
- Rolain, J., Loucif, L., Al-Maslmani, M., Elmagboul, E., Al-Ansari, N., Taj-Aldeen, S., Shaukat, A., Ahmedullah, H. y Hamed, M. (2016). Emergence of multidrug-resistant

- Acinetobacter baumannii producing OXA-23 Carbapenemase in Qatar. *New Microbes and New Infections*, 11, 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2016.02.006>
- Rumbo, C., Tomás, M., Fernández, E., Cruz, N., Carvajal, M., Santillana, E., Beceiro, A., Romero, A. y Bou, G. (2014). The Acinetobacter baumannii Omp33-36 Porin Is a Virulence Factor That Induces Apoptosis and Modulates Autophagy in Human Cells. *Infection and Immunity*, 82(11), 4666-4680. <https://doi.org/10.1128/IAI.02034-14>
- Shebl, E. y Gulick, P. (2022). Nosocomial Pneumonia. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535441/>
- Simner, P., Johnson, J., Brasso, W., Anderson, K., Lonsway, D., Pierce, V., Bobenchik, A., Lockett, Z. C., Charnot-Katsikas, A., Westblade, L., Yoo, B., Jenkins, S., Limbago, B., Das, S. y Roe-Carpenter, D. (2017). Multicenter Evaluation of the Modified Carbapenem Inactivation Method and the Carba NP for Detection of Carbapenemase-Producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(1), e01369-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01369-17>
- Singh, H., Thangaraj, P. y Chakrabarti, A. (2013). Acinetobacter baumannii: A brief account of mechanisms of multidrug resistance and current and future therapeutic management. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(11), 2602-2605. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6337.3626>
- Thirapanmethee, K., Srisiri-a-nun, T., Houngsaitong, J., Montakantikul, P., Khuntayaporn, P. y Chomnawang, M. (2020). Prevalence of OXA-Type β -Lactamase Genes among Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Clinical Isolates in Thailand. *Antibiotics*, 9(12), 1-10. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120864>
- Tooke, C., Hinchliffe, P., Bragginton, E., Colenso, C., Hirvonen, V., Takebayashi, Y. y Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3472-3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Vanegas-Múnera, J., Roncancio-Villamil, G. y Jiménez-Quiceno, J. N. (2014). Acinetobacter baumannii: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *CES Medicina*, 28(2), 233–246.
- Vijayakumar, S., Biswas, I. y Veeraraghavan, B. (2019). Accurate identification of clinically important Acinetobacter spp.: An update. *Future Science*, 5(6), 1-14. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2018-0127>

- Vila, J. y Marco, F. (2010). Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(10), 726-736. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.05.001>
- Vila, J., Ruiz, J., Navia, M., Becerril, B., Garcia, I., Perea, S., Lopez-Hernandez, I., Alamo, I., Ballester, F., Planes, A., Martinez-Beltran, J. y de Anta, T. (1999). Spread of Amikacin Resistance in *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated in Spain Due to an Epidemic Strain. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(3), 758-761. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9986846/>
- Wang, J., Ruan, Z., Feng, Y., Fu, Y., Jiang, Y., Wang, H. y Yu, Y. (2014). Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. *PLoS ONE*, 9(8), 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104882>
- Washington, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Shreckenberger, P. y Woods, G. (2008). *Koneman Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas*. (6^{ta} ed.). Editorial Wolters Kluwer.
- Wong, D., Nielsen, T., Bonomo, R., Pantapalangkoor, P., Luna, B. y Spellberg, B. (2017). Clinical and Pathophysiological Overview of *Acinetobacter* Infections: A Century of Challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(1), 409-447. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-16>
- Yong, D., Lee, K., Yum, J., Shin, H., Rossolini, G. y Chong, Y. (2002). Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo- β -Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas* spp. And *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(10), 3798-3801. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.10.3798-3801.2002>
- Zhu, P., Zhang, S., Kumar, R., Zhang, Z., Zhang, Z., Wang, Y., Jiang, X., Lin, K., Kaur, G. y Yung, K. (2022). Rhamnolipids from non-pathogenic *Acinetobacter calcoaceticus*: Bioreactor-scale production, characterization and wound healing potency. *New Biotechnology*, 67, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2021.12.001>
- Zurita, J. (2015). 15 años vigilando lo invisible. *El Telégrafo*.