



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA *in vitro* EN CEPAS DE *Acinetobacter* sp.,
AISLADAS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE
ALCALÁ”. CUMANÁ, ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

YULI SOLEDAD RODRÍGUEZ ORTEGA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2013

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA *in vitro* EN CEPAS DE *Acinetobacter* sp.,
AISLADAS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE
ALCALÁ”. CUMANÁ, ESTADO SUCRE

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA *in vitro* EN CEPAS DE *Acinetobacter* sp.,
AISLADAS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE
ALCALÁ”. CUMANÁ, ESTADO SUCRE


APROBADO POR:



Prof. Elsa Z. Salazar de Vegas
Asesora



Prof. Milizal Guzmán Lista
Jurado principal



Prof. Yasmína Araque
Jurado principal

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Cepas bacterianas.....	8
Recolección de datos	8
Subcultivo de cepas	8
Susceptibilidad antimicrobiana.....	9
Detección fenotípica de β -lactamasas.....	10
Análisis estadístico	11
RESULTADOS	12
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA	49
ANEXO	60
HOJA DE METADATOS	68

DEDICATORIA

A

Mis padres, Elsa Ortega y Arsenio Rodríguez, por ser las personas más especiales de mi vida, quienes me han visto crecer y me han brindado todo su amor y confianza. Gracias por su paciencia y dedicación. Mil palabras no bastarían para expresarles lo que significan para mí. Este logro es de ustedes, los amo.

Mis hermanos, José Gregorio, Yajaira, Arsenio y Yudila, por ser mi motivo de inspiración. Sé que siempre podre contar con ustedes, los quiero.

Mis sobrinos, Yuliersis, Milielsi, Yorgelis, José Gregorio, María de los Ángeles, Marielsi, Arsenio José y Adriana Alejandra, por llenar mi vida de alegría. Espero que este logro les sirva como ejemplo de lo que se puede lograr con esfuerzo y dedicación, los quiero mucho.

Mis abuelos, a los que ya no están presentes y a los que aún siguen conmigo, por llenarme de amor durante toda mi vida y por estar siempre pendientes de mí, los quiero mucho.

Mi amiga y comadre, Greidys, porque siempre ocupará un lugar muy especial en mi corazón, de ti guardaré los mejores recuerdos.

AGRADECIMIENTOS

A

Dios, por guiar todas mis acciones, brindarme fortaleza y entendimiento en cada paso de mi vida.

Mi asesora, la profesora Elsa Salazar, por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo de investigación, por su tiempo, guía y conocimientos brindados. Siempre le estaré agradecida.

Diorelis González, por brindarme toda su ayuda y colaboración cuando más la necesite. Gracias por tu sincera amistad. Te quiero mucho.

Rosa María Tedesco, por todo su apoyo y colaboración en la parte experimental de este proyecto. Siempre le estaré agradecida.

Los profesores, Militza Guzmán, Yasmina Araque y José Gregorio Betancourt, por toda su cooperación.

Mis amigos, Loriannys Lastra, Andreína Marcano, Karla Marín, Valmore Reyes, Nairobis Seijas, Ana Virginia Rivas, Juneidy Aguilera, Aurines Rodríguez, Nurexis Guzmán, Carlos Hernández, Yolimar Gámez, Jaime Mora y Lianesa Marcano, por los buenos momentos que hemos compartidos a lo largo de esta carrera, gracias por su amistad, los quiero.

La empresa privada Aluminios PIPO, C.A., Toyota Prospero y Centro de especialidades, Carúpano, a través de la Corporación Parque Tecnológico de Oriente. UDO, que con su aporte hicieron posible el desarrollo de esta investigación, la cual forma parte del proyecto LOCTI (Ley Orgánica de Ciencia, Tecnología e Innovación) intitulado: EPIDEMIOLOGÍA DE CEPAS BACTERIANAS, AISLADAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ”. CUMANÁ, ESTADO SUCRE.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. β -lactamasas descritas en <i>Acinetobacter</i> spp.....	3
Tabla 2. Distribución porcentual de β -lactamasas de espectro extendido, β -lactamasas tipo AmpC y metalo- β -lactamasas, detectadas fenotípicamente en el antibiograma de cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.....	14
Tabla 3 fenotipos de las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. ante β -lactámicos, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.....	17
Tabla 4. Fenotipos de las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. ante los aminoglucósidos, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.	19
Tabla 5. Fenotipos de las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. ante las quinolonas, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.....	19
Tabla 7. Asociación entre los fenotipos de las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. y la terapia antimicrobiana previa recibida por pacientes hospitalizados, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.....	21
Tabla 8. Asociación entre los fenotipos las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. y el tipo de muestra obtenida de infecciones de pacientes hospitalizados, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.....	22
Tabla 9. Asociación entre los fenotipos de las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. y los servicios médicos de atención a los pacientes hospitalizados, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.....	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución porcentual de la susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. frente a diferentes agentes antimicrobianos, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008. Método de Kirby y Bauer. AMP: ampicilina, SAM: ampicilina/sulbactam, PIP: piperacilina, PTZ: piperacilina/tazobactam, TIC: ticarcilina, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima, CRO: ceftriaxona, FEP: cefepima, IMP: imipenem, MEM: meropenem, GN: gentamicina, NN: tobramicina, NET: netilmicina, AMK: amikacina, SPT: espectinomicina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, LVX: levofloxacina, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprim sulfametoxazol.	13
Figura 2. Producción fenotípica de α -lactamasas tipo AmpC en cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. de origen hospitalario.	15
Figura 3. Producción fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de <i>Acinetobacter</i> sp. de origen hospitalario. Método disco combinado.	15
Figura 4. Producción fenotípica de metalo- α -lactamasa en cepa de <i>Acinetobacter</i> sp. de origen hospitalario.	16

RESUMEN

Con el objeto de analizar la resistencia antimicrobiana *in vitro* en cepas de *Acinetobacter* sp., aisladas del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA), Cumaná, estado Sucre, durante el periodo comprendido entre los meses junio-diciembre de 2008, se estudiaron 265 aislados identificados previamente como Bacilos Gram Negativos no Fermentadores (BGNNF), provenientes de pacientes hospitalizados y ambulatorios, atendidos en dicha institución. La identificación a nivel de género de los aislados de *Acinetobacter* sp. se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante la prueba de difusión en agar. Para la detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se utilizó el método de disco combinado y para la detección de metalo- β -lactamasas (M β L) se realizó la prueba de doble disco. La β -lactamasa tipo AmpC inducible se detectó al observar achatamiento del halo de inhibición entre los discos de ceftazidima e imipenem y piperacilina tazobactam e imipenem en el antibiograma. Se identificaron 85 aislados de *Acinetobacter* sp., de éstos, 79 se obtuvieron de pacientes hospitalizados y 6 de pacientes ambulatorios. Con respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, las cepas de *Acinetobacter* sp. presentaron porcentajes de resistencia ante la mayoría de los β -lactámicos, los cuales fueron superiores al 54,0%, a excepción de las carbapenemas, donde los porcentajes de resistencia fueron inferiores al 35,0%. Se detectaron 23 aislados de *Acinetobacter* sp. productoras de BLEE, mediante el método de disco combinado. Se observaron 19 aislados productores de AmpC inducible y uno productor de M β L. El fenotipo I (SAM^R, TIC^R, PIP^R, CTX^R, CAZ^R, FEP^R, IPM^R, MEM^R) fue el más frecuentemente hallado entre las cepas ante los antimicrobianos β -lactámicos. Con respecto a los aminoglucósidos, los porcentajes de cepas de *Acinetobacter* sp. resistentes fueron inferiores al 51,0%, siendo, el fenotipo A (GEN^S, NN^S, NET^S, AMK^S, SPT^S) el mayormente observado. Seguido por el fenotipo B (GEN^R, NN^R, NET^R, AMK^R, SPT^R). La resistencia de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante las quinolonas fue superior al 55,0%, siendo el fenotipo α (NA^R, CIP^R, LVX^R) el mayormente encontrado. Los β -lactámicos fueron los más utilizados como terapia antimicrobiana previa, tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios. Se concluye que, el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes no depende del tipo de muestra, ni de la terapia antimicrobiana previa y, tampoco está condicionado al servicio médico donde se encuentre el paciente.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Acinetobacter* son bacilos cortos gramnegativos (1,5 a 2,5 µm por 1,0 a 1,5µm), generalmente, se disponen en parejas, cadenas o agrupados irregularmente. No fermentan la glucosa y son aerobios estrictos, inmóviles, catalasa positivo y oxidasa negativo, crecen bien en todos los medios de cultivo utilizados de rutina y su temperatura óptima de crecimiento es de 30 a 35°C (Bergogne-Bérézin y Towner, 1996; Salazar y Nieves, 2005). Después de 24 horas de crecimiento en agar sangre, las colonias de *Acinetobacter* sp. presentan un tamaño entre 0,5 y 2,0 mm de diámetro, son traslúcidas a opacas, convexas y enteras. La mayoría de las cepas crecen bien en agar Mac Conkey, donde crecen colonias rosado pálido (Koneman *et al.*, 2008).

Originalmente, el Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey había clasificado este género dentro de la familia *Neisseriaceae*. Sin embargo, basados en los datos taxonómicos más recientes, se propuso que los miembros del género *Acinetobacter* se clasifiquen en la familia *Moraxellaceae* (Towner, 2006; Peleg *et al.*, 2008). El género *Acinetobacter* incluye al menos 33 genoespecies, de las cuales, sólo 25 han podido ser nombradas (Salazar *et al.*, 2006; Nemeč *et al.*, 2009; Anandham *et al.*, 2010; Nemeč *et al.*, 2010; Nemeč *et al.*, 2011; Radice *et al.*, 2011).

Acinetobacter sp. forma parte de la microbiota de la piel y, de acuerdo a Diomedes (2005), hasta 31,0% del personal de salud es portador de bacilos gramnegativos en sus manos, de los cuales, *Acinetobacter* sp. es el segundo microorganismo (7,5%) más comúnmente aislado. Además, los miembros de este género están cada vez más implicados como presunto agente causal o contribuyendo en numerosos procesos infecciosos. Estas bacterias también habitan en el suelo, el agua y alcantarillado. Otros reservorios de dicho organismo pueden incluir una gama de superficies secas y húmedas, y los equipos en el medio hospitalario, así como los pacientes y el personal del mismo (Bergogne-Bérézin y Towner, 1996; Vila *et al.*, 2007; Koneman *et al.*, 2008; Opazo *et al.*, 2009).

Acinetobacter baumannii es la especie hallada con mayor frecuencia en muestras clínicas humanas, seguida de *A. iwoffii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. pittii*,

la genespecie 6 y *A. nosocomialis* (Salazar *et al.*, 2006; Dijkshoorn *et al.*, 2007; Koneman *et al.*, 2008; Nemec *et al.*, 2011; Casellas, 2012).

En los últimos años, las bacterias del género *Acinetobacter* han adquirido importancia epidemiológica de forma gradual y ascendente, debido a su emergencia como patógeno oportunista causante de un gran número de infecciones intrahospitalarias, y por la multirresistencia que se observa en la mayoría de los aislados, lo cual constituye un factor limitante para el tratamiento (Espinosa *et al.*, 2008; Aguirre *et al.*, 2009; Vizcaíno, 2009; Teme *et al.*, 2010). *Acinetobacter* sp. afecta, especialmente, a pacientes inmunocomprometidos que han sido sometidos a cirugía mayor o traumatismo, o aquellos con enfermedades subyacentes graves, tales como: quemaduras, inmunosupresión y tumores malignos. Entre las infecciones se incluyen: neumonía, principalmente asociadas a ventilación mecánica, septicemia, endocarditis, meningitis, sepsis de la herida y la piel e infección del tracto urinario (Vila *et al.*, 1993; Diomedi, 2005; Towner, 2006; Enoch *et al.*, 2007; Pérez *et al.*, 2007; Maragakis y Perl, 2008; Hernández *et al.*, 2010).

La sociedad americana de enfermedades infecciosas publicó una lista de alarma para llamar la atención sobre los seis microorganismos más peligrosos en estos momentos, no sólo por su virulencia, sino por ser resistentes a la gran mayoría de los antibióticos disponibles en la actualidad, en el cuarto lugar de dicha lista se encuentra *A. baumannii* (Prada, 2006; Fernández-Canigia y Dowzicky, 2012).

Los mecanismos de resistencia que se han descrito frente a los antimicrobianos β -lactámicos, en especies de *Acinetobacter* incluyen: la producción de β -lactamasas cromosómicas o plasmídicas, alteraciones de las proteínas de unión a la penicilina, y permeabilidad reducida de la membrana externa; además se ha sugerido la existencia de bombas de expulsión activa frente a estos antimicrobianos (Diomedi, 2005; Heritier *et al.*, 2005; Poirel *et al.*, 2005; Vila y Marco, 2010; Radice *et al.*, 2011). La producción de β -lactamasas es el mecanismo más estudiado en este microorganismo y, posiblemente, el de mayor importancia; en la tabla 1 se muestran las β -lactamasas hasta ahora descritas (Vila, 1998; Vila y Marco, 2002; Heritier *et al.*, 2005; Poirel *et al.*, 2005; Peleg *et al.*, 2008; Vila y Marco, 2010). Existe una gran variedad de dichas enzimas, las cuales

tienen la misma función, pero se diferencian en la secuencia de aminoácidos y en su afinidad por diferentes sustratos β -lactámicos (Koneman *et al.*, 2008).

Tabla 1. β -lactamasas descritas en *Acinetobacter* spp.

Clase	Tipo de β -lactamasas
A	2b: TEM-1, TEM-2, CARB-5, SCO-1 2be: PER-1, -2 y -7, VEB-1, y -1a, TEM-92, SHV-5, SHV-12, CTX-M-2 2f: KPC-2, -3, -4 y -10, GES-11, -12 y -14
B	IMP-1, -2, -4, -5, -6 y -11, VIM-1 y -2, SIM-1, NDM-1 y -2
C	ADC-1, -3, -4, -6 y -7
D	OXA-21, OXA-37, OXA 51/69, OXA-23, -27, -49, OXA-24/40, -25, -26, -72, OXA-58, -96, -97, OXA-143

Tomado de: Dijkshoorn *et al.*, 2007; Bogaerts *et al.*, 2010; Vila y Marco, 2010.

La producción de enzimas inactivantes es el principal mecanismo de resistencia ante los aminoglucósidos entre las especies de *Acinetobacter*, cada una tiene un sustrato diferente que confiere a la bacteria un perfil específico de resistencia, ellas son: las enzimas acetiltransferasas (AAC), dentro de las que se encuentran: la AAC (3')-II, la cual confiere resistencia a kanamicina, tobramicina, gentamicina y netilmicina; la AAC (6')-I proporciona resistencia para kanamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina; la AAC (2') inactiva gentamicina, tobramicina y netilmicina y la AAC (3')-I confiere resistencia a gentamicina. En el caso de las enzimas adeniltransferasas (ANT), la ANT (2'')-I confiere resistencia a kanamicina, tobramicina y gentamicina y la ANT (3'') a estreptomycin y espectinomycin. Las aminoglucósido-fosfotransferasas (APH), particularmente, la APH (2'') inactiva gentamicina, kanamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina y la APH (3') confiere resistencia a kanamicina y amikacina. Sin embargo, la APH (3')-VI confiere resistencia, principalmente, a amikacina (Shaw *et al.*, 1993; Bergogne-Bérézín y Towner, 1996; Vila y Marco, 2010).

También se ha detectado la presencia de genes que le confieren resistencia a *A. baumannii* frente a tetraciclina. Asimismo, se han descrito bombas de expulsión activa específicas para este antimicrobiano (Huys *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2007; Peleg *et al.*, 2008).

Acinetobacter posee una membrana externa adicional que actúa como barrera de permeación y, además, presenta bombas de expulsión activa que se encuentran expresadas de manera constitutiva, lo cual se traduce en una menor susceptibilidad a los antimicrobianos, lo que, sumado a otros mecanismos de resistencia, genera un fenotipo de multirresistencia (Diomedi, 2005; Opazo *et al.*, 2009; Hernández *et al.*, 2010; Vila y Marco, 2010).

Según Carmona *et al.* (2000), los primeros reportes de resistencia bacteriana, a nivel mundial, comenzaron hace, aproximadamente, 40 años. La resistencia puede darse de forma natural o intrínseca, cuando en bacterias de una misma especie existen mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antimicrobiano, y de forma adquirida, debido a la modificación de la carga genética de la bacteria, la cual puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética (Cordiés *et al.*, 1998; Pérez, 1998; Silva, 2006; Yoneyama y Katsumata, 2006).

Entre los factores más importantes relacionados con la aparición de resistencia bacteriana se encuentran: el empleo de antibióticos de amplio espectro en pacientes hospitalizados por largos periodos, sobre todo en áreas relativamente limitadas como las unidades de cuidados intensivos, la dosis y la duración inadecuada de la terapia antimicrobiana y el desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los diferentes gérmenes circulantes en las diferentes áreas o instituciones de salud (Espinosa, 2008; Gómez *et al.*, 2008).

Según Koneman *et al.* (2008), las especies de *Acinetobacter* son resistentes a una amplia variedad de antibióticos, existiendo una resistencia universal a penicilina, ampicilina y cefalotina, y la mayoría de las cepas son resistentes al cloranfenicol.

Diversos reportes han comunicado altas tasas de resistencia antimicrobiana en *Acinetobacter* sp., sus patrones de resistencia varían según especies aisladas y zona

geográfica (Diomedi, 2005; Picazo *et al.*, 2006). García-Peñuela *et al.* (2006) afirman que, pese a haber aumentado la resistencia de *A. baumannii* a todas las familias de antibióticos y de forma generalizada en todo el mundo, todavía se aprecian importantes diferencias entre lugares geográficamente distantes. En su estudio, al comparar patrones de sensibilidad de cepas de *A. baumannii* de diferentes orígenes, se obtuvieron mayores porcentajes de resistencia en cepas provenientes de España frente a cepas de China para los siguientes antibióticos: colistina, imipenem, ceftazidima, sulbactam, ofloxacina, tobramicina y amikacina; además, sugieren que las diferencias existentes en las tasas de resistencia podrían estar relacionadas con la expresión de diferentes mecanismos de resistencia a los antimicrobianos entre los aislamientos de este microorganismo.

Al respecto, Fernández-Cuenca *et al.* (2004) publicaron una revisión sobre varios estudios realizados en España, en los que se ha evaluado la sensibilidad *in vitro* de *A. baumannii* a los antimicrobianos, donde observaron que existe una gran diversidad de clones de este microorganismo aislados en España, siendo el patrón más frecuente, el caracterizado por la resistencia a doxiciclina, ceftazidima, sulbactam, imipenem, gentamicina y amikacina.

Picazo *et al.* (2006), en un estudio realizado en 40 hospitales de España sobre los patrones de sensibilidad a antimicrobianos de las bacterias multirresistentes, reportaron que la mayoría de los aislamientos de *A. baumannii* fueron resistentes a ticarcilina, piperacilina, piperacilina-tazobactam, trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacina, levofloxacina y gentamicina (entre el 70,0 y el 87,0% de cepas resistentes). La tasa de resistencia a imipenem, que en los años 2001-2004 se había mantenido en torno al 27,0%, aumentó hasta el 47,8% en dicho estudio.

En Venezuela se está vigilando la resistencia bacteriana desde el año 1987, cuando se creó el Programa Venezolano de Vigilancia de Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos (PROVENRA), en el cual, actualmente participan 49 laboratorios de microbiología públicos y privados del país, entre los cuales se encuentra el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA). Este programa forma parte de un Sistema Internacional de Vigilancia de la Resistencia WHONET, que depende de la

Organización Mundial de la Salud (OMS), en el que participan 53 países del mundo. Las cifras del periodo 1998 a 1999 demostraron altos porcentajes de cepas de *Acinetobacter* sp., resistentes para cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas, con la mejor actividad para los carbapenemas, para *Acinetobacter* sp., por lo que este microorganismo constituye un problema creciente, debido a su multirresistencia (Carmona *et al.*, 2000).

En un estudio publicado por Pedroza *et al.* (2002), se reportan aislados de *A. baumannii* provenientes de 3 centros hospitalarios de Caracas, que revelan la presencia de patrones complejos de resistencia múltiple. Más del 80,0% de las cepas presentaron resistencia a antimicrobianos como: ceftriazona, cefotaxima, ampicilina/sulbactam y amoxicilina/ácido clavulánico, los cuales son de uso frecuente en el tratamiento de las infecciones causadas por este microorganismo. Además, se observó resistencia hasta de 100,0%, frente a antibióticos como amoxicilina y cefotaxima. También, Narváez *et al.* (2005), afirman que la resistencia a múltiples antimicrobianos es un fenómeno frecuentemente asociado a la presencia de plásmidos transmisibles, convirtiéndose éstos en los agentes responsables de la diseminación de la resistencia entre diferentes especies bacterianas en un ambiente hospitalario.

Estudios publicados por Salazar *et al.* (2006) y Salazar *et al.* (2007), reportan aislamientos de cepas de *Acinetobacter* RUH 1139 y *A. baumannii*, provenientes de pacientes hospitalizados de la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos (UCI-A) y de la Unidad de Alto Riesgo Neonatal (UARN) del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), respectivamente; los cuales muestran fenotipos de resistencia a múltiples fármacos. Además, existen aislamientos de *A. baumannii*, donde se observa que todas las cepas fueron resistentes a la gentamicina y tetraciclina, 90,0% a amikacina y cefotaxima, y el 85,0% a ciprofloxacina. La resistencia de las cepas a la ceftazidima, cefepima e imipenem fue de 40,0; 50,0 y 10,0%, respectivamente.

Figueroa (2001), en su estudio de resistencia a antibióticos en bacterias patógenas, aisladas en pacientes del HUAPA, obtuvo que el mayor porcentaje de resistencia se presentó en los bacilos gramnegativos, entre los que se encuentra

Acinetobacter sp., con un 50,0% de cepas resistentes, siendo el fenotipo más observado: CEF^R, CIP^R, TOB^R, SAM^R, CL^R.

A nivel mundial, el incremento de infecciones intrahospitalarias, causadas por cepas multirresistentes de *Acinetobacter* sp., ha originado un aumento en el estudio de la actividad *in vitro* de diversos agentes antimicrobianos contra dichas cepas; sin embargo, a nivel nacional son pocos los trabajos publicados que reportan información al respecto. Por lo que, el presente trabajo estuvo dirigido a analizar la resistencia antimicrobiana *in vitro* en cepas de *Acinetobacter* sp., aisladas, durante el último semestre del año 2008, de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGÍA

Cepas bacterianas

Se estudiaron 265 aislados identificados previamente como Bacilos Gram Negativos no Fermentadores (BGNNF), obtenidos a partir de muestras provenientes de pacientes hospitalizados en los diferentes servicios médicos y ambulatorios (consultas de ginecología-obstetricia, traumatología, medicina interna, pediatría, urología, personal y redes ambulatorias) atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre, durante el periodo junio-diciembre de 2008. Los aislados bacterianos se encuentran preservados en el Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis de la Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

Recolección de datos

Para la recolección de los datos clínicos, se realizó una revisión de la historia de los pacientes que tenían cultivos positivos para BGNNF, dicha historia fue recolectada en una encuesta aplicada a cada uno de los pacientes, previo consentimiento de los mismos (Anexos 1 y 2).

Subcultivo de cepas

Con el objeto de probar la viabilidad y pureza de los aislados, cada cepa conservada se colocó en caldo infusión cerebro corazón. Luego, los mismos se cultivaron en agar Mac Conkey (BBL™) y, posteriormente, se observó el crecimiento bacteriano. En cada ocasión, el material fue incubado durante toda la noche a 35°C. Con la finalidad de verificar que los cultivos correspondían a *Acinetobacter* sp., las colonias características de no fermentador, se identificaron a nivel de género mediante el método bioquímico convencional, según lo descrito por Koneman *et al.* (2008) y Castillo (2009), el cual incluía: características morfológicas, tintoriales y de colonias, motilidad, prueba

de oxidasa, oxidación de la glucosa, xilosa, hemólisis en agar sangre, hidrólisis de la gelatina al 4,0%, crecimiento a 37, 42 y 44°C, respectivamente.

Susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad a los agentes antimicrobianos se determinó mediante la prueba de difusión en agar, siguiendo las recomendaciones descritas por Bauer *et al.* (1966) y por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios, del inglés: Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2011), para ello, se tomaron colonias del cultivo puro seleccionado y se preparó un inóculo en solución salina estéril, ajustándolo con un tubo patrón de 0,5 Mac-Farland. Luego, se tomó un hisopo estéril y se impregnó en la suspensión bacteriana, rotando el algodón contra las paredes del tubo para descartar el exceso de suspensión.

Se sembró la superficie del agar Mueller Hinton (Oxoid, LTD) en tres direcciones diferentes, dejando reposar la placa por 5 minutos. Luego, se aplicaron los discos antibióticos sobre la superficie del agar. Posterior a las 18-24 horas de incubación a 35°C, se realizó la lectura de los halos de inhibición, interpretándose como sensible (S), intermedia (I), o resistente (R), según las categorías de interpretación establecidas por el CLSI (2011) para *Acinetobacter* sp. Los agentes antimicrobianos utilizados fueron: ampicilina (10 µg), ticarcilina (75 µg), ácido nalidíxico (30 µg), amikacina (30 µg), netilmicina (30 µg), espectinomicina (100 µg), amoxicilina/ácido clavulánico (30 µg), ampicilina sulbactam (20 µg), cefepima (10 µg), cefotaxima (10 µg), ceftazidima (30 µg), ciprofloxacina (10 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg), levofloxacina (5 µg), meropenem (10 µg), piperacilina (100 µg), tobramicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), trimetoprim sulfametoxazol (10 µg), ceftriaxona (30 µg) y piperacilina tazobactam (100 µg/10 µg), ceftazidima/ácido clavulánico (30 µg/10 µg), cefotaxima/ácido clavulánico (10 µg/10 µg) (todos de la marca BBL™). Se utilizaron los puntos de corte recomendados para *Acinetobacter* sp., por el CLSI (2011). La colocación de los discos en la placa de Mueller Hinton se hizo tomando en consideración las plantillas sugeridas por el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” para el antibiograma estandarizado (Anexo 3).

Las cepas utilizadas como controles, tanto para las pruebas bioquímicas como para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, fueron *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Detección fenotípica de β -lactamasas

La detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se realizó mediante el método de disco combinado según lo descrito por Lezameta *et al.* (2010). Se evidenció la producción de la enzima cuando los discos de ceftazidima/ácido clavulánico y cefotaxima/ácido clavulánico presentaron diferencias en las zonas de inhibición ≥ 5 mm a las producidas por los discos de ceftazidima y cefotaxima solos (Lezameta *et al.*, 2010). Como método alternativo para la detección de BLEE se utilizó el de sinergia del doble disco. Se consideró sinergia positiva al observar una ampliación o distorsión en el halo de inhibición entre los discos de ácido clavulánico y ceftazidima o cefepima (Jarlier *et al.*, 1988).

La detección fenotípica de AmpC inducible se realizó al observar un achatamiento del halo de inhibición entre los discos de ceftazidima e imipenem. Adicionalmente, para detectar dicha enzima se emplearon los discos piperacilina tazobactam e imipenem (Martínez, 2009). Y se sospechó la presencia de AmpC desreprimida o hiperproducida al observar resistencia en los discos de ticarcilina, cefotaxima, ceftazidima y cefepima, sin producción de BLEE (Vila y Marco, 2010).

La detección de metalo- β -lactamasas (M β L) también se realizó mediante la prueba de sinergia del doble disco. Se evidenció la producción de la enzima al observar una sinergia en forma de campana entre imipenem y/o meropenem con el agente quelante empleado EDTA/SMA (ácido etilendiaminotetraacético/Mercaptoacético de Sodio) (Sociedad Argentina de Bacteriología, Asociación Argentina de Microbiología - SADEBAC-AAM, 2010).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los resultados obtenidos, los cuales se representaron en tablas y figuras. Para asociar los fenotipos de resistencia con los factores clínicos se aplicó la prueba estadística Chi-cuadrado (Jiménez, 2000).

RESULTADOS

De los 265 aislados bacterianos identificados como BGNNF, 160 (60,4%) correspondieron a *Pseudomonas* sp., 85 (32,1%) a *Acinetobacter* sp., y 20 (7,5%) a otros BGNNF no identificados. De los aislados de *Acinetobacter* sp., el 92,9% (79) se obtuvo de 67 pacientes hospitalizados y el 7,1% (6) de 6 pacientes ambulatorios.

El servicio de donde se aisló el mayor porcentaje de cepas de *Acinetobacter* sp. provenientes de pacientes hospitalizados fue en el área de medicina (36,5%), seguido por retén (22,4%), UCI/Adulto (11,8%) y UCI/Pediátrico (10,6%), y en menor porcentaje se ubicaron los aislados de pediatría (5,9%), cirugía traumática (2,4%), cirugía blanda (1,2%), unidad de diálisis (1,2%) y post-parto (1,2%). En el caso de las cepas de *Acinetobacter* sp. de origen ambulatorio, éstas se obtuvieron de los servicios de redes ambulatorias (3,5%), consulta de traumatología (1,2%), consulta de reumatología (1,2%) y particular (1,2%).

La figura 1 señala la susceptibilidad *in vitro* de las cepas de *Acinetobacter* sp. mostradas ante diferentes agentes antimicrobianos ensayados, observándose que dentro de los antibióticos β -lactámicos, todas las cepas fueron resistentes ante la ampicilina, asimismo, un alto porcentaje de las mismas resultó resistente a ampicilina sulbactam (77,6%), piperacilina (74,1%), piperacilina tazobactam (62,4%) y ticarcilina (74,1%); en el caso de las cefalosporinas ensayadas, el mayor porcentaje de resistencia se observó ante cefotaxima, con 80,0%, seguido de ceftriaxona, ceftazidima y cefepima con 67,1%, 61,2% y 54,1%, respectivamente. Ante las carbapenemas, imipenem y meropenem, hubo menor porcentaje de cepas resistentes (31,8% y 30,6%, respectivamente).

En relación a los aminoglucósidos probados, el mayor porcentaje de resistencia se observó ante la espectinomicina (50,6%). Mientras que, ante gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina, el porcentaje de cepas resistentes fue menor (44,7%). En cuanto a las quinolonas, el 67,2 y 65,9% de las cepas fue resistente al ácido nalidíxico y la ciprofloxacina. Ante levofloxacina, hubo menor porcentaje de cepas resistentes (55,3%). Por último, ante tetraciclina y el trimetoprim sulfametoxazol, las cepas presentaron porcentajes de resistencia de 50,6 y 61,2%.

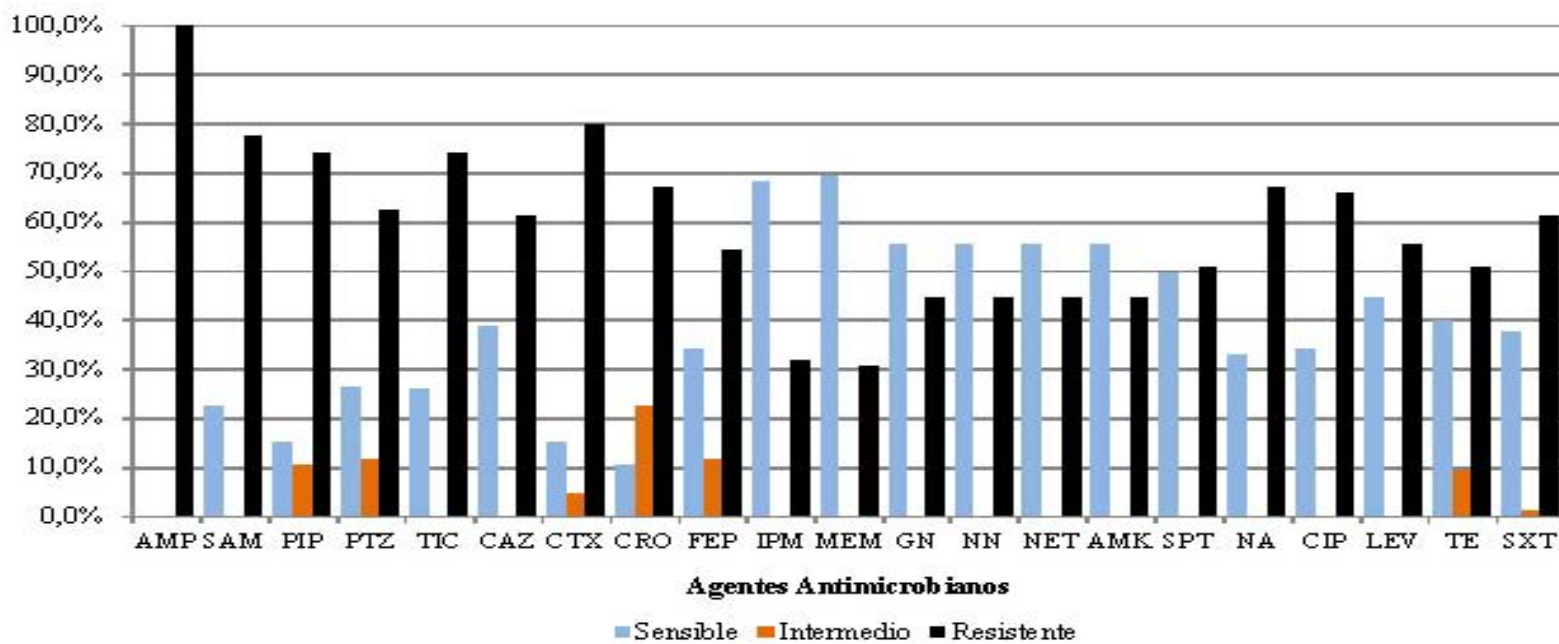


Figura 1. Distribución porcentual de la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de las cepas de *Acinetobacter* sp. frente a diferentes agentes antimicrobianos, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008. Método de Kirby y Bauer. AMP: ampicilina, SAM: ampicilina/sulbactam, PIP: piperacilina, PTZ: piperacilina/tazobactam, TIC: ticarcilina, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima, CRO: ceftriaxona, FEP: cefepima, IMP: imipenem, MEM: meropenem, GN: gentamicina, NN: tobramicina, NET: netilmicina, AMK: amikacina, SPT: espectinomicina, NA: ácido nalidixico, CIP: ciprofloxacina, LVX: levofloxacina, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprim sulfametoxazol.

En la tabla 2 se muestra la distribución porcentual de las β -lactamasas detectadas fenotípicamente en el antibiograma de las cepas de *Acinetobacter* sp., encontrándose que se detectó BLEE, con el método de disco combinado, en 23 de los aislados (27,1%), correspondiendo el 25,9% a cepas de origen hospitalario y 1,2% a cepas de origen ambulatorio. También se observaron mayormente β -lactamasas tipo AmpC en cepas hospitalarias (21,2%). En este estudio sólo fue detectada, fenotípicamente, M β L en un aislamiento (1,2%), obtenido de un paciente hospitalizado. No se detectó BLEE por el método de sinergia del doble disco.

Tabla 2. Distribución porcentual de β -lactamasas de espectro extendido, β -lactamasas tipo AmpC y metalo- β -lactamasas, detectadas fenotípicamente en el antibiograma de cepas de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

Origen	BLEE⁽¹⁾	AmpC	MβL
	N° (%)	N° (%)	N° (%)
Hospitalarias	22 (25,9)	18 (21,2)	1 (1,2)
Ambulatorias	1 (1,2)	1 (1,2)	0 (0,0)
Total	23 (27,1)	19 (22,4)	1 (1,2)

BLEE: β -lactamasa de espectro extendido; AmpC: β -lactamasa tipo AmpC; M β L: metalo- β -lactamasa; ⁽¹⁾: método de disco combinado; N°: número de cepas; (%): porcentaje.

La figura 2 muestra la producción fenotípica de AmpC en una cepa de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario, donde se observa un achatamiento del halo de inhibición entre los discos de ceftazidima e imipenem y piperacilina tazobactam e imipenem.

La figura 3 señala la producción fenotípica de BLEE en una cepa de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario, mediante el método de disco combinado. En la placa con agar Mueller Hinton se observa que, la diferencia del halo de inhibición entre el disco de ceftazidima (6 mm) y el de ceftazidima/ácido clavulánico (15 mm) es de 9 mm; la diferencia entre los discos de cefotaxima (6 mm) y cefotaxima/ácido clavulánico (13 mm) es de 7 mm, esta diferencia confirma la presencia de BLEE.

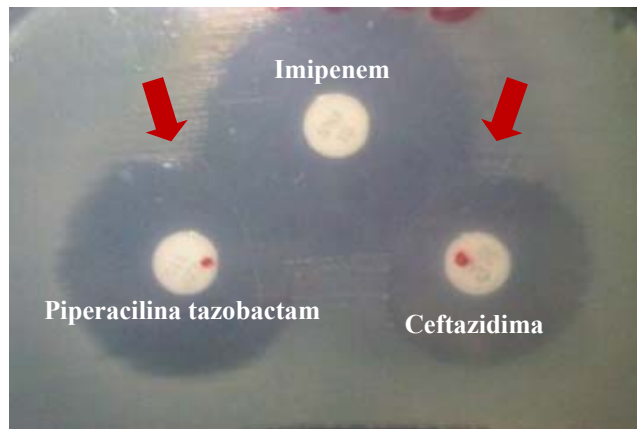


Figura 2. Producción fenotípica de β -lactamasas tipo AmpC en cepas de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario.

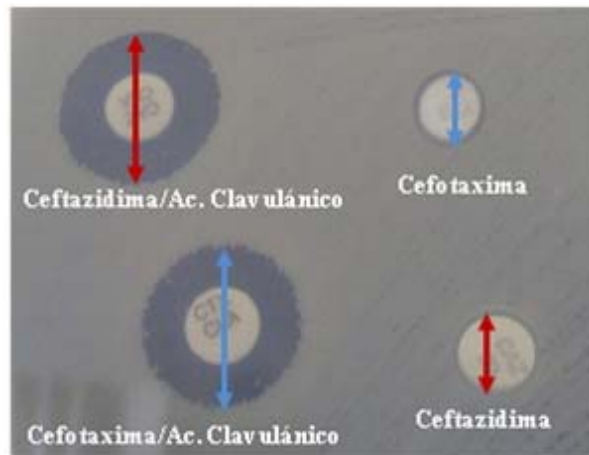


Figura 3. Producción fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario. Método disco combinado.

La figura 4 muestra la producción fenotípica de M β L en una cepa de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario, allí se observa una sinergia en forma de campana entre imipenem y meropenem hacia el EDTA/SMA.

Basados en el análisis de los resultados de susceptibilidad de las cepas de *Acinetobacter* sp., aquí estudiadas, ante los antibióticos β -lactámicos, se obtuvieron nueve (9) fenotipos diferentes, los cuales fueron designados arbitrariamente con números romanos, siendo el fenotipo I (SAM^R, TIC^R, PIP^R, CTX^R, CAZ^R, FEP^R, IPM^R, MEM^R), el más frecuentemente hallado (24,7%) entre las cepas de *Acinetobacter* sp. (Tabla 3).

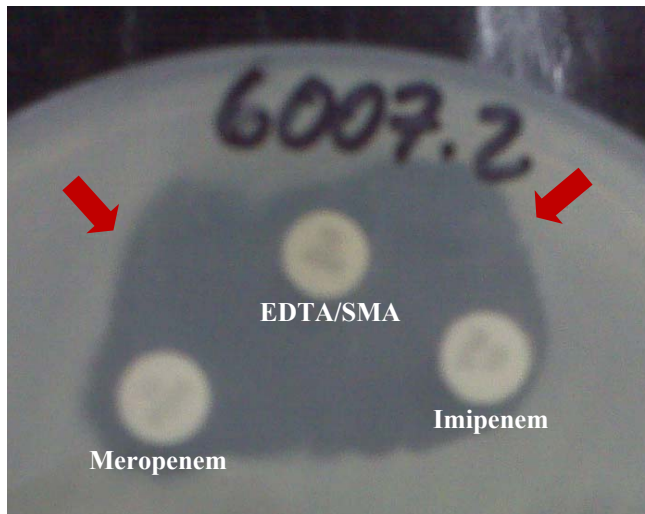


Figura 4. Producción fenotípica de metalo- β -lactamasa en cepa de *Acinetobacter* sp. de origen hospitalario.

En la tabla 3 también se observa que el mayor número de aislados con BLEE se ubicaron dentro de los fenotipos I y II, con 10 cepas, respectivamente. Mientras, que las β -lactamasas tipo AmpC fueron mayormente observadas en los fenotipos IV y V (6 y 5 cepas, respectivamente). En este estudio el único aislado donde se detectó fenotípicamente la presencia de M β L se ubicó en el fenotipo I.

En la tabla 4 se observan los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante los aminoglucósidos. De acuerdo a la susceptibilidad presentada por las cepas a éstos antimicrobianos, se establecieron cinco (5) fenotipos diferentes, los cuales fueron designados arbitrariamente con letras del alfabeto. El fenotipo A (GEN^S, NN^S, NET^S, AMK^S, SPT^S) y el fenotipo B (GEN^R, NN^R, NET^R, AMK^R, SPT^R) fueron los más frecuentemente observados (45,9% y 43,5%).

De acuerdo con los resultados desusceptibilidad antimicrobiana presentados por las cepas de *Acinetobacter* sp. a las quinolonas, se establecieron cuatro (4) fenotipos diferentes, los cuales fueron identificados arbitrariamente con letras del alfabeto griego. El fenotipo α (NA^R, CIP^R, LVX^R) fue el más frecuentemente hallado en este estudio (56,5%) (Tabla 5).

Tabla 3 fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante β -lactámicos, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

Agentes antimicrobianos													
Fenotipos	SAM	TIC	PIP	CTX	CAZ	FEP	IPM	MEM	Cepas		BLEE ¹	M β L	AmpC
									N ^o	(%)			
I	R	R	R	R	R	R	R	R	21	24,7	10	1	-
II	R	R	R	R	R	R	S	S	19	22,4	10	-	-
III	R	R	R	R	R	I	S	S	10	11,8	3	-	-
IV	S	S	S	S	S	S	S	S	10	11,8	-	-	7
V	S	S	I	R	S	S	S	S	9	10,6	-	-	7
VI	R	R	R	R	S	R	R	R	5	5,9	-	-	-
VII	R	R	R	R	R	S	S	S	4	4,7	-	-	-
VIII	R	R	R	I	S	S	S	S	4	4,7	-	-	2
IX	R	S	S	S	S	S	S	S	3	3,5	-	-	3

SAM: ampicilina/sulbactam; TIC: ticarcilina; PIP: piperacilina; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; FEP: cefepima; IPM: imipenem; MEM: meropenem; R: resistente; I: intermedio; S: sensible; BLEE: β -lactamasa de espectro extendido; AmpC: β -lactamasa tipo AmpC; M β L: metalo- β -lactamasa; ¹: método disco combinado; N^o: número; N^o*: número de cepas positivas; (%): porcentaje.

En la tabla 6 se muestran los fenotipos encontrados en cepas de *Acinetobacter* sp. de procedencia ambulatoria y hospitalaria, la reagrupación de los fenotipos anteriormente descritos se realizó de acuerdo a los agentes antimicrobianos de uso frecuente para tratar infecciones causadas por estos microorganismos. Dichos fenotipos fueron designados con números arábigos de manera arbitraria. En los aislados hospitalarios, el fenotipo más frecuente fue el 1 (22,8%), seguido del 3 (19,0%), 2 (11,4%) y 7 (10,1%). En el caso de las cepas de origen ambulatorio, los fenotipos hallados fueron: 1 (50,0%), 17 (33,3%) y 4 (16,7%).

Según los criterios de la Sociedad Argentina de Infectología, SADI (2010), se consideró como multirresistente a cepas con resistencia al menos, a 2 ó 3 clases de antimicrobianos o a un número variable de drogas individuales, resistencia *in vitro* a 5 ó más de los siguientes antimicrobianos: ticarcilina, aztreonam, ceftazidima, ampicilina sulbactam, imipenem, tobramicina o amikacina y ciprofloxacina. Luego del análisis se desprende que, del total de aislados de *Acinetobacter* sp. estudiados, 53 (67,1%) cepas, aisladas de pacientes hospitalizados, resultaron multirresistentes y otras 2 (33,3%) se obtuvieron de pacientes ambulatorios, los cuales se agruparon en 12 fenotipos. De estos, el fenotipo 17 estuvo presente en cepas tanto hospitalarias como ambulatorias (Tabla 6).

De acuerdo a las definiciones anteriores, los fenotipos encontrados en las cepas de *Acinetobacter* sp. se reagruparon bajo las categorías multirresistentes, no multirresistentes y sensibles, para poder establecer una mejor asociación entre dichos fenotipos y los factores clínicos, tomándose en cuenta sólo las cepas aisladas de los pacientes hospitalizados.

El aislamiento de *Acinetobacter* sp. en los pacientes ambulatorios fue poco frecuente, por tal motivo, no fue posible establecer una asociación entre los fenotipos de los aislados y los factores clínicos.

En relación a la terapia antimicrobiana previa recibida por pacientes ambulatorios, los β -lactámicos fueron los mayormente empleados (fenotipos 17 y 1), seguido por las quinolonas (fenotipo 1). Por último, se ubicaron los pacientes que no utilizaron tratamiento (fenotipos 1 y 4).

Tabla 4. Fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante los aminoglucósidos, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

Agentes antimicrobianos							
Fenotipos	GN	NN	NET	AMK	SPT	Cepas N°	(%)
A	S	S	S	S	S	39	45,9
B	R	R	R	R	R	37	43,5
C	S	S	S	S	R	5	5,9
D	S	R	R	R	R	2	2,4
E	R	S	S	S	S	2	2,4

GN: gentamicina; NN: tobramicina; NET: netilmicina; AMK: amikacina; SPT: espectinomicina; R: resistente; I: intermedio; S: sensible; N°: número; (%): porcentaje.

Tabla 5. Fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante las quinolonas, aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

Agentes antimicrobianos					
Fenotipos	NA	CIP	LVX	Cepas N°	(%)
α	R	R	R	48	56,5
β	S	S	S	27	31,8
γ	R	R	S	9	10,6
δ	R	S	S	1	1,2

NA: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; LVX: levofloxacina; R: resistente; I: intermedio; S: sensible; N: número; (%): porcentaje.

La tabla 7 muestra la asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y la terapia antimicrobiana previa recibida por pacientes hospitalizados, atendidos en el HUAPA, allí se observa que los β -lactámicos fueron los antimicrobianos mayormente empleados como tratamiento previo al aislamiento de este microorganismo (61,2%). Además, dentro de este grupo se ubicó el mayor porcentaje de aislamientos con fenotipos de multirresistencia (40,3%). Al aplicar la prueba de Chi cuadrado (χ^2), no se obtuvo asociación significativa entre las variables estudiadas.

Tabla 6. Fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. de acuerdo a los agentes antimicrobianos utilizados comúnmente en pacientes atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumana, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

Fenotipos	Agentes Antimicrobianos								Cepas Hospitalarias		Cepas Ambulatorias	
	CAZ	FEP	IPM	MEM	GN	AMK	CIP	LVX	Nº	(%)	Nº	(%)
1	S	S	S	S	S	S	S	S	18	22,8	3	50,0
2*	R	R	R	R	R	R	R	R	9	11,4	-	-
3*	R	R	S	S	R	R	R	R	15	19,0	-	-
4	S	S	S	S	S	S	R	R	1	1,3	1	16,7
5	R	I	S	S	S	S	S	S	2	2,5	-	-
6*	S	R	R	R	S	S	R	S	5	6,3	-	-
7*	R	I	S	S	R	R	R	R	8	10,1	-	-
8*	R	R	S	S	S	R	R	R	2	2,5	-	-
9*	S	S	S	S	R	R	R	R	3	3,8	-	-
10	R	S	S	S	S	S	R	S	1	1,3	-	-
11*	R	S	S	S	R	S	R	R	1	1,3	-	-
12*	R	S	S	S	R	R	R	R	2	2,5	-	-
13*	R	R	S	S	S	S	R	R	2	2,5	-	-
14*	R	R	R	R	S	S	R	R	4	5,1	-	-
15	R	R	R	R	S	S	S	S	4	5,1	-	-
16*	R	R	R	R	R	S	R	R	1	1,3	-	-
17*	R	R	R	R	S	S	R	S	1	1,3	2	33,3
Total									79	100	6	100

Nº: número de cepas; (%): porcentaje; CAZ: ceftazidima; FEP: cefepima; IPM: imipenem; MEM: meropenem; GN: gentamicina; AMK: amikacina; CIP: ciprofloxacina; LVX: levofloxacina; S: sensible; I: intermedio; R: resistente; *: cepas multirresistentes.

Tabla 7. Asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y la terapia antimicrobiana previa recibida por pacientes hospitalizados, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

FENOTIPOS	TERAPIA ANTIMICROBIANA PREVIA								TOTAL	Significancia	
	β-lactámicos		β-lactámicos + otros ¹		Otros ²		ST				
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)			
Multirresistentes	22	32,8	5	7,5	10	14,9	6	9,0	43	64,2	
No Multirresistentes	3	4,5	2	3,0	2	3,0	1	1,5	8	12,0	$\chi^2= 5,63$ NS
Sensibles	5	7,5	4	6,0	2	3,0	5	7,5	16	23,9	
TOTAL	30	44,8	11	16,4	14	20,9	12	17,9	67	100	

NS= no significativo; $\chi^2_{(6,0,05)}=12,592$; Nº: número de pacientes; (%): porcentaje; ST: sin tratamiento; ¹: β-lactámicos + glicopéptidos + macrólidos, β-lactámicos + glicopéptidos + aminoglucósidos, β-lactámicos + macrólidos, β-lactámicos + lincosamidas + quinolonas, β-lactámicos + SXT, β-lactámicos + quinolonas; ²: aminoglucósidos + lincosamidas, aminoglucósidos + quinolonas + linezolid, quinolonas, quinolonas + lincosamidas, quinolonas + glicopéptidos, glicopéptidos, linezolid, lincosamidas.

En la tabla 8 se muestra la asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y el tipo de muestra obtenida de infecciones de pacientes hospitalizados, allí se observa que el mayor porcentaje de aislamientos de estos microorganismos se obtuvo de las muestras de secreciones, seguido por sangre y esputo. Además, dentro de las secreciones se ubicó el mayor porcentaje de cepas con fenotipos de multirresistencia (39,2%). Al aplicar la prueba de Chi cuadrado (χ^2), no se obtuvo asociación significativa entre las variables estudiadas.

En la tabla 9 se encuentra la asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y los servicios médicos de atención a los pacientes hospitalizados en el HUAPA, allí se observa que el mayor porcentaje de aislamientos de *Acinetobacter* sp. con fenotipos de multirresistencia se obtuvo en el área de medicina (28,4%). En UCI también predominaron aislamientos con fenotipos multirresistentes (17,9%). En retén y pediatría se encontraron aislamientos de *Acinetobacter* sp. con fenotipos multirresistentes, no multirresistentes y sensibles.. Al aplicar la prueba de Chi cuadrado (χ^2), no se obtuvo asociación significativa entre las variables estudiadas.

Tabla 8. Asociación entre los fenotipos las cepas de *Acinetobacter* sp. y el tipo de muestra obtenida de infecciones de pacientes hospitalizados, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

FENOTIPOS	TIPO DE MUESTRAS										Significancia
	Secreciones ¹		Sangre		Espudo		Otros ²		TOTAL		
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	
Multirresistentes	31	39,2	9	11,4	6	7,6	7	8,9	53	67,1	$\chi^2 = 12,16$ NS
No Multirresistentes	3	3,8	1	1,3	2	2,5	2	2,5	8	10,1	
Sensibles	3	3,8	8	10,1	3	3,8	4	5,1	18	22,8	
TOTAL	37	46,8	18	22,8	11	13,9	13	16,5	79	100	

NS= no significativo; $\chi^2_{(6,0,05)} = 12,592$; Nº: número de cepas; (%): porcentaje; ¹: Secreciones respiratorias, de heridas quirúrgicas, úlceras, abscesos; ²: Tubo endotraqueal, orina, punta de catéter, líquidos, catéter venoso umbilical.

Tabla 9. Asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y los servicios médicos de atención a los pacientes hospitalizados, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Durante el periodo junio-diciembre de 2008.

FENOTIPOS	SERVICIO										Significancia		
	MED		Retén		UCI ¹		Pediatri ^a		Otros ²			TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)		Nº	(%)
Multirresistentes	19	28,4	7	10,5	12	17,9	2	3,0	4	6,0	44	$\chi^2 = 13,77$ NS	
No Multirresistentes	3		3		0	0	2	3,0	0	0	8		12,0
Sensibles	5	7,5	7	10,5	1	1,5	1	1,5	1	1,5	15		22,4
TOTAL	27	40,3	17	25,4	13	19,4	5	7,5	5	7,5	67	100	

NS: no significativo; $\chi^2_{(8,0,05)} = 15,507$; Nº: número de pacientes; (%): porcentaje; MED: medicina; UCI: unidad de cuidados intensivos; ¹: UCI/adulto + UCI/pediátrico; ²: Cirugía traumática, cirugía blanda, unidad de diálisis, post- parto.

DISCUSIÓN

Los BGNNF están conformados por un grupo heterogéneo de microorganismos y constituyen, aproximadamente, el 15,0% de todos los aislamientos en los laboratorios de microbiología clínica, se comportan usualmente como patógenos oportunistas y, recientemente, han cobrado notoria importancia por su incidencia en infecciones hospitalarias (Ferrero, 2005; Rodríguez y Maggi, 2005; Vizcaíno, 2009). En el caso específico de *Acinetobacter* sp., su incidencia se ha incrementado durante las últimas décadas, la cual ha sido atribuible al crecimiento de la población susceptible, como resultado de la multiplicación de actos quirúrgicos y exploratorios, así como también, al aumento de cepas resistentes de este microorganismo, este último es producto de fenómenos de selección por el abuso de agentes antimicrobianos. Sin embargo, a pesar de su papel en las infecciones hospitalarias, hay cada vez más casos de infecciones adquiridas en la comunidad (Ferrero, 2005; Sánchez *et al.*, 2005; Dijkshoorn *et al.*, 2007).

En el presente estudio, para el periodo junio-diciembre de 2008, *Acinetobacter* sp. ocupó el segundo lugar en frecuencia de aislamiento dentro de los BGNNF cultivados en el laboratorio de bacteriología del HUAPA. Además, el mayor porcentaje de los aislados fue obtenido de pacientes hospitalizados (92,9%) con respecto a los ambulatorios (7,1%). Estos resultados coinciden con los reportados por Alemán (2008), quien también trabajó con una población de pacientes hospitalizados y ambulatorios en el mismo centro hospitalario. También concuerdan con los reportados por Rodríguez y Maggi (2005) y Morales *et al.* (2007), quienes concluyen que, *Acinetobacter* sp. se encuentra dentro de los principales BGNNF implicados en procesos infecciosos de pacientes ingresados o adquiridos en un centro hospitalario.

Según Pinzón *et al.* (2006), *Acinetobacter* persiste en el ambiente por su versatilidad para utilizar diferentes fuentes de carbono y crecer en diferentes condiciones de temperatura, pH y humedad; esto lo hace capaz de sobrevivir en fómites, áreas inertes, superficies de equipos, soluciones de limpieza y pacientes críticos, favoreciendo su persistencia en el ambiente hospitalario, ya que los pacientes infectados pueden actuar

como reservorios.

El servicio de hospitalización de donde se aisló *Acinetobacter* sp. en mayor porcentaje fue el área de medicina (36,5%), seguido por retén (22,4%), UCI/Adulto (11,8%) y UCI/Pediátrico (10,6%). En el estudio realizado por Alemán (2008), para el periodo enero-junio de 2004, en este mismo centro asistencial, se obtuvo que las áreas médicas donde se encontraron mayores aislamientos de *Acinetobacter* sp. correspondieron a retén, observación pediátrica, medicina y UCI. Como se puede observar, en ambos estudios, coinciden como principales áreas de aislamiento de *Acinetobacter* sp. medicina, retén y UCI. Cabe resaltar que, para este trabajo de investigación, no se tomaron en cuenta las muestras provenientes de las áreas de observación adulto, observación pediátrica, así como las de emergencia de adultos y pediátrica, lo cual explicaría que el predominio de aislamientos de *Acinetobacter* sp. en el presente estudio haya sido de medicina, retén y UCI.

Otros investigadores, tanto a nivel nacional como internacional, afirman que *Acinetobacter* se aísla, principalmente, de pacientes atendidos en UCI (Domínguez *et al.*, 2000; Pedroza *et al.*, 2002; Iglesias *et al.*, 2004; Vizcaíno, 2009).

Posiblemente, la alta frecuencia de aislados de *Acinetobacter* sp. en el servicio de medicina del HUAPA se deba a que la misma se divide en 3 áreas de atención (A, B y C), encontrándose allí una mayor cantidad de pacientes atendidos en comparación con otros servicios médicos, como UCI o retén, por lo que, las probabilidades de aislar este microorganismo en pacientes hospitalizados en cualquiera de las áreas de medicina son aún mayores.

También se obtuvo un alto porcentaje de aislados en retén, esto puede deberse, entre otras causas, a que los neonatos son pacientes inmunológicamente inmaduros y la mayoría presenta factores que propician la colonización por parte de estos microorganismos como: prematuridad, bajo peso al nacer, utilización de catéter, ventilación mecánica y largos periodos de tiempo hospitalizados (Manet *et al.*, 2010).

Con respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, en el presente estudio, todas las cepas de *Acinetobacter* sp. fueron resistentes a ampicilina. Estos resultados son similares a los encontrados por Tovar (2009), en aislados de *Acinetobacter* spp, provenientes de

Mérida. Sin embargo, difieren de los encontrados por Iglesias *et al.* (2004), en España, en aislados de *Acinetobacter* spp, recolectados durante el periodo 1998-2000, donde la resistencia frente a ampicilina fue del 83,3%.

También se obtuvo un alto porcentaje de cepas de *Acinetobacter* sp. resistentes a ticarcilina, piperacilina y ampicilina sulbactam, que van desde el 74,0% al 78,0%, y 62,4% ante piperacilina tazobactam. Estos resultados difieren de los reportados por Vizcaíno (2009), en Porlamar, en aislamientos de *A. baumannii*, recolectados durante el periodo enero-julio 2007, quien obtuvo porcentajes de cepas resistentes de este microorganismo, ante ampicilina sulbactam y piperacilina, superiores al 85,0%. Igualmente, difieren de lo hallado por Iglesias *et al.* (2004), en España, en aislamientos de *Acinetobacter* spp, donde obtuvieron tasas de resistencia ante piperacilina, piperacilina tazobactam y ampicilina sulbactam, de 50,0%, 75,0% y 17,0%, respectivamente.

Cabe resaltar que, la mayoría de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana se basan en la especie *A. baumannii*, la cual, es aislada con más frecuencia y reconocida como la especie de mayor importancia clínica, además de ser, de manera significativa, la especie más resistente a los agentes antimicrobianos. Aunque existen otras especies, como *A. iwoffii*, mucho más sensibles (Vila y Marco 2002; Vila y Marco 2010). Sin embargo, en el presente estudio no estaba dentro de los objetivos planteados la identificación a nivel de especies de las cepas de *Acinetobacter*, por lo que se recomienda tomar en cuenta las especies para futuras investigaciones de este tipo.

De las cefalosporinas ensayadas en el presente estudio, el mayor porcentaje de cepas de *Acinetobacter* sp. resistentes se presentó ante cefotaxima (80,0%), y menor porcentaje ante ceftriaxona (67,1%), ceftazidima (61,2%) y cefepima (54,1%). Estos resultados son similares a los encontrados por Salazar *et al.* (2007), en Mérida, en aislados de *A. baumannii*, donde las cepas tuvieron el mayor porcentaje de resistencia ante cefotaxima. Así mismo, coincide con lo reportado por Bell *et al.* (2006), en aislados de *Acinetobacter* spp, obtenidas de las naciones del pacífico asiático, donde las tasas de resistencia ante ceftazidima y cefepima se ubicaron en 61,0% y 55,8%, respectivamente. Sin embargo, difieren de lo obtenido por Iglesias *et al.* (2004), en aislados de

Acinetobacter spp, donde todas las cepas fueron resistentes ante cefepima, el 73,3% ante cefotaxima y el 41,6% ante ceftazidima.

Los porcentajes de resistencia de las cepas de *Acinetobacter* sp., ante las carbapenemas, fueron inferiores al 35,0%. Estos resultados coinciden con los encontrados por Sánchez *et al.* (2005), en Caracas, y Salazar *et al.* (2007), en Mérida, en aislamientos de *A. baumannii*, donde obtuvieron que de todos los β -lactámicos ensayados, el menor porcentaje de cepas resistentes se presentó ante las carbapenemas. Así mismo, coincide con lo reportado por Ferrero (2005), en Argentina, en aislados de *Acinetobacter* sp., y Fernández *et al.* (2009), en Bolivia, en aislados de *A. baumannii*, en los cuales las carbapenemas presentaron la mejor actividad *in vitro*, al observarse el menor porcentaje de cepas resistentes. Sin embargo, también se ha publicado que el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* resistentes a carbapenemas es cada vez más frecuente. Al respecto, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (2011), en su Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos correspondiente al año 2009, en hospitales de Venezuela, reportan aislamientos de *A. baumannii* con porcentajes de resistencia ante las carbapenemas superiores al 55,0%. Igualmente, se han encontrado elevadas tasas de resistencia a estos antimicrobianos en el Sur de Europa, también están comenzando a reportarse en hospitales de Brasil y Colombia (Van Looveren *et al.*, 2004; Schimithet *et al.*, 2010; Machado *et al.*, 2011).

Aunque, en el presente estudio las carbapenemas presentaron la mejor actividad *in vitro*, se debe tener en cuenta que su uso debe ser controlado, ya que, en ocasiones, estos antimicrobianos constituyen el último recurso terapéutico disponible en el tratamiento de las infecciones intrahospitalarias por bacterias gramnegativas multirresistentes.

En relación a la susceptibilidad antimicrobiana ante los aminoglucósidos ensayados, en la presente investigación, los resultados muestran que el 50,6% de las cepas de *Acinetobacter* sp. fue resistente a espectinomicina. En la bibliografía consultada, no se encontró reporte alguno sobre los porcentajes de resistencia de aislados de *Acinetobacter* sp. ante este agente antimicrobiano, que permitieran establecer comparaciones al respecto (Iglesias *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2005; Briceño y Suarez,

2006; García-Peñuela *et al.*, 2006; Salazar *et al.*, 2007). No obstante, en este estudio, dicho antimicrobiano se tomó en cuenta como posible marcador de la presencia de una enzima modificante de aminoglucósidos (Vila y Marco 2010).

Con respecto a gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina, el 44,7% de los aislados de *Acinetobacter* sp. resultaron resistentes ante estos antimicrobianos. Estos resultados son similares a los reportados por Briceño y Suarez (2006), en Mérida, en aislamientos de *A. baumannii*, recolectados durante el periodo 2000-2003, donde obtuvieron una resistencia ante netilmicina del 42,9%. Así mismo, coincide con lo reportado por García-Peñuela *et al.* (2006), en España, en aislamientos de *A. baumannii*, donde observaron una resistencia ante amikacina del 41,9%. En cuanto a la tobramicina, dichos autores obtuvieron 14,9% de cepas resistentes, lo cual difiere. Otros investigadores, a nivel nacional e internacional, reportan resultados diferentes a los aquí encontrados (Iglesias *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2005; Salazar *et al.*, 2007).

En este estudio, los porcentajes de resistencia de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante el ácido nalidíxico y la ciprofloxacina fueron superiores al 65,0% y, ante levofloxacina, fue superior al 50,0%. Bell *et al.* (2006), en aislados de *Acinetobacter* spp, obtenidas de las naciones del pacífico asiático, reportaron porcentajes de cepas resistentes ante levofloxacina del 50,6%, dato que coincide del aquí encontrado. Sin embargo, estos hallazgos difieren de los reportados por Salazar *et al.* (2007), en Mérida, en aislados de *A. baumannii*, donde observaron una resistencia ante ciprofloxacina del 85,0%, superior a las obtenidas en la presente investigación. Igualmente, difieren de lo reportado por Iglesias *et al.* (2004), en España, en cepas de *Acinetobacter* spp, donde obtuvieron una resistencia ante el ácido nalidíxico y la ciprofloxacina del 50,0%, inferior a la observada en el presente estudio.

En relación a la tetraciclina y al trimetoprim sulfametoxazol, los porcentajes de *Acinetobacter* sp. resistentes fueron superiores al 50,0% y 60,0%, respectivamente. Estos resultados difieren de los reportados por Salazar *et al.* (2007), en Mérida, en aislamientos de *A. baumannii*, donde todas las cepas fueron resistentes a tetraciclina. Por otro lado, Iglesias *et al.* (2004) encontraron que el 29,2% de las cepas de *Acinetobacter* spp fue resistente a trimetoprim sulfametoxazol, resultado que es inferior a lo observado

en el presente estudio.

En resumen, se observan discrepancias en las tasas de resistencia observadas en las cepas del HUAPA, con respecto a otros hospitales, tanto a nivel nacional como internacional, lo cual podría deberse a que cada institución crea su esquema de rotación de antibióticos, para así poder disminuir los efectos de la presión selectiva y evitar la multirresistencia bacteriana.

En la presente investigación, al utilizar el método de disco combinado se detectó la presencia de BLEE en 23 aislados de *Acinetobacter* sp. Esta técnica ha sido estandarizada por el CLSI para confirmación de BLEE en enterobacterias, como *E. coli*, *Klebsiella* sp. y *Proteus* sp. pero, a pesar de ello, Martínez *et al.* (2003) y Máttar y Martínez (2007) señalan que esta técnica ha sido adaptada por los microbiólogos a otros gérmenes de importancia clínica.

Por otro lado, las BLEE no pudieron ser detectadas fenotípicamente en el antibiograma mediante el método de sinergia del doble disco, tanto en aislados provenientes de pacientes hospitalizados como ambulatorios, lo cual coincide con lo reportado por Ferrero (2005), quien también empleo este método para detectar BLEE en cepas de *Acinetobacter* sp. en pacientes de las mismas procedencias.

Según Lezameta *et al.* (2010), el método de disco combinado es sencillo y práctico, pero, para bacterias que además de producir BLEE produzcan otros mecanismos de resistencia, como la producción de β -lactamasas tipo AmpC, dificulta la identificación de la presencia de BLEE. Así mismo, Martínez (2007) afirma que es difícil diferenciar ambas situaciones atendiendo sólo a la actividad de antimicrobianos, por ello se han propuesto diversos métodos en los que el empleo de inhibidores de AmpC (cloxacilina, derivados del ácido borónico) facilita el reconocimiento de la BLEE.

En el presente estudio, en las cepas estudiadas, a pesar de no haber utilizado inhibidores de AmpC, el método de disco combinado resultó ser eficaz para la detección de BLEE, si se compara con los resultados obtenidos por el método de sinergia del doble disco. No obstante, los falsos negativos aún pueden existir, por lo que no se descarta totalmente la presencia de BLEE en los demás aislados, donde dicho método no fue capaz de poner en evidencia la producción de dicha enzima, y sin embargo, se observó la

resistencia a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, entre otros β -lactámicos.

Según Radice *et al.* (2011), no puede descartarse la presencia de BLEE, aun cuando los ensayos fenotípicos empleados resulten negativos. Así mismo, en el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), en Estados Unidos (1999), se afirma que la hiperproducción de una β -lactamasa, por parte del microorganismo, que además producen BLEE, también puede llegar a causar falsos negativos en pruebas fenotípicas.

Al respecto, Pino *et al.* (2007), en Chile, estudiaron 69 cepas de *A. baumannii* que mostraron resistencia, al menos, a una cefalosporina de tercera generación, de las cuales, sólo 7 cepas fueron positivas para la detección de BLEE por el método de sinergia en presencia de cloxacilina. Estos investigadores observaron que al no utilizar cloxacilina en el antibiograma, el número de cepas donde se detectó la presencia de BLEE fue menor. De sus resultados concluyen, que en ocasiones la presencia de la enzima AmpC puede llegar a enmascarar la producción fenotípica de BLEE en cepas productoras de dichas enzimas, resultando así en un falso negativo. Además, sugieren que el principal mecanismo de resistencia de *A. baumannii* ante β -lactámicos, se debe a la producción de enzimas del grupo AmpC, ya que sólo en un bajo porcentaje de los aislados se evidenció la producción de BLEE.

Cabe resaltar que las BLEE fueron detectadas mayormente en aislamientos de *Acinetobacter* sp. de pacientes de origen hospitalario, así también, la única cepa productora de M β L fue aislada de un paciente hospitalizado. Lo cual coincide con lo expresado por Gobernado (2005), donde afirma que en el ambiente hospitalario los pacientes son más vulnerables y presentan más factores de riesgo que los hacen susceptibles a la infección por bacterias capaces de adquirir y/o desarrollar estos mecanismos de resistencia. En relación a la producción fenotípica de AmpC, su presencia en aislados de *Acinetobacter* sp., tanto de pacientes de origen hospitalario como ambulatorio no es relevante, ya que las bacterias pertenecientes a este género expresan dicha enzima a bajo nivel como parte de su resistencia natural frente a los β -lactámicos (Pino *et al.*, 2007; Vila y Marco, 2010).

Llama la atención la presencia de una cepa ambulatoria productora de BLEE, dentro de los aislados estudiados. Cabe destacar que, dicha cepa fue aislada de un

paciente que estaba siendo tratado con β -lactámicos para el momento de la toma de muestra. Según Gobernado (2005), dichas enzimas se detectan más en las bacterias aisladas de pacientes a los que se le ha administrado antimicrobianos durante largos periodos de tiempo, sobre todo cefalosporinas y fluoroquinolonas. Por lo que, es posible que la administración desmedida e inadecuada de agentes antimicrobianos, sin importar el origen del paciente, esté influyendo en la aparición de cepas capaces de desarrollar estos mecanismos de resistencia.

En cuanto a los fenotipos obtenidos frente a los β -lactámicos en este estudio, se observa que el fenotipo I fue el más frecuente entre las cepas; del cual se puede inferir la presencia conjunta de varios mecanismos de resistencia, dado que aquí se ubicaron las cepas que mostraron resistencia a todos los β -lactámicos, por lo que resulta difícil poder dilucidar los mecanismos presentes. Al analizar el fenotipo I, de 21 aislados de *Acinetobacter* sp., se detectó la presencia de BLEE en 10 y ninguno con fenotipo AmpC inducible, lo cual explicaría la resistencia observada ante los antimicrobianos, como las aminopenicilinas, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación, pero no explicaría la resistencia observada ante las carbapenemas por parte de estos aislados (Naas *et al.*, 2006; Pino *et al.*, 2007; Vila y Marco, 2010). Sin embargo, también es posible que la sobreexpresión de AmpC, esté involucrada en la resistencia observada ante ampicilina, ticarcilina, piperacilina, cefotaxima, ceftazidima, cefepima e inhibidores de β -lactamasas, en estas cepas. Varios autores sugieren que la sobreexpresión de dicha enzima en *Acinetobacter* es el mecanismo más frecuente de resistencia a β -lactámicos (Vila y Marco, 2002; Hernández *et al.*, 2010; Vila y Marco, 2010; Radice *et al.*, 2011). Se ha descrito que *Acinetobacter* sp. tiene resistencia natural frente a los β -lactámicos, especialmente ante las aminopenicilinas, ya que las bacterias pertenecientes a este género presentan una cefalosporinasa cromosómica conocida como AmpC, también denominada ADC (del inglés: *Acinetobacter derived cephalosporinase*), la cual confiere resistencia ante aminopenicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación (Pino *et al.*, 2007). Dicho mecanismo de resistencia se pone en evidencia al observarse que todas las cepas resultaron resistentes a ampicilina, sin embargo, en el presente estudio sólo se detectó fenotípicamente la producción inducida de esta enzima

en el 22,4% de las cepas.

La resistencia observada anteaminopenicilinas (ampicilina), carboxipenicilinas (ticarcilina) y ureidopenicilinas (piperacilina) en los aislados de *Acinetobacter* sp. pertenecientes al fenotipo I también puede estar relacionada con la presencia de betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), como las tipo TEM-1, TEM-2, OXA-21 y la carbenicilinas, CARB- 5. Recientemente, se ha descrito la penicilinas SCO-1 en diversas especies de *Acinetobacter* aisladas en Argentina (Vila y Marco, 2010).

En el presente estudio, tan sólo en un aislado perteneciente al fenotipo I se detectó la producción fenotípica de M β L. Cabe mencionar, que en dicho aislado no se detectó la presencia de BLEE. Diversos autores aseguran que la resistencia de *Acinetobacter* a carbapenemas parece estar esencialmente asociada a la producción de enzimas de tipo OXA y, con menor frecuencia, a la producción de M β L (Oliver, 2004; Brown y Amyes, 2006; Poirel y Nordmann, 2006; Tafur *et al.*, 2008). Por lo tanto, se puede inferir que en el fenotipo I, la resistencia a carbapenemas pudiera estar mediada, principalmente, por la producción de enzimas oxacilinasas, en combinación con los otros mecanismos de resistencia ya mencionados, que aunque, son indistinguibles fenotípicamente en el antibiograma pudieran estar presentes.

Las M β L se caracterizan por presentar un fenotipo de resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, excepto aztreonam, no son inhibidas por el ácido clavulánico pero sí por el EDTA (Tafur *et al.*, 2008). Por otro lado, las oxacilinasas se caracterizan por hidrolizar débilmente a las carbapenemas, a las cefalosporinas de manera variable al igual que al ácido clavulánico, pero no hidrolizan aztreonam, y todas son predominantemente penicilinasas con gran poder hidrolítico frente a oxacilina. Al respecto, la β -lactamasa OXA-58 se ha reportado, en años recientes, en cepas de *A. baumannii*, tanto a nivel nacional como internacional, demostrando su capacidad hidrolítica frente a las carbapenemas (Heritier, 2005; Poirel *et al.*, 2005; Peleg *et al.*, 2006; Salazar *et al.*, 2007; Fernández *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2009). Estas enzimas son capaces de conferir una mayor resistencia a las carbapenemas, siempre y cuando la bacteria exprese algún otro mecanismo de resistencia, como el cierre de porinas y la sobre expresión de bombas de expulsión activa (Tafur *et al.*, 2008).

Cabe mencionar que, *A. baumannii* posee una β -lactamasa cromosómica intrínseca denominada OXA-51, la cual presenta poca actividad carbapenemasa. No obstante, se ha observado que puede tener lugar una sobre expresión del gen *bla*_{OXA-51} asociada a la secuencia de inserción IS*Aba1* que aumentaría su actividad carbapenemasa (Feizabadi *et al.*, 2008; Vila y Marco 2010).

Además de la presencia de oxacilinasas, la resistencia mostrada por las cepas de *Acinetobacter* sp. a todos los β -lactámicos ensayados en el fenotipo I, sin la observación de BLEE ni de metalo- β -lactamasas, también permite sospechar la presencia de la enzima KPC, la cual, se caracteriza por hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de todas las generaciones, monobactámicos y carbapenemas, son inhibidas por el ácido clavulánico pero no por el EDTA (Navarro *et al.*, 2011). Al respecto, la RedWHONET–Argentina (Grupo Colaborativo del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán") (2010), señala que las carbapenemasas tipo KPC siempre cursan con alta resistencia a imipenem. La producción de carbapenemasas es, sin duda, el mecanismo de resistencia más estudiado en estos microorganismos (Feizabadi *et al.*, 2008; Gupta 2008; Moubareck *et al.*, 2009; Zarrilli *et al.*, 2009; Bogaerts *et al.*, 2010; Robledo *et al.*, 2010; Schimithet *et al.*, 2010). Estas enzimas pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en elementos genéticos móviles (Tafur *et al.*, 2008).

Cabe destacar que, los aislados pertenecientes al fenotipo I presentaron halos de inhibición para imipenem que oscilaron de 6 a 13 mm y, para meropenem, de 6 a 11 mm, dichas variaciones permiten suponer que la resistencia observada ante las carbapenemas no solo se debe a la producción de carbapenemasas, sino que pueden estar involucrados otros mecanismos de resistencia como los no enzimáticos, entre los que se encuentran: disminución de la permeabilidad de la membrana causada por pérdida o reducción en la expresión de porinas, sobreexpresión de bombas de expulsión activa y alteraciones en las proteínas de unión a las penicilinas (Navón-Venezia *et al.*, 2005; Suárez *et al.*, 2006; Maragakis y Perl, 2008; Zarrilli *et al.*, 2009).

Al respecto, se ha descrito la expresión disminuida de 3 proteínas de membrana en aislamientos de *A. baumannii* resistentes a imipenem: una proteína con una masa

molecular de 33-36 kM_r; otra denominada CarO de 29 kM_r y, finalmente, una proteína de 43 kM_r que presenta homología con la OprD de *P. aeruginosa* (Vila y Marco, 2010). Así mismo, se ha publicado que la ausencia de una PBP de 73,2 kM_r (PBP2a) podría relacionarse con resistencia a imipenem y meropenem de bajo nivel, mientras que la ausencia simultánea de PBP y otra de 70,1 kM_r (PBP2b) se asocia con niveles de resistencia más elevada frente a ambos compuestos (Fernández-Cuenca *et al.*, 2003; Vila y Marco, 2010). Según Huang *et al.* (2010), la sobreexpresión de la bomba de expulsión tipo AdeABC también puede contribuir a niveles más altos de resistencia a los β-lactámicos, incluidas las carbapenemas.

Como se mencionó en párrafos anteriores, en las cepas que mostraron resistencia a todos los β-lactámicos se puede pensar en la presencia de carbapenemasas, sin embargo, no se realizaron ensayos fenotípicos que permitieran la confirmación de carbapenemasas en estos aislados, como los test microbiológicos de Hodge y Masuda (Torres, 2005; Navarro *et al.*, 2011). Además, en los antibiogramas realizados no se empleó aztreonam, el cual permitiría sospechar el tipo de carbapenemasa presente en los aislados. En el caso de la existencia de las enzimas tipo OXA y MβL aztreonam es sensible y para las tipo KPC y GES es resistente. Aún así, el empleo de este antimicrobiano no es suficiente para diferenciar el tipo de carbapenemasa presente, para esto se han propuesto métodos fenotípicos basados en inhibidores específicos de estas enzimas. La sinergia con ácido borónico pero no con cloxacilina es positiva para la presencia de la enzima KPC u otra carbapenemasa de clase A. La sinergia con ácido borónico y con cloxacilina demuestra la posible presencia de AmpC con pérdida de porinas o de carbapenemasa de clase A con AmpC; mientras que, la sinergia con EDTA/SMA o con ácido dipicolínico es positiva para la presencia de la enzima MβL. Para las carbapenemasas de tipo OXA no es posible utilizar un método fenotípico como el propuesto con las carbapenemasas de clase A o B, ya que no existen inhibidores específicos de enzimas de clase D. Por este motivo, se recomienda confirmar la presencia de estas enzimas por métodos moleculares (Navarro *et al.*, 2011).

En Venezuela, son escasos los estudios que evidencien el tipo de mecanismo de resistencia involucrado en la resistencia a las carbapenemas, según Torres (2005), en

sus investigaciones ha demostrado que de 100 cepas de BGNNF (*P. aeruginosa* y *A. baumannii*) resistentes a carbapenemas, aproximadamente, un 40,0% muestra actividad hidrolítica carbapenemasa y, de este porcentaje, alrededor de un 25,0% fueron detectadas como MBLs, de la misma manera, se ha observado que mayoritariamente son MBLs de la familia VIM y que en dichos aislados se evidencia la presencia de integrones clase I.

Pinzón *et al.* (2006) realizaron un estudio, en Colombia, donde obtuvieron que 17 de los 18 aislamientos resistentes a imipenem eran productores de carbapenemasas; en dicho estudio no se evidenció la expresión de MβL mediante la prueba de sinergismo de doble disco, ni se detectaron los genes mediante PCR, sin embargo, en todos los aislamientos resistentes a imipenem se detectó el gen *bla*_{OXA-23} y la presencia de dos β-lactamasas que sugieren que una pueda corresponder a alguna de las enzimas del grupo OXA-23, y la otra a la OXA-51, o la OXA-58, ambas asociadas con resistencia a carbapenemas. Además, concluyen que, los resultados microbiológicos permiten suponer la presencia de otros mecanismos de resistencia a carbapenemas en los aislamientos estudiados, tales como la pérdida de proteínas de la membrana externa, reducción de la expresión de proteínas de las mismas, alteraciones en la afinidad de PBP, además de la sobreexpresión del gen *bla*_{OXA23}.

En relación a los fenotipos II, III y VII, éstos se caracterizaron por la resistencia a ampicilina sulbactam, ticarcilina, piperacilina, cefotaxima y ceftazidima, pero difieren en cuanto al resultado de cefepima, en el fenotipo II fue resistente, intermedio en el III y sensible en el VII. En los 3 fenotipos, el mecanismo de resistencia involucrado, en parte, puede deberse a la producción de BLEE e hiperproducción de AmpC.

En la presente investigación, de 19 cepas pertenecientes al fenotipo II, 10 resultaron positivas para la producción de BLEE; en el fenotipo III se reagruparon 10 cepas, de las cuales, 3 cepas fueron positivas para dicha enzima, sin embargo, en el fenotipo VII no se ubicaron cepas positivas para la producción de BLEE ni de AmpC. Estos hallazgos indican que en los 13 aislados pertenecientes a los fenotipos II y III, la resistencia se debió a la producción de BLEE. Sin embargo, en las 20 cepas restantes que no resultaron positivas para dicha enzima (fenotipos II, III y VII), se

infiere que el principal mecanismo de resistencia involucrado se deba a la hiperproducción de AmpC (Vila y Marco, 2002; Vila y Marco, 2010). Además, en estos últimos aislados también es posible que haya producción de BLEE y debido a lo comentado de la hiperproducción de AmpC, no se detecta en las pruebas fenotípicas, dando un falso resultado negativo.

En relación a las BLEE, las derivadas de la familia TEM y SHV, generalmente, tienen mayor actividad sobre ceftazidima que sobre cefotaxima y cefepima. Aunque, en algunos casos se puede observar cefepima intermedio (Casellas, 2011; Radice *et al.*, 2011). Por lo que es posible, que las BLEE detectadas en el fenotipo III pertenezcan a las familias TEM o SHV. Así mismo, aquellas cepas del fenotipo VII en caso de tener BLEE podrían tratarse de dichas familias.

Por otro lado, se encuentran las BLEEs derivadas de la familia CTX-M, las cuales tienen mayor actividad sobre cefotaxima, ceftriaxona y cefepima, que sobre ceftazidima. Mientras, que las BLEEs derivadas de PER y VEB se caracterizan por conferir resistencia de alto nivel a cefepima, aunque en algunos casos se puede observar sensibilidad disminuida (Vila y Marco, 2010; Radice *et al.*, 2011). Igualmente, las BLEE detectadas en el fenotipo III podrían pertenecer a las familias PER o VEB. Mientras que, debido a la resistencia marcada a cefepima por parte de las cepas ubicadas en el fenotipo II, las BLEE detectadas podrían tratarse de las familias CTX-M, PER o VEB.

En *A. baumannii* se han encontrado diferentes tipos de BLEEs derivadas de la familia TEM, SHV, PER, VEB y CTX-M, siendo la PER-2 y CTX-M-2 las más frecuentes en Sudamérica (Celenza *et al.*, 2006; Vila y Marco, 2010).

Según Vila y Marco (2010), una BLEE tipo oxacilinas (OXA-37) se describió en el 27% de las cepas de *A. baumannii* aisladas de diversos hospitales españoles, caracterizadas por presentar resistencia a ampicilina, ticarcilina, piperacilina, cefotaxima y ceftazidima, con sensibilidad a cefepima e imipenem. Por lo que, es posible que una OXA-37 esté presente en las cepas que presentaron el fenotipo VII.

La descripción de BLEE en esta bacteria enfatiza su capacidad de albergar múltiples mecanismos de resistencia, sería interesante en próximas investigaciones, identificar molecularmente las posibles BLEE detectadas en los antibiogramas de las

cepas ensayadas.

En el presente estudio se obtuvieron 17 aislados pertenecientes al fenotipo II con halos de inhibición para imipenem y meropenem que oscilaron de 16 a 23 mm. Por otro lado, el fenotipo III presentó 7 aislados con halos de inhibición para dichos antimicrobianos que oscilaron entre 17 y 22 mm. Según el CLSI (2011), considera que halos por encima de 16 mm de diámetro es suficiente para que una cepa identificada como *Acinetobacter* sp., sea considerada sensible ante imipenem y meropenem. Sin embargo, cabe resaltar que, aunque los aislados estudiados resultaron sensibles ante las carbapenemas en los fenotipos II y III, no se descarta la presencia de carbapenemasas o la presencia de bombas de expulsión activa o la disminución de la permeabilidad de la membrana por pérdida o reducción en la expresión de porinas. Al respecto, el SADEBAC-AAM (2010) señala que se debe sospechar la presencia de carbapenemasas con halos de imipenem y/o meropenem menores o iguales a 21 mm.

En el mismo orden de ideas, González (2009), realizó un estudio sobre los mecanismos de expulsión de imipenem en cepas clínicas y ambientales de *Acinetobacter* sp. de origen nosocomial, donde se dedujo que halos de inhibición por debajo de 22 mm de diámetro para imipenem pueden indicar la presencia de un mecanismo de resistencia relacionado con la entrada y salida de dicho agente antimicrobiano en cepas de *Acinetobacter* sp., ya que dichos halos aumentaron considerablemente cuando la cepa era cultivada en medios con reserpina y/o phe-arginil- β -naftilamida, los cuales son inhibidores de bombas de expulsión activa. Vila (1998) afirma que la presencia de estos mecanismos pueden conferir resistencia de bajo nivel en la célula bacteriana, es decir, tomando en cuenta los puntos de corte establecidos para dicha bacteria, la presencia de algunos de estos mecanismos de resistencia pudiera modificar levemente la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un agente antimicrobiano, sin que en la cepa en cuestión se llegue a detectar fenotípicamente el mecanismo de resistencia.

Con respecto al fenotipo V, este se caracterizó por la resistencia a cefotaxima, con piperacilina intermedio. En 7 de los 9 aislados ubicados en dicho fenotipo se observó la producción de AmpC inducible. En el resto de las cepas de dicho fenotipo donde no se observó la producción de AmpC inducible, se puede deducir que el

mecanismo de resistencia involucrado se deba a un moderado nivel de expresión de AmpC (Vila y Marco, 2010).

Por otro lado, se encuentra el fenotipo VI, el cual se caracterizó por presentar resistencia a todos los β -lactámicos ensayados, con excepción de ceftazidima que permaneció sensible. Cabe destacar que, en este fenotipo ninguna de las cepas fue positiva para la producción de BLEE, AmpC ni M β L en el antibiograma. Además, se descarta la presencia de enzimas KPC y GES, debido a que ceftazidima permaneció sensible (Red WHONET-Argentina, 2010). De acuerdo a estos resultados, el posible mecanismo de resistencia involucrado se deba, principalmente, a la expresión de una oxacilinas, específicamente, podría ser la OXA-23, debido a que ésta se caracteriza por hidrolizar débilmente al imipenem, conferir resistencia a las penicilinas y al ácido clavulánico, pero es variable en las cefalosporinas de tercera generación. No obstante, debido a su baja actividad contra las carbapenemas, es posible que en este fenotipo estén presentes otros mecanismos de resistencia, tales como: pérdida de porinas y la sobreexpresión de bombas de expulsión activa. En *A. baumannii* se ha reportado el gen *bla*_{OXA-23} contenido en el cromosoma y en plásmidos (Van Looveren *et al.*, 2004; Tafur *et al.*, 2008; Mugnier *et al.*, 2010).

Al respecto, Ritvirool *et al.* (2009), en Tailandia, demostraron la presencia de la OXA-23 en aislados de *A. baumannii* resistentes a carbapenemas. Ellos estudiaron 13 aislados, de los cuales, 12 presentaron resistencia a carbapenemas. Estos últimos fueron resistentes a cefotaxima, ceftriazona, ceftazidima y cefepima con excepción de un aislado, que presentó ceftazidima sensible. En los 12 aislados se detectó el gen *bla*_{OXA-23}. Además, estos autores concluyen que la presencia del gen *bla*_{OXA-23} no es suficiente para explicar la resistencia a carbapenemas. Otros mecanismos, incluyendo pérdida de porinas, disminución de la afinidad de las proteínas ligadoras de penicilina y las bombas de expulsión activa, pueden estar asociados con la resistencia a carbapenemas en estos aislados.

También, Mugnier *et al.* (2010), en su estudio de diseminación del gen *bla*_{OXA-23}, a nivel mundial, obtuvieron 20 aislados de *A. baumannii* resistentes a carbapenemas de 15 ciudades. Todos los aislados fueron altamente resistentes a ticarcilina, y la mayoría

presentó alto nivel de resistencia a ceftazidima, con excepción de 2 aislados que resultaron sensibles. A todos los aislados se les detectó una copia del gen *bla*_{OXA-23}, con excepción de 4 aislados que presentaron 2 copias del gen. Además, estos autores concluyen, que la diseminación del gen *bla*_{OXA-23} está asociada con plásmidos que albergan transposones y elementos IS*Aba1*.

En Brasil, Argentina y Colombia, la OXA-23 ha sido reportada en diversos aislamientos de *A. baumannii* (Villegas *et al.*, 2007; Schimith *et al.*, 2010). Sin embargo, en Venezuela no se halló publicación sobre estudios al respecto.

De acuerdo a estos hallazgos, resulta preocupante la posible presencia de esta enzima dentro de las cepas estudiadas, debido a que los genes que la codifican se encuentran presentes en plásmidos transferibles, lo que hace posible la diseminación de los genes entre las cepas presentes en los diferentes servicios de hospitalización. Por lo tanto, es necesaria la confirmación molecular del gen que codifica para esta enzima, lo cual no fue objeto de estudio en este trabajo.

De acuerdo a la resistencia obtenida en el fenotipo VIII y la presencia de 2 cepas con producción de AmpC inducible, se puede predecir que, posiblemente, en el resto de las cepas de dicho fenotipo el mecanismo de resistencia involucrado se deba a la expresión moderada de AmpC, ya que todas las cepas de este fenotipo fueron resistentes a las penicilinas e inhibidores de β -lactamasas con cefotaxima intermedio (Vila y Marco, 2002). En relación a los fenotipos IV y IX, ambos corresponden con fenotipos silvestres de *Acinetobacter* sp. (Crespo, 2002; Vila y Marco 2010).

En la presente investigación se obtuvieron diferentes fenotipos ante los aminoglucósidos, siendo el fenotipo A, el más frecuentemente hallado entre las cepas y caracterizado por la sensibilidad exhibida ante todos los aminoglucósidos ensayados. En contraposición a lo anterior, el fenotipo B se caracterizó por presentar resistencia a todos los aminoglucósidos ensayados. Cabe destacar, que la diferencia entre ambos fenotipos es apenas del 2,4% de las cepas, es decir, tienen porcentajes casi iguales, por lo que no se descarta que con el tiempo debido al uso indiscriminado de aminoglucósidos como tratamiento contra éstas infecciones, los aislados pertenecientes al fenotipo A comiencen a adquirir resistencia y formen parte del fenotipo B o de cualquiera de los otros

fenotipos.

Al analizar los posibles mecanismos de resistencia a los aminoglucósidos presentes en el fenotipo B, se sugiere la combinación de diversas enzimas modificantes de aminoglucósidos y, tal vez, a la disminución de la acumulación de estos antimicrobianos en la célula bacteriana, lo cual se ha relacionado con la sobre expresión de un sistema de expulsión activa (Vila y Marco 2002; Vila y Marco 2010).

En las especies de *Acinetobacter* se han descrito diversas enzimas modificantes de aminoglucósidos que juegan un papel fundamental en la resistencia frente a estos antimicrobianos (Shaw *et al.*, 1993; Bergogne-Bérézin y Towner, 1996). Al respecto, Vila y Marco (2002) señalan que las enzimas APH (3')-VI, la cual afecta a la amikacina, la ANT (3''), que afecta a la estreptomina y espectinomicina, y la AAC (6')-I, que afecta a la kanamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina, son las más frecuentemente halladas en estos microorganismos. Igualmente, Moniri *et al.* (2010), en Irán, en un estudio de epidemiología molecular de la resistencia a aminoglucósidos en *Acinetobacter* spp, obtuvieron que de 60 aislados de este microorganismo, el 21,7% contenía 3 genes de resistencia a los aminoglucósidos (*aphA6*, *aacC1yaadA1*), los cuales codifican para las enzimas: APH (3')-VI, AAC (3)-I, ANT (3''), respectivamente. Además, dichos aislados se ubicaron dentro de las cepas multirresistentes.

En Venezuela, específicamente, en el estado Mérida, Salazar *et al.* (2007), abordaron la caracterización molecular de mecanismos de resistencia a varios agentes antimicrobianos, entre ellos, los aminoglucósidos, en aislados de *A. baumannii*, donde obtuvieron que de 20 aislados de este microorganismo, 3 presentaban los genes que codifican para la enzima APH (3')-VIa, que confiere resistencia a kanamicina y amikacina. Así mismo, en el trabajo realizado por Lárez (2008), se reportó la presencia de los genes que codifican para la misma enzima, en 17 de 23 aislados de *Acinetobacter* RUH 1139, también provenientes de Mérida, los cuales se ubicaron dentro del fenotipo de total resistencia a los aminoglucósidos. Además, no encontró los genes *aac(6')-Ib* y *aac(6')-Ih*, por lo que dicho autor infiere que la resistencia mostrada por las cepas, ante los aminoglucósidos, sea debido a la producción de otras enzimas no probadas en dicho estudio, o tal vez, a la sobre expresión de un sistema de expulsión activa, como el tipo

AdeABC, que afecta a varias clases de antimicrobianos, entre los que se encuentran los aminoglucósidos. Esta bomba pertenece a la familia RND (del inglés: *resistance nodulation cell división*) y se encuentra constituida por una proteína de fusión de membrana (AdeA), una proteína transportadora multidroga (AdeB) y una proteína de membrana externa (AdeC). Se ha descrito otra bomba de expulsión denominada AdeM, relacionada con la resistencia frente a gentamicina. Dicha bomba pertenece a la familia MATE (del inglés: *multidrug and toxic compound extrusión*) y está compuesta por una sola proteína de membrana (Vila *et al.*, 2007; Opazo *et al.*, 2009).

El fenotipo C se caracterizó por resistencia a espectinomicina. Los resultados permiten inferir que la resistencia a este antimicrobiano puede ser debida a la presencia de la enzima ANT (3'') (Vila y Marco, 2010).

Es de hacer notar que, en España, Vila *et al.* (1993) obtuvieron que el 15,0% de sus aislados clínicos de *A. baumannii* contenía la enzima ANT (3''), la cual modifica estreptomycin y espectinomicina. Mientras que, Moniri *et al.* (2010), en Irán, obtuvieron que el 41,7% de los aislados de *Acinetobacter* spp contenía el gen que codifica para la misma enzima. Tal como lo afirman Bergogne-Bérézin y Towner (1996), se observan variaciones geográficas en relación a la frecuencia de una u otra enzima modificante de aminoglucósidos.

En relación al fenotipo D, el mismo se caracterizó por la resistencia a tobramicina, netilmicina, amikacina y espectinomicina. La presencia de la enzima AAC (6')-I explicaría la resistencia a tobramicina, netilmicina y amikacina, pero no la resistencia a espectinomicina; mientras, que la enzima ANT (3'') explicaría la resistencia a espectinomicina, pero no a tobramicina, netilmicina y amikacina. Según Vila y Marco (2010), la frecuente presencia de 2 o más enzimas en una misma cepa de *Acinetobacter* sp. determina patrones de resistencia difíciles de presuponer a expensas del perfil fenotípico.

Por último, el fenotipo E se caracterizó por presentar resistencia a gentamicina. Este hallazgo sugiere que el mecanismo de resistencia se deba a la presencia de la enzima AAC (3')-I, que afecta específicamente a este antimicrobiano (Vila y Marco, 2010). Al respecto, Van Looveren *et al.* (2004) señalan que el gen que codifica para la

enzima AAC (3')-I ha sido frecuentemente encontrado en aislamientos de *Acinetobacter* spp, en Bélgica (36 de 45 aislados). Sin embargo, Vila *et al.* (1993) sólo encontraron esta enzima en 2 de 54 aislamientos en España.

De lo anteriormente comentado, se sugiere la confirmación de las posibles enzimas modificantes de aminoglucósidos presentes en estos aislados, mediante la detección de sus genes.

En la presente investigación también se establecieron diferentes fenotipos de resistencia a las quinolonas entre las cepas de *Acinetobacter* sp., siendo el fenotipo α el más frecuentemente observado, caracterizado por la resistencia a todas las quinolonas ensayadas en este estudio. En este fenotipo se puede inferir la combinación de mecanismos de resistencia, como las mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*, más la presencia de bombas de expulsión activa (Vila y Marco 2002; Vila y Marco, 2010).

Los genes *gyrA* y *parC* están localizados en la región QRDR (del inglés: *quinoloneresistance determining region*) y codifican las subunidades A de la ADN girasa o topoisomerasa II y la topoisomerasa IV, respectivamente, encargadas del súper enrollamiento del ADN. Ambas enzimas son las proteínas diana de las quinolonas, por lo que, una mutación en estos genes ocasionaría disminución de la afinidad del antibiótico por la enzima (Vila y Marco 2002; Diomedi, 2005; Vila y Marco 2010).

Vila y Marco (2010) señalan que *A. baumannii* presenta un nivel basal de resistencia intrínseca, ya sea por permeabilidad disminuida a las quinolonas o a la expresión constitutiva de alguna bomba de expulsión activa, por lo que, una mutación en *gyrA* ya supone una adquisición de resistencia, tanto al ácido nalidíxico como a la ciprofloxacina. Sin embargo, es necesaria una doble mutación en los genes *gyrA* y *parC*, muchas veces acompañado de una sobre expresión de un sistema de expulsión activa, para generar un fenotipo caracterizado por resistencia a todas las quinolonas.

Por otro lado, el fenotipo γ se caracterizó por presentar resistencia al ácido nalidíxico y a la ciprofloxacina, lo que sugiere sólo una mutación en el gen *gyrA* más la presencia de bombas de expulsión activa (Vila y Marco 2002; Vila y Marco, 2010).

En *A. baumannii* el sistema de expulsión activa AdeABC se ha relacionado con susceptibilidad reducida a fluoroquinolonas. Mientras, que el sistema AdeM se ha

asociado con una mayor resistencia frente a las mismas, específicamente norfloxacin, ofloxacin y ciprofloxacina (Vila *et al.*, 2007; Nordmann y Poirel, 2008; Opazo *et al.*, 2009; Radice *et al.*, 2011).

En un estudio realizado por De la Fuente *et al.* (2007), con el fin de investigar la presencia de mutaciones en *gyrA* y *gyrB* y su relación con la resistencia a fluoroquinolonas en cepas de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de Chile, obtuvieron que, de 24 aislados de *A. baumannii*, 18 presentaron una mutación en el codón 83 del gen *gyrA* y, presentaron CIM para ciprofloxacina superiores a 128 µg/ml.

Igualmente, Martínez y Máttar (2010), en Montería(Colombia), investigaron la mutación en el gen *gyrA* de aislamientos hospitalarios de *A. baumannii*, donde obtuvieron que 12 aislados de este microorganismo presentaron mutación del gen *gyrA*, lo cual sugiere, que este es el principal mecanismo implicado en la resistencia de estas bacterias a las fluoroquinolonas, debido a la ausencia de mutaciones en el gen *parC* y a la ausencia del sistema de salida AdeB. No obstante, señalan que es posible que existan en estos aislamientos otros mecanismos de resistencia no contemplados en dicho estudio, como la expresión de bombas de expulsión activa de tipo AdeM o el sistema de tipo AdeIJK.

Los fenotipos β y δ corresponden con fenotipos silvestres, donde no están presentes mecanismos de resistencia adquiridos.

En el presente estudio se aislaron cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes de pacientes hospitalizados tratados con una gran variedad de agentes antimicrobianos, siendo los β -lactámicos, los mayormente empleados como tratamiento de primera línea, contra estas infecciones. En el caso de los pacientes ambulatorios, las cepas multirresistentes se observaron en aquellos que recibieron únicamente β -láctamicos.

Al respecto, Máttar y Martínez (2007), señalan que en latinoamérica el 50,0% de las infecciones hospitalarias son tratadas con antibióticos β -lactámicos y cerca del 70,0% de las infecciones de los pacientes extrahospitalarios son tratadas con cefalosporinas. La multirresistencia observada en las cepas de *Acinetobacter* sp., en la presente investigación, aisladas tanto de pacientes hospitalizados como ambulatorios del HUAPA, probablemente sea un reflejo del consumo empírico y generalizado de agentes

antimicrobianos, principalmente, β -lactámicos, lo cual ejerce una presión selectiva que favorece la colonización de la población de cepas resistentes.

También, llama la atención que, el 9,0% de las cepas de *Acinetobacter* sp. que presentaban el fenotipo multirresistente fueron aisladas de pacientes sin tratamiento antimicrobiano previo. Desde el punto de vista epidemiológico, es posible que estos aislados sean producto de la adquisición de genes de resistencia a través de plásmidos transferibles que se encuentren circulando entre los distintos servicios y, de allí su multirresistencia; sería interesante comprobar esta hipótesis en próximas investigaciones.

Igualmente, resulta interesante el hecho de que a los pacientes a los que se les suministraron combinaciones de β -lactámicos con otras familias de antimicrobianos se les aisló menor cantidad de cepas *Acinetobacter* sp. multirresistentes, que aquellos a los que se le administraba únicamente β -lactámicos. Al respecto, Hernández *et al.* (2010), demostraron que el tratamiento empírico y definitivo adecuado en infecciones causadas por *A. baumannii* multirresistentes se asociaba estadísticamente con menor mortalidad, especialmente, con el uso de combinaciones de antimicrobianos.

En relación a la asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y la terapia antimicrobiana previa recibida por los pacientes, se obtuvo que no hubo asociación estadísticamente significativa entre dichas variables, es decir, que el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes es independiente de la terapia antimicrobiana previa recibida por el paciente.

En la presente investigación se obtuvo que las secreciones, seguida por sangre y esputo, fueron las muestras de donde se aisló el mayor porcentaje de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes. Al respecto, varios autores a nivel nacional e internacional, reportan aislamientos de *Acinetobacter* spp multirresistentes aisladas principalmente de secreciones (Domínguez *et al.*, 2000; Pedroza, *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2009; Vizcaíno, 2009; Teme *et al.*, 2010). Sin embargo, otros autores reportan aislamientos de *A. baumannii* multirresistentes causantes de bacteriemias, especialmente en pacientes en estado crítico (Aguirre *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2010).

En cuanto al tipo de muestra de donde se aislaron las cepas de *Acinetobacter* sp. en los pacientes hospitalizados, los resultados revelan que no hubo asociación estadísticamente significativa entre esta variable y la característica de multirresistencia en las cepas, lo que indica que el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes es independiente del tipo de muestra. Sin embargo, cabe resaltar que el chi cuadrado experimental ($\chi^2= 12,16$) estuvo muy cerca del chi cuadrado teórico ($\chi^2= 12,592$) en dicha asociación, por lo se puede pensar que si el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* sp. hubiese sido mayor, posiblemente, la asociación entre éstas variables hubiese sido estadísticamente significativa.

En relación a los servicios médicos, en los pacientes reclusos en medicina y UCI predominaron los aislamientos de *Acinetobacter* sp. con fenotipos multirresistentes. Esto puede deberse a que los pacientes que se encuentran en dichos servicios se caracterizan por pasar largos periodos de tiempo hospitalizados, además de la severidad de su enfermedad y de los múltiples procedimientos invasivos que se utilizan para su monitorización, diagnóstico y tratamiento, por lo que tienen un mayor riesgo de presentar infecciones intrahospitalarias. A ello se suma, el uso intensivo de antimicrobianos muy potentes y de muy amplio espectro que selecciona una microbiota típicamente multirresistente en estos servicios y como consecuencia en las infecciones surgidas en las mismas (Bellido, 2008; Aguirre *et al.*, 2009).

Varios autores, a nivel nacional e internacional, reportan aislamientos de *Acinetobacter* spp multirresistentes, principalmente, en UCI. Siendo la especie *A. baumannii* la mayormente relacionada (Pedroza *et al.*, 2002; Paz *et al.*, 2008; Aguirre *et al.*, 2009; Vizcaíno, 2009; Teme *et al.*, 2010).

En relación a la asociación entre los fenotipos de las cepas de *Acinetobacter* sp. y los servicios médicos donde se encontraban los pacientes hospitalizados en el HUAPA, los resultados revelan que dichas variables son independientes, es decir que el aislamientos de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes no va a depender del servicio médico donde se encontraba el paciente. No obstante, igual que el caso anterior el chi cuadrado experimental ($\chi^2= 13,77$) estuvo muy cerca del chi cuadrado teórico ($\chi^2= 15,507$) en dicha asociación. De estos resultados se desprende que el número muestral de

aislados de *Acinetobacter* sp., donde se busque establecer asociaciones con las variables aquí analizadas, debe ser mayor en futuros estudios.

CONCLUSIONES

Acinetobacter sp. ocupó el segundo lugar en frecuencia dentro de los Bacilos Gram Negativos no Fermentadores aislados en el HUAPA.

De los antimicrobianos ensayados en este estudio, las carbapenemas presentaron la mejor actividad *in vitro*, al observarse el menor porcentaje de cepas resistentes.

Entre las cepas de *Acinetobacter* sp., ante los β -lactámicos, el fenotipo I (SAM^R, TIC^R, PIP^R, CTX^R, CAZ^R, FEP^R, IPM^R, MEM^R) fue el más frecuentemente hallado.

Entre las cepas de *Acinetobacter* sp., ante los aminoglucósidos, el fenotipo A (GEN^S, NN^S, NET^S, AMK^S, SPT^S) fue el mayormente observado. Seguido por el fenotipo B (GEN^R, NN^R, NET^R, AMK^R, SPT^R).

En las cepas de *Acinetobacter* sp., ante las quinolonas, el fenotipo α (NA^R, CIP^R, LVX^R) fue el más frecuentemente hallado.

Los β -lactámicos fueron los más utilizados como terapia antimicrobiana previa, tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios.

El aislamiento de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes no depende del tipo de muestra, ni de la terapia antimicrobiana previa y, tampoco está condicionado al servicio médico donde se encuentre el paciente.

RECOMENDACIONES

Promover el uso racional de los antimicrobianos por parte del personal médico y en la comunidad, para evitar la multirresistencia bacteriana.

Realizar un monitoreo constante de los fenotipos de resistencia observados en el laboratorio, con el fin de dirigir medidas al control y más aún a la prevención de la diseminación de los aislados resistentes.

Debido a que existen especies de *Acinetobacter* más resistentes que otras, se recomienda la identificación a nivel de especies de las cepas de *Acinetobacter* sp. aquí estudiadas.

Determinar la CMI de las cepas de *Acinetobacter* sp., frente a los antimicrobianos ensayados en esta investigación, a fin de confirmar la resistencia o sensibilidad de los aislados aquí estudiados, así como para definir la sensibilidad o resistencia de aquellas cepas que resultaron intermedias mediante el método de difusión en agar, frente a algunos antimicrobianos.

Desarrollar estudios genéticos, que permitan la confirmación de los posibles mecanismos de resistencia aquí analizados en las cepas de *Acinetobacter* sp., frente a los β -lactámicos, aminoglucósidos y quinolonas.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, G.; Mijangos, J.; Zavala, M.; Coronado, H. y Amaya, G. 2009. Bacteriemia por *Acinetobacter baumannii* en pacientes en estado crítico. *Gaceta Médica de México*, 145(1): 21-25.

Alemán, D. 2008. Resistencia bacteriana *in vitro* en cepas aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Anandham, R.; Weon, H.; Kim, S.; Kim, Y.; Kim, B. y Kwon, S. 2010. *Acinetobacter brisouii* sp. nov., isolated from a wetland in Korea. *The Journal Microbiology*, 48(1): 36-39.

Bauer, A.; Kirby, M.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Journal of Clinical Pathology*, 9(45): 493-496.

Bell, J.; Turnidge, J.; Walters, L. y Jones, R. 2006. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24 and -58 carbapenemases among *Acinetobacter* spp. in Asia Pacific Nations (APAC). Report from the SENTRY antimicrobial Surveillance Program (2006).

Bellido, J. 2008. Bacterias problemáticas. *Revista Española de Quimioterapia*, 21(1): 12-16.

Bergogne-Bérézin, E. y Towner, K. 1996. *Acinetobacter* sp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features. *Clinical Microbiology Reviews*, 9(2): 148-165.

Bogaerts, P.; Naas, T.; Garch, F.; Cuzon, G.; Delaire, T.; Huang, T.; Lissou, B.; Nordmann, P. y Glupczynski, Y. 2010. GES extended-spectrum β -Lactamases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Belgium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(11): 4872–4878.

Briceño, I. y Suarez, M. 2006. Resistencia bacteriana en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario de Los Andes. *Revista de Medicina Interna y Medicina Crítica*, 3(2): 30-42.

Brown, S. y Amyes, S. 2006. OXA β -lactamases in *Acinetobacter*. The story so far. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57: 1–3.

Carmona, O.; Guzmán, M.; Pulido.; Comegna, M.; Molina, M. y Grupo

Venezolano de Vigilancia de la Resistencia Bacteriana. 2000. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela: nuevos hallazgos. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 20(1): 58-63.

Casellas, J. 2011. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30(6): 519-528.

Casellas, J. 2012. No todos los *Acinetobacter* son iguales en cuanto a patología y tratamiento. Es necesario esmerarse en diferenciarlos. *La Gaceta de Infectología y Microbiología Clínica Latinoamericana*, 2(2): 1-3.

Castillo, E. 2009. Manual de identificación de los bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa. Laboratorio Regional de Salud Pública, estado Zulia.

Celenza, G.; Pellegrini, C.; Caccamo, M.; Segatore, B.; Amicosante, G. y Perilli, M. 2006. Spread of *bla*_{CTX-M-tipe} and *bla*_{PER-2} β -lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57: 975–978.

Center for Disease Control (CDC). 1999. “Laboratory detection of extended spectrum β -lactamases (ESBLs)”. <<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/lab/factsheet/esb.htm>> (09/11/2011).

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Methods for disk diffusion antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, approved standard M7-A7, Villanova. PA, USA.

Cordiés, L.; Machado, L. y Hamilton, M. 1998. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica*, 8(1): 13-27.

Crespo, M. 2002. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de rutina. *Colombia Médica*, 33(4): 179-193.

De la Fuente, M.; Bello, M.; Dominguez, M.; Mella, S.; Sepúlveda, M.; Zemelman, R. y González, G. 2007. Mutaciones en genes *gyrA* y *gyrB* en cepas de bacilos Gram negativos aisladas en hospitales chilenos y su relación con la resistencia a fluoroquinolonas. *Revista Médica de Chile*, 135: 1103-1110.

Dijkshoorn, L.; Nemec, A. y Seifert, H. 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, (5): 939-951.

Diomedi, A. 2005. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado.

Revista Chilena de Infectología, 22(4): 298-320.

Domínguez, M.; Sepulveda, M.; Bello, H.; González, G.; Mella, S. y Zemelman, R. 2000. Aislamiento de *Acinetobacter* spp. desde muestras clínicas en el Hospital Clínico Regional "Guillermo Grant Benavente", Concepción. *Revista Chilena de Infectología*, 17(4): 321-325.

Enoch, D.; Birkett, C. y Ludlam, H. 2007. Non-fermentative Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29(3): 33-41.

Espinosa, F.; Hart, M.; Halley, M. y Pardo, A. 2008. Resistencia bacteriana de cepas aisladas en el Hospital "Hermanos Ameijeiras". Artículo Original. *Revista Cubana de Medicina*, 47(4): 1-8.

Feizabadi, M., Fathollahzadeh, B.; Taherikalani, M.; Rasoolinejad, M.; Sadeghifard, N.; Aligholi, M.; Soroush, S. y Mohammadi, S. 2008. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of *bla_{OXA}* genes among *Acinetobacter* spp. isolated from patients at Tehran hospitals. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 61: 274- 218.

Fernández, E.; Bustamante, Z.; Zamora, J.; Funes, F.; Pinto, J.; Zabalaga, S.; Umaran, A. y Gallegos, L. 2008. Caracterización de genes de resistencia en aislamientos de *A. baumannii* resistentes a carbapenems aislados en hospitales de Cochabamba. III Conferencia de Latinoamericanas en las Ciencias Exactas y de la Vida "Ciencia Mujer 2008". Bolivia.

Fernández, E.; Bustamante, Z.; Zamora, J.; Funes, F.; Sevillano, E.; Umaran, A. y Gallego, L. 2009. Determinación de carbapenemasas y su relación con estructuras genéticas en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* de hospitales de la ciudad de Cochabamba. *BIOFARBO*, 17(1): 30-38.

Fernández-Canigia, L. y Dowzicky, M. 2012. Susceptibility of important Gram negative pathogens to tigecycline and other antibiotics in Latin America between 2004 and 2010. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11(29): 1-9.

Fernández-Cuenca, F.; Martínez-Martínez, L.; Conejo, M.; Ayala, J.; Perea, J. y Pascual, A. 2003. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein, profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 565-574.

Fernández-Cuenca, F.; Pascual, A.; Ribera, A.; Vila, J.; Boud, G.; Cisneros, J.; Rodríguez-Baño, J.; Pachón, J.; Martínez-Martínez, L. y Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). 2004. Diversidad clonal y sensibilidad a los antimicrobianos de *Acinetobacter baumannii* aislados en hospitales españoles. Estudio multicéntrico nacional: proyecto GEIH-Ab 2000. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*,

22(5): 267-271.

Ferrero, S. 2005. Incidencia y resistencia de bacilos Gram negativos no fermentadores. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, 1-4.

Figuerola, Y. 2001. Resistencia a antibióticos y metales pesados en bacterias patógenas aisladas en pacientes del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” y del medio ambiente. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

García-Peñuela, E.; Aznar, E.; Alarcón, T. y López-Brea, M. 2006. Patrón de sensibilidad de aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* en Madrid vs. Hong Kong. *Revista Española de Quimioterapia*, 19(1): 45-50.

Gobernado, M. 2005. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. *Revista Española de Quimioterapia*, 18(2): 115-117.

Gómez, J.; García, E. y Ruiz, J. 2008. Significación clínica de las resistencias bacterianas: una perspectiva histórica (1982-2007). *Revista Española de Quimioterapia*, 21(2): 115-122.

González, D. 2009. Mecanismo de expulsión de imipenem en cepas clínicas y ambientales de *Acinetobacter* sp. de origen nosocomial. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Gupta, V. 2008. Metallo beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 17(2): 131-143.

Heritier, C.; Dubouix, A.; Poirel, L.; Marty, N. y Nordmann, P. 2005. A nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* isolates expressing the carbapenem-hydrolysing oxacillinase OXA-58. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55: 115-118.

Hernández, A.; García, E.; Yagüe, G. y Gómez, J. 2010. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: situación actual y nuevas perspectivas. *Revista Española de Quimioterapia*, 23(1): 12-19.

Huang, J.; Huang, J.; Yu, F.; Wang, X. y Li, G. 2010. AdeABC efflux pump: less important role in *Acinetobacter baumannii* against carbapenems. *African Journal of Microbiology Research*, 4(20): 2148-2152.

Huys, G.; Cnockaert, M.; Vanechoutte, M. 2004. Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains from different European hospitals. *Revista de Microbiología*, 156: 348-355.

Iglesias, H.; Mirón, J.; Fresnadillo, M. y Sáenz, M. 2004. Estudio epidemiológico y efecto sobre la utilización de antimicrobianos en el género *Acinetobacter* en un hospital universitario. *Revista Española de Quimioterapia*, 17(2): 177-183.

Jarlier, V.; Nicolas, M.; Fournier, G y Philippon, A. 1988. Extended broadspectrum beta-lactamase conferring transferable resistance to newer betalactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(4): 867-878.

Jiménez, J. 2000. *Bioestadística. Métodos descriptivos*. Universidad de los Andes. Facultad de Medicina. Mérida. Venezuela.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Scheckenberger, P. y Winn, W. 2008. *Diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color*. Sexta edición. Buenos Aires, Argentina.

Lárez, 2008. Enzimas inactivantes de aminoglucósidos en cepas clínicas y ambientales de *Acinetobacter* sp. de origen nosocomial. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Lezameta, L.; Gonzáles-Escalante, E. y Tamariz J. 2010. Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. *Revista Médica de Perú*, 27(3): 345-51.

Machado, G.; Lago, A.; Riccardi, S. y Bopp, D. 2011. Occurrence and the susceptibility to antimicrobial agents in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* sp. at a tertiary hospital in southern Brazil. *Revista de la Sociedad Brasileira de Medicina Tropical*, 44(2): 168-172.

Manet, L.; Poveda, A.; Rivero, V. y Roperó, E. 2010. Infección hospitalaria en recién nacidos ingresados en un servicio de cuidados intensivos neonatales. *Medisan*, 14(4): 483-489.

Maragakis, L. y Perl, T. 2008. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *AntimicrobialResistant*, 46(8): 1254-1263.

Martínez, L. 2007. Asociación de BLEE con otros mecanismos de resistencia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 25(2): 38-47.

Martínez, P. y Máttar, S. 2010. Mutación en el gen *gyrA* de aislamientos hospitalarios de *Acinetobacter baumannii* en Montería, Colombia. *Asociación Colombiana de Infectología*, 14(2): 97-104.

Martínez, P.; Mercado, M. y Máttar, S. 2003. Determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería.

Colombia Médica, 34(4): 196-205.

Máttar, S. y Martínez, P. 2007. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. *Asociación Colombiana de Infectología*, 11(1): 23-35.

Moniri, R.; Farahani, R.; Shajari, G.; Nazem, M. y Ghasemi, A. 2010. Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance in *Acinetobacter* spp. with emergence of multidrug-resistant strains. *Iranian Journal of Public Health*, 39(2): 63-68.

Morales, M.; Rodríguez, Y.; Benitez, E.; Garmendia, Y.; López, R.; Vergara, V. y Salazar, M. 2007. Bacilos gramnegativos no fermentadores asociados a infecciones nosocomiales en la maternidad “Concepción Palacios” – Caracas. *Boletín Venezolano de Infectología*, 14(18): 2.

Moubareck, C.; Brémont, S.; Conroy, M.; Courvalin, P. y Lambert, T. 2009. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(8): 3579–3581.

Mugnier, P.; Poirel, L.; Naas, T. y Nordmann, P. 2010. Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerging Infectious Diseases*, 16(1): 35-40.

Naas, T.; Coignard, B.; Carbonne, A.; Blanckaert, K.; Bajolet, O.; Bernet, C.; Verdiel, 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.

Narváez, P.; Pedroza, R.; Alonso, G. y Rodríguez, V. 2005. Caracterización de plásmidos de resistencia a antibióticos en aislados nosocomiales del Hospital Universitario de Caracas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1): 29-34.

Navarro, F.; Calvo, J.; Cantón, R.; Hernández- Cuenca, F. y Mirelis, B. 2011. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7): 524–534.

Navon-Venezia, S.; Ben-Ami, R. y Carmeli, Y. 2005. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Infections in the Healthcare Setting*, 8: 306–313.

Nemec, A.; Krizova, L.; Maixnerova, M.; Van der Reijden, T.; Deschaght, P.; Passet, P.; Vanechoutte, 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: 393-404.

Nemec, A.; Musílek, M.; Maixnerova, M.; De Baere, T.; Van der Reijden, T.; Vaneechoutte, M. y Dijkshoorn, L. 2009. *Acinetobacter beijerinckii* sp. nov. and *Acinetobacter gyllenbergii* sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 118-124.

Nemec, A., Musílek, M., Sedo, O., De Baere, T., Maixnerova, M., Van der Reijden, T., Zdráhal, Z., Vaneechoutte, M. y Dijkshoorn, L., 2010. *Acinetobacter bereziniae* sp. nov. and *Acinetobacter guillouiae* sp. nov., to accommodate *Acinetobacter* genomic species 10 and 11, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 896-903.

Nordmann, P. y Poirel, L. 2008. *Acinetobacter baumannii* – basic and emerging mechanisms of resistance. *European Infectious Disease*, 94-97.

Oliver, A. 2004. Resistencia a carbapenemas y *Acinetobacter baumannii*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(5): 259-261.

Opazo, A.; Mella, S.; Domínguez, M.; Bello, H. y González, G. 2009. Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. *Revista Chilena de Infectología*, 26(6): 499-503.

Organización Panamericana de la Salud. 2011. Informe anual de la red de monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos - 2009. Del 3 al 4 de diciembre - 2009. Lima, Perú.

Paz, E.; Ponce, D. y Ramírez, R. 2008. Resistencia bacteriana en cuidados intensivos y tendencia actual: departamento de cuidados críticos, servicio de cuidados intensivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Essalud, Lima, Perú, 2004-2006. *Acta Médica de Perú*, 25(3): 140-147.

Pedroza, R.; Cuotto, W.; Velásquez, O.; Torres, L. y Rodríguez, V. 2002. Caracterización de plásmidos de *Acinetobacter baumannii* en tres centros hospitalarios. *Revista de la Facultad de Medicina*, 25(1): 80-82.

Peleg, A.; Franklin, C.; Walter, L. y Spelman, D. 2006. OXA-58 and IMP-4 carbapenem hidrolizing β -lactamases in a *Acinetobacter junii* blood culture isolated from Australia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50: 399-400.

Peleg, A.; Seifert, H. y Paterson, D. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Revista Clínica de Microbiología*, 21(3): 538-582.

Pérez, D. 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la

toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 3(22): 57-67.

Pérez, F.; Hujer, A.; Hujer, K.; Decker, B.; Rather, P. y Bonomo, R. 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 10(51): 3471-3484.

Picazo, J.; Betriu, C.; Rodríguez-Avial, I.; Culebras, E.; Gómez, M.; López, F. y Grupo VIRA. 2006. Vigilancia de resistencias a los antimicrobianos: estudio VIRA 2006. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 24(10): 617-628.

Pino, C.; Domínguez, M.; González, G.; Bello, H.; Sepúlveda, M.; Mella, S.; Zemelman, C. y Zemelman, R. 2007. Producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en hospitales de la VIIIª Región, Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 24(2): 137-141.

Pinzón, J.; Mantilla, J.; Valenzuela, E.; Fernández, F.; Alvarez, C. y Osorio, E. 2006. Caracterización molecular de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes de la unidad de quemados de un hospital de tercer nivel de Bogotá. *Asociación Colombiana de Infectología*, 10(2): 71-78.

Poirel, L.; Marque, S.; Heritier, C.; Segonds, C.; Chabanon, G. y Nordmann, P. 2005. OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49: 202-208.

Poirel, L. y Nordmann, P. 2006. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(9): 826-836.

Prada, G. 2006. *Acinetobacter baumannii*: problemático y además multirresistente. *Asociación Colombiana de Infectología*, 10(2): 61-63.

Radice, M.; Marín, M.; Giovanakis, M.; Vay, C.; Almuzara, M.; Limansky, A.; Casellas, J.; Famiglietti, A.; Quinteros, M.; Bantar, C.; Galas, M.; Kovensky Pupko, 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 gran 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: 136-153.

Red WHONET–Argentina (Grupo Colaborativo del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"), 2010. Protocolo de trabajo. XIII Taller WHONET-Argentina del 9 al 11 de mayo – 2010. Mar de plata, Argentina.

Ritvirool, P.; Boonkerd, N.; Tansawai, U. y Tiloklurs, M. 2009. Carbapenem – resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 in Thailand. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 62: 152-154.

Robledo, I.; Aquino, E.; Santé, M.; Santana, J.; Otero, D.; León, C. y Vásquez, G. 2010. Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3): 1354–1357.

Rodríguez, C.; Nostra, M.; Weyland, B.; Losada, M.; Vay, C. y Famiglietti, H. 2010. Bacteriemias causadas por *Acinetobacter* spp. y resistencia a carbapenemes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 44(2): 243-248.

Rodríguez, J. y Maggi, G. 2005. Incidencia y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* especies en pacientes atendidos en el Hospital de Niños J.M. de los Ríos en el año 2004. XII Congreso de la Asociación Panamericana de Infectología del 15 al 18 de mayo – 2005. Caracas, Venezuela.

Salazar, E. y Nieves, B. 2005. *Acinetobacter* spp.: aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(2): 64-71.

Salazar, E.; Nieves, B.; Araque, M.; Velasco, E.; Ruíz, J. y Vila, J. 2006. Outbreak caused by *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 27(4): 397-403.

Salazar, E.; Nieves, B.; Ruiz, M.; Ruiz, J.; Vila, J.; Araque, M. y Velázco, E. 2007. Molecular epidemiology and characterization of resistance mechanisms to various antimicrobial agents in *Acinetobacter baumannii* isolated in Mérida, Venezuela. *Medical Science Monitor*, 13(4): 89-94.

Sánchez, C.; Borrero, L.; Crespo, A.; González, L.; Hartmann, C. y Marulanda, M. 2005. Identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores y evaluación de la sensibilidad a los antibióticos durante el periodo enero 2002 – septiembre 2004 en el Centro Médico Guerra Méndez. XII Congreso de la Asociación Panamericana de Infectología del 15 al 18 de mayo – 2005. Caracas, Venezuela.

Schimith, K.; Oliveira, S.; Scheffer, M.; Gales, A.; Paganini, M.; Do Nascimento, A.; Carignano, E. y Dalla, L. 2010. Temporal evolution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in Curitiba, southern Brazil. *American Journal of Infection Control*, 38(4): 308-314.

Shaw, K.; Rather, P.; Hare, R. y Miller, H. 1993. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside modifying enzymes. *Microbiological Reviews*, 57(1): 138-163.

Silva, J. 2006. Resistencia a antibióticos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2): 105-112.

Sociedad Argentina de Bacteriología, Asociación Argentina de Microbiología (SADEBAC-AAM). 2010. “Caracterización fenotípica de la resistencia a los betalactámicos en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp”. <<http://www.amm.ar/novedades/consenso%20BNNF%20anexo.pdf>> (09/11/2011).

Sociedad Argentina de Infectología (SADI). 2010. Consenso para el abordaje de algunos microorganismos problemas en infecciones asociadas al cuidado de la salud. IX Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Infectología del 13 al 14 de mayo - 2010. Mar de Plata, Argentina.

Suárez, C.; Kattán, J.; Guzmán, A. y Villegas, M. 2006. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Asociación Colombiana de Infectología*, 10(2): 85-93.

Tafur, J.; Torres, J. y Villegas, M. 2008. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12(3): 217-226.

Teme, C.; Franco, O.; Weber, E.; Gurrieri, A. y Samudio, G. 2010. *Acinetobacter* en una sala de cuidados intensivos pediátricos. Nuestra experiencia. *Pediatría*, 37(1): 30-35.

Torres, L. 2005. La era de las carbapenemasas. XXIX Jornadas Venezolanas de Microbiología del 9 al 11 de Noviembre – 2005. Cumaná, estado Sucre.

Tovar, C. 2009. β -lactamasas tipo TEM en cepas clínicas y ambientales de *Acinetobacter* sp. aisladas del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), Mérida, estado Mérida. Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Título de Licenciado en Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

Towner, K. 2006. The genus *Acinetobacter*. *Prokaryotes*. 6: 746–758.

Van Looveren, M., Goossens, H. y el grupo ARPAC. 2004. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 10: 684–704.

Vila, J. 1998. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Revista Médica de Microbiología*, 9: 87-97.

Vila, J. y Marco, F. 2002. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 20(6): 304-312.

Vila, J. y Marco, F. 2010. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7): 524-534.

Vila, J.; Marcos, A.; Marcos, F.; Abdalla, S.; Vergara, Y.; Reig, R.; Gómez-Luz, R. y Jiménez, T. 1993. *In vitro* antimicrobial production of β -lactamases aminoglycoside modifying enzymes, and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37(1): 138-141.

Vila, J.; Martí, S. y Sánchez, J. 2007. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(6): 1210-1215.

Villegas, M.; Kattan, J.; Correa, A.; Lolans, K.; Guzmán, A.; Woodford, N.; Livermore, D.; Quinn, J. y the Colombian Nosocomial Bacterial Resistance Study Group. 2007. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 carbapenemase in Colombian hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(6): 2001–2004.

Vizcaíno, C. 2009. Epidemiología de bacilos Gramnegativos no fermentadores aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios que acuden al Hospital Luís Ortega (HLO). Porlamar. Estado Nueva Esparta. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Yoneyama, H. y Katsumata, R. 2006. Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70(5): 1060-1075.

Zarrilli, R.; Giannouli, M.; Tomasone, F.; Triassi, M. y Tsakris, A. 2009. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 3(5): 335-341.

ANEXO

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación de la Doctora Elsa Salazar, Profesora de la Universidad de Oriente, núcleo de Sucre, se está realizando el proyecto de investigación intitulado "EPIDEMIOLOGÍA DE CEPAS BACTERIANAS, AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL "ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ". CUMANÁ . ESTADO SUCRE.

El Objetivo de este trabajo de investigación es: Analizar la situación epidemiológica de cepas bacterianas, aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Hospital "Antonio Patricio de Alcalá", Cumaná, estado Sucre.

Yo: _____
C.I: _____ Nacionalidad: _____
Estado Civil: _____ Domiciliado en: _____

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio médico declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigación de este proyecto de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación intitulado: "EPIDEMIOLOGÍA DE CEPAS BACTERIANAS, AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL "ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ". CUMANÁ. ESTADO SUCRE.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es: Analizar la situación epidemiológica de cepas bacterianas, aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Hospital "Antonio Patricio de Alcalá", Cumaná, estado Sucre.
3. Conocer bien el Protocolo Experimental expuesto por el investigador en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en:

Donar de manera voluntaria la muestra de acuerdo al tipo de infección; la cual será obtenida por el personal médico especializado y autorizado.

4. Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para obtener aislados bacterianos.
5. Que el equipo de personas que realiza esta investigación me han garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
7. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgos e inconveniente alguno para mi salud.
8. Que cualquier pregunta que tenga en relación a este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de la investigación con quienes me puedo comunicar por el teléfono: 04147999750, con la Br. Leidy Gámez.
9. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que pueda producirse en el referido proyecto de investigación.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación en este estudio es totalmente voluntaria, acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el referido estudio en la muestra biológica que acepto donar para los fines indicados anteriormente.
2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del voluntario: -

Nombre y Apellido:

C.I.:

Lugar:

Fecha:

Firma del testigo:

Nombre y Apellido:

C.I.:

Lugar:

Fecha:

Firma del testigo:

Nombre y Apellido:

C.I.:

Lugar:

Fecha:

ANEXO 2

**EPIDEMIOLOGÍA DE *Staphylococcus* sp., AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y
AMBULATORIOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO "ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ", CUMANÁ,
ESTADO SUCRE.**

Ficha de registro del paciente

Código de Encuesta			
Fecha			

0. IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

0.1.	Historia Clínica		
0.2.	Nombre y Apellidos	Edad	Sexo
0.3.	Fecha de Nacimiento		
0.4.	Lugar de nacimiento		
0.5.	Dirección de habitación		

1. DATOS DE PACIENTES AMBULATORIOS

1.1.	Diagnóstico clínico			
1.2.	Infección	Tipo de infección	Otro:	
1.3.	Recibe terapia antimicrobiana	Si	No	Cuál antibiótico

2. DATOS DE HOSPITALIZACIÓN

2.1.	Fecha de ingreso			Servicio
2.2.	Días de hospitalización			Servicio
2.3.	Diagnóstico clínico de ingreso			
2.4.	Infección	Tipo de infección	Otro:	
2.5.	Recibe terapia antimicrobiana	Si	No	Cuál antibiótico

3. EN CASO DE SER NEONATOS

3.1.	Infecciones durante el embarazo	Si	No	Cuál
3.2.	Parto vía vaginal	Si	No	
3.3.	Via asistencial (cesárea)	Si	No	Cuáles
3.4.	Peso al nacer			
3.5.	Intubación endotraqueal	Si	No	
3.6.	Concentración	Tipo		
3.7.	Presenta prematuridad al recién nacido	Si	No	

4. FACTORES SUBYACENTES

4.1.	¿Sufrir de Hipertensión arterial?	Sí	No
	4.1.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.2.	¿Sufrir de Diabetes?	Sí	No
	4.2.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.3.	¿Ha sufrido Cáncer?	Sí	No
	4.3.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.4.	¿Ha sufrido de Enfermedades Renales?	Sí	No
	4.4.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.5.	¿Ha sufrido Enfermedades Infecciosas?	Sí	No
	4.5.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido, especifique tipo de antibiótico:	_____	
	_____	_____	
4.6.	¿Ha sufrido de Parálisis?	Sí	No
	4.6.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.7.	¿Ha presentado cuadro de Desnutrición?	Sí	No
	4.7.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.8.	¿Ha presentado estado de Coma?	Sí	No
	4.8.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue el estado y cual fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.9.	¿Ha tenido tratamiento con Corticosteroides?	Sí	No
	4.9.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuanto tiempo fue el tratamiento recibido:	_____	
	_____	_____	
4.10.	¿Ha estado sometido a Radiaciones?	Sí	No
	4.10.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuanto tiempo fueron recibidas:	_____	
	_____	_____	
4.11.	¿Ha sufrido alguna otra enfermedad?	Sí	No
	4.11.1 si la respuesta es afirmativa, indique que otras enfermedades:	_____	
	_____	_____	

5. FACTORES PREDISPONENTES

5.1.	¿Es fumador (a)?	Sí	No
	5.1.1 si la respuesta es afirmativa, indique cuantos cigarrillos fuma diariamente:	_____	
	_____	_____	

5.2	¿Es consumidor (a) de café?	Si	No
5.2.1	si la respuesta es afirmativa, Indique cuantos vasos de café toma diariamente:	_____	

5.3	¿Es consumidor (a) de alguna droga?	Si	No
5.3.1	si la respuesta es afirmativa, indique que droga y con que frecuencia la consume:	_____	

6. SOLO PARA PACIENTES

6.1	¿Ha estado castrado?	Si	No
6.1.1	si la respuesta es afirmativa, indique en que tipo:	_____	

6.2	¿Ha presentado ventilación mecánica?	Si	No
6.2.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:	_____	

6.3	¿Ha estado sometido a procedimientos quirúrgicos?	Si	No
6.3.1	si la respuesta es afirmativa, indique de que tipo:	_____	

6.4	¿Ha estado expuesto a quimioterapias?	Si	No
6.4.1	si la respuesta es afirmativa, indique que tipo:	_____	

6.5	¿Ha presentado ondas nasogélicas?	Si	No
6.5.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:	_____	

6.6	¿Ha presentado ruidos de ríen?	Si	No
6.6.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:	_____	

6.7	¿Ha estado diálisis?	Si	No
6.7.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:	_____	

6.8	¿Ha tenido transfusiones?	Si	No
6.8.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando y cuantas veces:	_____	

6.9	Otros	Si	No
6.9.1	si la respuesta es afirmativa, indique cual:	_____	

7. SEGÚN PATOLOGÍA, TIPO DE MUESTRA A

Muestra	Hispgado de Hierta	Hispgado Rectal	Heces	LCR
Orina	Sangre	Urina		
Sitio de infección				

8. EXAMENES

EXAMENES DE LABORATORIO	
8.1.	Hematológico
8.1.1	Hb (g/dl)
8.1.2	Hto (%)
8.1.3	VPI (mm ³)
8.1.4	EH (%)
8.1.5	Unf (%)
8.2.	Uroanálisis
8.2.1	Olor
8.2.2	Color
8.2.3	Aspecto
8.2.4	pH
8.2.5	Índice
8.3.	Sedimento urinario
8.3.1	Leucocitos
8.3.2	Eritrocitos
8.3.3	Píscitos
8.3.4	Bacterias
8.3.5	Otros
8.4.	Diagnóstico microbiológico
8.4.1.	Examen microscópico
8.4.2	Bacterias (y identificación)
	1
	2
	3

ANTIBIOGRAMA												
	S	R	I		S	R	I		S	R	I	
Penicilina				Eritromicina				Sulfisoxazol				
Ampicilina				Clindamicina / Uncomicina				Trimetoprim / Sulfametoxazol				
Carbenicilina				Kanamicina				Isoniazida				
Ticarcilina				Genamicina				Acido nalidixico				
Aperezilina				Tobramicina				Micofenolato				
Clavulato				Amikacina				Netilmicina				
Cefalotina				Dibekacina				Cinoxacin				
Cefazolina				Streptomicina				Ciprofloxacina				
Cefamandol				Neomicina				Ampicilina / Sulbactam				
Cefotaxima				Tetraciclina				Chloramfenicol				
Ceftiozima				Cloranfenicol				Imipenem				
Cefepime				Vancomicina				Ceftazidima				
Ceftriaxona				Colistina				Cefbutima				

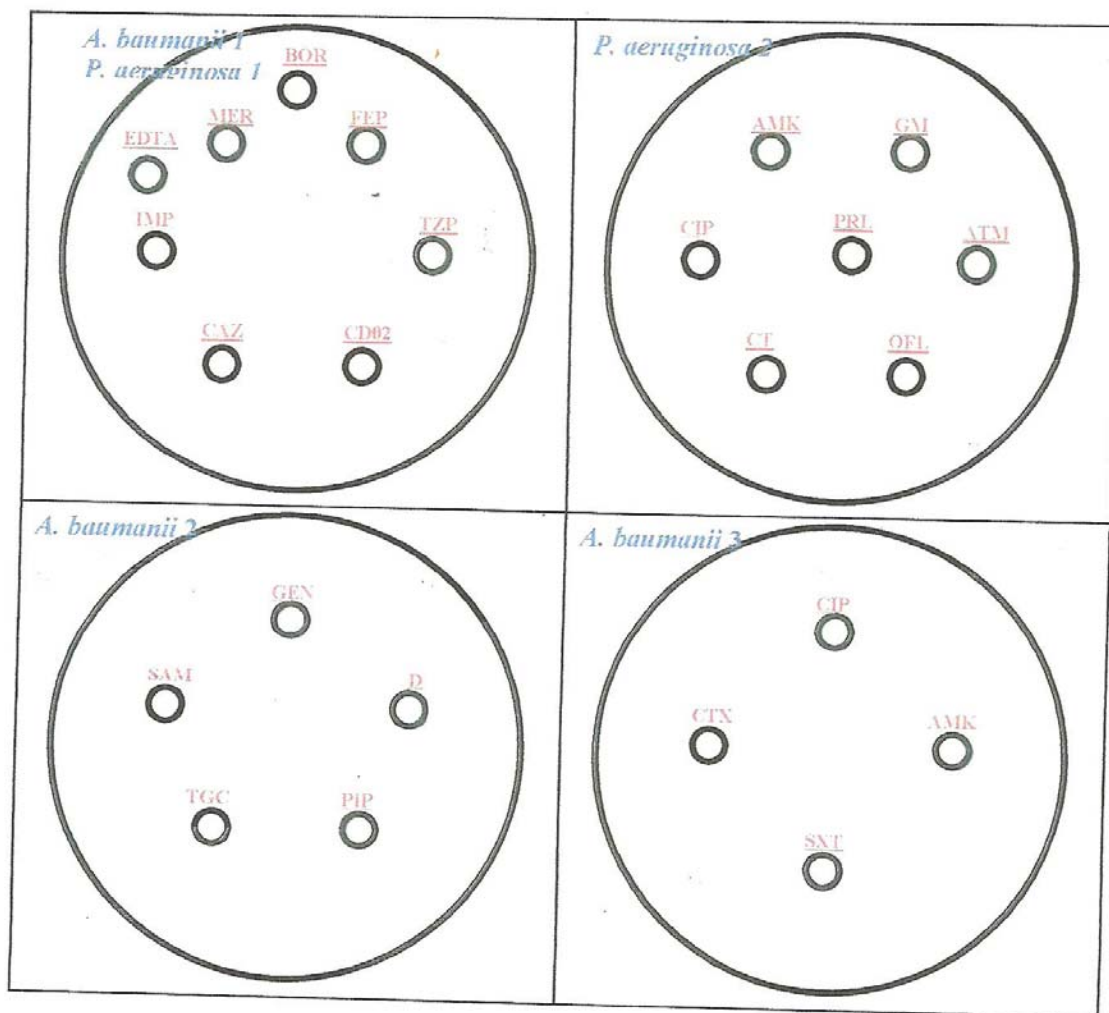
ANEXO 3



Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"

Ciudad Universitaria UCV, Los Chaguaramos,
Caracas - República Bolivariana de Venezuela Coo. 1041
Teléfono: (0058-0212) 219.1622
<http://www.inhrr.gob.ve>
RIF: G-20000101-1

b) *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.



HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Resistencia antimicrobiana <i>in vitro</i> en cepas de <i>Acinetobacter</i> sp., aisladas del Hospital Universitario “Antonio Patricio De Alcalá”. Cumaná, Estado Sucre
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rodríguez O, Yuli S	CVLAC	18.399.371
	e-mail	ysro_17@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA
<i>Acinetobacter</i> sp.
FENOTIPO
BLEE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis
	Bacteriología

Resumen (abstract):

Con el objeto de analizar la resistencia antimicrobiana *in vitro* en cepas de *Acinetobacter* sp., aisladas del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA), Cumaná, estado Sucre, durante el periodo comprendido entre los meses junio-diciembre de 2008, se estudiaron 265 aislados identificados previamente como Bacilos Gram Negativos no Fermentadores (BGNNF), provenientes de pacientes hospitalizados y ambulatorios, atendidos en dicha institución. La identificación a nivel de género de los aislados de *Acinetobacter* sp. se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante la prueba de difusión en agar. Para la detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se utilizó el método de disco combinado y para la detección de metalo- β -lactamasas (M β L) se realizó la prueba de doble disco. La β -lactamasa tipo AmpC inducible se detectó al observar achatamiento del halo de inhibición entre los discos de ceftazidima e imipenem y piperacilina tazobactam e imipenem en el antibiograma. Se identificaron 85 aislados de *Acinetobacter* sp., de éstos, 79 se obtuvieron de pacientes hospitalizados y 6 de pacientes ambulatorios. Con respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, las cepas de *Acinetobacter* sp. presentaron porcentajes de resistencia ante la mayoría de los β -lactámicos, los cuales fueron superiores al 54,0%, a excepción de las carbapenemas, donde los porcentajes de resistencia fueron inferiores al 35,0%. Se detectaron 23 aislados de *Acinetobacter* sp. productoras de BLEE, mediante el método de disco combinado. Se observaron 19 aislados productores de AmpC inducible y uno productor de M β L. El fenotipo I (SAM^R, TIC^R, PIP^R, CTX^R, CAZ^R, FEP^R, IPM^R, MEM^R) fue el más frecuentemente hallado entre las cepas ante los antimicrobianos β -lactámicos. Con respecto a los aminoglucósidos, los porcentajes de cepas de *Acinetobacter* sp. resistentes fueron inferiores al 51,0%, siendo, el fenotipo A (GEN^S, NN^S, NET^S, AMK^S, SPT^S) el mayormente observado. Seguido por el fenotipo B (GEN^R, NN^R, NET^R, AMK^R, SPT^R). La resistencia de las cepas de *Acinetobacter* sp. ante las quinolonas fue superior al 55,0%, siendo el fenotipo α (NA^R, CIP^R, LVX^R) el mayormente encontrado. Los β -lactámicos fueron los más utilizados como terapia antimicrobiana previa, tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios. Se concluye que, el aislamiento de cepas de *Acinetobacter* sp. multirresistentes no depende del tipo de muestra, ni de la terapia antimicrobiana previa y, tampoco está condicionado al servicio médico donde se encuentre el paciente.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Salazar, Elsa	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	elsazul2003@yahoo.com
	e-mail	
Guzmán, Militza	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> X
	CVLAC	
	e-mail	miltzaguz@yahoo.com
	e-mail	
Araque, Yasmina	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> X
	CVLAC	
	e-mail	yamasi40@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2013	03	13

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_RodriguezY.doc	Aplication/ Word

Alcance:

Espacial: Nacional (opcional)

Temporal: Temporal (opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciada

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente

Hoja de metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE	
SISTEMA DE BIBLIOTECA	
RECIBIDO POR	<i>[Firma]</i>
FECHA	5/8/09
HORA	5:30

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario



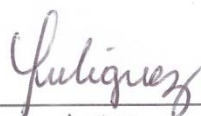
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YOC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):“Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.



Autor
Rodríguez, Yuli



Asesor
Salazar, Elsa