

Acinetobacter baumannii, multiresistentes a los carbapenémicos a nivel hospitalario.

Acinetobacter baumannii, multiresistant to carbapenems at the hospital level.

Arbizú Medina, Oscar; Romero Oviedo, Francisco; García Rosales, Kenia; Molina Morales, Abraham Enoc; García Herrera, Francisco Antonio; Centeno Rizo, Braulio Renato; Lanzas Baca, Yader; Salinas, Abraham; Amaya, Erick

 **Oscar Arbizú Medina**

arbizu2006@yahoo.com.mx

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

 **Francisco Romero Oviedo**

fromero.docente.unan@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

 **Kenia García Rosales**

keniagarciarosales@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

 **Abraham Enoc Molina Morales**

molinamoralesa@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

 **Francisco Antonio García Herrera**

frgarher96@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

 **Braulio Renato Centeno Rizo**

cbrauliozenato@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

Yader Lanzas Baca

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

Abraham Salinas

asalinas@cies.edu.ni

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-MANAGUA), Nicaragua

Erick Amaya

amayma2007@gmail.com

Resumen: Se realizó un estudio descriptivo transversal con el objetivo de caracterizar genéticamente *Acinetobacter baumannii*, productora de carbapenemasas, se estudiaron, 16 cepas resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes internados en el hospital público Alemán nicaragüense. La identificación del género, especie y la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos se llevó a cabo mediante el sistema VITEK2 compact. Se realizó el test de sinergia con ácido etilendiaminotetraacético (10µg o 0.1 uM), a partir de la escala 0.5 McFarland mediante Kirby Bauer. La caracterización genotípica, se realizaron PCR múltiplex para *bla*OXA23, *bla*OXA40, *bla*OXA51 y *bla*OXA58, igualmente para los genes clase B, *bla*IMP, *bla*VIM, *bla*GIM, *bla*SIM, *bla*SPM y se realizó un PCR para *bla*NDM. Como resultado del estudio se demostró la diversidad de genes, el 100% de las cepas portaron OXA51, 87.5% portaban genes OXA40, combinado con OXA51, el 13% presentaron una combinación de genes NDM con OXA51, el 6% de las cepas presentaron genes VIM, GIM en combinación OXA40 y OXA51, todas las cepas en estudio de *A. baumannii*, presentaron multiresistencia, pero el 100% fueron sensible a colistina. Se concluyó que la multiresistencia en *A. baumannii* a carbapenémicos se debe al *bla*OXA51, gen intrínseco de este microorganismo y a las combinaciones de genes VIM, GIM, NDM y OXA40, aumentando la capacidad hidrolítica a estos antibióticos, estos genes se comparten mediante plásmidos facilitando la transferencia vertical y horizontal.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, Carbapenémicos, genes, plásmidos, Anti infecciosos.

Abstract: A cross-sectional descriptive study was carried out with the objective of genetically characterizing *Acinetobacter baumannii*, producer of carbapenemasas, 16 strains resistant to carbapenems isolated from patients admitted to the German Nicaraguan public hospital were studied. The identification of the genus, species and the antimicrobial susceptibility test was carried out using the VITEK2 compact system. The synergy test was performed with ethylenediaminetetraacetic acid (10µg or 0.1 uM), from the 0.5 McFarland scale using Kirby Bauer.

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León
(UNAN-LEÓN), Nicaragua

Revista Torreón Universitario

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-Managua,
Nicaragua
ISSN: 2410-5708
ISSN-e: 2313-7215
Periodicidad: Cuatrimestral
vol. 12, núm. 33, 2023
revis.torreon.faremc@unan.edu.ni

Recepción: 04 Mayo 2021
Aprobación: 11 Enero 2023

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/387/3873792003/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/rtu.v12i33.15895>

Financiamiento

Fuente: Este estudio se realizó con el Fondo para Proyectos de Investigación (FPI) de la UNAN-Managua, dirigido por el Vicerrectorado de Investigación, Posgrado y Extensión Universitaria a través de la Dirección de Investigación. Beneficiario: Dr. Oscar Arbizú Medina, MSc. Francisco Romero Oviedo, Lic. Kenia García Rosales, Lic. Abraham Enoc Molina Morales, Lic. Francisco Antonio García Herrera, Lic. Braulio Renato Centeno Rizo, Yader Lanzas Baca, PhD. Abraham Salinas, PhD. Erick Amaya

El autor o los autores de los artículos, ensayos o investigaciones conceden a la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-Managua) los derechos de edición (copyright) del trabajo enviado, por consiguiente la Universidad cuenta con el derecho exclusivo para publicar el artículo durante el periodo completo de los derechos de autor.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Genotypic characterization, multiplex PCR was performed for *bla*OXA23, *bla*OXA40, *bla*OXA51 and *bla*OXA58, also for class B genes, *bla*IMP, *bla*VIM, *bla*GIM, *bla*SIM, *bla*SPM and a PCR was performed for *bla*NDM. As a result of the study, the diversity of genes was demonstrated, 100% of the strains carried OXA51, 87.5% carried OXA40 genes, combined with OXA51, 13% presented a combination of NDM genes with OXA51, 6% of the strains presented genes VIM, GIM in combination OXA40 and OXA51, all the *A. baumannii* strains under study, presented multiresistance, but 100% were sensitive to colistin. It was concluded that the multiresistance in *A. baumannii* to carbapenems is due to *bla*OXA51, an intrinsic gene of this microorganism, and to the combinations of VIM, GIM, NDM and OXA40 genes, increasing the hydrolytic capacity to these antibiotics, these genes are shared by means of plasmids facilitating the vertical and horizontal transfer.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Carbapenems, genes, plasmids, Anti-infectives.

INTRODUCCIÓN

Objetivo: Caracterización genética de *Acinetobacter baumannii*, resistentes a los carbapenémicos, aisladas de muestras clínicas de pacientes internados en salas del Hospital Alemán Nicaragüense, enero 2017 - febrero 2018.

Acinetobacter baumannii, (*A. baumannii*), ha tomado importancia clínica debido a la capacidad de desarrollar multiresistencia a diferentes familias de antibióticos, también por los diversos mecanismos que ha adquirido, como el hidrolisis mediada por enzimas, disminución de sus porinas, expulsión de los antibióticos; este patógeno oportunista se ha visto involucrado en algunos brotes endémicos en Bolivia, Colombia, Chile, España, teniendo gran importancia la caracterización genotípica que conlleva a la múltiple resistencia (Colón et ál., 2009). Según Fresnadillo, tiene diferentes tipos de reservorios que le favorece el desarrollo de procesos infecciosos en pacientes como la limpieza deficiente de las áreas hospitalarias e instrumentos médicos del personal sanitario, como uno de las principales vías de infección, además de la falta de lavado de manos, el uso constante del teléfono en áreas críticas, el deterioro de la salud de los pacientes, así como factores de comorbilidad, edad y estado inmunológico. Este patógeno emergente tiene capacidad de sobrevivir en condiciones adversas en las áreas hospitalarias, de desarrollar diversos procesos infecciosos y conducir al desarrollo de bacteriemia de muy mal pronóstico (Fresnadillo et ál., 2015).

A. baumannii, en el año 2017, fue ubicado en la lista de patógenos de prioridad crítica por la Organización Mundial de la Salud (OMS), por ser un microorganismo resistente a los Carbapenémicos, los cuales se utilizan para tratar procesos infecciosos reservados presentándose refractarios ante la medición antimicrobiana, limitando las alternativas farmacológicas, también tiene alta capacidad para diseminarse, es eminentemente un peligro para la vida de los pacientes con estadías prolongadas en las diferentes unidades sanitarias, aspectos importantes que se deben considerar en estos procesos infecciosos. Desde la aparición de los antimicrobianos se han implementado estrategias para tratar los procesos infecciosos quizás de manera no adecuada o de uso indiscriminado, pero estos microorganismos desarrollan múltiples maneras de defenderse de los ataques antimicrobianos dificultando cada día la estrategia para erradicar los procesos infecciosos (Opozo et ál., 2009). La dificultad de determinar fenotípicamente la resistencia *A. baumannii*, tipo OXA, es debido a la falta de inhibidores enzimáticos, lo que nos conlleva al uso indispensable de técnicas de biología molecular como la PCR, para conocer genéticamente los genes están portando las bacterias, es de mucha importancia desde el punto de vista de resistencia con transmisión plasmídica a otras bacterias Gram negativas, es por eso que no enfocamos en la detección de genes carbapenemasas clase B, clase D. (Múnera et ál., 2014).

MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal con el objetivo de caracterizar genéticamente *A. baumannii*, productora de carbapenemasas clase D, en las que se estudiaron, 16 cepas resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes internados en el hospital público Alemán Nicaragüense. La identificación del género, especie y la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos se llevó a cabo mediante el sistema VITEK2 compact, a partir del cultivo en MacConkey se tomaron tres Unidades formadoras de colonias (UFC), para la preparación del inóculo, luego se realizó una suspensión homogénea en un tubo de ensayo conteniendo 3ml de solución salina al 0.45%, para las tarjetas restantes se pasaron 145µl en tubos con 3ml de solución salina, se ajustó al estándar 0.5 de McFarland por medio del DenSiCheK Plus, y se procedió a montar (GN, AST -XN06 y AST- GN69), GN: 64 pruebas bioquímicas, AST XN06: AN, ATM, CF, CTX, CTT, FOX, CPD, CZX, CXM, DOR, MEM, MXF, NA, NOR, PIP, TE, TIC, TCC, TGC, AST GN69: AMC, AM, SAM, CZ, FEP, CAZ, CRO, CIP, ETP, GM, IPM, LEV, TZP, TM, SXT. Se consideraron cepas sospechosas productoras de carbapenemasas al presentar Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de 2-4 µg/mL para Imipenem, Meropenem, y 2 µg/mL para Ertapenem (CLSI., 2020). Se realizó el test de sinergia con ácido etilendiaminotetraacético (10µg o 0.1 uM), a partir de la escala 0.5 McFarland de las cepas a evaluar, también se evaluó mediante Kirby Bauer el halo de inhibición ≤ 21 mm se incubó 18-24hrs. Para la caracterización genotípica, se realizó un múltiplex PCR para *blaOXA23*, *blaOXA40*, *blaOXA51* y *blaOXA58* (Colón et ál., 2009). Para conocer, si portaban el gen NDM, realizó un PCR: para *blaNDM*, (Pasteran F., 2012). Para determinar los genes clase B, se realizó un PCR, múltiples para *blaIMP*, *blaVIM*, *blaGIM*, *blaSIM*, *blaSPM* (Escalante et ál., 2013).

Extracción del ADN: fue mediante lisis por calor a partir del cultivo en agar MacConkey de 18-24 horas a 37°C, se tomó un pool de UFC, se inocularon en un vial de 1.5 mL que contenía 100µl de agua libre de nucleasas, se colocó en baño maría en ebullición por 10 minutos, luego se centrifugó a 12000 rpm por 5 minutos y se extrajo 80µl del sobrenadante, se determinó la concentración de ADN extraído en Nanodrop Lite 2763 (Vilchez et ál., 2009).

Detección genotípica blaOXA: se realizó una PCR múltiplex, en aislados de *Acinetobacter baumannii*, en la que se utilizaron los siguientes cebadores. Ver Tabla 1.

TABLA 1
Secuencia de cebadores carbapenemasas clase B y clase D.

Nombres del primer	Secuencia de cebadores	Peso molecular (Pb)	Referencia	
OXA23F	5'- GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA-3'	501 Pb	Colón et ál., 2009.	
OXA23R	5'- ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT-3'			
OXA40F	5'- GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA-3'	246 Pb		
OXA40R	5'- AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT-3'			
OXA51F	5'- TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG-3'	353 Pb		
OXA51R	5'- TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG-3'			
OXA58F	5'- AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG-3'	599 Pb		
OXA58R	5'- CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC- 3'			
IMPF	5'-GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC-3'	188 Pb.	Gonzales et ál., 2014.	
IMPR	5'-CCAAACYACTASGTTATCT-3'			
VIMF	5'-GATGGTGTGGTTCGCATA-3'	390 Pb.		
VIMR	5'-CGAATGCGCAGCACCAG-3'			
GIMF	5'-TCGACACACCTTGGTCTGAA-3'	477 Pb.		
GIMR	5'-AACTTCCAACCTTGGCCATGC-3'			
SIMF	5'-TACAAGGGATTTCGGCATCG-3'	570 Pb.		
SIMR	5'-TAATGGCCTGTTCCCATGTG-3'			
SPMF	5'-AAAATCTGGGTACGCAAACG-3'	271 Pb.		
SPMR	5'-ACATTATCCGCTGAAACAGG-3'			
NDMF	5' AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC 3'	512 Pb		Pasteran et ál., 2012.
NDMR	5' GGC GTA GTG CTC AGT GTC 3'			

Se realizó mediante PCR convencional para la determinación de carbapenemasas clase B y clase D, en la mezcla se utilizó 2 μ L de ADN, Buffer 10X (5 μ L), dNTP's mix 40 mM (2,5 μ L), Taq Polimerasa 5U/ul (0,5 μ L), Primer Forward 10uM (0,5 μ L), Primer Reverse 10uM (0,5 μ L), agua libre de nucleasas (18 μ L), para un volumen final 25 μ L, (Pasteran et ál., 2012).

Amplificación; la identificación genética de carbapenemasas tipo D, se determinó mediante PCR, y se determinaron los genes OXA-23, OXA-40, OXA-51, OXA-58, la amplificación se realizó mediante las siguientes condiciones: desnaturalización 95°C por 4 minutos, seguido de 30 ciclos desnaturalización 94°C por 25 segundos, amplificación 52°C por 40 segundos, 72°C, por 50 segundos, extensión final 72°C por 6 minutos, temperatura final 4°C (Colón et ál., 2009).

Detección de carbapenemasas clases B1; también conocidas como metalo β -lactamasas (MBL), mediante PCR multiplex, se utilizó el siguiente programa de amplificación: Desnaturalización a 94 °C por 5 minutos; 36 ciclos desnaturalización a 94°C por 30 segundos; hibridación a 52°C por 40 segundos; amplificación 72°C por 50 segundos y una extensión final de 72 °C por 5 minutos (Escalante et ál., 2013). Ver tabla 1.

Determinación de New Delhi (NDM), Amplificación se utilizó el siguiente programa, desnaturalización 94°C, por 5 minutos, seguido de 35 ciclos, 94°C por 30seg, hibridación 50°C por 30seg, amplificación 72°C por 60seg, extensión final 72°C por 10 min, final 4°C. La amplificación se realizó en un MásterCycler, Marca Eppendorf, Modelo número 5341, (Pasteran et ál., 2012). Ver tabla 1.

Electroforesis; El producto de PCR fue evaluado en un gel de agarosa al 2% con 0.5 µg/mL de bromuro de etidio, la electroforesis se corrió a 120 voltios por 60 minutos las bandas de ADN de los diferentes genotipos fueron visualizadas en una cámara con luz ultravioleta y fotografiada. Se evaluaron los pesos de las bandas con los controles positivos utilizados (Colón et ál., 2009). Ver anexo figura 1 y 2 de electroforesis.

RESULTADOS

El universo estuvo comprendido por 16 cepas de *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos Imipenem y Meropenem, durante el periodo de estudio, en la caracterización genotípicas se demostró diversidad de genes, el 100% de las cepas portaron OXA51, 87.5% portaban genes OXA40 pero combinado con OXA51, el 13% presentaron una combinación de genes NDM con OXA51, el 6% de las cepas presentaron genes VIM, GIM en combinación OXA40 y OXA51, todas las cepas en estudio de *A. baumannii*, presentaron multiresistencia, pero el 100% fueron sensible a colistina ver gráfico 1.

DISCUSIÓN

A. baumannii, tiene resistencia a diferentes fármacos, debido a la diversidad de mecanismos de resistencia como: AMP-C, estos hidrolizan a los Aminopenicilinas, también hidrolizan a los β-lactámicos y muy eficientemente a Cefepime, igualmente posee Serino carbapenemasas clase D, estos hidrolizan muy eficientemente a los carbapenémicos (Múnera et ál., 2014). En la tabla 4, se puede observar la diversidad de genes que están portando las cepas de *A. baumannii*, este hallazgo es importante porque estamos encontrando genes MBL, que son casi exclusivo de las enterobacterias, al estar compartiendo estos genes, lo convierte en un microorganismo altamente peligroso por su multiresistencia y pudiendo causar brote en diferentes ambientes hospitalarios, cabe señalar que también están portando genes New Delhi, en Nicaragua este sería el primer estudio de caracterización de *A. baumannii*, El gen OXA51, es cromosómico, este tiene la característica de ser poco compartido, las cepas portan en un 100%, el OXA40, solo lo portaban en un 87.5%, este se trasmite mediante plásmidos pudiendo ser compartido por microorganismos muy cercanos a ellos o compartir con las enterobacterias, dos cepas presentaron una combinación de OXA51 y NDM, para un 13%, una de las cepas presentó una combinación de genes MBL como son VIM, GIM, con OXA40 y OXA51, hay que seguir monitoreando este patógeno, por el comportamiento de las características genéticas encontradas (Pillonetto et ál., 2013) . Los genes que codifican para carbapenemasas clase D, ya han sido estudiadas en países como Colombia, Bolivia, pero en Nicaragua constituye el primer estudio en este tipo de genes y con un abordaje más amplio en la caracterización de genes MBL y NDM (Escalante et ál., 2013) (Oliver et ál., 2010).

TABLA 2

Número	Sala de donde fue aislado el microorganismo	MBL (blaIMP, blaVIM, blaGIM, blaSIM, blaSPM) & NDM	OXA (PCR multiplex 23, 40,51,58)
1	Cirugía	VIM, GIM	OXA 40, OXA 51
2	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
3	UCI-neonato	NNT	OXA 40, OXA 51
4	UCI-neonato	NDM	OXA 51
5	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
6	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
7	Ginecología	NDT	OXA 40, OXA 51
8	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
9	Cirugía	NDT	OXA 40, OXA 51
10	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
11	Cirugía	NDT	OXA 40, OXA 51
12	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
13	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51
14	UCI-neonato	NDT	OXA 40, OXA 51
15	UCI-adultos	NDM	OXA 51
16	UCI-adultos	NDT	OXA 40, OXA 51

NDT. No detectados.

UCI Unidad de Cuidados Intensivos.

Según el perfil de resistencia en *A. baumannii*, presentan resistencia, casi a todos los antibióticos analizados, teniendo sensibilidad a colistina en 100% y tigeciclina en un 93%, siendo las alternativas farmacológicas, el comportamiento versátil de adquirir genes por transferencia horizontal, abre la posibilidad de presentar resistencia a corto plazo a Colistina y esto sería muy alarmante, debido que esta es la alternativa farmacología aunque no muy segura como reportan algunos investigadores por las reacciones adversas que este pueda generar, pero es la alternativa de tratamiento, es importante destacar que la multiresistencia se debe a las combinaciones de genes, VIM, GIM, NDM, OXA40, OXA51, cabe señalar que la hidrólisis de los carbapenémicos, se deba casi exclusivamente al gen OXA51, pero siendo aún más potenciado por los demás genes (Colón et ál., 2009).

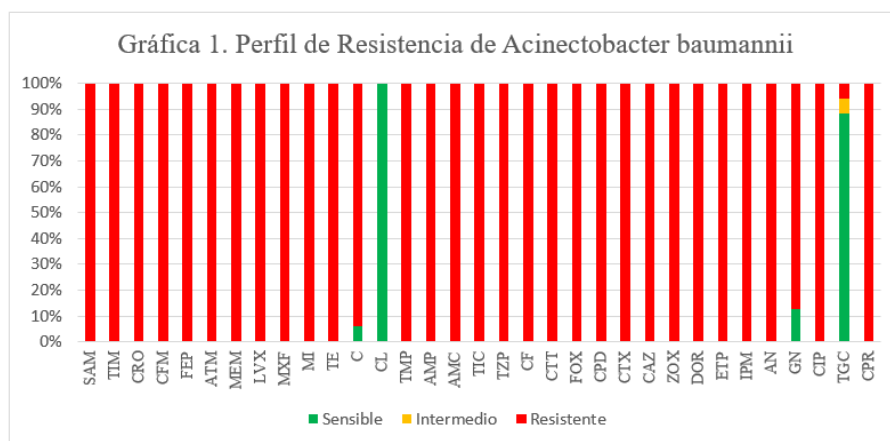


GRÁFICO 1.
Perfil de Resistencia de Acinetobacter baumannii

CONFLICTO DE INTERÉS Y AGRADECIMIENTO.

Los autores declaran no tener conflicto alguno y agradecemos por la colaboración en el estudio al Ministerio de Salud de Nicaragua y al personal del Hospital Alemán nicaragüense.

FINANCIAMIENTO

Este estudio se realizó con el Fondo para Proyectos de Investigación (FPI) de la UNAN-Managua, dirigido por el Vicerrectorado de Investigación, Posgrado y Extensión Universitaria a través de la Dirección de Investigación.

CONCLUSIONES

La multiresistencia en *A. baumannii* a carbapenémicos se debe al blaOXA51, gen intrínseco y a las combinaciones de genes VIM, GIM, NDM y OXA40, aumentando la capacidad hidrolítica a estos antibióticos, estas combinaciones genéticas conducirán a una alta prevalencia en infecciones intrahospitalaria si no se controla los factores asociados.

ANEXOS

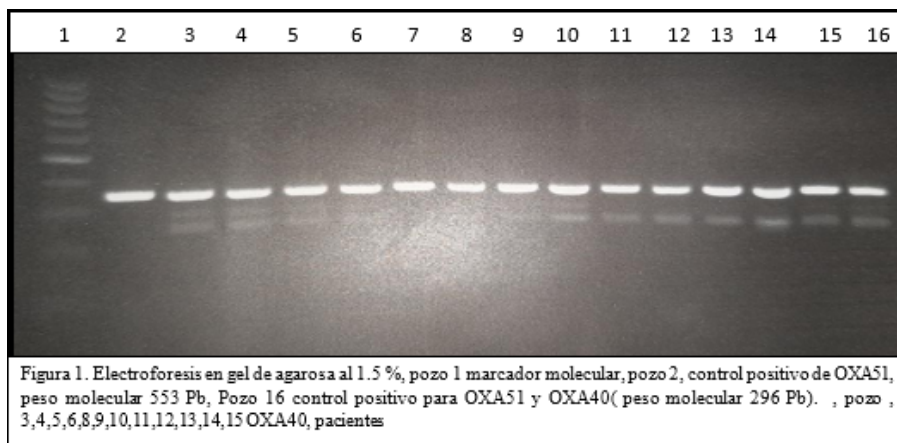


FIGURA 1

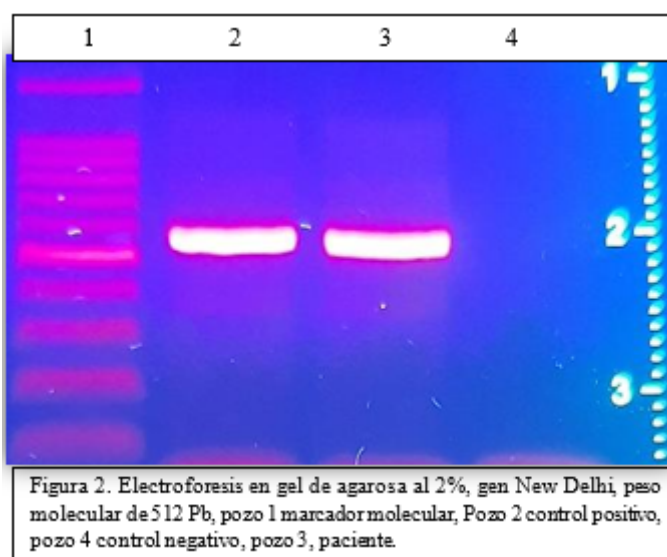


FIGURA 2

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos por la colaboración en el estudio al Ministerio de Salud de Nicaragua y al personal del Hospital Alemán nicaragüense.

BIBLIOGRAFÍA

- (CLSI), C. a. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30 th ed. supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute .*
- Andrés Opazo C., S. M. (2009). Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. *Rev Chil Infect* 2009, 26 (6): 499-503.
- Arbizù Medina, O. (2019). Carbapenemase en *Pseudomonas aeruginosa* en los hospitales de Managua, Nicaragua. *Torreón Universitario*. doi:<https://doi.org/10.5377/torreon.v8i21.8851>

- Elena Fernández Colón; (2009). Determinación de carbapenemasas y su relación con estructuras genéticas en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* de hospitales de la ciudad de Cochabamba. *BIOFARBO*, 30-38.
- Gonzales-Escalante1, E. (2013). METALO- β -LACTAMASAS EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Pseudomonas aeruginosa* EN LIMA, PERÚ. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 30(2):241-45.
- Marcelo Pillonetto, L. A.-A. (2013). First Report of NDM-1-Producing *Acinetobacter baumannii* Sequence Type 25 in Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. doi:doi:10.1128/AAC.03444-14
- María José Fresnadillo-Martínez, E. G.-M.-S.-d.-E.-S.-S. (2015). Prevención de un brote de *Acinetobacter baumannii* en una unidad de cuidados intensivos: eficacia de diversos métodos matemáticos. *Rev Esp Quimioter*.
- Oliver, C. J. (2010). carbapenemasas en especies del género *Pseudomonas*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.
- P., A. D. (2005). Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. *Rev Chil Infect*, 22 (4): 298-320.
- Pasteran F., A. E. (2012). Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Guatemala. . *Journal of Antimicrobial*, 67:1795-1797.
- Samuel Vilchez, D. R. (2009). Prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from Leo #n, Nicaragua. *Journal of Medical Microbiology*, 58,630–637. doi:10.1099/jmm.0.007369-0
- Vanegas-Múnera JM, R.-V. G.-Q. (2014). *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *Rev CES Med*, 28(2): 233-246.