UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

TESIS

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* CARBAPENEMASAS RESISTENTE, AISLADOS DE PACIENTES DEL HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO, 2023

PRESENTADA POR:
Br. TRINIDAD YESENIA GOMEZ SANDOVAL

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO

ASESORA:
Mgt. ELSA GLADYS AGUILAR ANCORI

COASESOR:
Dr. VICTOR SUCÑER CRUZ

CUSCO - PERÚ

2026

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, la **Asesora Mgt. Elsa Gladys Aguilar Ancori,** quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: **CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* CARBAPENEMASAS RESISTENTE, AISLADOS DE PACIENTES DEL HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO, 2023**

Presentada por: **TRINIDAD YESENIA GOMEZ SANDOVAL** DNI N° **71734981**

Para optar el título Profesional Académico de **BIOLOGO**

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por dos veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del ***Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC*** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de **6%.**

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 21 de setiembre de 2026

.....

Mgt. Elsa Gladys Aguilar Ancori

DNI 23859957

ORCID: 0000-0002-8942-8868

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud:
   OID: 27259:627666387

Trinidad Yesenia Gomez Sandoval

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS DE Acinetobacter baumannii CARBAPENEMASAS RESISTENTE,...

Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::27259:627666387

Fecha de entrega
21 sep 2026, 2:19 p.m. GMT-5

Fecha de descarga
21 sep 2026, 2:22 p.m. GMT-5

Nombre del archivo
CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS DE Acinetobacter baumannii CARBAPEN....pdf

Tamaño del archivo
3.0 MB

105 páginas

22.472 palabras

134.183 caracteres

6% Similitud general

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 12 palabras)

Fuentes principales

3% Fuentes de Internet
1% Publicaciones
5% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

DEDICATORIA

A mi Dios Jehová por dotarme de vida y fortalezas para recorrer este camino. A mis queridos padres Ruben Gomez Huillca y Lady Sandoval Llactahuamani por su apoyo incondicional, hermanos Dalia, Jorge, Jhoselin y Jimena por su acompañamiento en el proceso de desarrollar este proyecto. A mis estimados asesores por su guía y tolerancia en el desarrollo de este proyecto.

Trinidad Yesenia Gómez Sandoval

AGRADECIMIENTO

A mi Dios Jehová, por brindarme fortaleza, paciencia, voluntad y perseverancia necesarias para alcanzar mis metas.

A mi familia, por su constante apoyo, confianza y comprensión a lo largo de este proceso. Gracias por ser el motor que me impulsa a seguir superándome y creciendo profesionalmente.

A mi estimada asesora, la Mgt. Elsa Gladys Aguilar Ancori, por su rigurosidad profesional, su paciencia infinita y por la confianza depositada en mí durante el desarrollo de este trabajo.

A mi coasesor, el Dr. Victor Sucñer Cruz por las facilidades brindadas en el proceso de recolección de cepas. Al igual que al personal del área de microbiología del Hospital Regional del Cusco, por compartir sus conocimientos y brindarme facilidades para el desarrollo de dicho proyecto.

A la Biólogo, MSc. Marishani Marin Carrasco por sus valiosos consejos, motivación, disponibilidad y experiencias fundamentales para el desarrollo de esta tesis.

A los docentes de la escuela profesional de Biología, por impartir sus enseñanzas y por los momentos compartidos.

A mis amigos y compañeros del laboratorio Institucional de Investigación en Microbiología e Inmunología (LIMI), por su colaboración y apoyo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN ..... **i**
INTRODUCCIÓN ..... **ii**
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA ..... **iv**
JUSTIFICACIÓN ..... **vi**
OBJETIVOS ..... **viii**

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO **1**
1.1. Antecedentes de la investigación 1
1.1.1. Antecedentes internacionales 1
1.1.2. Antecedentes nacionales 3
1.1.3. Antecedentes locales 5
1.2. Generalidades 6
1.2.1. Aspectos generales del género *Acinetobacter* 6
1.2.2. Posición taxonómica 8
1.2.3. Características bioquímicas y metabólicas de *Acinetobacter baumannii* 9
1.3. Importancia clínica 9
1.3.1. Infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii* 10
1.4. Antibióticos carbapenémicos 10
1.4.1. Imipenem 12
1.4.2. Meropenem 13
1.4.3. Ertapenem 13
1.4.4. Doripenem 14
1.4.5. Mecanismo de acción de los β-lactámicos 14
1.5. Resistencia bacteriana 16
1.6. Mecanismos de resistencia 18
1.6.1. Enzimas Carbapenemasas 19
1.7. Microsatélites de arrastre 24

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS **25**
2.1. Área de estudio 25
2.2. Materiales 27
2.2.1. Material biológico 27
2.2.2. Material de laboratorio 28
2.3. Métodos 32
2.3.1. Tipo de investigación 32
2.3.2. Recolección, aislamiento y conservación de cepas de *Acinetobacter spp.* 32
2.3.3. Criopreservación de cepas de *Acinetobacter spp.* 32

2.3.4. Identificación de cepas de *Acinetobacter spp.* 33
2.3.4.1. Pruebas bioquímicas 33
2.3.5. Determinación fenotípica de carbapenemasas 36
2.3.5.1. Método de Inactivación de Carbapenémicos Optimizado (oCIM) para *Acinetobacter baumannii* 36
2.3.5.2. Método de inhibición de los Carbapenemicos rápido (rCIM-A) para *Acinetobacter baumannii* 38
2.3.5.3. Método modificado de inactivación de Carbapenémicos con el agregado de EDTA (eCIM) 40
2.3.6. Caracterización genotípica de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos mediante PCR convencional 41
2.3.6.1. Extracción de ADN mediante el método de Boiling 41
2.3.7. Aspectos éticos 45

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN 46
3.1. Identificación de genes de Carbapenemasas en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a Carbapenémicos 46
3.2. Caracterización fenotípica de *Acinetobacter baumannii* resistente a Carbapenémicos 50
3.2.1. Método optimizado de inactivación de Carbapenémicos (oCIM) para *Acinetobacter baumannii* 50
3.2.2. Método modificado de inactivación de Carbapenemicos con el agregado de EDTA (eCIM) 53
3.2.3. Método de inhibición de los Carbapenemicos rápido (rCIM-A) 56
3.3. Identificar por técnicas moleculares (PCR) la presencia de los genes bla_{OXA-23}, bla_{NDM} y bla_{IMP} en *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos 59
3.3.1. Detección genotípica de Metalobetalactamasas 59
3.3.2. Detección genotípica de oxacilinasa 61

CONCLUSIONES 65
RECOMENDACIONES 66
BIBLIOGRAFÍA 67
ANEXOS 82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Clasificación de β-lactamasa presentes en Acinetobacter baumannii* *22*

Tabla 2. *Características bioquímicas del complejo Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* *35*

Tabla 3. *Master mix para la PCR de los genes carbapenemasas en cepas de Acinetobacter spp.* *43*

Tabla 4. *Condiciones de amplificación para la PCR de genes carbapenemasas en cepas de Acinetobacter baumannii* *44*

Tabla 5. *Condiciones de corrida de electroforesis* *45*

Tabla 6. *Determinación de carbapenemasas por oCIM en Acinetobacter baumannii* *51*

Tabla 7. *Resultados fenotípicos de carbapenemasa de tipo de MBL en Acinetobacter baumannii* *54*

Tabla 8. *Resultados del rCIM-A, aplicados a las cepas de Acinetobacter baumannii* *56*

Tabla 9. *Detección molecular por PCR convencional del gen bla_{NDM} y bla_{IMP} en cepas de Acinetobacter baumannii* *59*

Tabla 10. *Presencia del gen blaOXA-23 en cepas de Acinetobacter baumannii provenientes del Hospital Regional del Cusco* *61*

Tabla 11. *Resultados de las pruebas de la diferenciación bioquímica de las 50 cepas de Acinetobacter spp* *83*

Tabla 12. *Resultados de las pruebas fenotípicas y genotípicas en Acinetobacter baumannii carbapenemasas resistentes* *87*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Representación esquemática de las estructuras de carbapenémicos* *12*
Figura 2. *Etapas de formación de la pared celular bacteriana* *15*
Figura 3. *Mecanismo de acción de los β-lactámicos* *15*
Figura 4. *Estructura del gen bla_{NDM} en Acinetobacter baumannii* *20*
Figura 5. *Estructura del gen bla_{OXA-23} y diseminación de plásmido conjugativo que contiene el transposón Tn6681 en Acinetobacter baumannii* *22*
Figura 6. *Ubicación del Hospital Regional del Cusco* *26*
Figura 7. *Procedimiento del Método de Inactivación de Carbapenémicos Optimizado (oCIM)* *37*
Figura 8. *Método de Inhibición de los Carbapenemicos rápido (rCIM-A)* *39*
Figura 9. *Método Modificado de Inactivación de Carbapenémicos con agregado de EDTA* *41*
Figura 10. *Protocolo de extracción de ADN plasmídico en cepas de Acinetobacter baumannii* *42*
Figura 11. *Cepa de Acinetobacter baumannii ATCC 19606 en CHROMagar ™, pruebas bioquímicas* *47*
Figura 12. *Crecimiento bacteriano, pruebas bioquímicas y catalasa de AB6* *48*
Figura 13. *Crecimiento de Acinetobacter baumannii a una temperatura de 44°C* *49*
Figura 14. *Método de oCIM, en las cepas control positivo y negativo* *51*
Figura 15. *Método de oCIM, cepas productoras de carbapenemasas sus zonas de inhibición en Acinetobacter baumannii* *52*
Figura 16. *Prueba de eCIM, control positivo (K. pneumoniae BAA 2146)* *54*
Figura 17. *Prueba de eCIM, Acinetobacter baumannii productora de carbapenemasa de tipo MBL* *55*
Figura 18. *Prueba de rCIM, control positivo K. pneumoniae BAA 2146* *57*
Figura 19. *Prueba de rCIM, control negativo Acinetobacter baumannii ATCC 19606* *57*
Figura 20. *Prueba de rCIM, resistencia de las cepas de Acinetobacter baumannii al Meropenem, Imipenem y Ertapenem* *58*
Figura 21. *Electroforesis de PCR para el gen bla_{NDM}* *60*
Figura 22. *Electroforesis de PCR para el gen bla_{IMP}* *60*
Figura 23. *Electroforesis de PCR para el gen bla_{OXA-23}* *61*
Figura 24. *Presencia de genes oxacilinasa y metalobetalactamasas en cepas de Acinetobacter baumannii* *62*

ABREVIATURA

CDC: Centro para el Control y Prevención de Enfermedades

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

oCIM: Método optimizado de inactivación de carbapenémicos

rCIM-A: Método de inactivación de carbapenémicos rápido

eCIM: Método modificado de inactivación de carbapenémicos con el agregado de EDTA

MDR: Multirresistente

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

OMS: Organización Mundial de la Salud

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

IHME: Instituto de Métricas y Evaluación de la Salud

RESUMEN

La resistencia bacteriana constituye un problema crítico de salud pública a nivel mundial, especialmente en patógenos oportunistas como *Acinetobacter baumannii*, reconocido por su capacidad de persistir en entornos hospitalarios y adquirir múltiples mecanismos de resistencia a carbapenémicos. La limitada información regional resalta la importancia de caracterizar fenotípica y genotípicamente cepas provenientes del Hospital Regional del Cusco. Se analizaron 50 cepas proporcionadas por el Hospital Regional del Cusco a partir de muestras de orina, sangre, secreciones, aspirados, puntas de catéter y fluidos de drenaje. Estas fueron identificadas por CHROMagarTM Acinetobacter y pruebas bioquímicas, el 42 % (21/50) correspondió a *Acinetobacter baumannii* confirmado por su crecimiento a 44°C. Para la detección fenotípica de carbapenemasas se usó los métodos de oCIM y rCIM-A, el cual reveló positividad del 95,2% (20/21) de las cepas, con alta resistencia a Meropenem (100 %), Imipenem (95,2%) y Ertapenem (85,7%). Solo el 4,7% presentó metalobetalactamasas por eCIM. A nivel molecular, mediante PCR convencional, se identificaron los genes de resistencia bla_{OXA-23} en un 19,1% (4/21) y bla_{NDM} en el 4,8% (1/21), no amplifico el gen bla_{IMP}. En el contexto de la región del Cusco, el gen bla_{OXA-23} ha sido reportado previamente; sin embargo, el gen bla_{NDM} constituye un nuevo hallazgo en Cusco. Este enfoque favorece la vigilancia epidemiológica, la detección temprana de brotes, la evaluación de estrategias de control y optimización del tratamiento antimicrobiano, aportando evidencia clave para políticas de salud frente a la resistencia bacteriana.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, Carbapenemasas, Bla_{OXA-23}, Bla_{NDM}, Bla_{IMP}

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana es un desafío crítico para la salud pública global, al comprometer la eficacia de tratamientos esenciales y generar alta morbimortalidad. Según estimaciones recientes de la OMS y IHME, las infecciones causadas por bacterias MDR que provocan aproximadamente 5,2 millones de muertes al año, superando la mortalidad combinada por VIH, tuberculosis y malaria. Asimismo, se estima que 1 de cada 5 muertes por infecciones en niños menores de 5 años está relacionada con estas bacterias. De no implementarse medidas efectivas, se proyecta que para 2050 las muertes podrían superar los 10 millones anuales, con un impacto económico global de hasta 100 billones de dólares (OMS, 2025; Naghavi et al., 2024).

Acinetobacter baumannii es un patógeno oportunista de gran relevancia clínica, conocida por su maquinaria genética versátil, que le permite adquirir mecanismos de resistencia y sobrevivir en entornos hospitalarios por su resistencia a la desecación y desinfección (Gedefie et al., 2021). Los principales mecanismos de resistencia a antimicrobianos son: las bombas de expulsión, defectos de permeabilidad en porinas de la membrana, la modificación de sitios target y producción de β-lactamasas (Abdi et al., 2020; Gedefie et al., 2021; Zhou et al., 2023). Esta bacteria es frecuentemente aislada de muestras clínicas como sangre, orina y secreciones respiratorias en el entorno hospitalario (Alkasaby & Sayed, 2017).

Los carbapenémicos son antibióticos β-lactámicos de última generación, utilizados para tratar infecciones bacterianas graves y resistentes a otros antibióticos. No obstante, su eficacia se ve amenazada por la producción de carbapenemasas, enzimas capaces de hidrolizar estos antibióticos, lo que constituyen un problema creciente a nivel mundial.

En el Perú, la resistencia a carbapenémicos en *Acinetobacter baumannii* representa un problema de salud pública, con características moleculares diversas (Mayta et al., 2025).

En la región de Cusco, la vigilancia ha identificado de manera consistente genes de oxacilinasas tipo OXA en aislamientos clínicos, destacando $bla_{OXA\text{-}24}$ en brotes hospitalarios, y sin evidencia de bla_{NDM} en los reportes locales (Pariona et al., 2026). Estas variaciones regionales evidencian la necesidad de fortalecer la vigilancia molecular para orientar estrategias de prevención y control de infecciones (Mayta et al., 2025; Pariona et al., 2026).

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo caracterizar fenotípica y genotípicamente cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos, proporcionados por el Hospital Regional del Cusco, 2023, con el fin de contribuir a la vigilancia molecular y a la optimización de la gestión clínica de infecciones asociadas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tras la pandemia por COVID-19, la resistencia antimicrobiana (RAM) ha mostrado un incremento sostenido, evidenciando un retroceso en los avances previos en su control. Datos recientes muestran que las infecciones de origen hospitalario han incrementado en un 20% durante la pandemia, manteniéndose por encima de los niveles prepandemia (CDC, 2025b). A nivel mundial, la OMS reporto en su informe de vigilancia GLASS 2025 que 1 de cada 6 infecciones bacterianas fue resistente a antibióticos, con incrementos documentados en más del 40% de los antibióticos evaluados entre 2018 y 2023, con aumentos anuales entre 5% y 15%. Asimismo, la RAM continúa consolidándose como una crisis en Salud publica global, con al menos 1,27 millones de muertes directas y cerca de 5 millones de muertes asociadas a nivel mundial, lo que refleja su impacto creciente en los sistemas sanitarios y la urgencia de fortalecer las estrategias de vigilancia y uso racional de antimicrobianos (OMS, 2025; Murray et al. 2022).

En el Perú, la presencia de cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos ha sido confirmada a nivel nacional. Según (Mayta et al., 2025), en el marco del Programa Nacional de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana, se analizaron 771 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes de 61 hospitales en 18 regiones, identificando los genes de carbapenemasas más frecuentes: bla_{OXA-24} en 524 aislamientos (67,8 %), bla_{OXA-23} en 224 aislamientos (29,0 %), y combinaciones menores como bla_{OXA-23} + bla_{OXA-24} en 12 aislamientos (1,5 %) y bla_{NDM} + bla_{OXA-58} en 1 aislamiento (0,1 %), confirmando que las oxacilinasas tipo OXA son el principal mecanismo de resistencia de *Acinetobacter baumannii* a nivel nacional. Los hallazgos (Pariona et al., 2026) evidenciaron que en hospitales de Lima, los clones predominantes ST2 portaban bla_{OXA-72}, mientras que los clones emergentes ST79 y ST1079 estaban asociados con bla_{OXA-23}, demostrando la emergencia de nuevos linajes resistentes y la alta diversidad clonal de *Acinetobacter baumannii*. Así mismo, los reportes del INS 2024-2025

confirman además la circulación de cepas CRAB en distintos establecimientos de salud, reforzando la importancia de la vigilancia molecular a nivel nacional.

Sin embargo, en la región Cusco existe una limitada evidencia sobre caracterización fenotípica y genotípica de *Acinetobacter baumannii*, particularmente en relación con los mecanismos moleculares de resistencia y su correlación con los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana. Esta falta de información dificulta la toma de decisiones terapéuticas basadas en evidencia local y limita el diseño de estrategias efectivas de control y vigilancia.

Por lo tanto, se formula la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son las características fenotípica y genotípica de las cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos, proporcionados por el Hospital Regional del Cusco, 2023?

JUSTIFICACIÓN

La resistencia de *Acinetobacter baumannii* a carbapenémicos representa un desafío significativo para la salud pública. Según la Lista de Patógenos Bacterianos Prioritarios (BPPL) 2024 de la Organización Mundial de la Salud (OMS), esta bacteria se clasifica como de prioridad crítica. De acuerdo con los datos más recientes (CDC., 2025), el *Acinetobacter baumannii* carbapenemasas resistente continúa siendo un patógeno prioritario en Estados Unidos, con altas tasas de resistencia y un impacto clínico relevante. Las tasas globales de resistencia son alarmantes: 36-46 % en EE. UU., y aún mayores en Asia y Latinoamérica (66-86 %). Además, muchos aislados de CRAB albergan carbapenemasas, siendo bla_{OXA-23} la más reportada (Blosser, 2024).

Acinetobacter baumannii resistente a carbapenémicos está implicado en infecciones nosocomiales graves en unidades de cuidados intensivos (UCI), asociadas a mortalidad superior al 20 % y más del 40 % en casos de bacteriemia (Boutzoukas & Doi, 2025). A nivel global, la OMS y los Estados Miembros han establecido un Plan de Acción Mundial contra la Resistencia a los Antimicrobianos 2030, orientado a reducir la mortalidad, fortalecer la vigilancia y fomentar la investigación bajo un enfoque multisectorial “one health” (OMS, 2025). En este marco, el Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos de Perú, aprobado mediante Decreto Supremo N° 010-2019-SA, se encuentra alineado con estas directrices globales, promoviendo la vigilancia integrada, la investigación científica y la implementación de acciones multisectoriales para el control de la resistencia a los antimicrobianos (MINSA, 2019) (INS, 2023).

A nivel regional, la importancia de esta problemática se hizo evidente tras brote de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos en el Hospital Antonio Lorena, donde se identificó el mecanismo bla_{OXA-24}. La detección oportuna del brote, la remisión de cepas al Instituto Nacional de Salud y la aplicación inmediata de medidas según la NTS N°203-

MINSA/CDC-2023 demostraron tanto la gravedad del riesgo como la necesidad de contar con información molecular actualizada para fortalecer la vigilancia microbiológica y las acciones preventivas en establecimientos de salud. Aunque el brote fue controlado, su aparición confirma la urgencia de mejorar la identificación genotípica y el monitoreo continuo en hospitales de la región.

Los resultados de este estudio permitirán fortalecer la vigilancia hospitalaria mediante la identificación precisa de los mecanismos de resistencia presentes y la caracterización de carbapenemasas en *Acinetobacter baumannii*. Esto apoyará la toma de decisiones clínicas y administrativas, la planificación de estrategias preventivas y el refuerzo de medidas de control de infecciones, como el aislamiento por contacto, la higiene de manos y la vigilancia activa en áreas críticas. De manera complementaria, se garantizará la transferencia de resultados al hospital mediante informes técnicos y reuniones de retroalimentación con los servicios involucrados, asegurando que la información generada se pueda aplicar de manera práctica para mejorar la prevención, vigilancia y control de infecciones hospitalarias (Mayta et al., 2025).

Al generar datos locales disponibles para el Cusco, la investigación contribuirá a orientar decisiones oportunas y a consolidar una base de conocimiento que podrá ser utilizada para guiar capacitaciones futuras y fortalecer las prácticas institucionales de vigilancia y prevención de la resistencia a los carbapenémicos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar fenotípica y genotípicamente cepas de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos, proporcionados por el Hospital Regional del Cusco, 2023.

Objetivos específicos

- Identificar las cepas de *Acinetobacter* por métodos microbiológicos convencionales.
- Determinar fenotípicamente las cepas de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos mediante los métodos oCIM, rCIM-A y eCIM con EDTA.
- Determinar por técnicas moleculares (PCR) la presencia de los genes bla_{OXA-23}, bla_{NDM} y bla_{IMP} en *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Indicadores	Instrumento de medida
Caracterización fenotípica de *Acinetobacter baumannii*	Cualitativa Nominal	Proceso de identificar y describir características observables de *Acinetobacter baumannii,* que incluye aspectos bioquímicos y de resistencia a los antibióticos.	Sensibilidad	El caliper y Manual del CLS
Caracterización genotípica de *Acinetobacter baumannii*	Cualitativa Nominal	*Acinetobacter baumannii* adquiere genes de resistencia que tienen información para la producción de proteínas (enzimas) que hacen perder la eficacia del antibiótico, confiriendo resistencia al microorganismo frente al antibiótico	Presencia de la banda Ausencia de la banda	Electroforesis

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1. Antecedentes internacionales

Rojas et al. (2026) Realizaron una revisión sistemática y metaanálisis con datos de países bajos de América latina y el Caribe, incluyendo Perú, Brasil, Argentina, Ecuador, Colombia entre otros, en el contexto de unidades de cuidados intensivos (UCI). El estudio incluyó 25 investigaciones publicadas entre 2015 y 2025, encontrando una prevalencia global de resistencia a carbapenémicos de 28,88%. A nivel de especies, *Acinetobacter baumannii* presentó la mayor prevalencia (72,58%), especialmente en América del sur, evidenciando su alta circulación en entornos hospitalarios críticos. Asimismo, se identificó el predominio de carbapenemas tipo bla_{OXA-23} en la región; se reportó presencia en mayoría de aislados de UCI en Brasil (hasta 15/16 y 72%) y en Paraguay (100%), asociados a clones internacionales como IC2 (ST2) e IC5 (ST79). También se detectaron otros genes relevantes como bla_{OXA-24}, $bla_{IMP,}$ $bla_{OXA-48-like}$ y bla_{VIM-1}, incluso en combinaciones, lo que evidencia una alta diversidad genética y capacidad de diseminación. Desde el enfoque fenotípico, se reportaron altos niveles de resistencia en pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, confirmando la limitada eficiencia de los carbapenémicos frente a este patógeno. Este antecedente muestra que *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos es principal patógeno en UCI, lo que respalda la necesidad de fortalecer la vigilancia y control de resistencia antimicrobiana.

Datta et al. (2025) En India, del hospital universitario terciario del oeste, se desarrolló el estudio observacional y transversal que evaluó la diversidad genética de 36 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos, productores de metalo-β-lactamasas (MBL) y clasificados como extremadamente resistente a fármacos (XDR). La identificación fenotípica se realizó mediante métodos microbiológicos del sistema automatizado VITEK 2.

Todos los aislamientos resultaron positivos para el gen intrínseco *bla*$_{OXA-51}$, y se identificaron genes adquiridos de carbapenemasas en el 97,22% de los que predominó el gen *bla*$_{OXA-23}$ (97,22%), *bla*$_{VIM}$ (77,78%), *bla*$_{NDM}$ (50%) y *bla*$_{IMP}$ (2,78%). Además, en el 91,67% de los 33/39 aislados se detectó la coexistencia de genes de oxacilinasa y MBL, lo que sugiere una alta complejidad genotípica en la resistencia a carbapenémicos. Respecto a la formación de biopelículas, el 83,33% de los aislados mostró esta capacidad, aunque no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de genes de resistencia y la formación de biopelículas. En términos de susceptibilidad antimicrobiana, se observó sensibilidad del 100% a colistina y del 25% a minociclina.

Pillonetto et al. (2025), Evaluaron la prevalencia y distribución de bacterias Gram negativas productoras de carbapenemasas en América Latina y el Caribe mediante un estudio observacional retrospectivo (2015 - 2020). El análisis incluyo América Latina y el Caribe. Abarcó 12 países durante 2015 al 2020 en el cual analizaron un total de 58,909 aislamientos bacteriano mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), enfocándose en microorganismos como Enterobacteriales, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudamona aeruginosa*. En el complejo *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos, evidenció alta carga de determinantes genéticos de resistencia, con predominio casi absoluto de β-lactamasas tipo oxacilinas; aproximadamente el 90% de los aislamientos portaron el gen *bla*$_{OXA-23}$, consolidándose como la carbapenemasa adquirida más prevalente y con mayores tasas de detección en Sudamérica (Brasil, Paraguay, Perú, Ecuador y Colombia), en comparación con centro América.

Santajit et al. (2023) En Tailandia, identificaron 995 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes del Hospital Maharaj Nakhon Si Thammarat. Determinaron la susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco y por ensayos de (PCR) determinaron la presencia de los genes *bla*$_{OXA51}$ en un 100% (172 aislamientos), *bla*$_{OXA23}$ en 93,60% (161

aislamientos), *bla$_{VIM}$* en 79,65% (137 aislamientos), *bla$_{NDM}$* en 12,21% (21 aislamientos) y *bla$_{IMP}$* en 0,58% (01 aislamiento). Además de la presencia de genes relacionados con biopelículas en genes pga B (13,39%), csu E (11,05%), una coexistencia de 65, 70% y una ausencia de genes en las cepas de 9,30%. Utilizaron el gen intrínseco *bla$_{OXA51}$* como prueba de identidad para *Acinetobacter baumannii*. Según los resultados obtenidos el predominio de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos y productores de biopelículas siendo un factor de riesgo. El estudio caracterizó dichos factores que podrían contribuir a controlar la selección y difusión del fenotipo de *Acinetobacter baumannii* en hospitales mejorando la calidad de la atención.

1.1.2. Antecedentes nacionales

Pariona et al. (2026) Realizaron un estudio en el Hospital Nacional Dos de Mayo, en Lima, Perú, con el objetivo de caracterizar genéticamente aislamientos de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes y determinar su estructura clonal y mecanismos de resistencia a carbapenémicos. Se desarrolló un estudio descriptivo en el que analizaron 19 aislamientos clínicos provenientes de pacientes de pacientes de UCI entre 2023 y 2024, mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y secuenciación del genoma completo complementado con análisis bioinformático para identificar tipos de secuencias, genes de resistencia y relaciones filogenéticas. Los resultados evidenciaron que todos los aislamientos presentaron un perfil extensamente resistente (XDR), con sensibilidad únicamente a colistina, y predominio del clon ST2 portador del gen *bla$_{OXA-72}$* asociado a resistencia a carbapenémicos. Asimismo, se identificó la emergencia de los clones ST79 y ST1079 portadores del gen *bla$_{OXA-23}$*, que sugiere la aparición de nuevos linajes resistentes en el contexto hospitalario peruano. Los autores concluyeron que existe una alta diversidad clonal y diseminación de cepas resistentes a carbapenémicos, resaltando la necesidad de fortalecer la vigilancia genómica y las estrategias de control de infecciones en el país.

Pons et al. (2025) Realizaron un estudio en el Hospital de tercer nivel en Lima, Perú, con el objetivo de caracterizar aislamientos de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos durante la pandemia de COVID-19. Se desarrolló un estudio descriptivo en que se analizaron 40 aislamientos clínicos mediante identificación automatizada (VITEK-2), pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y detección de genes de resistencia mediante PCR, complementado con electroforesis en gel de campo pulsado y secuencia del genoma completo. Los resultados evidenciaron que todas las cepas presentaron un perfil exactamente resistente, con alta resistencia a múltiples antibióticos y predominio del gen $bla_{OXA\text{-}24\ like}$ en un 90% de los aislamientos, seguido de $bla_{OXA\text{-}23\ like}$ en un 10%. Asimismo, se identificó un clon predominante genéticos de resistencia y relación clonal entre aislamientos. Los autores concluyeron que existe una alta diseminación de cepas altamente resistentes y clonalmente relacionadas en el ámbito hospitalario, lo que representa un importante problema de salud pública y resalta la necesidad de fortalecer la vigilancia molecular de este patógeno.

Mayta et al. (2025) Realizaron un estudio retrospectivo y observacional en el marco del Programa Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos en Perú, con el objetivo de identificar y caracterizar genes de carbapenemasas en bacterias críticas durante la pandemia de COVID-19. Se analizaron 2049 aislamientos resistentes a carbapenémicos provenientes de 61 hospitales en 18 regiones del país (72%), incluyendo 771 aislamientos de *Acinetobacter baumannii*. Los resultados evidenciaron una alta frecuencia global de genes de carbapenemasas (84,6%). En *Acinetobacter baumannii* predominó el gen $bla_{OXA\text{-}24}$ (67,8%), seguido de $bla_{OXA\text{-}23}$ (29%), confirmando el predominio de oxacilinasas como principal mecanismo de resistencia en esta especie en el Perú. Asimismo, se identificaron combinaciones genéticas en menor proporción, como $bla_{OXA\text{-}23} + bla_{OXA\text{-}24}$ (1,5%), $bla_{NDM} + bla_{OXA\text{-}24}$ (0,3%) y $bla_{NDM} + bla_{OXA\text{-}58}$ (0,1%), lo que evidencia la emergencia de perfiles genotípicos más complejos. A diferencia de otros microorganismos, no se detectó bla_{KPC} ni genes tipo VIM en

Acinetobacter baumannii, mientras que *bla$_{NDM}$* tuvo una presencia limitada en esta especie. Estos hallazgos confirman la diversidad de mecanismos de resistencia a nivel nacional y la predominancia de carbapenemasas tipo OXA en *Acinetobacter baumannii*. Este estudio es relevante para el contexto de Cusco, ya que evidencia que, a nivel nacional, los genes más frecuentes en *Acinetobacter baumannii* son *bla$_{OXA-23}$* y *bla $_{OXA-24}$*, mientras que la detección de *bla$_{NDM}$* y la ausencia de algunos genes en estudios locales sugieren variaciones regionales en la distribución de estos determinantes, resaltando la importancia de la vigilancia molecular continua.

1.1.3. Antecedentes locales

Cruz y Macedo (2022) En Cusco, mediante un estudio retrospectivo estudiaron factores asociados a la susceptibilidad antimicrobiana frente al uso de antibióticos de reserva en pacientes con neumonía del Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco ESSALUD, en 231 microorganismos con las siguientes frecuencias: *Acinetobacter baumannii* (45,9%), *P. aeruginosa* (18,6%) y *K. pneumoniae* (38,5 %) de los cuales se identificó *Acinetobacter baumannii* resistentes a Ampicilina/Sulbactam (90,24 %), Cefepima (95,12 %) e Imipenem (95,12 %), Meropenem (94,4 %), Piperacilina / Tazobactam (95,12 %) y sensibilidad a las Polimixinas. En cuanto al factor de susceptibilidad antimicrobiana, se encontró asociación estadísticamente significativa ($p<0,05$) para tratamiento antibiótico previo y hospitalización prolongada, susceptibilidad al uso de ventilador mecánico.

Canaza (2018) En Cusco, elaboró el Mapa Microbiológico de los pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco EsSalud - Cusco durante octubre del 2016 a octubre del 2017, con el fin de conocer la prevalencia de resistencia y sensibilidad de microorganismos frente a los antimicrobianos. Durante el estudio se recopiló la información de 924 muestras que se procesaron con el sistema estadístico SPSS v.22. Los aislamientos con mayor prevalencia provenían del género masculino y del grupo etario de pacientes mayores de 60 años. Del cual

el 55.5% fueron bacterias Gram negativos y un 44.5% de Gram positivos. La distribución de microorganismos por el tipo de muestra en un 33.7% provenientes de esputo, 19.9% de urocultivos, 17.9% de hemocultivos, 11.5% de secreción de herida, 9.1% de aspirado bronquial y 3.8% por punta de catéter. Obteniendo la mayor prevalencia en *E. coli* (25.3%) seguidamente de *S. aureus* (19.2%), *S. epidermidis* (11.1%), *Acinetobacter baumannii* (9.5%), *K. pneumoniae* (5.8%), *P. aeruginosa* (5.2%), *S. haemolyticus* (4.7%), *E. faecium* (2.8%), *E. faecalis* (2.1%), *S. pneumoniae* (1.8%), *S. hominis* (1.7%) y *E. cloacae* (1.7%).

1.2.Generalidades

1.2.1. Aspectos generales del género Acinetobacter

El género Acinetobacter fue descubierto por Beijerinck en 1911 quien lo nombró como *Micrococcus calcoaceticus*, fue aislado a partir de suelo en un medio mineral de acetato de calcio. El nombre Acinetobacter del género fue sugerido originalmente por Brisou y Prevot (1954) que proviene de 2 vocablos griegos akinetos, es decir, inmóvil (Almasaudi, 2016).

Son un grupo complejo de bacterias saprófitas de cocobacilos Gram negativos no fermentadores (BGNF), pertenecientes a la familia Moraxellaceae, cuenta actualmente con 82 especies con nombres publicados y 24 especies con nombres publicados no verificados o asignados provisionalmente (Sheck et al., 2023). No formador de esporas, pleomórfico ya que es más esférica en la fase estacionaria y bacilar en la fase exponencial e inmóvil de aproximadamente 2 µm que suelen presentarse en pares o largas cadenas (Benoit et al., 2020). Siendo 20°C a 30°C su temperatura óptima de crecimiento en medios de cultivo habituales y sin requerimientos especiales (Guerrero et al., 2019), estos fueron aislados en el medio ambiente y algunas especies que destacan por su importancia clínica son fenotípicamente indistinguibles que comparten filogenéticamente un complejo (Acb). Así mismo presentan ciertas diferencias respecto a las manifestaciones clínicas, factores epidemiológicos y

resistencia a antibióticos. Pero tienden a acumular gran cantidad de mecanismos de resistencia que influyen la transferencia horizontal de genes, transformación natural, obtención de mutaciones y desplazamiento de genes intrínsecos y adquiridos (plásmidos) (Castanheira et al., 2023; Dahal et al., 2023).

- **La membrana:** En *Acinetobacter baumannii* se compone principalmente de fosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico y cardiolipina. En fase estacionaria predominan derivados como lisofosfatidiletanolaminanas, lisofosfatidilgliceroles y acil-PG. La cardiolipinas representa mayor al 10% del total de lípidos, incluye variantes como monolisocardiolipinas y di-lisocardiolipinas, cuya distribución depende del estrés ambiental (Vergoz et al., 2024). El lípido A, componente de los lipopolisacáridos, es clave en la resistencia a antibióticos como la colistina. Sus modificaciones estructurales (acilación, fosfoetanolamina, galactosamina) afectan la permeabilidad de la membrana y la virulencia. El lipopolisacárido también activa receptores Toll. Estos componentes lipídicos influyen directamente en la persistencia antibiótica de *Acinetobacter baumannii* (Vergoz et al., 2024).
- **Cápsula:** Es un factor crucial de protección frente a desecación, desinfectantes, antimicrobianos y antibióticos. Mutaciones o alteraciones estructurales en los genes responsables de su síntesis reducen significativamente la virulencia in vivo. Además, *Acinetobacter baumannii* presenta variación de fase, alterando entre colonias épocas y translúcidas; estas últimas muestran menor producción de cápsula, lo que disminuye su resistencia y persistencia en el huésped (Akoolo et al., 2022).
- **Pilus y fimbrias:** Son apéndices proteicos filamentosos, poliméricos y rígidos ensamblados. Los pilus son más largos que las fimbrias cortas y abundantes, pero mucho más pequeños que los flagelos (Ahmad et al., 2023). En *Acinetobacter baumannii* el pilus Csu permite el ensamblaje estructural de biopelículas que protegen frente a la colistina,

este mismo pilus media la adherencia bacteriana incrementando la capacidad de colonización tisular. Las fimbrias curli contribuyen a la etapa tardía de maduración de las biopelículas. Además de brindarle estabilidad y resistencia (Ahmad et al., 2023).

1.2.2. Posición taxonómica

El género Acinetobacter incluye un grupo heterogéneo de bacterias, de los cuales el complejo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (ABC) que fue agrupado por Gerner-Smidt (1991) debido a la gran similitud y compleja diferenciación fenotípica, actualmente incluye a 6 especies *Acinetobacter baumannii* (genoespecie 2) , *A. nosocomialis* (genoespecie 13), *A. pitti* (genoespecie 3), *A. seifertii* (genoespecie 4), *A. dijkshoorniae* (genoespecie 14) y *A. calcoaceticus* (genoespecie 1), que han sido considerados las más problemáticas para los médicos y científicos, excepto la última especie ambiental (Vijayakumar et al., 2019).

Dominio: Bacteria

Filo: Pseudomonadota

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Moraxellales

Familia: Moraxellaceae

Género: Acinetobacter

Especie: *Acinetobacter baumannii* (Bouvet y Grimont 1986)

Fuente: (Nacional Center for Biotechnology Information, n.d; Bouvet y Grimont, 1986)

1.2.3. Características bioquímicas y metabólicas de *Acinetobacter baumannii*

Las cepas del complejo ABC, son cocobacilos Gram negativos, no fermentadores de glucosa y aerobias estrictas (Kulkarni et al., 2017). Pero existen informes de que *Acinetobacter baumannii* sobrevivió al menos 28 días en ausencia de oxígeno. Son sacarolíticas, catalasa positiva, citrato positivo e inmóviles; aunque algunos autores sostienen que posee movimiento

espasmódico. Considerados potótrofos por su capacidad de crecer en medios con mínimos requerimientos nutricionales para su crecimiento (Ren & Palmer, 2023).

Desde el punto de vista metabólica, *Acinetobacter baumannii* presenta una elevada flexibilidad para aprovechar diferentes fuentes de carbono, entre ellas ácidos grasos orgánicos, aminoácidos, etanol y determinados azucares. Su metabolismo central del carbono comprende principalmente las vias de Entner- Doudoroff, pentosas fosfato, ciclo del acido tricarboxilico, via del glicolato y gluconeogénesis. La mayoría de las especies de *Acinetobacter spp.* no utiliza directamente la glucosa como fuente de carbono debido a la ausencia de sistemas específicos para la fosforilación; en las cepas capaces de utilizarla, esta es inicialmente oxidada a gluconolactona y posteriormente a gluconato, el cual puede incorporarse a la via de Entner-Doudoroff. Esta diversidad metabólica permite a *Acinetobacter baumannii* adptarse a la disponibilidad variable de nutrientes y desempeña un papel importante en su supervivencia y persistencia durante la infección (Ren y Palmer, 2023)

1.3.Importancia clínica

El complejo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* son las principales especies causantes de infecciones graves en la unidad de cuidados intensivos (UCI) del género. Destacando *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos al ser clasificado en la categoría de prioridad crítica según la lista de patógenos bacterianos prioritarios (BPPL) (Jian et al.,2022)

1.3.1. Infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii era considerado como un patógeno oportunista de baja virulencia hasta la década de 1990. Pero en los últimos años por la comprensión de su epidemiología, resistencia a lo carbapenémicos y etiología en numerosas infecciones hospitalarias es considerado uno de los 6 patógenos bacterianos ESKAPE resistentes a los antibióticos y altamente virulentos (Ramirez et al., 2020). Según CDC, es un patógeno exitoso que causa infecciones de la piel, la sangre, tejidos blandos, la región urinaria y respiratoria (neumonía).

Los pacientes hospitalizados, los asociados a ventiladores, catéteres, con heridas abiertas, personas con sistemas inmunitarios debilitados, enfermedad pulmonar crónica o diabetes y pacientes de UCI son más susceptibles y de mayor riesgo (CDC, 2025) (Ramirez et al., 2020). El gran éxito de esta bacteria va más allá de la resistencia a los fármacos clásicos. Este microorganismo es resistente al ambiente de regímenes prolongados de secado y desinfección. A menudo, esto se debe a las características moleculares "genoma versátil" que promueven la persistencia ambiental, la resistencia a la desecación superviviendo hasta de 100 días en ambientes hostiles, los sistemas de secreción, los glicocomplejos de superficie, sistemas de adquisición de proteínas, la formación y motilidad de biopelículas. Además de los micronutrientes que contribuyen a la patogenia (Harding et al., 2017; Oda et al., 2021).

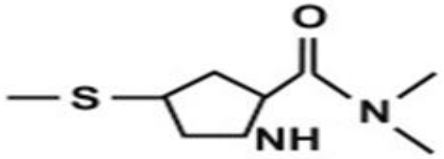
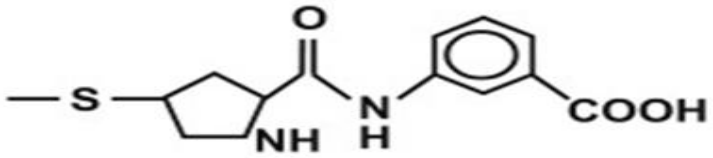
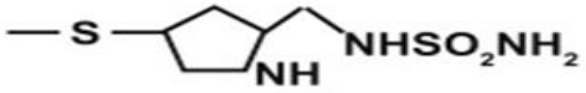
1.4.Antibióticos carbapenémicos

Son una subclase de antibióticos B-lactámicos como las cefalosporinas, penicilinas y monobactámicos (comparten estructura química del anillo betalactámico). Los carbapenémicos (Imipenem, Meropenem, Biapenem, Ertapenem y Doripenem) tienen un anillo de cinco miembros y se diferencian de otros β-lactámicos en que el C-1 que contiene azufre que es sustituido por un carbono introduciendo un doble enlace entre C-2 y C-3 (Armstrong et al., 2021; Jeon et al., 2015) como se observa en la Figura 1. Al ser moléculas pequeñas y su naturaleza zwitterionica, con gran carga positiva y negativa en solución les permiten penetrar la pared celular y la membrana externa de Gram negativos. Poseen alta afinidad por la PBP-2, PBP-3, PBP-4 Y PBP-1b (Iyer, 2022). Por una actividad antibacteriana de amplio espectro, estabilidad entre todos los β-lactámicos y ser un inhibidor irreversible de la serina D y D transpeptidasas implicadas en la biosíntesis de peptidoglicanos a nivel de la membrana celular, usadas para infecciones por bacterias Gram negativas multirresistentes (aeróbicas) hace que se considere como antibióticos de último recurso (Jeon et al., 2015; Sawa et al., 2020). Los carbapenémicos son antibióticos β-lactámicos de última generación, diseñados para tratar

infecciones bacterianas graves y resistentes a otros antibióticos. Sin embargo, su eficacia puede verse comprometida por enzimas β-lactamasas. Estas enzimas incluyen las metalobetalactamasas (clase B) y oxacilinasas (clase D). Las metalobetalactamasas hidrolizan el anillo β-lactámico del antibiótico utilizando zinc en su estructura, mientras que las oxacilinasas degradan sin requerir el metal. Ambas clases hidrolizan el antibiótico generando así resistencia frente a este (Wu et al., 2023).

La OMS actualizó la "Lista de Antimicrobianos de Importancia Crítica de la OMS", destacando a los carbapenémicos como medicamentos extremadamente importantes y de alta prioridad para la medicina humana. Esta actualización busca optimizar el uso de antimicrobianos y reducir su uso innecesario en sectores no humanos, como el animal, vegetal y ambiental, para frenar la propagación de la resistencia a los antimicrobianos (RAM). La lista de antimicrobianos de importancia médica (MIA) de la OMS, junto con el marco AWaRe y la colaboración de organismos internacionales, guía política para el uso responsable de antimicrobianos. La inclusión prioritaria de los carbapenémicos responde a la amenaza de bacterias multirresistentes como *Acinetobacter baumannii*, destacando la importancia del enfoque "one health" para combatir la resistencia antimicrobiana de forma integral (OMS, 2024).

Figura 1
Representación esquemática de las estructuras de carbapenémicos

Carbapenem	R1	R2
Imipenem	H	
Meropenem	CH_3	
Ertapenem	CH_3	
Doripenem	CH_3	

Fuente: *(Iyer, 2022)*

1.4.1. Imipenem

Es un antimicrobiano administrado por vía intravenosa perteneciente al subgrupo de carbapenémicos, identificado como una tienamicina semisintética de amplio espectro con actividad antibacteriana frente a Gram negativas y Gram positivas multirresistentes, tanto en condiciones aerobias como anaerobias. Su efectividad se potencia cuando se administra en combinación con la cilastatina (PubChem., 2024). El Imipenem actúa como bactericida al inhibir la síntesis de la pared celular específicamente en la tercera y última etapa del proceso. Su mecanismo de acción consiste en unirse de manera irreversible a las proteínas de unión a las penicilinas (PBPs), enzimas transpeptidasas que catalizan la formación de enlaces cruzados en el peptidoglicano evitando su formación que causa debilidad de la pared (Young, 2021). Al bloquear la actividad de las PBP-2 y PBP-1B, se interrumpe la síntesis lo que provoca la lisis

celular. Además, su estructura única le permite penetrar fácilmente la membrana celular externa de bacterias Gram negativas por porinas como OprD y otros (Young, 2021).

1.4.2. Meropenem

Es un ácido carbapenemcarboxílico de amplio espectro, en sus anillos de azetidina y pirrolina tienen al sustituyente 1-hidroximetil y 5-(dimetilcarbamoil) pirrolidin-3-iltio siendo más estable que el Imipenem por la presencia del grupo 1- β-metilo en el C1 del anillo carbapenem. Que actúa como barrera esférica frente a la hidrólisis por β-lactamasas de tipo serinico (Hussain et al., 2025). Actúa como alergeno de fármacos y antibacterianos en Gram positivas y Gram negativos, no requiere de inhibidor enzimático de administración intravenosa en pacientes inmunodeprimidos e infecciones (PubChem.,2021). El Meropenem ejerce su acción bacteriana mediante la inhibición irreversible de las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs), enzimas esenciales en la síntesis del peptidoglicano, dichas dianas específicas son la PBP 2 (codificado por la mdrA en *E. coli*), cataliza la transglicosilación y transpeptidación, esencial para la elongación del sacculus; y la PBP 3 (codificado por ftsl) participa en la división celular, formando el anillo de división celular, formando el anillo de división (septum) (de Souza et al., 2025). El Meropenem forma un complejo acil-enzima estable con residuo serinico activo de la transpeptidasa, bloqueando irreversiblemente la actividad enzimática. Esto impide la reticulación del peptidoglicano, reduciendo la resistencia mecánica de la pared celular por la disminución de enlaces pentapéptidos (D-Ala-D-Ala) y se genera la activación del sistema SOS y autolisinas desencadenando el sistema osmótico y muerte celular (de Souza et al., 2025).

1.4.3. Ertapenem

Es un Meropenem (1-β metil-carbapenem) en la que uno de los dos grupos metilos unidos al nitrógeno de la amida se sustituye por hidrógeno y el otro por un 3-carboxifenilo. Usualmente usado en el tratamiento de infecciones intraabdominales, ginecológicas, neumonías y urinarias

(PubChem., 2024). Su efecto bactericida se debe a la inhibición de la síntesis de peptidoglicano de la pared bacteriana, por su mayor afinidad se une a PBP 2 y PBP 3, aunque también reconoce PBP 1a, 1b, 4 y 5 (Nowak & Paluchowska, 2016) Bloquea la transpeptidación al ocupar los sitios activos de la PBPs, impide la formación de los enlaces cruzados del peptidoglicano, el cual debilita la pared celular desencadenando lisis osmótica y muerte bacteriana. Su estabilidad se mantiene frente a las β-lactamasas de espectro extendido (ESBL), ya que no es sustrato de esas enzimas. No obstante, puede ser hidrolizado por metalo-β-lactamasas (IMP, VIM, NDM) (Nowak & Paluchowska, 2016)

1.4.4. Doripenem

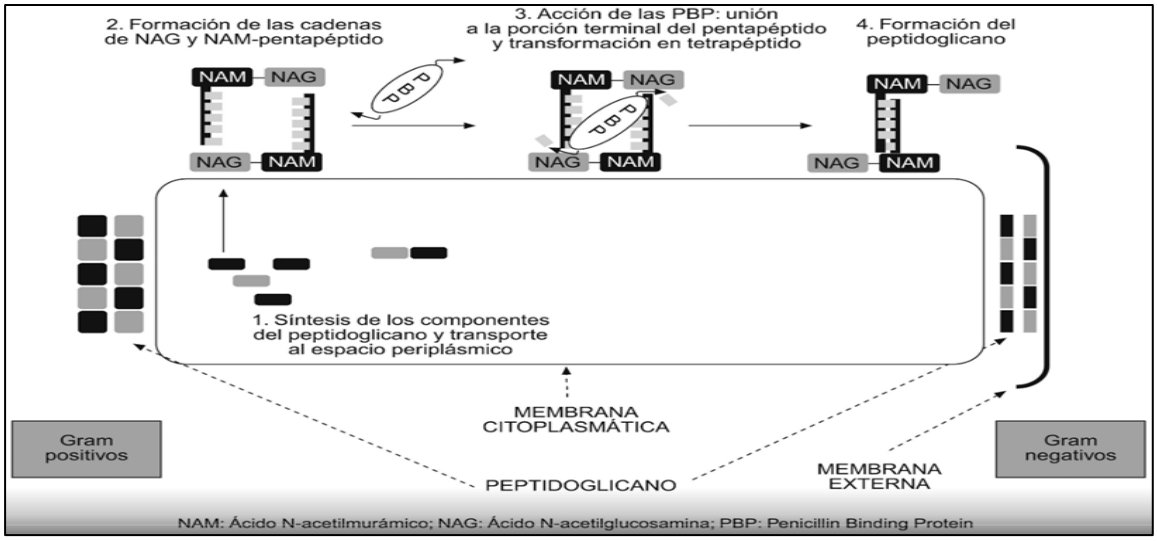
Es un carbapenem 1-β-metilado que ejerce una rápida acción bactericida al acetilar e inactivar las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs). en *E. coli* tiene mayor afinidad por el PBP-2 y PBP-4, mientras en *Acinetobacter baumannii* tiene afinidad por el PBP-2 y PBP-3 bloqueando la síntesis de peptidoglicano, debilitando y generando lisis osmótica concluyendo en muerte celular (Jamwal et al., 2024). Más estable frente a la deshidropeptidasa renal lo que el Imipenem. Actúa en complejas infecciones de tracto urinario, intraabdominal e incluyendo la pielonefritis uniéndose a las PBP para evitar la reticulación estructural del peptidoglicano (PubChem., 2021).

1.4.5. Mecanismo de acción de los β - lactamicos

Los carbapenémicos son antibióticos β-lactámicos de amplio espectro que actúan uniéndose irreversiblemente a las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), inhibiendo la síntesis del peptidoglicano y causando la lisis bacteriana. Su alta afinidad por las PBP interfiere con funciones clave de la pared celular, lo que les confiere un potente efecto bactericida y baja toxicidad para el huésped, ya que las células eucariotas animales no poseen pared celular. Diferentes carbapenémicos tienen afinidad selectiva por PBP específicas: el Imipenem se une

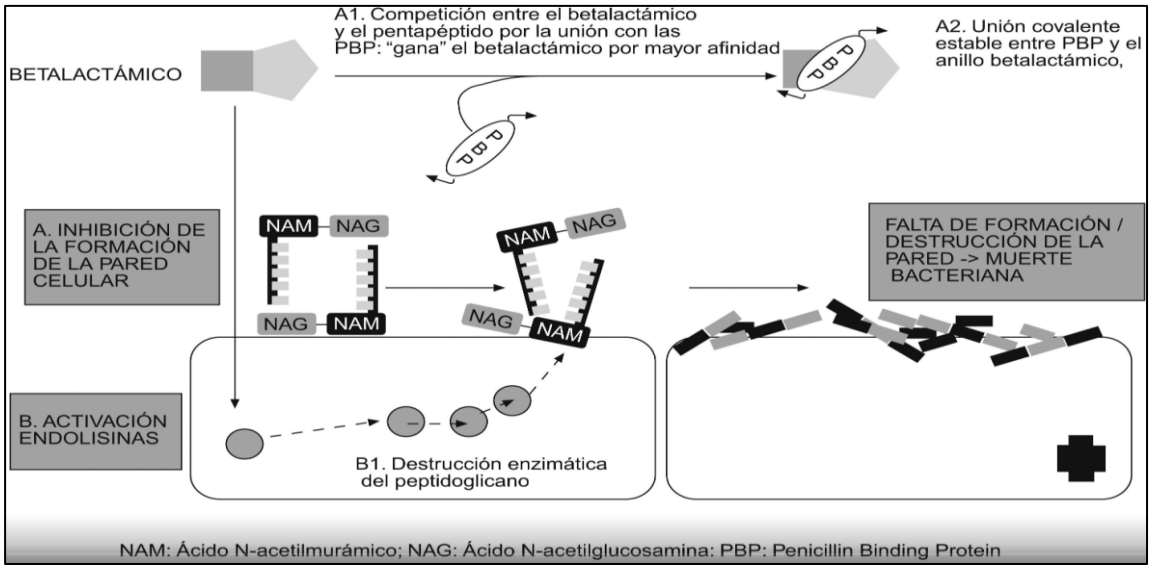
fuertemente a múltiples PBP, el Meropenem actúa sobre PBP2 y PBP3. Además, mantienen su eficacia en un amplio rango de pH (5,5 - 8,5) y penetran rápidamente las células bacterianas (Bush & Bradford, 2016). Como se observa en la Figura 2, las etapas de formación de la pared celular bacteriana explican los puntos de acción de estos antibióticos, mientras que la Figura 3 ilustra con mayor detalle el mecanismo de acción de los β-lactámicos, mostrando como el anillo β-lactámico se une a las PBP e impide la síntesis del peptidoglicano.

Figura 2
Etapas de formación de la pared celular bacteriana



Fuente*:* adaptado (Suárez & Gudiol, 2009).

Figura 3
Mecanismo de acción de lo β -lactamicos



Fuente: adaptado (Suárez & Gudiol, 2009).

1.5.Resistencia bacteriana

La resistencia es considerada como la capacidad de la pérdida de la susceptibilidad frente a propiedades letales (bactericidas) o inhibidoras de crecimiento (bacteriostáticas) de un agente antibióticos y las han clasificado en resistencia intrínseca y resistencia adquirida (Morier., 2021).

a. **Resistencia intrínseca:** Llamada también resistencia natural al ser propia, como es el caso de *Acinetobacter baumannii.* Poseen resistencia basal a β-lactámicos , macrólidos y lincosamidas, fenicoles, ácido fusídico y fluoroquinolonas. Además de sus mecanismos de defensa codificadas cromosómicamente una cefalosporinasa ADC y la oxacilinasa OXA 51; impermeabilidad natural de la membrana y actividad de eflujo basal del cual se caracterizó tres sistemas codificados por los operones adeABC, adeFGH y adelJK (Blosser., 2024; Lupo et al., 2018).
b. **Resistencia extrínseca:** Esta se da por dos procesos como la mutación y por transferencia de genes.
    - Plásmidos: El término fue acuñado por Lederberg al referirse a pequeñas moléculas de ADN extracromosómico, estos se pueden dividir en plásmidos no transmisibles y la otra mitad en conjugativos y movilizables, la capacidad de conjugación está determinada por el tamaño y número de copias que se mantienen dentro de la célula huésped (Dewan & Uecker, 2023; NIH, 2024). Estos son los vehículos perfectos de la transmisión de genes carbapenemasas (bla_{OXA}) y metalo β-lactamasas. En un análisis de 813 plásmidos completos de *Acinetobacter baumannii* permitió clasificarlos en cuatro grupos principales según los genes de replicación rep: R1, R3, RP y un grupo “sin rep” basada en la identidad de la proteína Rep y su implicancia de propagación de genes de RAM (Scoffone et al., 2025). El R1, codifica la proteína Pfam01446 no asociada

a la resistencia antimicrobiana, en contraste del R3 (con proteína Rep 3, Pfam01051) asociados a los clones globales como GC1 y GC2 que contienen carbapenemasas como *bla*$_{OXA-58}$, *bla*$_{OXA-71}$ y *bla*$_{OXA-24}$ al igual que son albergados como tet39, sul2 y mcr que le brinda resistencia a tetraciclina, sulfonamidas, macrólidos y colistina. El plásmido tipo RP, contienen RepPriCT 1, del sub tipo RP-T1 que incluye el *bla*$_{OXA-23}$ y aphA6 que le da resistencia a carbapenemasas y amikacina. mientras que el grupo "sin rep" posee al plásmido pRAY que porta el gen aadB que da resistencia a tobramicina, gentamicina y kanamicina, pero también abarca plásmidos pA297-3 y pNDM-BKO que albergan genes como sul2, msr-mph(E), *bla* PER-7, armA y *bla*$_{NDM}$ (Scoffone et al., 2025).

- Transposones: Conocidos como genes saltarines, son secuencias de ADN móviles de un lugar a otro del genoma, en las especies patógenas de Acinetobacter el transposón IS (1Kb) que codifica para la transposasa que es la responsable de la escisión, reconocimiento y unión de genes de resistencia a los antibióticos al codificar fuertes promotores externos aumentando la expresión de dichos genes o al alterar genes que codifican dianas, transportadores y porinas (Rodriguez., 2024). Las secuencias de inserción ISAba actúan como potentes elementos reguladores y disruptores genéticos, capaces de transformar genes silenciados o moderadamente activos en potentes efectores de resistencia, mediante promotores insertados, disrupción de genes estructurales o reguladores, y activación de bombas de eflujo. Estas permiten a *Acinetobacter baumannii* desarrollar una amplia gama de resistencia a antibióticos. Elementos como ISAba1 o ISAbal 125 pueden insertarse aguas arriba de genes introduciendo promotores fuertes que elevan su transcripción incrementando la expresión de *bla*$_{OXA-23}$, *bla*$_{OXA-51}$, ampC, sul2, eptA. la secuencia promotora ES

Aba125 que incrementa la expresión de *bla*$_{NDM}$ con el elemento genético Tn6924. Además de que las insercion adelJK activa el promotor ISAba1 impulsando bomba AdelJK que le brinda a *Acinetobacter baumannii* resistencia a aminoglucósidos, β-lactámicos, tetraciclinas y tigeciclina (Scoffone et al., 2025).

- Integrones: Son secuencias de ADN que facilitan la adaptabilidad y evolución de las bacterias con sitios de integración o serie de cassettes que a través de mecanismos especializados captura y expresa genes (Sabbagh et al., 2021). Dichos elementos genéticos se identifican por la presencia de 3 componentes: el gen Intl (integrasa), el sitio de recombinación attl y el promotor Pc. Se distinguen dos tipos principales (integrones móviles e integrones cromosómicos) que albergan múltiples casetes de genes expresados por el promotor haciéndolo fenotípicamente resistentes (Prakash et al., 2024). En los últimos años se ha descrito en *Acinetobacter baumannii*. La incrustación del integrón de clase I ln86 que contenía el gen *bla*$_{IMP}$, Sul1, aac(6')-31 y aadA (Sabbagh et al., 2021). Además, se subraya la prevalencia de la clase 1 (Intl 1) como portador clave de genes de resistencia a cloranfenicol, rifampicina y aminoglucósidos netamente en *Acientobacter baumanii* (Prakash et al., 2024).

1.6.Mecanismos de resistencia

Los mecanismos de resistencia a los β-lactámicos (carbapenémicos) en *Acinetobacter baumannii*, especialmente incluyen:

a) Bombas de expulsión relacionadas a la resistencia frente al Imipenem, Tigeciclina, Aminoglucósidos, Fluoroquinolonas, Cloranfenicol, Tetraciclina, Fosfomicina, etc. (Abdi et al., 2020).

b) Defectos de permeabilidad en porinas de la membrana como OmpA, OmpW, Omp47 y CarO, relacionados con la resistencia frente al Aztreonam, Ácido nalidíxico y Carbapenémicos por la interacción con carbapenemasas (Zhou et al., 2023).
c) La variación de sitios target induce a la resistencia frente a Quinolonas, Aminoglucósidos, Trimetroprima y Tetraciclina (Gedefie et al., 2021).
d) Enzimas modificadoras que son el mecanismo de resistencia más importantes frente a los Aminoglucósidos y la producción de β-lactámicos (Wu et al., 2023).

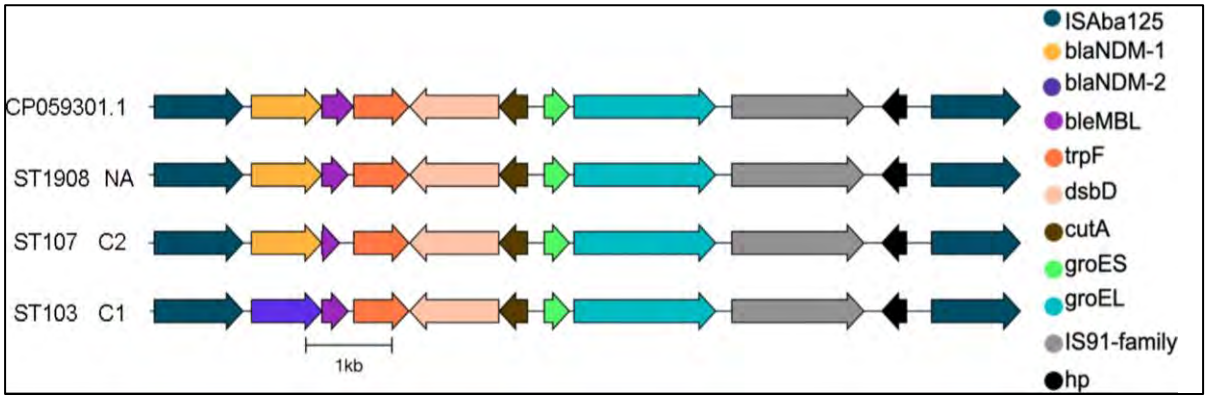
1.6.1. Enzimas Carbapenemasas

Son una clase diversa de enzimas codificadas a partir de elementos genéticos móviles o cromosómicamente. Existen 4 clases de enzimas degradadoras del anillo estructural de los β-lactámicos (Wu et al., 2023). Ambler clasificó molecularmente las carbapenemasas por su dependencia de los cationes divalentes de la activación enzimática, dividiéndolas en metalobetalactamasas (clase B dependientes de zinc) y no metalobetalactamasas (independientes de zinc A, C y Clase D) (Jeon et al., 2015; Sawa et al., 2020). Las enzimas mencionadas hidrolizan Carbapenémicos y B-lactámicos . Las metalobetalactamasas (clase B) y oxacilinasas (clase D) son reportadas con mayor frecuencia en *Acinetobacter baumannii*, por ello la investigación busca determinar genes que codifican a metalobetalactamasas como bla_{IMP}, bla_{NDM} y oxacilinasa como bla_{OXA23} (Otiniano & Rivera, 2021).

- **Gen bla_{NDM}:** Es la metalobetalactamasa Nueva Delhi, fue aislado por primera vez de un paciente sueco con infección urinaria causada por *K. pneumoniae* el 2008. El gen se localiza en plásmidos (o, en algunos casos en cromosoma) y codifica una proteína de aproximadamente 27,5 kDa y 269 aminoácidos que pertenecen al grupo B de la clasificación de Ambler al poseer 1 ion de zinc en su sitio activo al igual que bla_{IMP} y bla_{VIM}. Su primer reporte en *Acinetobacter baumannii* Carbapenémicos resistentes fue

en Brasil en 2014. Actualmente presenta más de 40 variantes se han depositado en el GenBank en más de 60 especies bacterianas (Wenjing et al., 2019). Entre varias carbapenemasas, las metalo- β-lactamasas de Nueva Delhi se consideran del tipo más potente capaz de hidrolizar todos los antibióticos β-lactámicos , excepto al aztreonam. Sin embargo, los productores de NDM-1 también producen enzimas que hidrolizan el aztreonam, lo que confiere a estos patógenos una resistencia absoluta (Nahar et al., 2024). En *Acinetobacter baumannii*, el plásmido pNDM-AB-1(49 kb) fue el vehículo que transportaba el bla_{NDM} al aislado AB-1. Se encuentra inserto en el transposon novel Tn6924 (3,9 kb), impulsado por ISAba125 que consta de ISAba 125 izquierdo (IRL) clase IS3 que aporta la secuencia promotora 35 (TTGACA) 18 bp 10 (TATAAT) responsable de la sobre expresión de carbapenemasas; bla_{NDM} (813pb); ble MBL; (le brinda resistencia a bleomicina y mantiene el marco de lectura estabiliza la expresión) y ISAba125 derecha (IRR completa el transposón) (Adler et al., 2023) como se observa en la Figura 4.

Figura 4
Estructura del gen bla_{NDM} en *Acinetobacter baumannii*



Fuente: adaptado de (Adler et al., 2023)

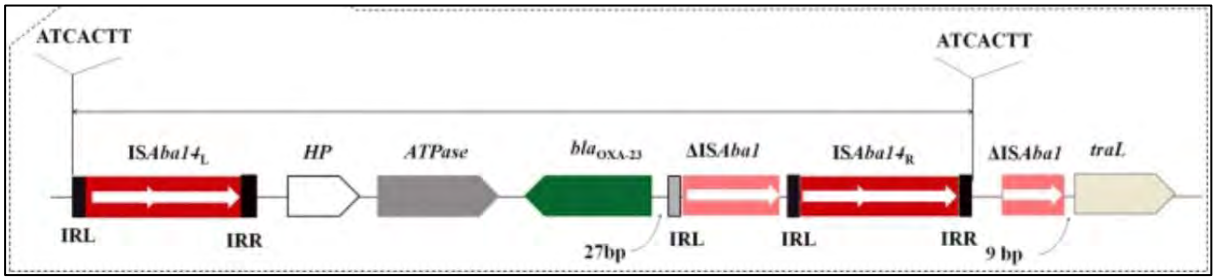
- **Gen bla_{IMP}:** Se detectó en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* Por primera vez en Japón (1990) estos genes codifican a la Imipenemasas (IMP). Actualmente se han reportado más de 91 variantes a nivel mundial. Está localizado en un plásmido de 36 kb, dentro

de un casete genético móvil insertado en un integrón de clase 1 denominado ln31, dicho elemento genético accesorio, permite su transferencia horizontal a nivel de las diferentes especies bacterianas de elementos genéticos accesorios, permitiendo su transferencia horizontal a nivel de las diferentes especies bacterianas propagándose a nivel mundial (Li et al., 2023). Propagándose a nivel mundial (Li et al., 2023). Este integrón pertenece a un grupo de derivados de transposones defectuosos relacionados con Tn402. El integrón ln31 contiene cinco casetes genéticos: *bla*$_{IMP}$, aacA4 y tres casetes que codifican para el gen catB para cloranfenicol acetiltransferasa, alelo qac que produce una proteína de resistencia y proteínas de función desconocida (Khalid, 2024). En *Acinetobacter baumannii* es un cassette de 738 pb localizado dentro de integrones clase 1 (tipos ln73, ln992, ln722, etc.) y se encuentra flanqueado por IS26, ISCR1 o ISPa17, que proporcionan promotores fuertes y facilitan la inserción en plásmidos conjugativos (lncL/M, incP-2 o gigantes > 300 kb) o en el cromosoma mediante cointegrados IS26.

- **Gen *bla*$_{\text{OXA-23}}$:** Este gen fue el primer aislamiento de una oxacilinasa con actividad carbapenemasa en *Acinetobacter baumannii* en el año 1985 aislados de un hemocultivo de un paciente en el Reino Unido, tiene un reporte de 18 variantes (alelos) del gen, este codifica a la carbapenemasa *bla*$_{OXA\ 23}$ (complejo con Meropenem) su ubicación está asociada a un transposón, siendo el gen más reportado en CRAB (Jeon et al., 2015). Esta enzima está distribuida por todo el mundo al ser parte de transposones como Tn2006, Tn2007, Tn2009, Tn2008 y Tn2008B (Huang et al., 2019; Mugnier et al., 2010). El gen *bla*$_{OXA-23}$, se encuentra insertado en un transposón compuesto flanqueado por dos elementos lSAba1, lo que favorece su movilidad y expresión. El transposón presenta una enzima de restricción tipo llL (Mmel), lo que sugiere función reguladora o protectora. En la secuencia de inserción *bla*$_{\text{OXA-23}}$ está precedido por el promotor

ISAba1 asociado con la sobreexpresión del gen (Mmatli et al., 2025). La Figura 5 muestra el transposon Tn6681 (2,7kb), flanqueando por ISAba1 y que porta *bla*$_{OXA-23}$, ISAba 14 y genes de conjugación; al transferirse por el plásmido pM19 al receptor M19, Tn6681 puede integrarse en su cromosoma creando una duplicación de 9pb y expandiendo la resistencia a carbapenémicos.

Figura 5
Estructura del gen *bla*$_{OXA-23}$ y diseminación de plásmido conjugativo que contiene el transposón Tn6681 en *Acinetobacter baumannii*



Fuente: adaptado de (Zong et al., 2020)

Acinetobacter baumannii ha desarrollado diversas estrategias para sobrevivir frente a los antibióticos. Entre ellas se encuentran la producción de enzimas betalactamasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos, el uso de bombas de eflujo que expulsan los fármacos del interior celular, así como alteraciones en la permeabilidad y en los sitios donde actúan los antibióticos. La presencia simultánea de esos mecanismos ha reducido con el tiempo las alternativas terapéuticas disponibles para controlar las infecciones que provoca esta bacteria. Los mecanismos más relevantes de resistencia se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1
Clasificación de β-lactamasa presentes en *Acinetobacter baumannii*

Mecanismo de resistencia	Clase Molecular (Ambler)	Proteína	Plásmido o cromosoma	Elementos genéticos
β-Lactamasas	Clase A	TEM-1	Plásmido	a
		TEM-92	Plásmido	a
		GES-1	Plásmido	a
		GES-5	Plásmido	a
		GES-11	Plásmido	a
		GES-12	Plásmido	a
		GES-14	Plásmido	Integrón
		KPC-2	A	a
		KPC-3	A	a
		KPC-4	A	a
		KPC-10	A	a
		CTX-M-2	Plásmido	a
		CTX-M-15	Plásmido	a
		OCS-1	Plásmido	a
		VEB-1	Plásmido	a
	Clase B	Imp.-1	Plásmido	Integrón
		Imp-2	Plásmido	Integrón
		IMP-5	A	Integrón
		IMP-6	A	Integrón
		IMP-8	Plásmido	
		IMP-11	A	Integrón
		IMP-19	Plásmido	
		IMP-24	Plásmido	
		NDM-1	Cromosómico	ES Aba125
		NDM-2	Cromosómico	ES Aba125
		NDM-3	Plásmido	
		VIM-1	A	Integrón
		VIM-2	Plásmido	Integrón
		VIM-3	Plásmido	Integrón
		VIM-4	Plásmido	Integrón
		VIM-11	Plásmido	Integrón
		SIM-1	A	Integrón
	Clase C	AmpC	Cromosómico	a
	Clase D (Sub grupo OXA-2)	OXA-21	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-10)	OXA-128	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-20)	OXA-37	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-23)	OXA-23	Plásmido o cromosoma	En 2006, En 2007, En 2008

		OXA-133	Plásmido	a
		OXA-239	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-24)	OXA-24	Cromosómico	a
		OXA-25	Cromosómico	a
		OXA-26	Cromosómico	a
		OXA-40	Plásmido o cromosoma	a
		OXA-72	Plásmido	a
		OXA-143	Plásmido	a
		OXA-182	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-51)	OXA-51	Cromosómico	a
		OXA-64, OXA-65, OXA-66, OXA-68, OXA-70, OXA-71	Plásmido	a
		OXA-69, OXA-75, OXA-76, OXA-77	Plásmido	a
		OXA-79, OXA-80, OXA-104, OXA-106~ OXA-112	Plásmido	a
		OXA-82, OXA-83, OXA-83, OXA-84	Plásmido	a
		OXA-86, OXA-87	Plásmido	a
		OXA-88, OXA-91, OXA-93, OXA-94, OXA-95, OXA-96	Plásmido	a
		OXA-92	Plásmido	a
		OXA-113	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-58)	OXA-58	Plásmido o cromosoma	Elemento RE
		OXA-96		
		OXA-97	Plásmido o cromosoma	Elemento RE
	Clase D (Sub grupo OXA235)	OXA-253	Plásmido	a
	Clase D (Sub grupo OXA-143)	OXA235	Plásmido	a

Fuente: Elaborado en base a (Lee et al., 2017; Yang et al., 2020)

1.7.Microsatélites de arrastre

Fenómeno microbiológico observado durante las pruebas fenotípicas de detección de carbapenemasas. Se observan como colonias pequeñas (microsatélite) que rodean el crecimiento de arrastre de la cepa de prueba. Dichas colonias están distribuidas aleatoriamente, apareciendo dentro de la zona de inhibición donde no se esperaría crecimiento por presencia de antibiótico (Mitteregger et al., 2022b). Mientras que Chen en el 2013 lo deduce como la presencia de diferentes fenotipos en una sola muestra clínica de un único paciente, dicho fenómeno se puede deber a una infección cruzada durante la hospitalización, mutaciones naturales, inducción de genes de resistencia y adquisición horizontal de genes.

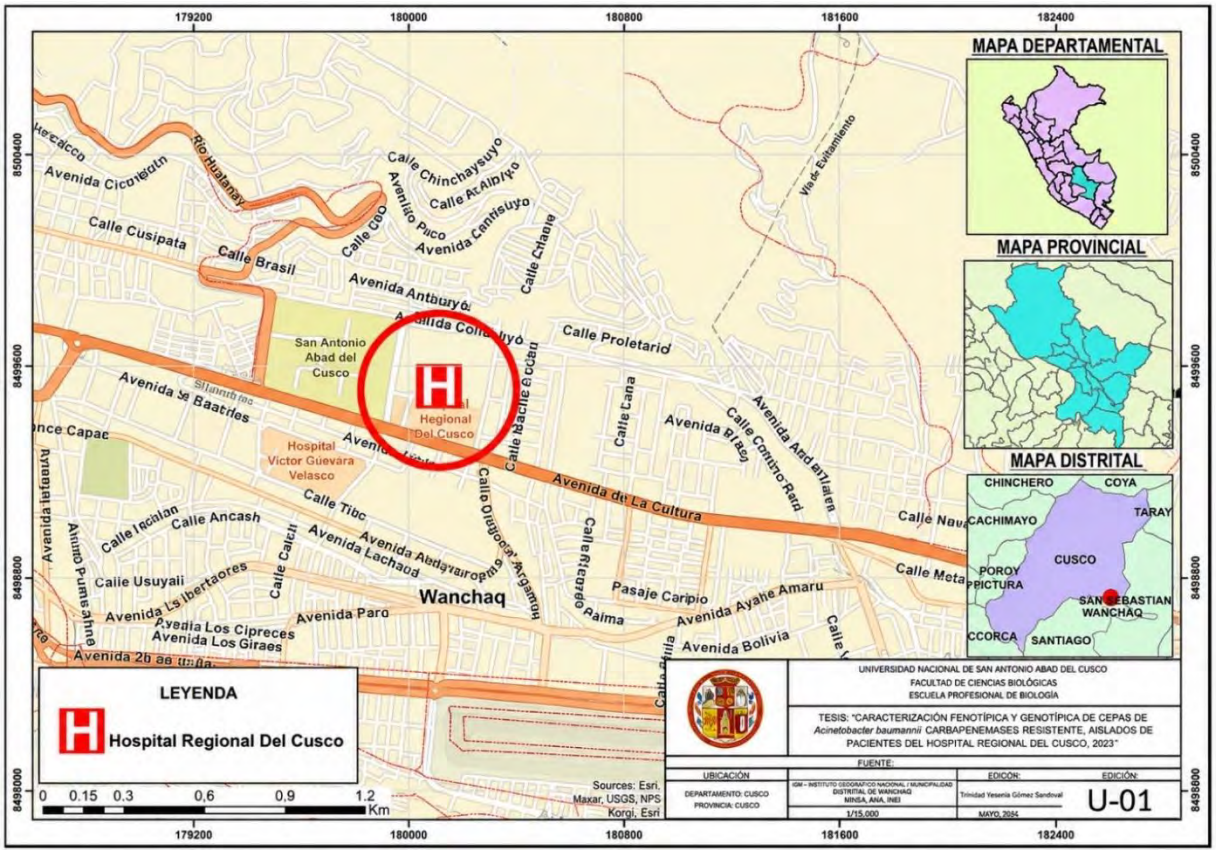
CAPITULO II: MATERIALES Y METODOLOGÍAS

2.1 Área de estudio

Hospital Regional del Cusco

El Hospital Regional de Cusco con categoría de nivel III-1 según la Resolución Directoral RD-N.º 508-2005-DRSC-DEGDRRHH, es una institución de Salud Pública que fue inaugurado el 23 de julio de 1964, se encuentra ubicado entre la Av. Cultura S/N. Distrito de Wanchaq, província de Cusco, departamento Cusco (Hospital Regional del Cusco, 2021) (Figura 6). Ubicado a una altitud de 3350 metros y latitud sur 71° de longitud Oeste a partir del Meridiano de Greenwich. Es dirigida por una Dirección Ejecutiva conjuntamente con los Órganos de Control Institucional y el Comité de Gestión Institucional. Posee 12 distintos departamentos con 32 servicios, como Emergencia, Consulta externa, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Unidad de quemados, Hospitalización, Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal (UCIN), Pediatría, Ginecología entre otros servicios, así mismo desarrollan programas preventivos (Hospital Regional del Cusco, 2024).

Figura 6
Ubicación del Hospital Regional del Cusco



Nota: *Se observa la ubicación del Hospital Regional del Cusco, establecimiento de salud de nivel III-1 situado en la Av. Cultura S/N, distrito de Wanchaq, provincia y departamento de Cusco.*

2.2 Materiales

2.1.1. Material biológico

- Cepas de *Acinetobacter ssp.* carbapenemasas resistente: Las 50 cepas de *Acinetobacter spp.* proporcionadas por el laboratorio de microbiología del Hospital Regional del Cusco con la pertinente autorización (Proveido N°161 2023-GR CUSCO/GERESA-HRC-DE-OCDI). Dichas cepas fueron obtenidas a partir de muestras biológicas como: orina (5 muestras), sangre (5 muestras), aspirado traqueal y bronquial (30 muestras), secreciones (5 muestras), drenaje y catéter (5 muestras), provenientes de diferentes áreas del Hospital Regional del Cusco (Anexo 1).

- **Cepas patrón**
    - ✓ Cepa patrón *Escherichia coli* ATCC 25922 (Control negativo)
    - ✓ Cepa patrón *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 para la identificación fenotípica (Control positivo)
    - ✓ Cepa patrón *Escherichia coli* NCTC 13476 para bla_{IMP}
    - ✓ Cepa patrón *Klebsiella pneumoniae* BAA 2146 para bla_{NDM}
    - ✓ Cepa de *Acinetobacter baumannii* positivo para el gen bla_{oxa-23} (secuenciada)

2.1.2. Material de laboratorio

- **Equipos**
    - ✓ Autoclave (Austester)
    - ✓ Balanza analítica (Ohaus)
    - ✓ Baño María (JSR)
    - ✓ Centrífuga refrigerada eppendorf de sobremesa (Biofuge Primo R)
    - ✓ Congeladora a -20°C (Double Action)
    - ✓ Congelador a -80°C (Fiocchetti)
    - ✓ Cabina de bioseguridad (Telstar)
    - ✓ Cámara electroforética (Consort)
    - ✓ Espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo 6132YP102346)
    - ✓ Fotodocumentador (Bio Rad)
    - ✓ Fuente de potencia (Bio Rad)
    - ✓ Horno Pasteur (Brinder)
    - ✓ Horno Microondas (LG)
    - ✓ Incubadora(P-Selecta)
    - ✓ Mechero bunsen (Biobase)
    - ✓ Nanodrop (Thermo Scientific)

- ✓ Refrigerador (Chest Freezer)
- ✓ Purificador de agua (Wasserlab)
- ✓ Termociclador (Proflex)
- ✓ Vortex (Lavenet)

- **Reactivos**
  - ✓ Agarosa (Cleaver Scientific)
  - ✓ Agua para PCR
  - ✓ Buffer GelStain 10000X (TransGen Biotech)
  - ✓ Buffer TAE 1X (Sigma)
  - ✓ Colorante Gram
  - ✓ dNTPs (Promega)
  - ✓ Glicerol 20%
  - ✓ Reactivo de Kovács
  - ✓ Marcador de peso molecular de 100pb GeneRuler (Thermoscientific)
  - ✓ MgCl2 (Promega)
  - ✓ Taq ADN polimerasa marca Gotaq Flexi DNA(Promega)
  - ✓ Peroxido de hidrogeno

- **Primers forward y reverse para carbapenemasas**
  - ***bla*$_{OXA-23}$ de 501 pares de base (Pb)**

    F: 5'-GATCGGATTGGAGAACCAGA-3'

    R:5'-ATTTCTGACCGCATTTCCAT-3'

    Fuente: (Mostachio et al., 2009)
  - ***bla*$_{NDM}$ de 512 pares de base (Pb)**

    F: 5′-AGCACACTTCCTATCTCGAC -3′

    R: 5′- GGC GTA GTG CTC AGT GTC-3′

Fuente: (Ranjbar et al, 2020)

- ***bla*$_{IMP}$ de 232 pares de bases (Pb)**

  F: 5'-ACCGCAGCAGACTCTTTGCC-3′

  R: 5'-ACAACCAGTTTTGCCTTACC-3'

  Fuente: (Davoodi et al, 2015)

- **Medios de cultivo**
  - ✓ Agar cromogénico Acinetobacter (CHROMagar TM)
  - ✓ Agar citrato de Simmons (Himedia)
  - ✓ Agar Tripticasa de soya-TSA(Merck)
  - ✓ Agar Muller Hinton (Merck)
  - ✓ Agar Hierro tres azucares-TSI (Merck)
  - ✓ Agar Lisina Hierro-LIA (Merck)
  - ✓ Agar Urea (Oxoid)
  - ✓ Agar Sangre Base (Merck)
  - ✓ Agar Movilidad Indol Ornitina - MIO(Merck)
  - ✓ Caldo Tripticasa de Soya - TSB (Merck)
  - ✓ Caldo Cerebro Corazón -BHI (Merck)
- **Discos de sensibilidad**
  - ✓ Meropenem MEM (10 µg) (Bioanalyse)
  - ✓ Imipenem IMP (10 µg) (Bioanalyse)
  - ✓ Ertapenem ETP (10 µg) (Bioanalyse)
- **Material de vidrio**
  - ✓ Placas petri
  - ✓ Pipeta de 5 mL y 10 mL
  - ✓ Probetas de 50 mL y 100 mL

- ✓ Placas Petri de 90 mm
- ✓ Frascos de 100 mL, 500 mL y 1000 mL
- ✓ Tubos de tapa rosca de 5 mL

- **Otros materiales**
  - ✓ Calibrador Vernier
  - ✓ Agujas y Asas de siembra
  - ✓ Alcohol de 70°
  - ✓ Barbijo
  - ✓ Crioviales
  - ✓ Criobox
  - ✓ Tips (20 µL, 100 µL y 1000 µL)
  - ✓ Gasa estéril
  - ✓ Guantes
  - ✓ Hisopos estériles
  - ✓ Jabón
  - ✓ Mascarilla
  - ✓ Micropipetas (10-100 µL y 100 -1000 µL)
  - ✓ Portaobjetos
  - ✓ Pinzas metálicas estériles
  - ✓ Tips de 10 µL, 20 µL y 1000 µL
  - ✓ Tubos tipo Eppendorf 1.5 mL

2.3. Métodos

2.3.1. Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo transversal descriptivo. Alineada en el área de conocimiento de ciencia de vida y la línea de investigación en microbiología según la resolución D-2205-2022-FC UNSAAC.

2.3.2. Recolección, aislamiento y conservación de cepas de *Acinetobacter spp.*

El laboratorio de Microbiología del Hospital Regional del Cusco, proporcionó 50 cepas de *Acinetobacter spp.* resistentes a carbapenémicos que fueron recolectadas durante los meses de marzo a diciembre del 2023. Cada cepa fue replicada a partir de una colonia en un vial con Agar Tripticasa de Soya (TSA) debidamente identificado. Posteriormente, se trasladaron en cadena de frío (4°C) al Laboratorio Institucional de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas, para su procesamiento y conservación.

2.3.3. Criopreservación de cepas de *Acinetobacter spp.*

Las 50 cepas de *Acinetobacter spp.* fueron subcultivadas para la seleccionar de una unidad formadora de colonia, que luego fue inoculada en caldo TSB e incubada a 37 °C durante 24 horas en volumen de 1 mL. Tras una homogeneización, se colocaron alícuotas de 200 µL de la suspensión bacteriana en crioviales de 1,5 mL previamente rotulados que contenían 600 µL de glicerol esterilizado al 20%. en proporción 1:3 Los crioviales se homogeneizaron y temperaron gradualmente a 0°C y -20°C para finalmente ser almacenados en un congelador a -80°C. Para determinar la viabilidad de las reservas congeladas, se descongelan de forma aleatoria múltiples viales cada cierto tiempo que fueron sembrados para confirmar su viabilidad de las cepas (Gutiérrez et al., 2015; Nielsen et al., 2015).

2.3.4. Identificación de cepas de *Acinetobacter spp.*

A partir de las cepas de *Acinetobacter spp.* criopreservadas, se tomó una alícuota que fueron cultivada en caldo Tripticasa de Soya (TSB) e incubado por 24 horas a 37° C. Posteriormente cultivadas en agar cromogénico *Acinetobacter* (CHROMagar ^{TM}) y agar Mac Conkey (Merck) se incubaron nuevamente durante 24 horas a 37° con el fin de obtener colonias aisladas (Casas & Castillo, 2019).

2.3.4.1. Pruebas bioquímicas

Se realizaron pruebas bioquímicas diferenciales basadas en características fenotípicas descritas en manuales clásicos de microbiología (Holt et al., 1994, citado en Adogaye et al., 2021), tales como Agar Tres Azúcares Hierro (TSI), Agar Lisina Hierro (LIA), Agar Urea, medio Movilidad Indol Ornitina (MIO) y Agar citrato de Simmons, complementado con la prueba de catalasa usando el método de Cappuccino y Sherman (2014).

A. Agar Lisina Hierro (LIA): Cada cepa de *Acinetobacter baumannii* fue inoculada mediante punción en el fondo y estrías en la superficie del medio LIA, se incubo a 37°C durante 24 horas. Este medio permite evaluar la capacidad bacteriana de fermentar glucosa, así como las reacciones de descarboxilación y desaminación de la lisina y producción de ácido sulfhídrico (H_2S) (Sapakota, 2022).
B. Triple Azúcar Hierro (TSI): Cada cepa de *Acinetobacter baumannii*. fue sembrada en superficie y profundidad en el Agar TSI, procediendo a la incubación a una temperatura de 37°C por 24 horas. *Acinetobacter baumannii* es una bacteria no fermentadora de azúcares, la reacción en el tubo es gas negativo, ácido sulfhídrico (H_2S) negativo y pico alcalino sobre base alcalina (K/K) o (K/NC). Algunas pueden metabolizar las peptonas aeróbicamente o anaeróbicamente provocando liberación de

amoniaco (NH_3), haciendo que el indicador de pH rojo de fenol (pH 7) vire a un rosa intenso (pH > 8,4) (Amini et al., 2024) (ASM,2016).

C. Medio de Movilidad-indol-ornitina (MIO): Para determinar la movilidad, producción de indol y actividad de la enzima ornitina descarboxilasa en *Acinetobacter baumannii* las cepas fueron inoculadas mediante punción central a ⅔ de profundidad del medio semisólido y se incubaron a 37°C durante 24 horas (Ederer & Clark, 1970; Lopardo et al., 2020).

D. Citrato de Simmons: Cada cepa de *Acinetobacter baumannii* fue inoculada en superficie mediante estría con asa estéril en el medio de Citrato de Simmons, única fuente de carbono. Aquellas bacterias que poseen la enzima citrato permeasa metabolizan el citrato a través del ciclo de ácido tricarboxílico, generando productos alcalinos (carbonatos y bicarbonatos) que elevan el pH. Como consecuencia el indicador azul de bromotimol vira a color azul, lo que confirma la capacidad de *Acinetobacter baumannii* para utilizar el citrato como fuente de carbono por la acción del citrato permeasa. (Smith & Selby, 2018).

E. Agar Urea: Las cepas de *Acinetobacter baumannii* fueron inoculadas en la superficie mediante estrías en el medio urea e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Este medio contiene urea como sustrato y rojo de fenol como indicador de pH, que vira de amarillo a rojo en presencia de productos alcalinos generados por la hidrólisis de urea. Dicha reacción es catalizada por la enzima ureasa, la cual libera amoniaco y dióxido de carbono, alcalinizando el medio (Winn et al., 2017).

F. Prueba de Catalasa: Se tomó una colonia de cada cepa de *Acinetobacter baumannii*. sobre un portaobjetos debidamente rotulado, se agrego 1 gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La reacción positiva que evidenció *Acinetobacter baumannii* por la enzima catalasa que descompone el (H_2O_2) en agua (H_2O) se evidencio la liberación

de oxígeno (O_2) en forma de burbujas (Aryal, 2022). Esta prueba está basada en que la enzima antioxidante que protege a las bacterias de la toxicidad del peróxido de hidrógeno, un subproducto del metabolismo aeróbico. Esta reacción rápida es visible. En condiciones aeróbicas se utiliza 3% de H_2O_2, mientras que en condiciones anaerobias se utiliza 15% de H_2O_2 (Sapakota, 2022)

G. Crecimiento a 44°C: Las 50 cepas de *Acinetobacter spp.* fueron cultivadas en Agar Sangre, y se incubaron a 44°C por 24 horas. Se observó el crecimiento en aquellas cepas que eran *Acinetobacter baumannii*, siendo la única especie del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* con la capacidad de crecer a esa temperatura (Bouvet & Grimont, 1986) como lo mencionó (Asif et.al., 2018). En la siguiente Tabla 2 se detallan las características bioquímicas que comparten y se diferencian dentro del complejo.

Tabla 2
Características bioquímicas del complejo *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii*

Pruebas	Especies					
	Acinetobacter baumannii	*A. nosocomialis*	*A. pitti*	*A. calcoaceticus*	*A. seifertii*	*A. dijkshoorniae*
Movilidad	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-
Ornitina	-	-	-	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-	-
Citrato	+	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+
Gas	-	-	-	-	-	-
H_20_2	-	-	-	-	-	-
LIA	K/K (Inclinación alcalina)	K/K (Inclinación alcalina)	K/K (Inclinación alcalina)	K/K (Inclinación alcalina)	K/K (Inclinación alcalina)	K/K (Inclinación alcalina)
Hemólisis	- (γ hemólisis)	- (γ hemólisis)	- (γ hemólisis)	- (γ hemólisis)	- (γ hemólisis)	- (γ hemólisis)
Crecimiento a 37 C°	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a 41 C°	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a 44 C°	+	-	-	-	-	-

2.3.5. Determinacion fenotípicas de carbapenemasas

2.3.5.1. Método de Inactivacion de Carbapenemicos Optimizado (oCIM) para *Acinetobacter baumannii*

El método modificado de inactivación de carbapenem (mCIM) fue mejorado por el oCIM, ya que el CLSI indica que el mCIM no es aplicable para el *Acinetobacter baumannii* por su baja sensibilidad y especificidad. El oCIM permite la detección objetiva y precisa de *Acinetobacter baumannii* productor de carbapenemasas al evaluar los factores de inóculo, volumen del caldo de incubación y tiempo de incubación del disco MEM, obtuvieron una sensibilidad de 92,94% (85.27-97,37%) y especificidad del 100% (47.82-100%). Está fundamentada en la capacidad enzimática de hidrolizar a los Carbapenémicos usando el Meropenem (MEM) de 10 µg presente en el papel filtro del disco de sensibilidad (Zhang et al., 2023). El método consta de los siguientes pasos, que de manera gráfica se presenta en la Figura 7:

- A partir de un cultivo fresco de 24 hrs. en Agar Sangre Bovina.
- Se tomó un inóculo bacteriano de 10µL, con una densidad de OD_{600} 9.6 de absorbancia equivalente a 4,00 McFarland aproximadamente a una absorbancia de 9.6 a 600 nm en el espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo 6132YP102346)
- Se coloco el inóculo en 400µL de caldo tripticasa de soya (TSB)
- Se homogenizo por 10 a 15 segundos en Vortex (Lavenet)
- Luego, se agregó el disco de sensibilidad de Meropenem (10µg)(Bioanalyse) en cada cepa.
- Se incubo en aerobiosis a 35°C +/-2 por 6 hrs.
- Posteriormente, se retiraron los discos a través de la pared del tubo presionando suavemente.
- Se colocaron en Agar Muller Hinton (Merck) con *E. coli* ATCC 25922, previamente haber evaluado la turbidez en espectrofotómetro de 0.80 - 0.13 en 625 nm

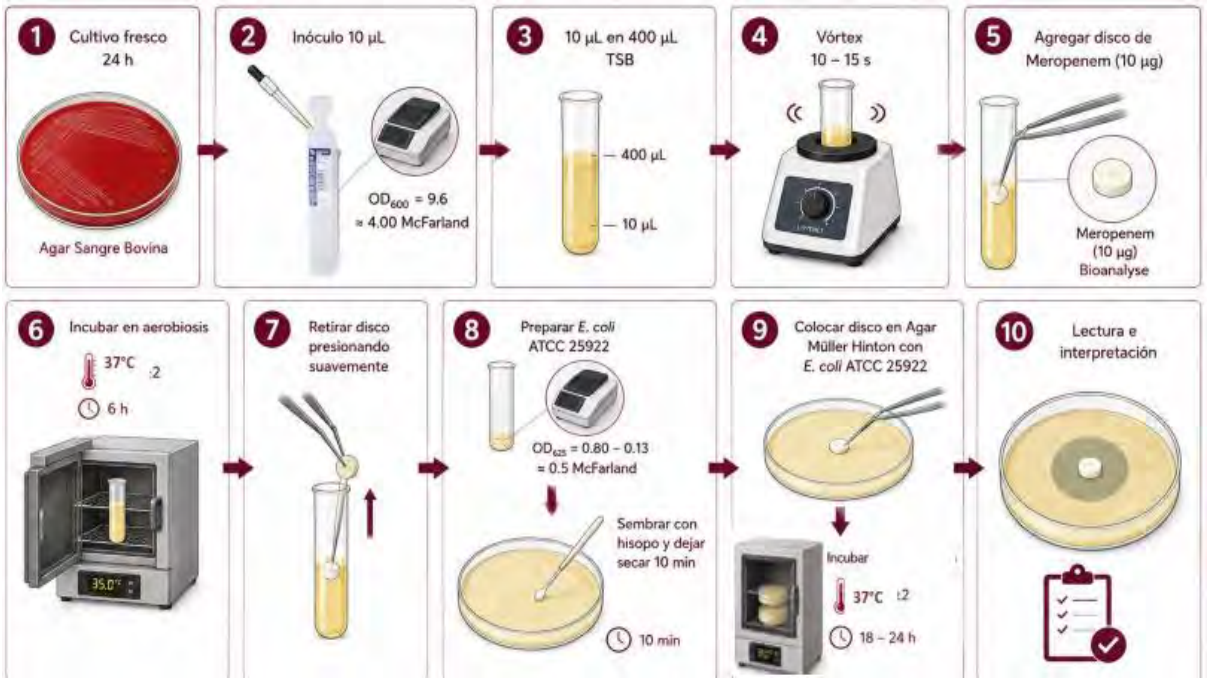
equivalente a 0.5 McFarland. Después de haber extendido con hisopo la *E. coli* ATCC 25922 dejarlo secar por 10 min.

- Se añadieron los sensidiscos preincubados de Meropenem (10µg) (Bioanalyse) al Agar Muller Hinton (Merck) con *E. coli* ATCC 25922. Posteriormente se incubaron en anaerobiosis a 37°C +/-2 por 18 o 24 hrs.
- Finalmente, se realizó la lectura e interpretación

Interpretación

- oCIM positivo: Un diámetro de zona de inhibición de 6 – 20 o ≤ 22
- oCIM indeterminado: Un diámetro de zona de inhibición de 23-25 mm
- oCIM negativo: Un diámetro de zona de inhibición de ≥ 26 mm

Figura 7
Procedimiento del Método de Inactivación de Carbapenémicos Optimizado (oCIM)



Fuente: *basado en (Zhang et al., 2023)*

2.3.5.2. Método de Inhibición de los Carbapenemicos Rápido (rCIM-A) para *Acinetobacter baumannii*

El método modificado de inactivación de carbapenenmasas (mCIM) es prometedor en la detección de carbapenemasas en enterobacterias mediante la hidrólisis del Meropenem. Pero se ve obstaculizado por un rendimiento en tiempo de obtención de resultados y la baja confiabilidad para *Acinetobacter baumannii* (CLSI, 2018). Por ello investigadores tuvieron el reto de desarrollar nuevos métodos fenotípicos con mayor confiabilidad y en menos tiempo de detección en *Acinetobacter baumannii* de ello surge el CIM rápido (rCIM-A) con una sensibilidad (97,4%) y especificidad (92.9%) utilizando discos de Ertapenem, Imipenem y Meropenem con una corta incubación como se detalla en la Figura 8 y en los siguientes pasos (Mitteregger et al., 2022b):

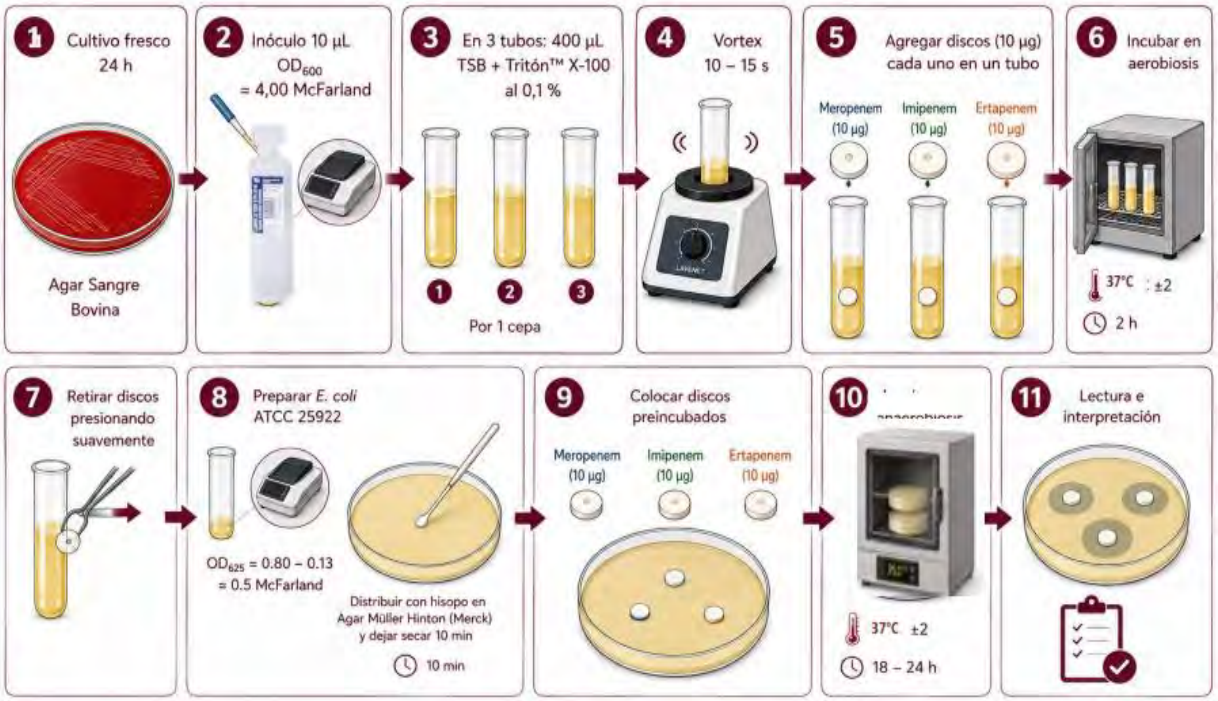
- A partir de un cultivo fresco de 24 hrs. en Agar Sangre Bovina.
- Se tomó un inóculo bacteriano de 10µL, con una densidad de OD 600 equivalente a 4,00 McFarland.
- Se coloco cada inóculo en 400µL de caldo tripticasa de soya (TSB) más Tritón TM X-100 al 0,1 % en 3 diferentes tubos por 1 cepa.
- Se homogenizo por 10 a 15 segundos en Vortex (Lavenet).
- Luego, se agregaron los discos de sensibilidad de Meropenem (10µg) (Bioanalyse), Imipenem (10µg) (Bioanalyse) y Ertapenem (10µg) (Bioanalyse) cada uno individualmente en un tubo tapa rosca que contiene la cepa bacteriana de estudio.
- Se incubaron en aerobiosis a 37°C +/-2 por 2 hrs.
- Posteriormente, se retiraron los discos a través de la pared del tubo presionando suavemente.

- Se valuo la turbidez en espectrofotómetro de 0.80 - 0.13 en 625 nm equivalente a 0.5 McFarland de *E. coli* ATCC 25922 y distribuirlo homogéneamente con hisopo en Agar Muller Hinton (Merck) dejarlo secar por 10 min.
- Se colocaron los discos preincubados de Meropenem (10µg) (Bioanalyse), Imipenem (10µg) (Bioanalyse) y Ertapenem (10µg) (Bioanalyse) en Agar Muller Hinton (Merck) con *E. coli* ATCC 25922.
- Finalmente, se incubaron en anaerobiosis a 35°C +/-2 por 18 o 24 hrs. Y se realizó la lectura.

Interpretar

- rCIM positivo: Zona de inhibición de ≤ 25,5 mm
- rCIM negativo: Zona de inhibición de ≥ 26 mm

Figura 8
Método de Inhibición de los Carbapenemicos rápido (rCIM-A)



Fuente: *basado en (Mitteregger et al., 2022b)*

2.3.5.3. Método modificado de inactivación de Carbapenemicos con el agregado de EDTA (eCIM)

Este método discrimina entre las carbapenemasas dependientes de serina y dependientes de un metal (MBL, ejemplo de enzimas NDM, IMP y VIM) que está basado en sus mecanismos hidrolíticos que requieren de iones de zinc para la catálisis y son inhibidas por agentes quelantes de metales como el EDTA (Sfeir et al., 2019), dicho método posee la sensibilidad y especificidad general de 100% que fue adoptado por el CLSI. El eCIM es válido cuando el mCIM es positivo (CLSI, 2018). Se detalla los pasos en la Figura 9, asimismo en lo siguiente:

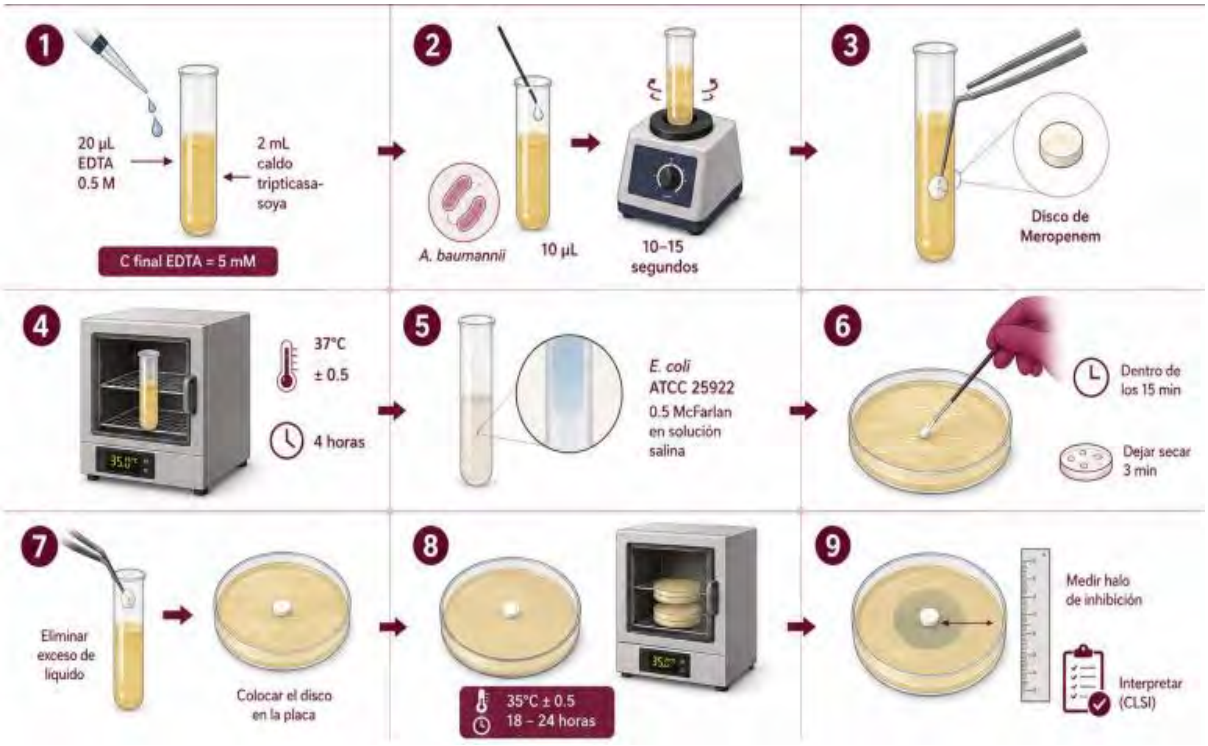
- Se añadieron 20 µL de una solución de EDTA 0.5 M a un tubo que contenga 2 mL de caldo tripticasa-soya para cada aislamiento, con el fin de alcanzar una concentración final de 5 mM de EDTA.
- Se suspendió una asada 10µL de cepa de *Acinetobacter baumannii* al caldo tripticasa-soya previo agitando en vortex por 10 -15 segundos
- Se introdujo del disco de Meropenem en la suspensión completamente sumergido.
- Se incubaron la mezcla a 35°C +/- 35 durante 4 horas.
- Se preparo una suspensión de *E. coli* ATCC 25922 con tubidez de 0.5 McFarlan en solución salina.
- Dentro de los 15 min. Se sembró en una placa Muller-Hinton con *E.coli* usando un hisopo estéril, dejar secar la placa por 3 min.
- Se retiro el disco de Meropenem del caldo eliminando el exceso de líquidos y colocar en la placa sembrada.
- Se incubo las placas invertidas a 35°C durante 18 – 24 hrs. finalmente se midieron los halos de inhibición e interpretaron.

Interpretación

- MBL positivo: Incremento de zona de inhibición ≥ 5mm de eCIM vs mCIM

- MBL negativo: Incremento de zona de inhibición ≤ 4mm de eCIM vs mCIM

Figura 9
Método Modificado de Inactivación de Carbapenémicos con agregado de EDTA



Fuente: *basado en (CLSI, 2018).*

2.3.6. Caracterización genotípica de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos mediante PCR convencional

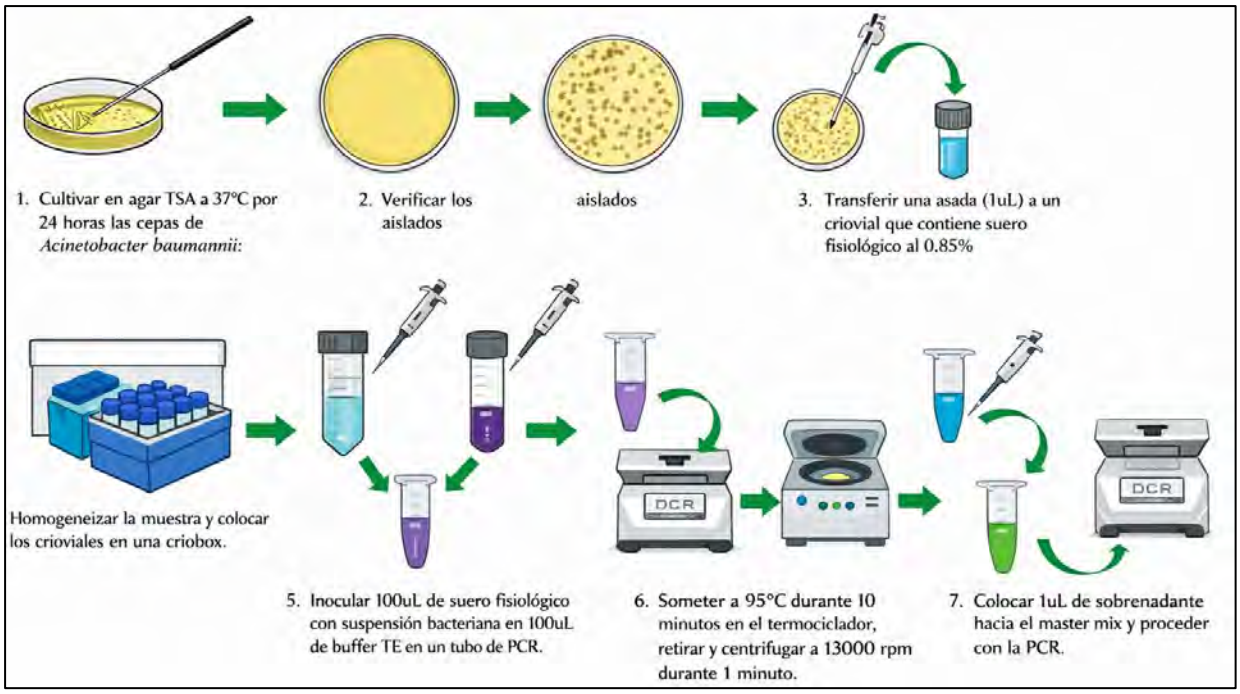
2.3.6.1. Extracción de ADN mediante el método de Boiling

La extracción de ADN bacteriano es un procedimiento que implica la destrucción de las membranas celulares para liberar el material genético, seguido de su separación de otros componentes celulares. En este estudio, la extracción se realizó mediante el método de ebullición (Boiling), el cual consiste en someter las células a altas temperaturas para lisarlas y liberar el ADN, que posteriormente puede ser utilizado en técnicas moleculares como PCR. Este método es rápido, económico y eficiente, y garantiza la obtención de ADN adecuado para lisis posteriores (Shin et al., 2021)

Para la extracción de ADN plasmídicos de *Acinetobacter baumannii* se desarrollaron los siguientes pasos (Yadav et al., 2025):

- Las 21 cepas identificadas como *Acinetobacter baumannii* fueron cultivadas en agar TSA por 24 horas a 35°C +/-2, hasta la obtención de colonias aisladas.
- Se transfirió una colonia (1µL) a un criovial que contiene suero fisiológico al 0.85% estéril.
- Se homogeneizó por 15 segundos, se colocaron los crioviales de un criobox.
- Se inocularon 100 µL de suero fisiológico con suspensión bacteriana en 100 µL de buffer TE en un tubo de PCR correctamente rotulado.
- Se sometió a lisis térmica a 95°C por 10 minutos en el termociclador. Posteriormente se centrifugó a 13000 rpm durante 60 segundos.
- Finalmente, se colocó un 1 µL de sobrenadante hacia el master mix y proceder con la PCR (ver en Tabla 4 y Tabla 3)

Figura 10
Protocolo de extracción de ADN plasmídico en cepas de *Acinetobacter baumannii*



Fuente: *Basado a (Shin et al., 2021)*

2.3.6.2. Amplificación mediante la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR)

Utilizando la técnica de la PCR convencional se hizo la identificación de los genes *bla*$_{OXA-23}$, *bla*$_{NDM}$ y *bla*$_{IMP}$. Al ser un proceso inicial caliente que activa la enzima, las reacciones se pueden ensamblar el trabajo de temperatura ambiente a transferirlo a un termociclador. Por ello no requiere un proceso de extracción de ADN como tal. Las cepas patrón controles positivos fueron incluidas en todos los experimentos de PCR junto a las cepas patrón controles negativos (Casas & Castillo, 2019); en la Tabla 3 y Tabla 4 se detalla el master mix y las condiciones de la PCR.

Tabla 3
Master mix para la PCR de los genes carbapenemasas en cepas de *Acinetobacter spp.*

Reactivo	***bla*$_{NDM}$**			***bla*$_{IMP}$**			***bla*$_{OXA-23}$**		
	Inicial	**Final**	**Volumen**	**Inicial**	**Final**	**Volumen**	**Inicial**	**Final**	**Volumen**
Go TaqBuffer	5X	1X	5µl	5X	1X	5µl	5X	1X	5µl
MgCl2	25 mM	1,5 mM	1,5µl	25 mM	2 mM	2 µl	25 mM	2,5 mM	2,5µl
bNTPs	10 mM	.2 mM	0.5µl	10 mM	0.2mM	0.5µl	10 mM	0,5 uM	0.5µl
Primers F	10 uM	0,2 uM	0.5µl	10 uM	0,2 uM	0.5µl	10 uM	0,5 uM	0.5µl
Primers R	10 uM	0,2 uM	0.5µl	10 uM	0,2 uM	0.5µl	10 uM	0,5 uM	0.5µl
Taq polimerasa	5 U/ul	1U	0.2µl	6 U/ul	1U	0.2µl	5 U/ul	1U	0.2µl
Agua PCR			15.8µl			15.3µl			14.8µl
ADN bacteriano			1µl -			1µl -			1µl -
Volumen Total			**24 µl**			**24 µl**			**24 µl**

Tabla 4
Condiciones de amplificación para la PCR de genes carbapenemasas en cepas de *Acinetobacter baumannii*

Condiciones de amplificación	bla_{NDM}			bla_{IMP}			bla_{OXA-23}		
	T°	Tiempo	Ciclos	T°	Tiempo	Ciclos	T°	Tiempo	Ciclos
Extracción de ADN bacteriano por lisis por calor	95°C	10 min	1	95°C	10 min	1	95°C	10 min	1
Desnaturalización	95°C	5 min		95°C	5 min		95°C	3 min	
Desnaturalización Hibridación	95°C	30 seg	30	95°C	30 seg	15	95°C	1 min	30
Extensión	55°C	30 seg		53°C	45 seg		55°C	1 min	
Extensión final	72°C	1 min		72°C	1 min		72°C	1 min	
	72°C	10 min	1	72°C	1 min	1	72°C	10 min	1

Fuente: *Tablas basadas en (Casas & Castillo, 2019; Hou & Yang, 2015) (Davoodi et al, 2015)*

2.3.6.3. Electroforesis

Se utilizó la electroforesis en gel de agarosa, la cual permite visualizar la separación de nuestros productos de amplificación (en caso lo hubiera) para su visualización bajo iluminación UV o un fotodocumentador (Sharma et al., 2023) se siguió los siguientes pasos:

- Se preparó el buffer TAE 1X
- Se elaboró un gel de agarosa al 1.5% de concentración, agregando 10 µL del buffer GelStain 10000 X para los genes bla_{OXA-23}, bla_{NDM} y bla_{IMP}.
- Se cargó 10 µL de marcador de peso molecular en el primer pocillo, en los siguientes se cargó el blanco (B), agua (A), control positivo, negativo y muestras.
- Se realizó la corrida electroforética bajo condiciones específicas, las cuales se detallan en la Tabla 5.

Tabla 5
Condiciones de corrida de electroforesis

Genes Carbapenémicos	Agarosa	Voltaje	Tiempo
GEN NDM	1.5%	90 V	1 hora y 30 minutos
GEN OXA	1.5%	90 V	1 hora y 20 minutos
GEN IMP	1.5%	90 V	1 hora y 30 minutos

La medición de las bandas de amplificación se estimó en base al marcador molecular de 100 pb y al control positivo

2.3.7. Aspectos éticos

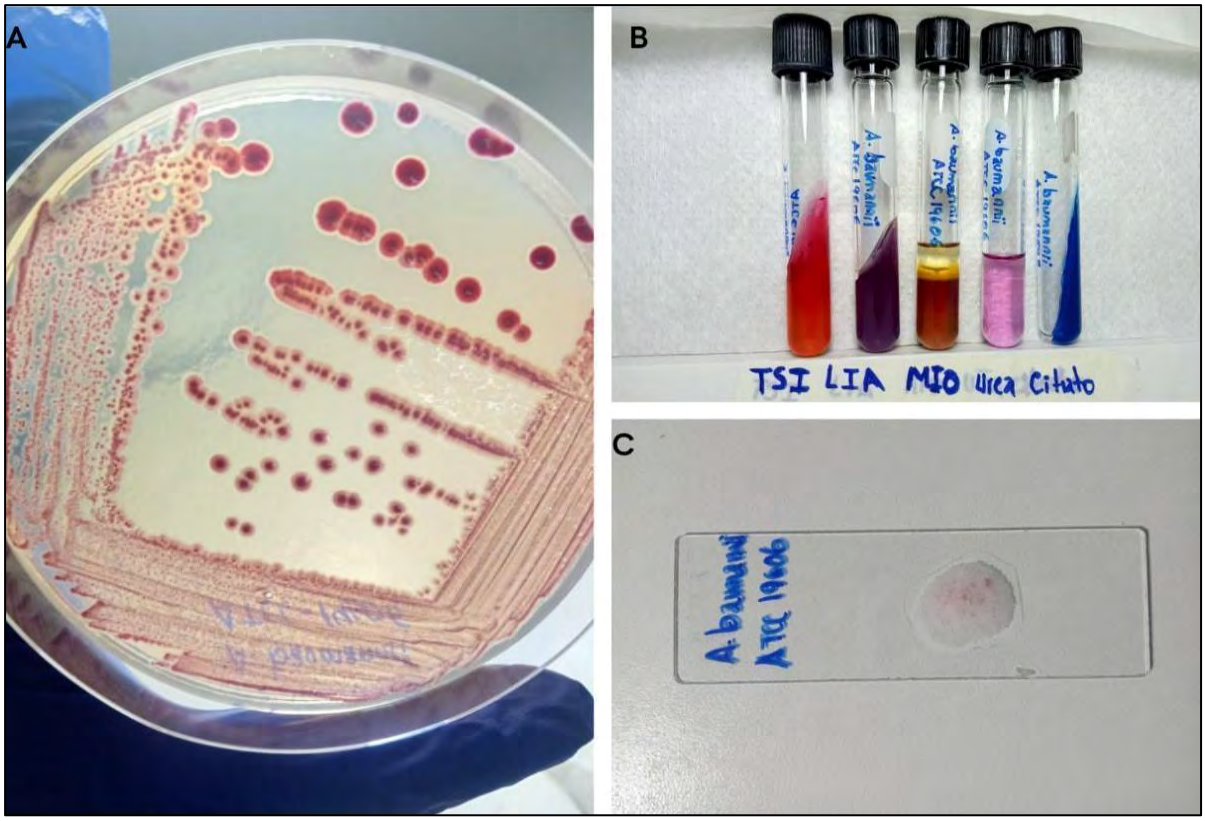
El presente estudio se realizó utilizando cepas de *Acinetobacter spp.* proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional del Cusco, contando con la autorización institucional correspondiente según el PROVEÍDO N°161-2023-GR CUSCO/GERESA-HRC-DE-OCIDI. Las cepas fueron proporcionadas de pacientes atendidos en el hospital; sin embargo, no se utilizaron muestras biológicas directas ni se accedió a historias clínicas o datos personales identificables. En este contexto, el estudio se desarrolló en concordancia con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (World Medical Association,2024). De acuerdo con esta normativa, se garantizó la confidencialidad y el anonimato de los pacientes mediante el uso de códigos, evitando la revelación de su identidad. Asimismo, al tratarse de material microbiológico secundario y no aplicar la participación directa de seres humanos, no fue necesario solicitar consentimiento informado individual, conforme a la normativa ética vigente.

CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados de la identificación de genes de Carbapenemasas en cepas de *Acinetobacter baumannii*

Las 50 cepas de *Acinetobacter spp.* proporcionadas por el Hospital Regional del Cusco, estas cepas fueron sometidas a un proceso de aislamiento e identificación microbiológica a través de pruebas diferenciales y selectivas. Para ello se cultivaron en el agar cromogénico Acinetobacter (CHROMagar TM) el cual altamente selectivo y diferencial, permitiendo una caracterización cualitativa y morfológica acordes en *Acinetobacter spp.* Así mismo se realizó las pruebas bioquímicas haciendo uso de los medios de cultivo: Hierro tres azucares (TSI), Agar Lisina Hierro (LIA), Movilidad indol ornitina (MIO), Citrato de Simmons y Caldo urea; adicionando la prueba de la catalasa. En el cual el 100% de cepas crecieron en el medio diferencial y selectivo indicando que todas pertenecen al género Acinetobacter siendo corroborado por las pruebas bioquímicas y catalasa de la cepa control como se muestra en la Figura 11.

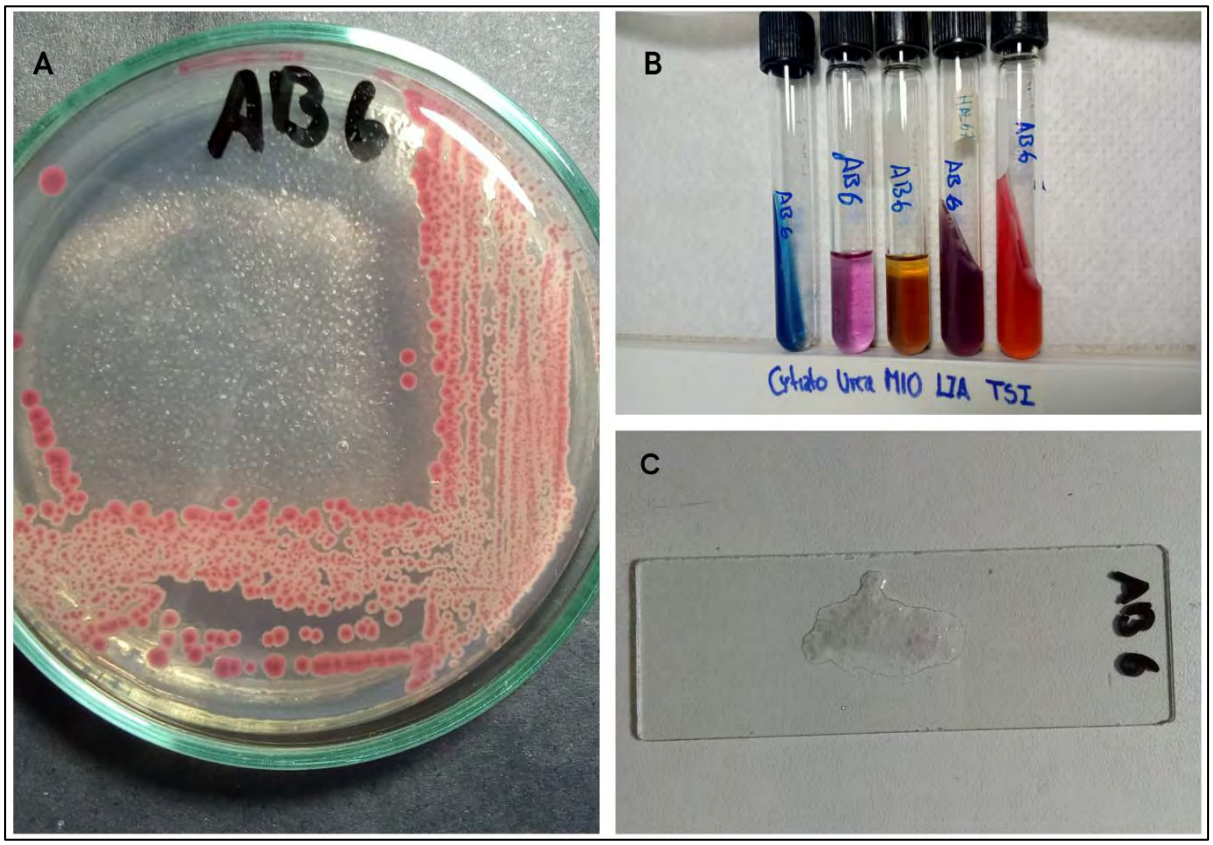
Figura 11
Cepa de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 en CHROMagar ™, pruebas bioquímicas



Nota: *A) Cultivo bacteriano de la Acinetobacter baumannii ATCC 19606 en CHROMagar ™ tomó la coloración roja distintiva de Acinetobacter en agar cromogénico selectivo y diferencial. B) Diferenciación Bioquímica: TSI (K/K), Gas (-), H2S(-), LIA (K/K), Movilidad (-), Indol (-) Ornitina (-), Citrato (+) y Ureasa (-). C)Prueba de la catalasa (+). Los resultados nos brindan la certeza de que se trata de una cepa de Acinetobacter.*

Se utilizó un enfoque combinado de medio cromogénico que permite una identificación visual rápida y eficaz de colonias presuntivas de *Acinetobacter spp*. y pruebas bioquímicas convencionales como TSI, LIA, MIO, UREA, Citrato de Simons y Catalasa dichas pruebas se puede observar en la Figura 12 y Anexo 2, las cuales fortalecen la validez de la identificación taxonómica a nivel de género. Particularmente, los resultados obtenidos en la cepa *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 (Control positivo) fueron consistentes. Dicha cepa patrón permite establecer una línea de comparación confiable, asegurando la correcta interpretación de las características fenotípicas.

Figura 12
Crecimiento bacteriano, pruebas bioquímicas y catalasa de AB6



Nota: *A) Cultivo en CHROMagar ™ de AB6 con la coloración roja distintiva por la presencia de sustratos cromogénicos que son escindidos por enzimas producidas por Acinetobacter en agar cromogénico lo que lo hace selectivo y diferencial. B) Diferenciación Bioquímica: TSI (K/K) el viraje del pico hacia un rosa intenso (pH> 8,4) se debe a que AB6 metaboliza las peptonas liberando NH_3 el cual genera un cambio del pH del rojo de fenol (pH7), Gas (-), H2S(-), LIA (K/K), Movilidad (-), Indol (-) Ornitina (-), Citrato (+) y Ureasa (-). C)Prueba de la catalasa (+). Los resultados nos brindan la certeza de que se trata de una cepa de Acinetobacter*

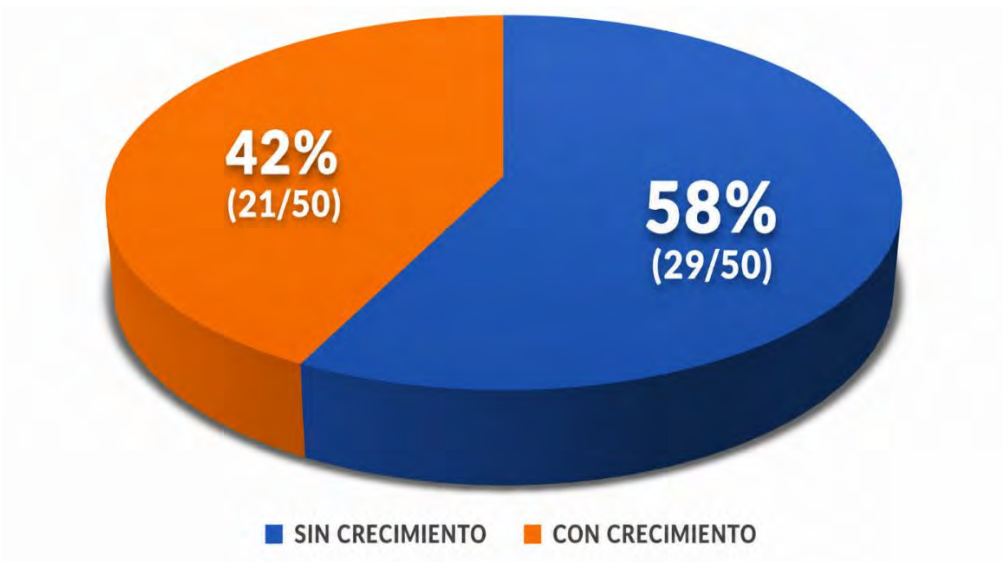
En el presente estudio, se determinó que el 100% (50/50) de las cepas corresponden al género Acinetobacter, empleando el medio cromogénico selectivo diferencial CHROMagarTM Acinetobacter. El cual ha demostrado ser efectivo en la detección preliminar de *Acinetobacter spp*. con una especificidad del 91,60 % y una sensibilidad del 94,70 %, según reportes previos (Ajao et al., 2011) estas características convierten al CHROMagarTM en una herramienta diagnóstica confiable, particularmente útil en laboratorios donde se requiere una identificación rápida y eficaz a nivel del género. No obstante, este estudio no consideró la morfología colonial como criterio de identificación, dado que existen evidencias contradictorias sobre su valor

diagnóstico. Por ejemplo (Ajao et al., 2011) observaron que las colonias de *Acinetobacter baumannii* MDR eran colonias redondas y lisas, mientras que los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* no MDR aparecen como colonias mucoides. En contraste, (Scoffone et al., 2025) señala que la morfología colonial es variable dentro del género Acinetobacter, por lo que no constituye un rasgo diferencial confiable. esta discrepancia justifica la exclusión de la morfología como criterio en este estudio.

3.1.1. Resultados de crecimiento de *Acinetobacter baumannii* a una Temperatura de 44° C

Las 50 cepas proporcionadas de *Acinetobacter spp.* se cultivó en agar sangre bovina e incubó a 44°C durante 24 horas. Del cual solo 21/50 (42%) de cepas crecieron a esas condiciones de temperatura resultando ser *Acinetobacter baumannii* corroborado por el crecimiento de la cepa patrón *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 como se observa en la Figura 13 (a) y Anexo1.

Figura 13
Crecimiento de *Acinetobacter baumannii* a una temperatura de 44°C



Debido a que la identificación fenotípica precisa a nivel de especies del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*, es un reto muy complicado debido a la estrecha relación, características fenotípicas y bioquímicas similares como lo mencionó (Vijayakumar et al., 2019). No obstante, para el reconocimiento de *Acinetobacter baumannii* especie de más importancia clínicas de este complejo, según (Asif et.al., 2018). Sin embargo, (Otiniano y

Rivera, 2021) obtuvo que el 100% (51/51) de cepas provenientes del Hospital Nacional de Referencia en Lima se traban de *Acinetobacter baumannii*. Se puede deducir que la capacidad de crecimiento de *Acinetobacter baumannii* a diferentes temperaturas está ligada a que la bacteria forma biopelículas que protegen en las fluctuaciones de la temperatura (Dekic et al., 2018). Así mismo genera un mecanismo adaptativo llamado hemoviscosidad en la cual la bacteria cambia la composición lipídica de su membrana celular específicamente glicerofosfolípidos (GPL) como la fosfatidiletanolamina (PE) y el fosfatidilglicerol (PG). Además de poseer enzimas como la desaturasa que le permite sintetizar ácidos grasos insaturados (Dessenne et al., 2024).

3.2. Caracterización fenotípica de *Acinetobacter baumannii* resistente a Carbapenémicos

3.2.1. Resultados del Método Optimizado de Inactivación de Carbapenémicos (oCIM) para *Acinetobacter baumannii*

Las 21 cepas de *Acinetobacter baumannii* fueron evaluadas mediante el método optimizado de inactivación de carbapenémicos (oCIM), el cual detectó una positividad del 95,2 % (20/21) como productoras de carbapenemasas, mientras que el 4,8 % (1/21) presentó un resultado indeterminado para carbapenemasas. Estos resultados, tomando como referencia la cepa control, indican que la mayoría de las cepas analizadas poseen enzimas que confieren resistencia a los carbapenémicos. Los hallazgos se presentan en la Tabla 6 y Figura 15, y sugieren una elevada frecuencia de mecanismos enzimáticos asociados con la resistencia a los carbapenémicos.

Figura 14
Método de oCIM, en las cepas control positivo y negativo



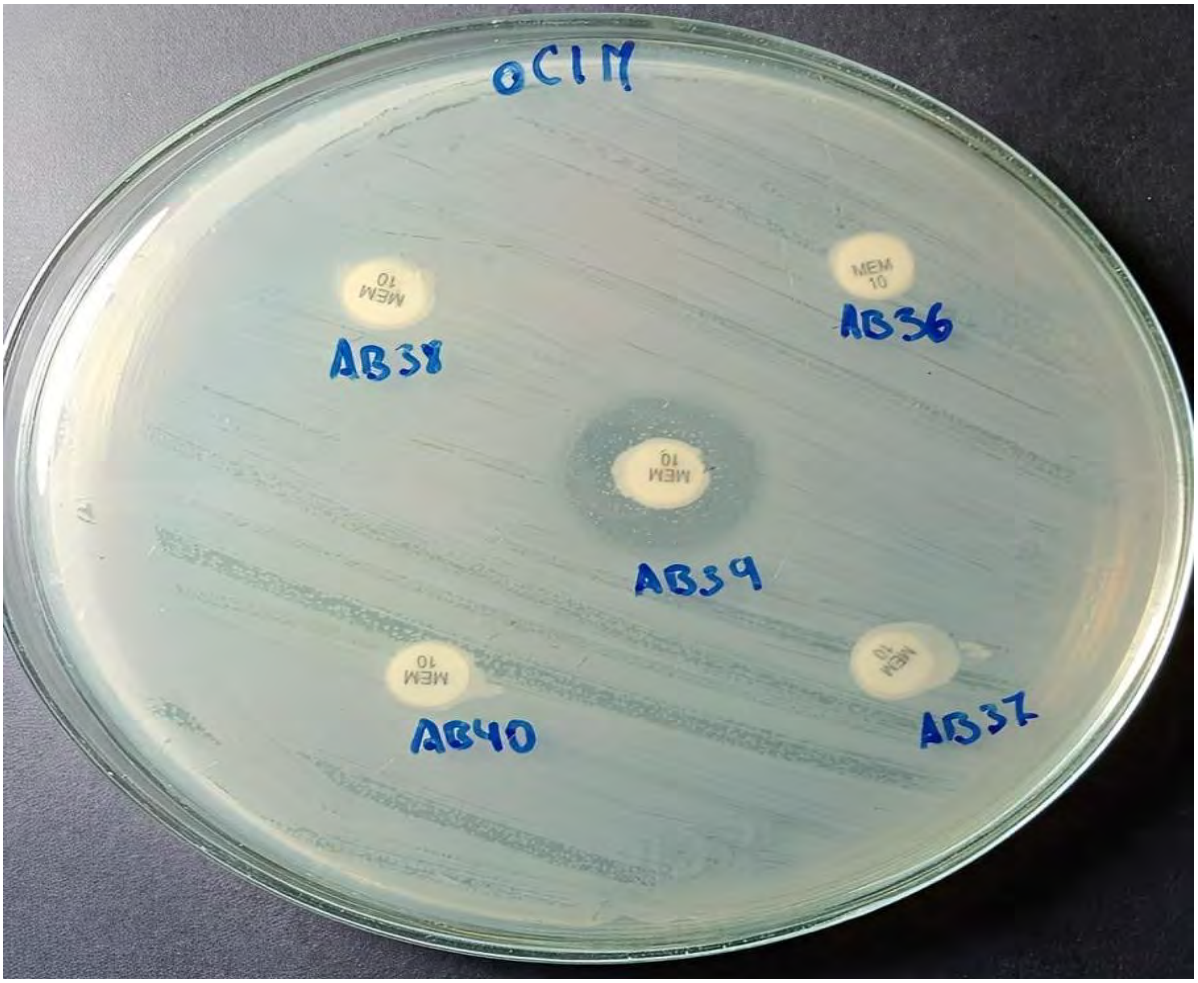
A *B*

Nota: *A) cepa de Klebsiella pneumoniae BAA 2146 con ausencia de zona de inhibición que indica hidrólisis enzimática del Meropenem por la presencia de enzimas de tipo carbapenemasas B) cepa de Acinetobacter baumannii ATCC 19606 con presencia de zona de inhibición y ausencia de microsatelitismo debido a la ausencia de enzimas carbapenemasas.*

Tabla 6
Determinación de carbapenemasas por oCIM en *Acinetobacter baumannii*

Método optimizado de inactivación de Carbapenémicos (oCIM)		
Fenotipo productor de carbapenemasa	Cantidad	Porcentaje (%)
Carbapenemasa positivo	20	95.2%
Carbapenemasa indeterminado	1	4,8%
Carbapenemasa negativo	0	0
TOTAL	21	100

Figura 15
Método de oCIM, cepas productoras de carbapenemasas sus zonas de inhibición en *Acinetobacter baumannii*



Nota: *Se observa el crecimiento de cepa E. coli ATCC 25922 alrededor de los sensidiscos de Meropenem que fueron preincubados independientemente en cepas de Acinetobacter. baumannnii como AB36, AB37, AB38, y AB40 en los cuales podemos ver que el sensidisco de MEM fueron inactivados por la presencia de carbapenemasas, mientras que en la AB39 podemos observar crecimiento de Acinetobacter baumannii alrededor del sensidisco (microsatélites de arrastre) y un halo de inhibición de 17 mm el cual nos indica que si hay presencia de carbapenemasas*

La detección fenotípica precisa de la producción de carbapenemasas en *Acinetobacter baumannii* representa un desafío, debido a la ausencia de métodos estandarizados recomendados por el (CLSI, 2018). Métodos como la prueba de Hodge modificada excluye *Acinetobacter baumannii* por las guías actuales el cual solo se recomienda en Enterobacteriales (CLSI, 2016). El mCIM no es aplicable a *Acinetobacter baumannii* (CLSI, 2022) y la prueba Carba NP ha dejado de recomendarse por su baja sensibilidad y reproducibilidad (CLSI,2018).

Aunque existen variantes como CarbAcineto NP (Dortet et al., 2014), CIMTris (Uechi et al., 2017), mCIM ajustado (Zhang et al., 2023) y sCIM (Khuntayaporn et al., 2021) ninguna ha sido adoptado oficialmente, en parte por su baja sensibilidad o especificidad y la aparición de falsos positivos. En contraste, el método optimizado de inactivación de carbapenémicos (oCIM) ha demostrado una sensibilidad de (92,94 %) y especificidad (100 %). Por este motivo, en este estudio se utilizó el método oCIM que permitió detectar en este estudio la producción de Carbapenemasas en el 95,2% (20/21) de cepas de *Acinetobacter baumannii*, lo que indica una alta prevalencia de mecanismos enzimáticos de resistencia a carbapenémicos en los aislamientos clínicos evaluados. Una cepa 4/8% mostró resultado indeterminado, posiblemente por la baja expresión enzimática o presencia exclusiva del gen bla_{OXA-51} que posee baja producción de Carbapenemasas. Como lo confirma el según estudios realizados por (Zhang et al., 2023) utilizaron 90 cepas clínicas del cual 85 cepas se confirmaron como carbapenemasas positivas mientras que los 5 restantes se trataban de cepas con baja producción de carbapenemasas porque solo contenían bla_{OXA-51}.

3.2.2. Resultados de Método Modificado de Inactivación de Carbapenémicos con el agregado de EDTA (eCIM)

La detección fenotípica de carbapenemasa de tipo NDM se realizó a las 21 cepas de *Acinetobacter baumannii* de los cuales solo 1/21 (4,7%) presentaban Carbapenemasas de tipo MBL, como se observa en la Tabla 7, Figura 16 y Figura 18.

Tabla 7
Resultados fenotípicos de carbapenemasa de tipo de MBL en *Acinetobacter baumannii*

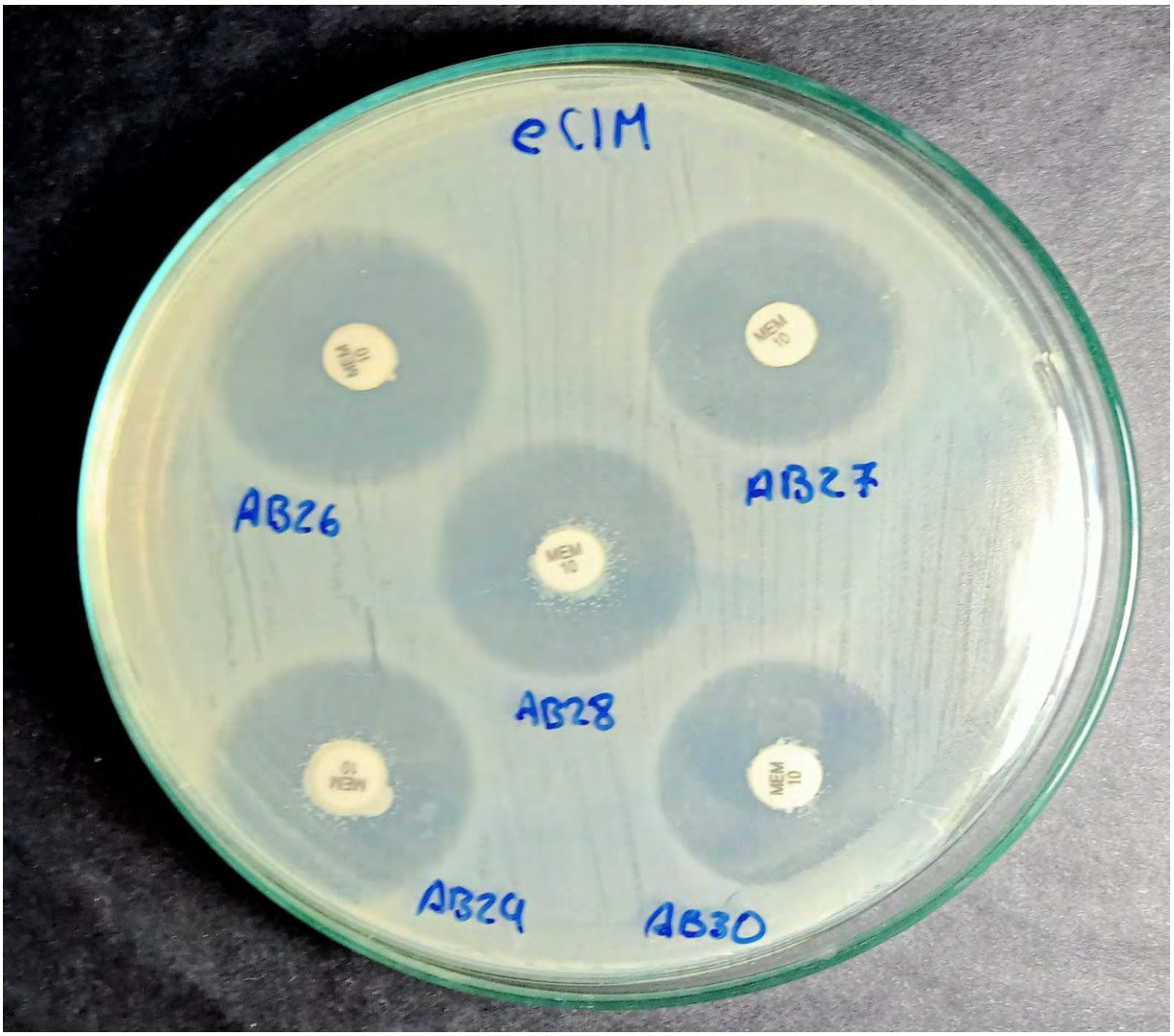
Método modificado de inactivación de carbapenemes con el agregado EDTA (eCIM)		
Fenotipo productor de Carbapenemasas	Cantidad	Porcentaje (%)
MBL positivo	1	4.8%
MBL negativo	20	95.2%
TOTAL	21	100

Figura 16
Prueba de eCIM, control positivo (*K. pneumaniae* BAA 2146)



Nota: *Se observa la presencia del halo de inhibición generada por el sensidiscos de Meropenem más 20 µL de EDTA 0.5 M que fue pre incubado con cepas de K. pneumoniae BAA 2146, el EDTA actúa como quelante cuando la cepa produce carbapenemasas tipo MBL dependientes del zinc*

Figura 17
Prueba de eCIM, *Acinetobacter baumannii* productora de carbapenemasa de tipo MBL



Nota: *Se observa presencia de halos de inhibición de los sensidiscos de Meropenem más 20 µL de EDTA 0.5 M que fueron preincubados independientemente en cepas de A. baumannnii como AB26, AB27, AB28, AB 29 y AB30. Sin embargo, la formación del halo de inhibición no es determinante para confirmar la presencia de carbapenemasas de tipo MBL, ya que esta prueba se realiza siempre en cuando previamente fue identificada como productor de carbapenemasas.*

El método eCIM utiliza la capacidad del EDTA para quelar los iones de zinc, los cuales son esenciales para la actividad catalítica de las MBL. De esta manera, la inhibición de estas enzimas permite la acción del meropenem, evidenciada por la presencia de un halo de inhibición alrededor del sensidisco (CLSI, 2023). La baja prevalencia de MBL **(**4,8 %**)** observada en las cepas estudiadas coincide con lo reportado por Sfeir et al. (2019), quienes señalaron la predominancia de carbapenemasas del tipo oxacilinasa en comparación con las

MBL, debido a que su distribución puede variar según factores epidemiológicos. Asimismo, el método eCIM presenta ciertas limitaciones, por lo que se recomienda complementarlo con otras pruebas fenotípicas y técnicas moleculares**,** a fin de reducir la posibilidad de resultados falsos positivos o negativos. Esto se debe a que la presencia o ausencia de un halo de inhibición puede estar influenciada por otros mecanismos de resistencia, como las bombas de eflujo o la pérdida de porina**s**, que no son específicos de las MBL (Lasko et al., 2020).

3.2.3. Resultados del Método de inhibición de los Carbapenemicos rápido (rCIM-A)

El método rCIM-A, brinda un buen rendimiento al usar el tritón como permeabilizante con 3 discos de sensibilidad y la obtención de resultados en corto tiempo lo establece como una buena opción diagnóstica fenotípica al poseer una especificidad 92,9 % y sensibilidad de 97,4%. Los controles positivos, negativo (Figura 17 y Figura 18) y 21 cepas de *Acinetobacter baumannii* fueron evaluados su resistencia a Meropenem más tritón al 0,1%, obteniendo un 100% de resistencia al Meropenem, 95,2% resistente al Imipenem y 85,7% resistente al Ertapenem que resultaron poseer las enzimas hidrolíticas llamadas carbapenémicas como se observó en la Tabla 8 y Figura 20.

Tabla 8
Resultados del rCIM-A, aplicados a las cepas de *Acinetobacter baumannii*

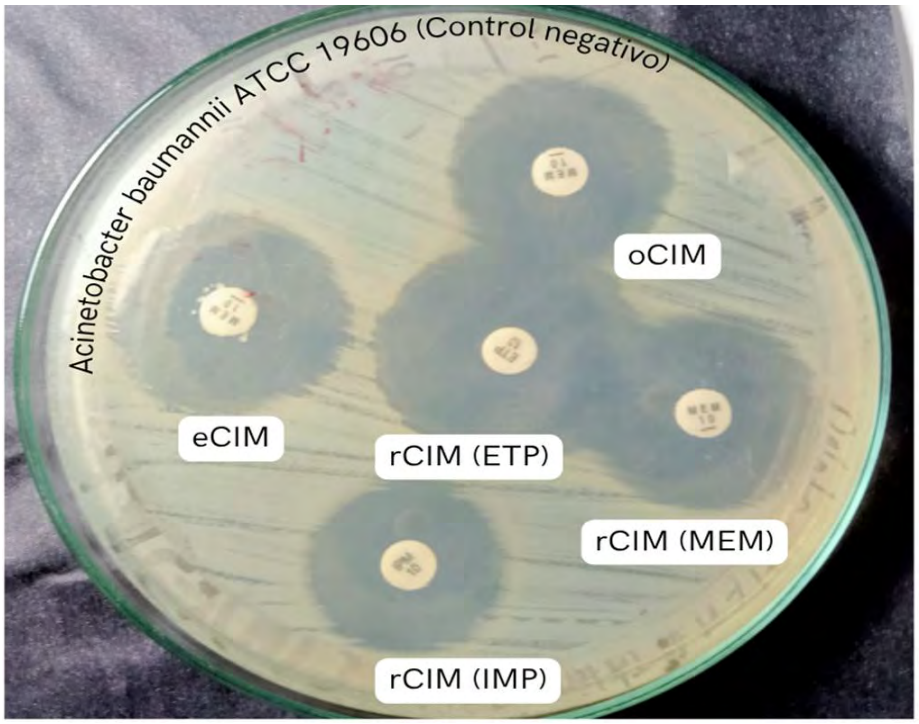
Fenotipo productor de Carbapenemasas	Metodo de Inhibicion de Carbapenemicos rapido (rCIM)					
	rCIM con Meropenem		rCIM con Imipenem		rCIM con Ertapenem	
	N°	**%**	**N°**	**%**	**N°**	**%**
Resistente	21	100	20	95,2	18	85,7
Intermedio	0	0	1	4,8	3	14,3
Total	**21**	**100**	**21**	**100**	**21**	**100**

Figura 18
Prueba de rCIM, control positivo *K. pneumoniae* BAA 2146



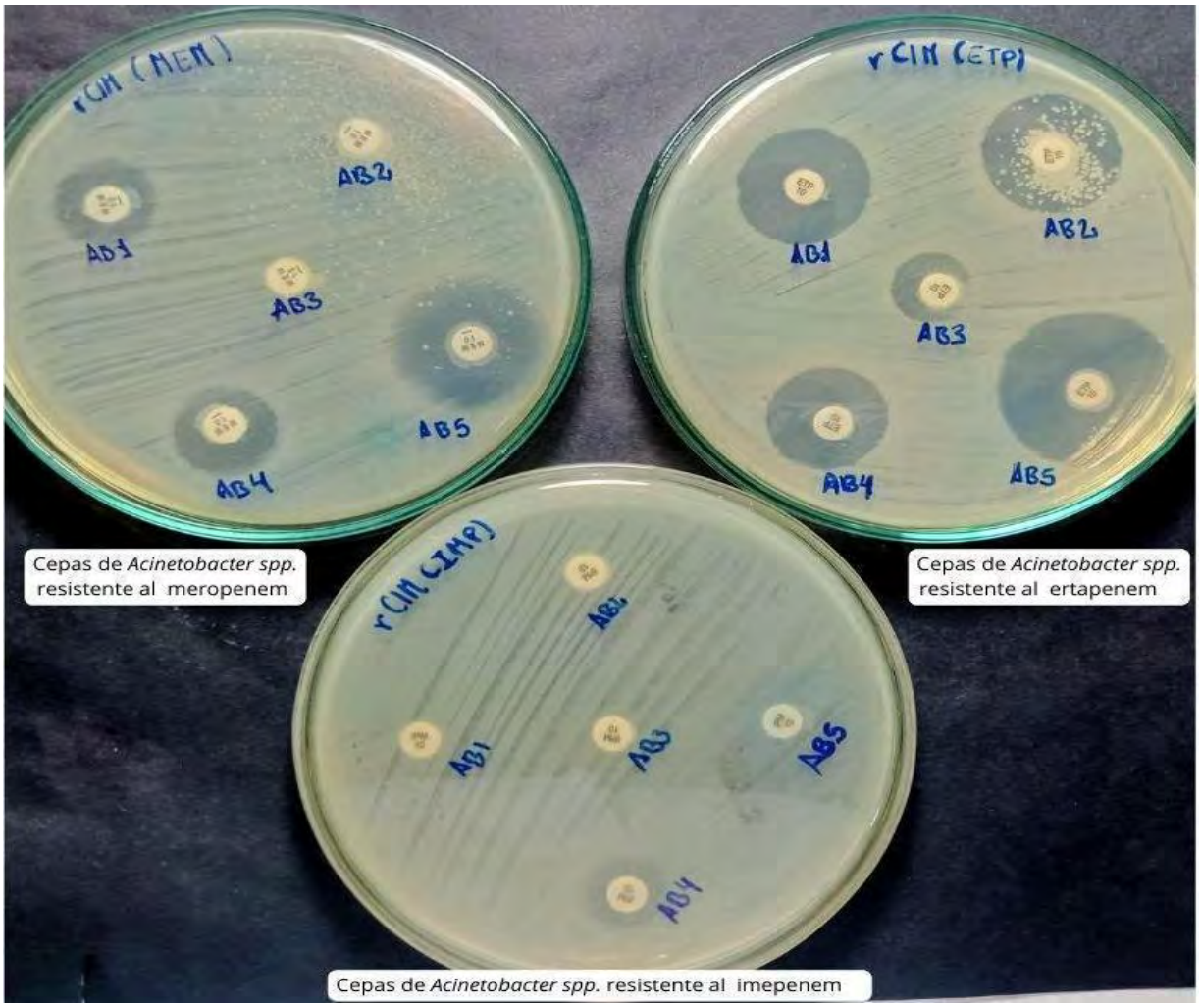
Nota: *Se observa la ausencia de halo de inhibición en los sensidiscos preincubados rCIM (MEM), rCIM (IMP) y rCIM (ETP) lo que indica la hidrólisis enzimática completa del Meropenem, Imipenem y Ertapenem*

Figura 19
Prueba de rCIM, control negativo *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606



Nota*: Se observa la presencia de halo de inhibición en los sensidiscos preincubados rCIM (MEM), rCIM (IMP) y rCIM (ETP) lo que indica que la cepa Acinetobacter baumannii ATCC 19606 no produce enzimas que hidrolizan al Meropenem, Imipenem y Ertapenem.*

Figura 20
Prueba de rCIM, resistencia de las cepas de *Acinetobacter baumannii* al Meropenem, Imipenem y Ertapenem.



Nota: *A) Se observa la resistencia al Meropenem de las cepas AB1 (15 mm), AB2 (6mm), AB3 (6mm), AB4 (15 mm) y AB5 (21 mm) con presencia de microsatélites. B) Se observa la resistencia al Ertapenem de las cepas AB1 (20 mm), AB2 (22mm) con presencia de microsatélites, AB3 (13 mm), AB4 (18 mm) y AB5 (28 mm) resultó ser rCIM negativo. C) Se observa la resistencia completa de todas las cepas al Imipenem*

Con el fin de brindar mayor certeza en la identificación fenotípica se complementa con el método de inhibición de los carbapenémicos rápido (rCIM-A) el cual cuenta con especificidad 92,9% y de sensibilidad de 97,4%, lo cual se maximizo al añadir 0,1%(vol/vol) de Triton ™ X-100. Se obtuvo el 100 % de resistencia al Meropenem, 95,2% al Imipenem y 85,7% al Ertapenem para la obtención de dichos resultados se tomaron en cuenta la presencia de

microsatélites de arrastre (Mitteregger et al., 2022b). Mientras que (Mitteregger et al., 2022a) indica que la más alta sensibilidad lo obtuvo por el disco de Imipenem (97,4%), estos resultados en comparación con los de nuestro estudio existe una pequeña variación. Estos métodos fenotípicos son de bajo costo, con una factibilidad y alta reproducibilidad en el laboratorio de microbiología

3.3. Resultados de la detección molecular (PCR) de genes *bla$_{OXA-23}$*, *bla$_{NDM}$* y *bla$_{IMP}$* en *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos

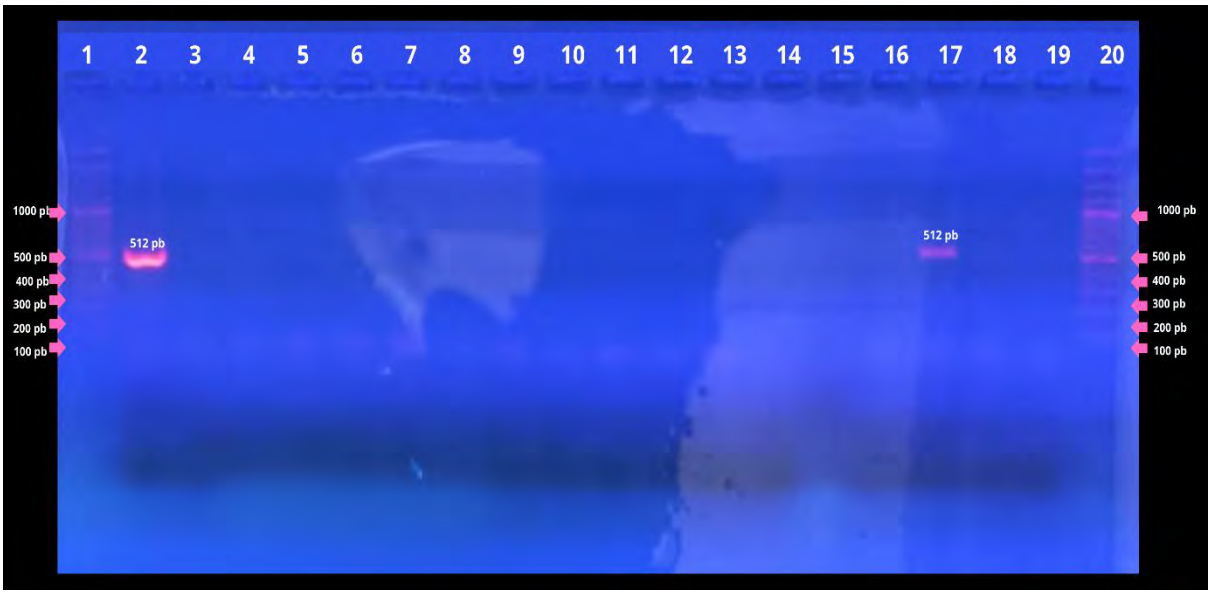
3.3.1. Resultados de la detección genotípica de Metalobetalactamasas

La detección de genes codificantes de Metalobetalactamasas (*bla$_{NDM}$* y *bla$_{IMP}$*) en 21 cepas de *Acinetobacter baumannii*. mostró que 1 cepa (4,8%) contenía el gen *bla$_{NDM}$* y sin hallazgos de *bla$_{IMP}$* (Figura 21). Se identificaron la presencia de dichos genes en las cepas recolectadas como se observa en la Tabla 9 y Figura 21.

Tabla 9
Detección molecular por PCR convencional del gen *bla$_{NDM}$* y *bla$_{IMP}$* en cepas de *Acinetobacter baumannii*

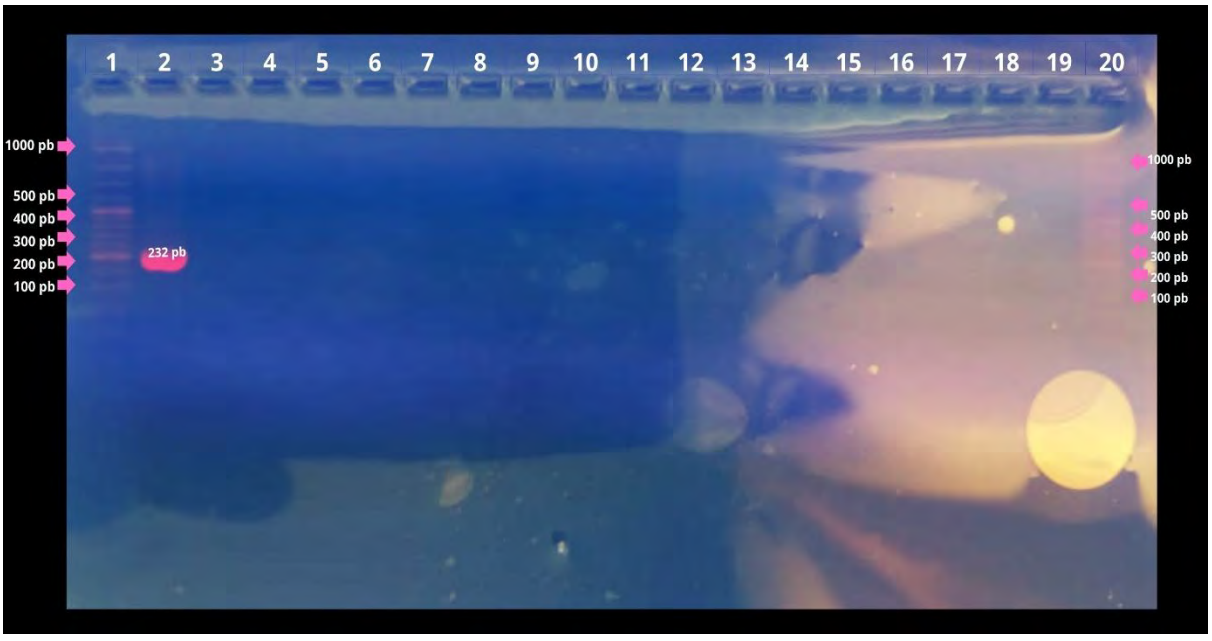
Gen	N° de aislamientos (n=21)	Porcentaje
bla$_{NDM}$	1	4,8%
bla$_{IMP}$	0	0%

Figura 21
Electroforesis de PCR para el gen *bla$_{NDM}$*



Nota: Electroforesis de cepas de Acinetobacter baumannii para el gen bla$_{NDM}$ (512 pb), pocillo 1:Marcador de peso molecular (escaleras de 100 pb), 2: control positivo (Klebsiella pneumoniae BAA 2146), 3:control negativo (Acinetobacter baumannii ATCC 19606), 4: agua de grado molecular, 5: blanco (master mix), pocillos del 6 al 19: cepas de Acinetobacter baumannii. con el pocillo 17: Positivo para el gen bla$_{NDM}$ (512 pb)

Figura 22
Electroforesis de PCR para el gen *bla$_{IMP}$*



Nota: Electroforesis de cepas de Acinetobacter baumannii. para el gen bla$_{IMP}$ (232 pb), pocillo 1: Marcador de peso molecular (escaleras de 100 pb), 2: control positivo (E. coli NCTC 13476), 3:control negativo (Acinetobacter baumannii ATCC 19606), 4: agua de grado molecular, 5: blanco (master mix), pocillos del 6 al 19: cepas de Acinetobacter baumannii.

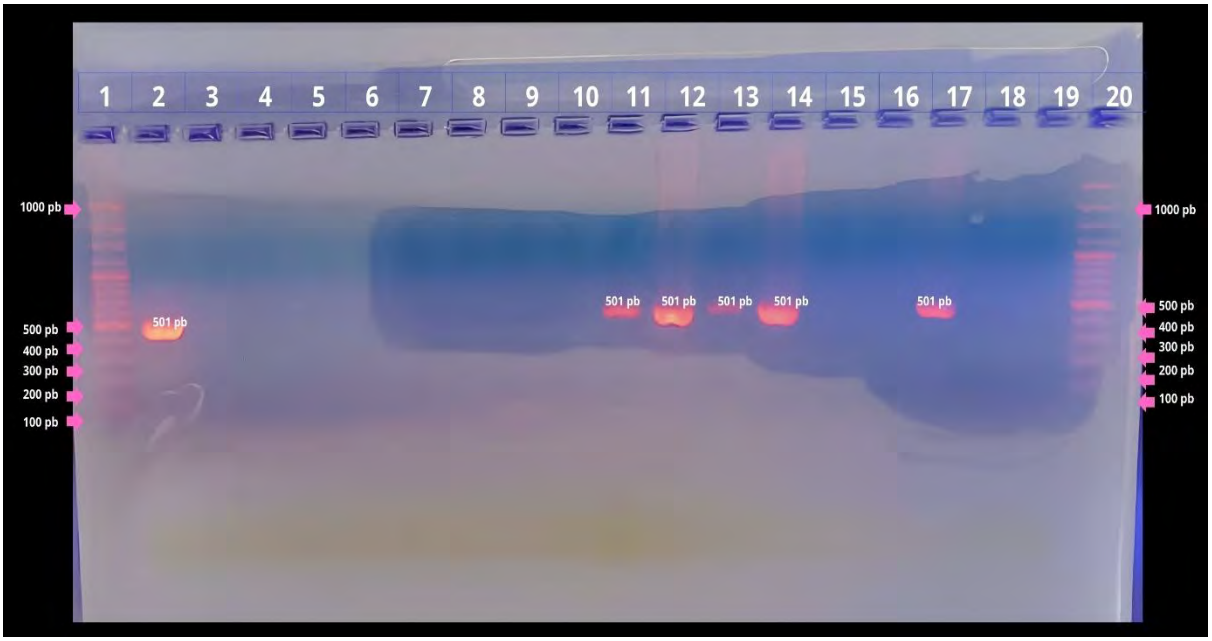
3.3.2. Resultados de la detección genotípica de oxacilinasa

El análisis de las 21 cepas de *Acinetobacter baumannii*. Se identificó el gen bla_{OXA-23} en 4 cepas (19,1%), siendo el gen con mayor presencia en las cepas de *Acinetobacter baumannii*. provenientes de los diferentes servicios del Hospital Regional del Cusco como se puede observar en la Tabla 10, Figuras 23 y Figura 24.

Tabla 10
Presencia del gen *bla*$_{OXA-23}$ en cepas de *Acinetobacter baumannii* provenientes del Hospital Regional del Cusco.

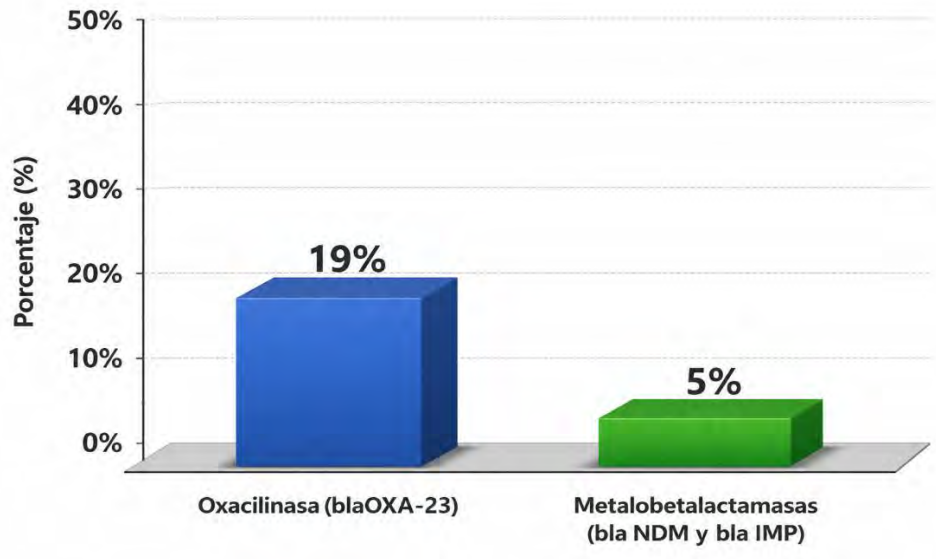
Gen	N° de aislamientos (n=21)	Porcentaje
bla_{OXA-23}	4	19,10%

Figura 23
Electroforesis de PCR para el gen *bla*$_{OXA-23}$



Nota: Electroforesis de cepas de Acinetobacter baumannii. para el gen bla$_{OXA-23}$ (501 pb),pocillo 1: marcador de peso molecular de 100pb, 2: control positivo (Acinetobacter baumannii positivo para el gen bla$_{oxa-23}$ "secuenciada"), 3:control negativo (Acinetobacter baumannii ATCC 19606), 4: agua de grado molecular, 5: blanco (master mix), pocillos del 6 al 19: cepas de Acinetobacter baumannii. 11, 12, 13,14 y 17: Positivo para el gen bla$_{OXA-23}$ (501 pb).

Figura 24
Presencia de genes oxacilinasa y metalobetalactamasas en cepas de *Acinetobacter baumannii*



La detección molecular, en la búsqueda de genes de resistencia metalobetalactamasa (bla_{NDM} y bla_{IMP}) y oxacilinasas (bla_{OXA-23}) en *Acinetobacter baumannii* del Hospital Regional del Cusco evidencio la presencia del gen bla_{OXA-23} (19,1%), bla_{NDM} (4,8%) y sin hallazgos de bla_{IMP}. Estos hallazgos adquieren relevancia en el ámbito hospitalario de la Región Cusco. Todos los resultados tanto fenotípicos y genotípicos se detallan en el Anexo 2.

En comparación con estudios internacionales, particularmente en Asia, se evidencia una menor magnitud del problema. En India, reportó el bla_{OXA-23} (97,2%) y bla_{NDM} en la mitad de ellos, con una coexistencia de genes en un (91,6%), reflejando alta presión antibiótica y complejidad (Datta et al., 2025). De manera similar, en fenotípica lo cual evidencia un escenario de resistencia sumamente complejo. De manera similar, en Tailandia se observó al 93,6% para bla_{OXA-23} y del 12,2% para bla_{NDM}, con coexistencia parcial de genes (Santajit et al., 2023). En contraste, la menor frecuencia y ausencia de coexistencia en el presente estudio sugieren una fase menos avanzada de diseminación en Cusco; no obstante, esto no implica bajo riesgo, sino una etapa temprana susceptible de rápida expansión sin medidas de control.

En América Latina y el caribe, donde predomina *bla*$_{OXA-23}$ en aproximadamente el 90% de los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos (Pillonetto et al., 2025; Rojas et al., 2026), la frecuencia encontrada en este estudio es considerablemente menor. Esto podría estar relacionado con diferencias en presión antibiótica, circulación de clones internacionales de alto riesgo o limitaciones diagnósticas. Asimismo, la ausencia de combinaciones genéticas contrasta con la diversidad regional y podría reflejar tanto menor complejidad como subestimación de otros genes evaluados.

A nivel nacional, los resultados coinciden parcialmente con estudios que reportan alta diversidad de genes de resistencia incluyendo *bla*$_{NDM}$, *bla*$_{IMP}$ y variantes de *bla*$_{OXA}$ (Mayta et al., 2025; Pariona et al., 2026). En Cusco, previamente no se había documentado *bla*$_{NDM}$ en *Acinetobacter baumannii*; el presente estudio identificó este gen en 1/21 (4,8%). Hallazgo que constituye evidencia de la circulación local de determinantes de alta relevancia epidemiológica. En contraste, estudios en Lima reportan emergentes clones portadores de *bla*$_{OXA-23}$ y otras variantes, con frecuencia de hasta 10% para *bla*$_{OXA-23}$ y 90% para *bla*$_{OXA-24}$ (Pons et al.,2025), lo que indica que, sin intervención, Cusco podría evolucionar hacia un escenario de mayor complejidad genética y resistencia.

A nivel local, las condiciones hospitalarias favorecen la diseminación de *Acinetobacter baumannii* resistentes: altas tasa de resistencia a carbapenémicos como Imipenem (95,1%), Meropenem (94,4%) y Cefepima (95,1%), junto con factores clínicos como hospitalización prolongada y uso de ventilación mecánica (Cruz Justiniani & Macedo Osorio, 2022), así como brotes documentados con *bla*$_{OXA-24}$ (Hospital Antonio Lorena, 2025). En este contexto, incluso la baja frecuencia de *bla*$_{OXA-23}$ (19,1%) y *bla*$_{NDM}$ (4,8%) es crítica, ya que ambos genes están asociados a clones con alta capacidad de propagación y persistencia intrahospitalaria.

La ausencia de *bla*$_{IMP}$ en los 21 aislados analizados podría reflejar baja circulación actual; sin embargo, la movilidad de pacientes y la transferencia horizontal de genes representan un riesgo

de introducción futura. De manera similar la falta de coexistencia de genes, observada en este estudio, podría sugerir menor presión selectiva local o limitarse por el tamaño reducido de la muestra y la búsqueda restringida de determinantes.

En conjunto, la menor frecuencia y complejidad genética detectadas no deben interpretarse como escenario favorable. Por el contrario, constituye una ventana crítica de intervención, evidenciando una fase inicial de diseminación que requiere fortalecer la vigilancia molecular, ampliar la detección de genes de resistencia y optimizar políticas de uso racional de antibióticos para prevenir la rápida progresión hacia escenarios de alta resistencia y difícil control.

CONCLUSIONES

1. De las 50 cepas proporcionadas por el Hospital Regional del Cusco, mediante la identificación microbiológica se determinó que el 42 % (21/50) correspondió a *Acinetobacter baumannii*.
2. La caracterización fenotípica mostró que el 95,2% (20/21) de las cepas de *Acinetobacter baumannii* fueron productores de carbapenemasas, con resistencia del 100% a Meropenem, 95,2% a Imipenem y 85,7% de resistencia a Ertapenem. Además, el 4,7% (1/21) presentó carbapenemasa tipo MBL
3. El análisis por PCR convencional detectó los genes bla_{OXA-23} en 19,1% (4/21) y bla_{NDM} en 4,8% (1/21) primer reporte para cusco en *Acinetobacter baumanii* de las cepas, mientras que el gen bla_{IMP} no fue identificado.

RECOMENDACIONES

1. Desarrollar más técnicas fenotípicas para la identificación a nivel de especie, dentro del complejo *Acinetobacter calcoaceticus- baumannii*.
2. Ampliar y consolidar la vigilancia molecular enfocándose en los genes detectados localmente *bla*$_{OXA-24}$, *bla*$_{OXA-23}$ y *bla*$_{NDM}$ e incluyendo de manera exploratoria otros genes como *bla*$_{IMP}$ y *bla*$_{(OXA-48,\ OXA-58,\ OXA-235,\ OXA-143)}$, mediante estudios multicéntricos y longitudinales que permitan monitorear la aparición de nuevos genes, coexistencia de genes y evolución clonal.
3. Optimizar la prevención y control intrahospitalario, integrando el uso racional de antibióticos basado en evidencia local, desinfección ambiental, manejo adecuado de pacientes críticos y vigilancia de brotes, para limitar la diseminación de clones resistentes y reducir la morbilidad y mortalidad asociadas.

BIBLIOGRAFÍA

Abdi, S. N., Ghotaslou, R., Ganbarov, K., Mobed, A., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., & Kafil, H. S. (2020). *Acinetobacter baumannii* efflux pumps and antibiotic resistance. Infection and Drug Resistance, 13, 423–434. https://doi.org/10.2147/IDR.S228089

Adler, A., Ghosh, H., Gross, A., Rechavi, A., Lasnoy, M., Assous, M. V., Geffen, Y., Darawsha, B., Wiener-Well, Y., Alony, A., Grundmann, H., & Reuter, S. (2023). Clinical and molecular features of NDM-producing *Acinetobacter baumannii* in a multicenter study in Israel. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 22(1), 8. https://doi.org/10.1186/s12941-023-00607-w

Ahmad, I., Nadeem, A., Mushtaq, F., Zlatkov, N., Shahzad, M., Zavialov, A. V., Wai, S. N., & Uhlin, B. E. (2023). Csu pili dependent biofilm formation and virulence of *Acinetobacter baumannii*. NPJ Biofilms and Microbiomes, 9, 101. https://doi.org/10.1038/s41522-023-00465-6

Adogaye, S. B. B., Rodrigue, M. B., Martial, N. P. P., Wondeu, A. L. D., Martin, S. S., Kemogne, J. B., Montesano, C., & Vittorio, C. (2021). Assessment of domestic water sources safety: Application of the micro biological survey method and microbiological profile of the contaminating bacteria. *Journal of Water Resource and Protection, 13*(5), 350–361. https://doi.org/10.4236/jwarp.2021.135022

Ajao, A. O., Robinson, G., Lee, M. S., Ranke, T. D., Venezia, R. A., Furuno, J. P., Harris, A. D., & Johnson, J. K. (2011). Comparison of culture media for detection of *Acinetobacter baumannii* in surveillance cultures of critically ill patients. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 30(11), 1425–1430. https://doi.org/10.1007/s10096-011-1237-7

Akoolo, L., Pires, S., Kim, J., & Parker, D. (2022). The capsule of *Acinetobacter baumannii* protects against the innate immune response. Journal of Innate Immunity, 14(5), 543–554. https://doi.org/10.1159/000522232

American Society for Microbiology. (2016). *Microbiology laboratory manual: Triple Sugar Iron Agar (TSI) protocol and interpretation*. ASM Press. https://asm.org

Alkasaby, N. M., & El Sayed Zaki, M. (2017). Molecular study of *Acinetobacter baumannii* isolates for metallo-β-lactamases and extended-spectrum-β-lactamases genes in intensive care unit, Mansoura University Hospital, Egypt. International Journal of Microbiology, 2017, 3925868. https://doi.org/10.1155/2017/3925868

Almasaudi, S. B. (2016). Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. Saudi Journal of Biological Sciences, 25(3), 586–596. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.009

Almeida, O. G. G. de, Furlan, J. P. R., Stehling, E. G., & De Martinis, E. C. P. (2021). Comparative phylo-pangenomics reveals generalist lifestyles in representative Acinetobacter species and proposes candidate gene markers for species identification. *Gene, 791*(145707), 145707. https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145707

Amini, M. S., Baseri Salehi, M., & Bahador, N. (2024). Evaluating the antibacterial effect of Meropenem-loaded chitosan/sodium tripolyphosphate nanoparticles on *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients. BMC Infectious Diseases, 24, 631. https://doi.org/10.1186/s12879-024-09522-7

Armstrong, T., Fenn, S. J., & Hardie, K. R. (2021). Carbapenemicos: A broad-spectrum antibiotic. Journal of Medical Microbiology, 70(12), 001462. https://doi.org/10.1099/jmm.0.001462

Aryal, S. (2022,). Lysine iron agar (LIA): Composition, principle, preparation, results, uses. Microbe Notes. https://microbenotes.com/lysine-iron-agar-lia/

Asif, M., Alvi, I. A., & Rehman, S. U. (2018). Insight into *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. Infection and Drug Resistance, 11, 1249–1260. https://doi.org/10.2147/IDR.S166750

Benoit, T., Cloutier, M., Schop, R., Lowerison, M. W., & Khan, I. U. H. (2020). Comparative assessment of growth media and incubation conditions for enhanced recovery and isolation of

Acinetobacter baumannii from aquatic matrices. Journal of Microbiological Methods, 176, 106023. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106023

Blosser, S. (2024). 2024 AST: Acinetobacter insights. Clinical and Laboratory Standards Institute. https://clsi.org/about/news/ast-news-update-january-2024-acinetobacter-the-bad-the-awful-and-the-downright-ugly/

Boutzoukas, A., & Doi, Y. (2025). The global epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *JAC-Antimicrobial Resistance*, *7*(4), dlaf134. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaf134

Bouvet, P. J. M., & Grimont, P. A. D. (1986). Taxonomy of the genus Acinetobacter. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 36(2), 228–240. https://doi.org/10.1099/00207713-36-2-228

Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β-lactams and β-lactamase inhibitors: An overview. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 6(8), a025247. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247

Casas, G. D., & Castillo, K. (2019). Prevalencia de genes *bla*$_{OXA\text{-}23\text{-}like}$, *bla*$_{OXA\text{-}24\text{-}like}$ y bla$_{OXA\text{-}58\text{-}like}$ en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos de un hospital nacional de referencia en Lima [Tesis de licenciatura]. Universidad Peruana.

Canaza Castillo, S. L. (2018). *Elaboración del mapa microbiológico del Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco (HNAGV), EsSalud – Cusco durante el periodo octubre 2016 – octubre 2017* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco]. Repositorio Institucional UNSAAC. http://hdl.handle.net/20.500.12918/3302

Castanheira, M., Mendes, R. E., & Gales, A. C. (2023). Global epidemiology and mechanisms of resistance of *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex. Clinical Infectious Diseases, 76(Suppl. 2), S166–S178. https://doi.org/10.1093/cid/ciad109

CDC. (2025a). *2019 antibiotic resistance Threats Report*. Antimicrobial Resistance. https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/threats/index.html

CDC. (2025b). *Antimicrobial resistance threats in the United States, 2021-2022*. Antimicrobial Resistance. https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data research/threats/update-2022.html

Christensen. (2022). Urea agar base (Christensen) ISO formato 500 g. Condalab. https://www.condalab.com

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (CLSI standard M100, 26th ed.). CLSI.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (CLSI supplement M100, 28th ed.). CLSI

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (CLSI standard M100, 32nd ed.). CLSI.

Cruz Justiniani, S. C., & Macedo Osorio, G. V. (2022). Factores asociados a la susceptibilidad antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/6832

Dahal, U., Paul, K., & Gupta, S. (2023). The multifaceted genus Acinetobacter: From infection to bioremediation. Journal of Applied Microbiology, 134(8), lxad145. https://doi.org/10.1093/jambio/lxad145

Datta, A., Gandham, N., Vyawahare, C. R., Mirza, S., Bhatia, S., & Shinde, P. B. (2025). Genetic diversity of carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolates at a tertiary teaching hospital in Western India. International Journal of Applied and Basic Medical Research, 15(2), 91–97. https://doi.org/10.4103/ijabmr.ijabmr_498_24

Davoodi, N., et al. (2015). *Detection of metallo-β-lactamase genes blaIMP among clinical isolates of Acinetobacter baumannii*. Jundishapur Journal of Microbiology (u otra revista según registro original). https://doi.org/10.5812/jjm.17920

De Souza, J., D'Espindula, H. R. S., Ribeiro, I. de F., Gonçalves, G. A., Pillonetto, M., & Faoro, H. (2025). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms, therapeutics, and innovations. Microorganisms, 13(7), 1501. https://doi.org/10.3390/microorganisms13071501

Dekic, S., Hrenovic, J., Ivankovic, T., & van Wilpe, E. (2018). Survival of ESKAPE pathogen *Acinetobacter baumannii* in water of different temperatures and pH. Water Science and Technology, 78(6), 1370–1376. https://doi.org/10.2166/wst.2018.409

Dessenne, C., Ménart, B., Acket, S., Dewulf, G., Guerardel, Y., Vidal, O., & Rossez, Y. (2024). Lipidomic analyses reveal distinctive variations in homeoviscous adaptation among clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. Microbiology Spectrum, 12(10), e00757-24. https://doi.org/10.1128/spectrum.00757-24

Dewan, I., & Uecker, H. (2023). A mathematician's guide to plasmids. Microbiology, 169(7), 001362. https://doi.org/10.1099/mic.0.001362

Dortet, L., Poirel, L., Errera, C., & Nordmann, P. (2014). CarbAcineto NP test for rapid detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter spp.* Journal of Clinical Microbiology, 52(7), 2359–2364. https://doi.org/10.1128/JCM.00594-14

Ederer, G. M., & Clark, M. (1970). Motility-indole-ornithine medium. Applied Microbiology, 20(5), 849–850. https://doi.org/10.1128/am.20.5.849-850.1970

Gedefie, A., Demsis, W., Ashagrie, M., Kassa, Y., Tesfaye, M., Tilahun, M., Bisetegn, H., & Sahle, Z. (2021). *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and disease pathogenesis. Infection and Drug Resistance, 14, 3711–3719. https://doi.org/10.2147/IDR.S332051

Guerrero, C., Oneeglio, A. G., Tello, A. D., León, R. R., & Romero, E. N. (2019). Resistencia antibiótica de Acinetobacter spp. Cátedra Villarreal, 7(1). https://doi.org/10.24039/cv201971331

Gutiérrez-Jiménez, J., Luna-Cazáres, L. M., Mendoza-Orozco, M. I., Díaz-Marina, G. de J., Burguete-Gutiérrez, J. C., & Feliciano-Guzmán, J. M. (2015). Organización y preservación de colecciones bacterianas. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 35(2), 95–102.

Harding, C., Hennon, S., & Feldman, M. (2017). Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. Nature Reviews Microbiology. https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.148

Hou, C., & Yang, F. (2015). Drug-resistant genes in *Acinetobacter baumannii*. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 8(8).

Hospital Regional del Cusco. (2021). *Información institucional del Hospital Regional del Cusco*. Gobierno Regional del Cusco. https://www.gob.pe/institucion/hrcusco

Hospital Regional del Cusco. (2024). *Servicios y organización del Hospital Regional del Cusco*. Gobierno Regional del Cusco. https://www.gob.pe/institucion/hrcusco

Huang, Z.-Y., Li, J., Shui, J., Wang, H.-C., Hu, Y.-M., & Zou, M.-X. (2019). Co-existence of bla_{OXA-23} and bla_{VIM} in *Acinetobacter baumannii*. Chinese Medical Journal, 132(10), 1166–1172. https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000193

Hussain, A., Bhando, T., Casius, A., Gupta, R., & Pathania, R. (2025). Deciphering Meropenem persistence in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 69(4), e01381-24. https://doi.org/10.1128/aac.01381-24

Instituto Nacional de Salud. (2023). *Objetivos estratégicos del Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos en Perú*. Gobierno del Perú. https://www.gob.pe/institucion/ins/informes-publicaciones/4900523-objetivos-estrategicos-del-plan-multisectorial-para-enfrentar-la-resistencia-a-los-antimicrobianos-en-peru

Iyer, R. N. (2022). Beta lactam. En T. Kenakin (Ed.), Comprehensive Pharmacology (pp. 3–63). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820472-6.00212-7

Jamwal, V., Palmo, T., & Singh, K. (2024). Mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*. RSC Medicinal Chemistry, 15(12), 3925–3949. https://doi.org/10.1039/d4md00449c

Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C.-R., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms. International Journal of Molecular Sciences, 16(5). https://doi.org/10.3390/ijms16059654

Jiang, Y., Ding, Y., Wei, Y., Jian, C., Liu, J., & Zeng, Z. (2022). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: A challenge in the intensive care unit. *Frontiers in microbiology*, *13*, 1045206. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1045206

Khalid, H. M. (2024). Molecular study of bla_{VIM} and bla_{IMP} genes in *Acinetobacter baumannii*. Journal of Infection in Developing Countries, 18(1), 101–105. https://doi.org/10.3855/jidc.18570

Khuntayaporn, P., Thirapanmethee, K., Kanathum, P., Chitsombat, K., & Chomnawang, M. T. (2021). Detection assays for carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*. PLOS ONE, 16(11), e0259686. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259686

Kulkarni, S. S., Madalgi, R., Ajantha, G. S., & Kulkarni, R. D. (2017). Identification of genus Acinetobacter. Journal of Laboratory Physicians, 9(4), 279. https://doi.org/10.4103/0974-2727.214263

Lasko, M. J., Gill, C. M., Asempa, T. E., & Nicolau, D. P. (2020). EDTA-modified carbapenem inactivation method. BMC Microbiology, 20(1), 220. https://doi.org/10.1186/s12866-020-01902-8

Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C.-J., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 7. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00055

Li, X., Mu, X., Chen, F., Lu, X., He, J., Zheng, Y., Zhou, D., Yin, Z., & Wang, P. (2023). Novel IMP metallo-β-lactamases. Microbiology Spectrum, 11(3), e04986-22. https://doi.org/10.1128/spectrum.04986-22

Lopardo, H. A., Predari, S. C., & Vay, C. (2020). *MANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA*. https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Tropheryma.pdf

Lupo, A., Haenni, M., & Madec, J.-Y. (2018). Antimicrobial resistance in Acinetobacter spp. Microbiology Spectrum, 6(3). https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0007-2017

Mayta Barrios, M. M., Ramirez-Illescas, J. J., Pampa-Espinoza, L., & Yagui-Moscoso, M. J. A. (2021). Molecular characterization of carbapenemases in Peru. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.

Mayta-Barrios, M., Ramírez-Illescas, J., Pacori, J., Acosta, J., Pampa-Espinoza, L., Silva-Valencia, J., Núñez-Llanos, A., Bendezú, C., Serrano, K., Yagui-Moscoso, M., & Working Group in the National Surveillance of Antimicrobial Resistance. (2025). Molecular detection of carbapenemases in Peru. JAC–Antimicrobial Resistance, 7(6), dlaf203. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaf203

MINSA. (2019). Plan multisectorial para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2019–2021. https://www.gob.pe

Mitteregger, D., Wessely, J., Barišić, I., Bedenić, B., Kosak, D., & Kundi, M. (2022a). Variant carbapenem inactivation method. Pathogens, 11(4), 482. https://doi.org/10.3390/pathogens11040482

Mitteregger, D., Wessely, J., Barišić, I., Bedenić, B., Kosak, D., & Kundi, M. (2022b). Reply to comment on rCIM-A. Pathogens, 11(7), 767. https://doi.org/10.3390/pathogens11070767

Mmatli, M., Mbelle, N. M., & Osei Sekyere, J. (2025). Plasmid-borne carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. mSystems, 10(3), e01683-24. https://doi.org/10.1128/msystems.01683-24

Morier, D. (2021). Antibiotic resistance. Encyclopaedia Britannica. https://www.britannica.com

Mostachio, A. K., et al. (2009). *Rapid detection of blaOXA-23-like genes in Acinetobacter baumannii isolates*. **Journal of Clinical Microbiology**, 47(12), 3923–3926. https://doi.org/10.1128/JCM.00882-09

Murray, C. J. L., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*, *399*(10325), 629–655. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0

Mugnier, P. D., Poirel, L., Naas, T., & Nordmann, P. (2010). Worldwide dissemination of the *bla*$_{OXA-23}$ gene. Emerging Infectious Diseases, 16(1), 35–40. https://doi.org/10.3201/eid1601.090852

Nahar, L., Hagiya, H., Gotoh, K., Asaduzzaman, M., & Otsuka, F. (2024). New Delhi metallo-β-lactamase inhibitors. Journal of Clinical Medicine, 13(14). https://doi.org/10.3390/jcm13144199

Naghavi, M., Vollset, S. E., & Ikuta, K. (2024). *Global burden of disease study 2021 (GBD 2021) bacterial antimicrobial resistance burden estimates 1990-2021 and forecasts 2022-2050*. Healthdata.org. https://ghdx.healthdata.org/record/ihme-data/gbd-2021-bacterial-amr-estimates-forecasts-1990-2050

Nemec, A., Radolfova-Krizova, L., Maixnerova, M., Vrestiakova, E., Jezek, P., & Sedo, O. (2016). Taxonomy of haemolytic and/or proteolytic strains of the genus Acinetobacter. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 66(4), 1673–1685. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000932

Nielsen, T. B., Bruhn, K. W., Pantapalangkoor, P., Junus, J. L., & Spellberg, B. (2015). Cryopreservation of virulent *Acinetobacter baumannii* to reduce variability of in vivo studies. BMC Microbiology, 15, 252. https://doi.org/10.1186/s12866-015-0580-8

NIH. (2024). Plásmido. https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Plasmido

Nowak, P., & Paluchowska, P. (2016). *Acinetobacter baumannii*: Biology and drug resistance — role of carbapenemases. Folia Histochemica et Cytobiologica, 54(2), Article 2. https://doi.org/10.5603/FHC.a2016.0009

Oda, Y., Shapiro, M. M., Lewis, N. M., Zhong, X., Huse, H. K., Zhong, W., Bruce, J. E., Manoil, C., & Harwood, C. S. (2021). CsrA-controlled proteins reveal new dimensions of *Acinetobacter baumannii* desiccation tolerance. bioRxiv, 2021.08.11.455981. https://doi.org/10.1101/2021.08.11.455981

OMS (2024). *La OMS publica la lista de antimicrobianos de importancia médica de la OMS para la medicina humana*. https://www.who.int/news/item/08-02-2024-who-medically-important-antimicrobial-list-2024

OMS. (2025). *La OMS advierte de la resistencia generalizada en todo el mundo a antibióticos de uso habitual*. Who.int. https://www.who.int/es/news/item/13-10-2025-who-warns-of-widespread-resistance-to-common-antibiotics-worldwide

Otiniano, C. J., & Rivera, X. A. (2021). Prevalencia de genes OXA, VIM e IMP en cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenémicos del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Agosto – diciembre 2019. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/16531

Pariona, J. G. M. (2026). *Whole-genome analysis of extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii isolates from a Peruvian tertiary hospital reveals the emergence of OXA-23-producing ST79 and ST1079 clones*. https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S2165049726001022

Prakash, Rodrigues, & Kumar. (2024, marzo 2). Detection of Multidrug-Resistant Integrons Associated with *Acinetobacter baumannii* Isolated from Clinical and Environmental Samples. Journal of Pure and Applied Microbiology. https://microbiologyjournal.org/detection-of-multidrug-resistant-integrons-associated-with-acinetobacter-baumannii-isolated-from-clinical-and-environmental-samples/

Pillonetto, M., Wink, P. L., Melano, R. G., Jiménez-Pearson, M. A., Melgarejo Touchet, N. L., Saavedra Rojas, S. Y., Kulek, D. N. O., Abreu, A. L., Peral, R. T., Miorando, R., Sati, H., Thomas, G. R., Galas, M., Pardo, P. R., Kiffer, C. R. V., D'Alincourt Carvalho Assef, A. P., & CARBA-LAC Group (2025). Carbapenemases producing gram-negative bacteria surveillance in Latin America and the caribbean: a retrospective observational study from 2015 to 2020. *Lancet regional health. Americas*, *49*, 101185. https://doi.org/10.1016/j.lana.2025.101185

Pons, M. J., Guibert, F., Choque-Matos, J., Palomino-Kobayashi, L. A., Fernandez-Castro, P., Gonzales, P., Valera-Krumdieck, C., Vilar, N., Alonso, C. A., López, M., Rojo-Bezares, B., Sáenz, Y., & Ruiz, J. (2025). Highly clonal carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Peruvian hospital. *Microbiology spectrum*, *13*(12), e0211925. https://doi.org/10.1128/spectrum.02119-25

PubChem. (2021). *Meropenem*. National Center for Biotechnology Information. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Meropenem

PubChem. (2021). *Doripenem*. National Center for Biotechnology Information. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doripenem

PubChem. (2024). *Imipenem*. National Center for Biotechnology Information. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Imipenem

PubChem. (2024). *Ertapenem*. National Center for Biotechnology Information. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ertapenem

Ramirez, M. S., Bonomo, R. A., & Tolmasky, M. E. (2020). Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a Yet More Dangerous Menace. Biomolecules, 10(5), Article 5. https://doi.org/10.3390/biom10050720

Ranjbar, R., Zayeri, S., & Mirzaie, A. (2020). *Development of multiplex PCR for rapid detection of metallo-β-lactamase genes in clinical isolates of Acinetobacter baumannii*. Iranian Journal of Microbiology, 12(2), 107–112. https://doi.org/10.18502/ijm.v12i2.2615

Ren, X., & Palmer, L. D. (2023). Acinetobacter Metabolism in Infection and Antimicrobial Resistance. Infection and Immunity, 91(6), e0043322. https://doi.org/10.1128/iai.00433-22

Rodriguez, E. (2024, octubre 10). Transposon | Definition, Types & Function | Britannica. https://www.britannica.com/science/transposon

Sabbagh, P., Rajabnia, M., Maali, A., & Ferdosi-Shahandashti, E. (2021). Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 24(2), 136-142. https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.48905.11208

Shin, S. K., Lee, Y., Kwon, H., Rhee, J.-S., & Kim, J. K. (2021). *Validation of direct boiling method for simple and efficient genomic DNA extraction and PCR-based species determination*. Journal of Phycology, 57(4), 1368–1372. https://doi.org/10.1111/jpy.13175

Rojas, J. D., Merejildo Vera, M. C., Benites Azabache, J. C., De La Cruz Surco, V., Lucas López, J. R., & Pichardo-Rodriguez, R. (2026). Prevalence of Carbapenem-Resistant Gram negative Bacilli from Intensive Care Units from Latin America and the Caribbean: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *15*(2), 209. https://doi.org/10.3390/antibiotics15020209

Santajit, S., Bhoopong, P., Kong-Ngoen, T., Tunyong, W., Horpet, D., Paehoh-ele, W., Zahedeng, T., Pumirat, P., Sookrung, N., Hinthong, W., & Indrawattana, N. (2023). Phenotypic and Genotypic Investigation of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Maharaj

National Center for Biotechnology Information. (n.d.). Acinetobacter baumannii. NCBI Taxonomy. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/470/

Nakhon Si Thammarat Hospital, Thailand. Antibiotics, 12(3), 580. https://doi.org/10.3390/antibiotics12030580

Sawa, T., Kooguchi, K., & Moriyama, K. (2020). Molecular diversity of extended-spectrum β-lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. Journal of Intensive Care, 8(1), 13. https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6

Sapakota, A. (2022). Catalase test: Principle, procedure, types, results, and uses. Microbe Notes. https://microbenotes.com/catalase-test-principle-procedure-and-result-interpretation/

Scoffone, V. C., Trespidi, G., Barbieri, G., Arshad, A., Israyilova, A., & Buroni, S. (2025). The Evolution of Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter baumannii* and New Strategies to Fight It. Antibiotics, 14(1), 85. https://doi.org/10.3390/antibiotics14010085

Sfeir, M. M., Hayden, J. A., Fauntleroy, K. A., Mazur, C., Johnson, J. K., Simner, P. J., Das, S., Satlin, M. J., Jenkins, S. G., & Westblade, L. F. (2019). EDTA-Modified Carbapenem Inactivation Method: A Phenotypic Method for Detecting Metallo-β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. Journal of Clinical Microbiology, 57(5), e01757-18. https://doi.org/10.1128/JCM.01757-18

Sharma, S., Banerjee, T., Yadav, G., & Kumar, A. (2023). Susceptibility profile of bla_{OXA-23} and metallo-β-lactamases co-harbouring isolates of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) against standard drugs and combinations. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 12, 1068840. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1068840

Sheck, E., Romanov, A., Shapovalova, V., Shaidullina, E., Martinovich, A., Ivanchik, N., Mikotina, A., Skleenova, E., Oloviannikov, V., Azizov, I., Vityazeva, V., Lavrinenko, A., Kozlov, R., & Edelstein, M. (2023). Acinetobacter baumannii Species: Occurrence in Infections in Hospitalized Patients, Identification, and Antibiotic Resistance. Antibiotics, 12(8), 1301. https://doi.org/10.3390/antibiotics12081301

Smith & Selby. (2018). Simmons Citrate Agar. Biology LibreTexts. https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Laboratory_Experiments/Microbiology_Labs/Microbiology_for_Allied_Health_Students%3A_Lab_Manual/3.09%3A_Simmons_Citrate_Agar

Tankeshwar, A. (2022). Lysine iron agar (LIA): Principle, composition, results, and uses. Microbe Online. https://microbeonline.com/lysine-iron-agar-lia-principle-composition-results-and-uses/

Uechi, K., Tada, T., Shimada, K., Kuwahara-Arai, K., Arakaki, M., Tome, T., Nakasone, I., Maeda, S., Kirikae, T., & Fujita, J. (2017). A Modified Carbapenem Inactivation Method, CIMTris, for Carbapenemase Production in Acinetobacter and Pseudomonas Species. Journal of Clinical Microbiology, 55(12), 3405-3410. https://doi.org/10.1128/JCM.00893-17

Vergoz, D., Schaumann, A., Schmitz, I., Afonso, C., Dé, E., Loutelier-Bourhis, C., & Alexandre, S. (2024). Lipidoma de las células persistentes de antibióticos de *Acinetobacter baumannii*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 1869(7), 159539. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2024.159539

Vijayakumar, S., Biswas, I., & Veeraraghavan, B. (2019). Accurate identification of clinically important Acinetobacter spp.: An update. Future Science OA, 5(6), FSO395. https://doi.org/10.2144/fsoa-2018-0127

Wenjing, W., Yu Feng, Guangmin Tang, & Fu Qiao. (2019). NDM Metallo-β-Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. https://doi.org/10.1128/cmr.00115-18

Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2017). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology* (7th ed.). Wolters Kluwer.

World Medical Association. (2024). *World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human participants*. https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki/

Wu, H.-J., Xiao, Z.-G., Lv, X.-J., Huang, H.-T., Liao, C., Hui, C.-Y., Xu, Y., & Li, H.-F. (2023). Drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: From molecular mechanisms to potential therapeutics (Review). Experimental and Therapeutic Medicine, 25(5), 1-10. https://doi.org/10.3892/etm.2023.11908

Yadav, G., Sharma, A., Hathi, U. P. S., Gaind, R., & Singh, R. (2025). Development and optimization of multiplex PCR for rapid detection of type I-F1 and type I-F2 Cas cluster genes in *Acinetobacter baumannii*. Biologicals, 90, 101824. https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2025.101824

Yang, Z., Wang, P., Song, P., & Li, X. (2020). Carbapenemase OXA-423: A Novel OXA-23 Variant in *Acinetobacter baumannii*. Infection and Drug Resistance, 13, 4069-4075. https://doi.org/10.2147/IDR.S277364

Young. (2021). Imipenem/Cilastatin/Relebactam: A Review in Gram-Negative Bacterial Infections—PMC. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7905759/

Zhang, S., Mi, P., Wang, J., Li, P., Luo, K., Liu, S., Al-Shamiri, M. M., Lei, J., Lai, S., Han, B., Chen, Y., Han, L., & Han, S. (2023). The optimized carbapenem inactivation method for objective and accurate detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*. Frontiers in Microbiology, 14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1185450

Zhou, G., Wang, Q., Wang, Y., Wen, X., Peng, H., Peng, R., Shi, Q., Xie, X., & Li, L. (2023). Outer Membrane Porins Contribute to Antimicrobial Resistance in Gram negative Bacteria. Microorganisms, 11(7), Article 7. https://doi.org/10.3390/microorganisms11071690

Zong, G., Zhong, C., Fu, J., Zhang, Y., Zhang, P., Zhang, W., Xu, Y., Cao, G., & Zhang, R. (2020). The carbapenem resistance gene *bla*$_{OXA-23}$ is disseminated by a conjugative plasmid containing the novel transposon Tn6681 in *Acinetobacter johnsonii* M19. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 9(1), 182. https://doi.org/10.1186/s13756-020-00832-4

ANEXOS

Anexo 1: Resultados de las pruebas de la diferenciación bioquímica de las 50 cepas de *Acinetobacter spp.* provenientes del Hospital Regional del Cusco.

Tabla 11
Resultados de las pruebas de la diferenciación bioquímica de las 50 cepas de *Acinetobacter spp*

	PRUEBAS BIOQUÍMICAS												
					MIO								
CEPA	TSI	Gas	H_2S	LIA	MOVILIDAD	INDOL	ORNITINA	UREA	CITRATO	AGAR CROMOGENICO	CATALASA	CRECIMIENTO a 40°C	RESULTADOS
A B1	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B2	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B3	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B4	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B5	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B6	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B7	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B8	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B9	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B10	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B11	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B12	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*

A B13	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B14	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B15	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B16	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B17	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B18	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B19	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B20	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B21	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B22	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B23	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B24	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B25	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B26	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B27	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Repetir	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B28	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B29	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B30	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*

A B31	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B32	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo A. calcoaceticus - baumannii
A B33	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B34	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B35	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B36	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B37	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B38	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B39	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B40	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B41	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B42	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B43	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B44	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B45	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B46	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B47	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
A B48	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*

A B49	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	No	Complejo *A. calcoaceticus - baumannii*
A B50	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii*
C ontrol (-)	A/A	Positivo	Negativo	K/k	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	No	*E. coli* ATCC 25922
C ontrol (+)	K/K	Negativo	Negativo	K/k	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Si	*Acinetobacter baumannii* ATCC 19606

Anexo 2: Resultados de las pruebas fenotípicas y genotípicas en *Acinetobacter baumannii* carbapenemasa resistente provenientes del Hospital Regional del Cusco.

Tabla 12
Resultados de las pruebas fenotípicas y genotípicas en *Acinetobacter baumannii* carbapenemasas resistentes

			RESULTADOS DE PRUEBAS FENOTÍPICAS													RESULTADOS GENOTÍPICOS		
			MÉTODO DE INHIBICIÓN OPTIMIZADO			MÉTODO MODIFICADO DE INACTIVACIÓN DE CARBAPENEMES CON EL AGREGADO EDTA			MÉTODO RÁPIDO DE INHIBICIÓN						RST	GEN NDM	GEN OXA 23	GEN IMP
CEPA	SERVICIO DE PROCEDENCIA	TIPO DE MUESTRA	oCIM	SAT.	RST	eCIM	SAT.	RST	rCIM (MEM)	RST	rCIM (IMP)	RST	rCIM (ETP)	SAT.				
AB2	Medicina C	Esputo	23	SI	I	20	SI	(-)	0	R	0	R	18	SI	R	NO	NO	NO
AB3	Emergencia	Secreción abdominal	23	SI	I	21	SI	(-)	0	R	0	R	10	SI	R	NO	NO	NO
AB7	Cirugía B	Asp. Traqueal	18	SI	R	18	SI	(-)	0	R	0	R	14	SI	R	NO	NO	NO
AB8	Consultorio externo	Asp. Traqueal	0		R	20	SI	(-)	0	R	0	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB10	Medicina B	Asp. Bronquial	15	SI	R	6	SI	(-)	14	R	0	R	16	SI	R	NO	NO	NO
AB11	Emergencia	Sangre	17	NO	R	24	SI	(-)	15	R	0	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB12	UCI	Asp. Traqueal	17	SI	R	23	NO	(-)	11	R	0	R	0	SI	R	SI	NO	NO
AB15	Emergencia	Orina	23	SI	I	6	SI	(-)	15	R	0	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB17	UCI	Asp. Traqueal	24	SI	I	26	SI	(-)	18	R	0	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB20	Emergencia	Secre. abdomen	22	N0	I	24	SI	(-)	10	R	0	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB21	Emergencia	Asp. Traqueal	17	SI	R	19	SI	(-)	16	R	25	R	25	SI	R	NO	NO	NO
AB25	Medicina B	Asp. bronquial	23	SI	I	22	SI	(-)	0	R	13	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB29	Medicina A	Sangre	14	SI	R	21	SI	(-)	17	R	0	R	25	SI	R	NO	NO	NO
AB35	Emergencia	Asp. traqueal	15	SI	R	19	SI	(-)	15	R	0	R	0	SI	R	NO	NO	NO
AB36	UCI	Asp. traqueal	0		R	17	SI	(-)	14	R	0	R	14	SI	R	NO	NO	NO

AB39	UCI	Cateter	17	SI	R	22	SI	(-)	15	R	14	R	17	SI	R	NO	SI	NO
AB40	UCI	Asp. traqueal	0		R	23	SI	(-)	24	R	0	R	25	SI	R	NO	SI	NO
AB41	UCI	Asp. traqueal	17	SI	R	15	SI	(-)	16	R	13	R	19	SI	R	NO	SI	NO
AB45	UCI	Secrecion	23	SI	I	13	SI	(-)	18	R	15	R	21	SI	R	NO	NO	NO
AB47	UCI	Asp. traqueal	17	SI	R	20	SI	(-)	10	R	13	R	10	SI	R	NO	NO	NO
AB50	Consulta externo	Asp. Bronquial	18	SI	R	24	SI	(-)	22	R	0	R	22	SI	R	NO	SI	NO
Control (-) *E. coli* ATCC 25922						24	SI											
Control (+) *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606			27	NO	S	23	SI	(-)	29		26		25	NO	S	NO	NO	NO
Klebsiella pneumoniae BAA 2146			6	NO	R	25	NO	(+)	0	R	0	R	0	NO	R	NO	SI	NO