

Artículo original

Especies de *Acinetobacter* identificadas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Venezuela

Elsa Z. Salazar de Vegas^{a,*}, Helen De La Cruz^a, Andrea Grisales^a, Diorelis González^a, Militza Guzmán^b, Loreannys Lastra^b, Leidy Gámez^a, Dulce Trujillo^a, Luzmila Albarado^a, Hectorina Rodulfo^c, Marcos De Donato^c

^aLaboratorio de Bacteriología Clínica. Departamento de Bioanálisis. Núcleo de Sucre. ^bLaboratorio de Bacteriología Molecular. Departamento de Bioanálisis. Núcleo de Sucre. ^cLaboratorio de Genética Molecular, Instituto de Biomedicina y Ciencias Aplicadas. Universidad de Oriente. Venezuela.

Recibido 7 de noviembre de 2016; aceptado 12 de abril de 2017

Resumen: Con el objeto de determinar la(s) genoespecie(s) de *Acinetobacter*, se analizaron 62 aislados preservados, obtenidos de muestras provenientes de pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), estado Sucre, durante el período junio-diciembre de 2008. Una vez recuperados los aislados, fueron identificados mediante pruebas bioquímicas convencionales, el sistema comercial VITEK® 1 y el método de análisis de restricción del ADNr 16S amplificado (ARDRA). Según las pruebas convencionales, 49 aislados se identificaron como complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii* y 13 como *Acinetobacter* sp., mientras que por el VITEK® 1, 54 aislados se ubicaron en el complejo *A. calcoaceticus - A. baumannii* y 8 se identificaron a nivel de género solamente. Mediante el ARDRA se identificó como *A. baumannii* al 80,7 % de los aislados (50); el 3,2% correspondió a *A. genoespecie 16* (2); 1,6% fue identificado como *A. pittii* (1) y *A. nosocomialis* (1), respectivamente, y el 12,9% (8 aislados) no pudo ser identificado por observarse patrones de bandas no compatibles con los descritos hasta ahora para esta bacteria. Se concluyó que, además de *A. baumannii*, se están aislado otras genoespecies de *Acinetobacter*, como *A. pittii*, *A. nosocomialis* y *A. genoespecie 16*, en los pacientes atendidos en el SAHUAPA.

Palabras clave: ARDRA, *A. genoespecie 16*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. baumannii*, complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii*.

Species of *Acinetobacter* identified in the University Hospital “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Venezuela

Abstract: In order to determine the *Acinetobacter* genospecies, we analyzed 62 preserved isolates, obtained from specimens from patients treated at the “Servicio Autónomo Hospital Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA) at the Sucre state, during the period June-December 2008. The isolates were recovered and submitted to identification by the conventional biochemical tests, the commercial VITEK® 1 system and the restriction analysis method of 16S amplified rDNA (ARDRA). According to conventional tests, 49 isolates were identified as *A. calcoaceticus-A. baumannii* complex and 13 as *Acinetobacter* sp., Whereas by means of VITEK® 1, 54 isolates were located in the *A. calcoaceticus - A. baumannii* complex and 8 were identified at the genus level only. By ARDRA, 80.7% (50) isolates were identified as *A. baumannii*; 3.2% corresponded to *A. genospecies 16* (2); 1.6% were identified as *A. pittii* (1) and *A. nosocomialis* (1), respectively, and 12.9% (8) isolates could not be identified, due to band patterns produced were not compatible with those described so far for this bacteria. It was concluded that, in addition to *A. baumannii*, other genospecies of *Acinetobacter*, such as *A. pittii*, *A. nosocomialis* and *A. genospecies 16* are being isolated from patients attended in SAHUAPA.

Keywords: ARDRA, *A. genospecies 16*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. baumannii*, *A. calcoaceticus-A. baumannii* complex.

* Correspondencia:
E-mail: elsazul2003@cantv.net

Introducción

Acinetobacter baumannii es reconocida como la principal

genoespecie del género *Acinetobacter*, debido a que se ha encontrado con mayor frecuencia en diferentes tipos de infecciones intrahospitalarias; sin embargo, es importante

resaltar que genoespecies distintas a *A. baumannii* también se han aislado de infecciones [1-7]. *A. calcoaceticus* (genoespecie 1), *A. baumannii* (genoespecie 2), *A. pittii* (genoespecie 3) y *A. nosocomialis* (genoespecie 13TU) son fenotípicamente indistinguibles mediante el uso de los métodos microbiológicos tradicionales y su genoma está estrechamente relacionado; por ello, se ha propuesto identificarlas como complejo *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* [4] o grupo *A. baumannii* [8], sin embargo, se han observado diferencias clínico-epidemiológicas entre ellas [1,4,5,8,9].

En la búsqueda de técnicas que sean aplicables de manera rutinaria, varios investigadores han utilizado combinación de métodos de identificación, como el análisis de restricción del ADNr 16S ribosomal amplificado (ARDRA) y/o la novedosa tecnología que utiliza la espectrofotometría de masa (MALDI-TOF MS), entre otros, para distinguir entre las especies de *Acinetobacter* [2,10-12]. Estos métodos, han permitido en los últimos años, grandes avances en la diferenciación de algunas especies bacterianas y, particularmente, de las especies incluidas en el complejo *A. calcoaceticus*-*A. baumannii*. En el presente artículo se muestra la experiencia obtenida en cuanto a la identificación de genoespecies de *Acinetobacter*, aisladas de pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (SAHUAPA), Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

Materiales y métodos

Cepas bacterianas: Se incluyeron 62 aislados identificados inicialmente como *Acinetobacter* sp., aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios, con diagnóstico de infecciones, atendidos en el Servicio Autónomo Hospital "Antonio Patricio de Alcalá", recolectados durante el periodo comprendido entre junio y diciembre del 2008. Los mismos se mantuvieron preservados a -20 °C en caldo infusión cerebro corazón con 50% de glicerol, en el Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, así como también se encontraban archivadas las encuestas clínico-epidemiológicas de cada paciente. El trabajo se realizó respetando las normas de bioética para trabajos de investigación en seres humanos [13].

Identificación de género y genoespecie: Se examinó la viabilidad y pureza de los aislados conservados cultivándolos en caldo infusión cerebro corazón y, posteriormente, en agar MacConkey. Los medios de cultivo fueron incubados durante toda la noche a 35 °C y luego se observó el crecimiento bacteriano. Con la finalidad de verificar que los cultivos correspondían a *Acinetobacter* sp., las colonias con características de no fermentadoras se identificaron a nivel de género mediante el método bioquímico convencional, según lo descrito por Koneman y col. [14] y Castillo [15]. Para complementar la identificación a nivel de género y determinar la genoespecie, se utilizó la tarjeta de identificación de gramnegativos (GN) VITEK®1,

siguiendo las instrucciones del fabricante, y ARDRA [4], respectivamente.

La extracción del ADN total se realizó empleando el estuche Genomic Wizard (Promega), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Para la amplificación del gen ADNr 16S se empleó el siguiente par de oligonucleótidos: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1510R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), (Roche, Mannheim, Germany), que permiten amplificar un producto de 1.500 pb (número de acceso en el GenBank: KU5451146.1). La amplificación se realizó empleando la Master Mix 2X (Promega); los oligonucleótidos a una concentración final de 1,0 µMol.L⁻¹; 2U/µL de Taq ADN polimerasa (Roche) y agua hasta completar un volumen total de reacción de 25 µL. Las condiciones de la amplificación fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 94 °C por cinco minutos, seguido por 35 ciclos, cada uno con una desnaturalización de 94 °C durante un minuto, 45 °C por un minuto, 72 °C por dos minutos y medio, con una extensión final de 72 °C por 10 minutos.

Para visualizar los productos de la amplificación, se realizó una corrida electroforética en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio (0,5 g/mL) en buffer TBE 1X, durante 30 min, a 70 V. Para estimar el tamaño de los fragmentos de ADN resultantes, se utilizó una escalera de peso molecular con bandas de concentración definidas (1 kb Plus DNA Ladders. Invitrogen, CA, USA). La banda resultante, de 1.500 pb, aproximadamente, fue detectada por transiluminación con luz ultravioleta (UVP, INC) y documentada fotográficamente (Polaroid Instantánea DS 34).

El amplicón de 1.500 pb fue digerido con las enzimas *AluI* (Roche, Mannheim, Germany), *CfoI*, *MboI*, *MspI* y *RsaI* (Promega, Madison, USA), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Los fragmentos digeridos se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 3% en buffer TBE 1X a 70 V, durante 3,5 horas, aproximadamente; luego, el gel de agarosa se tiñó con una solución de bromuro de etidio (0,5 g.mL⁻¹). Los patrones resultantes fueron detectados de igual manera por transiluminación con luz ultravioleta (UVP, INC) y documentados fotográficamente (Polaroid Instantánea DS 34).

Análisis de los patrones de digestión: El tamaño de los fragmentos de restricción obtenidos se determinó por comparación con la escalera de peso molecular de 1 kb. La presencia o ausencia de bandas fue determinada por inspección visual de los patrones por cuatro observadores diferentes, sin conocimiento de los datos epidemiológicos. Los patrones se consideraron iguales sobre las bases de similitud en cuanto al número y posición de todas las bandas. Pequeñas diferencias en la intensidad y forma de las bandas mayores o pérdida de bandas débiles fueron ignoradas. La identificación de las especies de cada cepa de *Acinetobacter* se logró mediante la comparación con los esquemas de ARDRA establecidos para esta bacteria, según Dijkshoorn *et al.* [2], Nemeč *et al.* [10,12]. La combinación

de patrones de digestión que se obtuvieron, finalmente, permitió la diferenciación entre las especies.

Análisis de los resultados: El análisis de los resultados se realizó empleando porcentajes de frecuencia; para ello, se elaboran tablas y figuras de los datos obtenidos mediante el programa estadístico SPSS versión 11.5.

Resultados y discusión

Del total de aislados evaluados, se identificaron 13 como *Acinetobacter* sp. y 49 pertenecieron al complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii*, mediante las pruebas bioquímicas convencionales. El sistema automatizado VITEK® 1 indicó que 8 de los aislados correspondieron a *Acinetobacter* sp. y 54 al complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii*.

La prueba más específica que permitió ubicar a los aislados en el complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii* fue el crecimiento a 44 °C; esto demuestra que *A. baumannii* no

es la única especie capaz de crecer a 44 °C y, de acuerdo a los resultados aquí obtenidos, las discrepancias observadas en cuanto al número de aislados identificados como complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii* deja claro que estos métodos no son suficientes para la discriminación de las especies de *Acinetobacter*. La literatura refiere que la única especie del género capaz de crecer a esta temperatura es *A. baumannii*, sin embargo, algunos investigadores afirman que otras especies pueden hacerlo a esta temperatura [4,10], entre ellas se encuentran las que forman el complejo *A. calcoaceticus-A. baumannii* (*A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. nosocomialis* y *A. pittii*); cabe resaltar que *A. nosocomialis* era designada anteriormente como *Acinetobacter* genoespecie 13TU y *A. pittii* como *Acinetobacter* genoespecie 3 [16,17].

En la figura 1 se muestran los patrones de restricción especie específicos obtenidos por ARDRA para identificar la especie de *Acinetobacter*, observándose el producto de amplificación de 1.500 pb del gen del ADNr 16S de este género (Figura 1A), y los diferentes patrones característicos

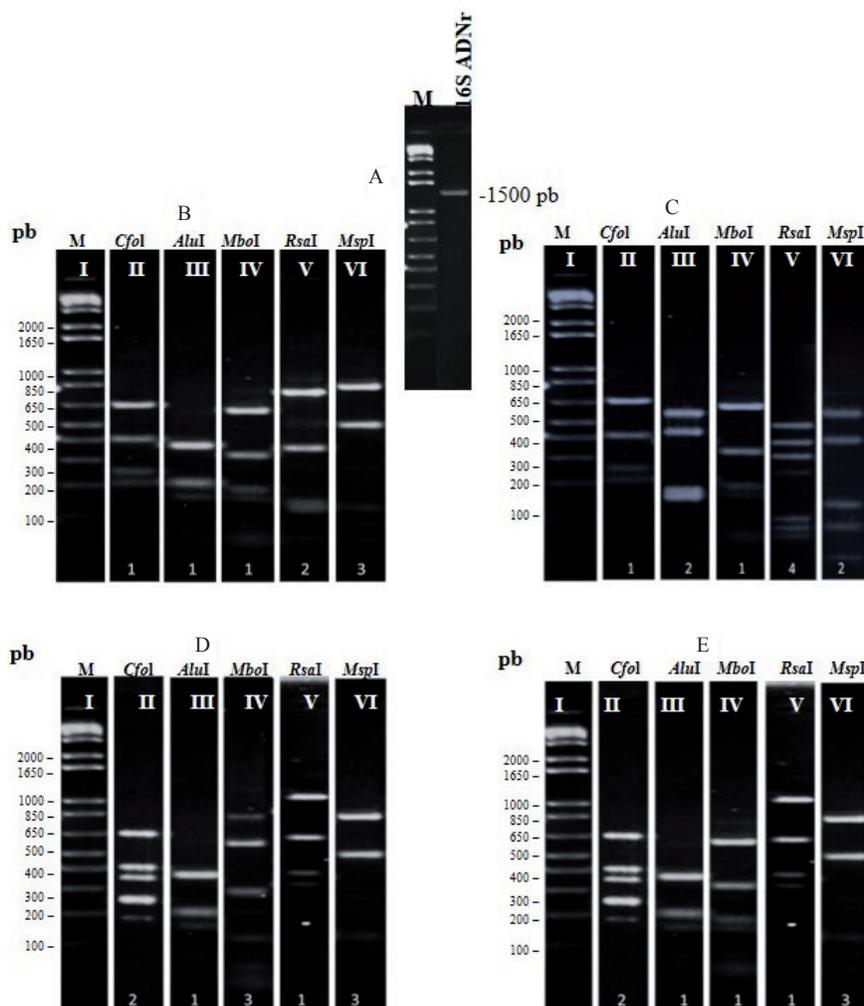


Figura 1. (A) Producto de la amplificación de la subunidad 16S del ADNr del género *Acinetobacter* por ARDRA. (B) *Acinetobacter baumannii*. (C) *Acinetobacter* genoespecie 16. (D) *Acinetobacter pittii*. (E) *Acinetobacter nosocomialis*. Línea I (M): Marcador de peso molecular 1 kb. Líneas II-VI: patrones de digestión con las enzimas de restricción *AluI*, *CfoI*, *MboI*, *RsaI* y *MspI*, para cada especie, respectivamente.

de cada una de las especies identificadas en esta investigación (Figura 1 B, C, D y E), presentando entre 3 y 6 bandas, que varían entre 100 y 850 pb. Se logró identificar en el SAHUAPA 50 (80,7%) aislados como *A. baumannii*; 2 (3,2%) fueron identificadas como *Acinetobacter* genoespecie 16; 1 (1,6%) como *A. pittii*; 1 (1,6%) como *A. nosocomialis* y 8 (12,9%) aislados de *Acinetobacter* sp. presentaron patrones de bandas no compatibles con los descritos actualmente para esta bacteria. Estos hallazgos sugieren que, para la identificación de especies dentro del género *Acinetobacter*, no solo se deberán utilizar métodos convencionales y/o automatizados como el VITEK® 1, debido a que en ocasiones arrojan resultados erróneos, por lo que es importante seguir avanzando en el diseño de metodologías como la de ARDRA, para la identificación correcta del género y especies más representativas de las bacterias no fermentadoras causantes de infecciones asociadas a cuidados en salud.

Al respecto, Salazar *et al.* [5] reportaron el aislamiento de *A. baumannii* en la UCI-Adulto del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, mediante ARDRA; también identificaron aislados que pertenecían a especies distintas de *A. baumannii*, como es el caso de *A. nosocomialis*. Cabe destacar que *A. baumannii* sigue siendo la especie más comúnmente aislada de muestras clínicas humanas, e implicada en la colonización e infección de pacientes, principalmente hospitalizados [18-21]. Arnold realizó un estudio acerca de la infección por *Acinetobacter* sp. en el Hospital Universitario Clínico Quirúrgico Comandante Faustino Pérez Hernández, del municipio de Matanzas, Cuba, entre los meses de octubre de 2011 y julio de 2012, donde concluyó que *A. baumannii* es la principal especie que se aísla hasta en 92% de las bacteriemias intrahospitalarias [22].

Es importante resaltar que especies distintas de *A. baumannii* también pueden encontrarse participando en infecciones intrahospitalarias, entre los que cabe mencionar *A. pittii* y *A. nosocomialis*, así como, *Acinetobacter* cepa RUH 1139 y *A. septicus* [3,4,6,23]. Igualmente, Arnold [22] reportó en su estudio, además de *A. baumannii*, a las especies *A. haemolyticus* y *A. lwoffii*, siendo ésta última la de menor porcentaje de aislamiento. Estudios realizados en el Reino Unido y en los Estados Unidos, reportaron a la especie *A. baumannii* como la más prevalente (78 y 63% respectivamente) y en menor proporción *A. nosocomialis* (0,3 y 21%, respectivamente) y *A. pittii* (1,7 y 8%, respectivamente) [17,24]. Sin embargo, estos resultados difieren con el estudio realizado por Karah *et al.* [23], en Noruega, sobre aislados a partir de hemocultivos, donde *A. nosocomialis* fue la especie de *Acinetobacter* más prevalente (46,9%), seguida de *A. pittii* (19,5%) y *A. baumannii* (8,8%).

Según los resultados de este estudio se obtuvieron 3 patrones de bandas por ARDRA diferentes de la especie *A. baumannii*, lo cual muestra la variabilidad genética presente en dicha especie (Tabla 1). También se pudo observar que el mayor porcentaje de aislamiento de *A. baumannii* correspondió al patrón 11123 (con 28 aislados), seguido del

Tabla 1. Patrones de bandas obtenidos por ARDRA en especies de *Acinetobacter*, aisladas de pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre 2008.

Especie genómica	Aislado		Enzima			
	N°	<i>CfoI</i>	<i>AluI</i>	<i>MboI</i>	<i>RsaI</i>	<i>MspI</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	28*	1	1	1	2	3
	10	1	1	1	2	1
	12	1	1	1	2	1+3
<i>Acinetobacter</i> genoespecie 16	2	1	2	1	4	2
<i>Acinetobacter pittii</i>	1	2	1	3	1	3
<i>Acinetobacter nosocomialis</i>	1	2	1	1	1	3

*Distribución del patrón en los servicios médicos: Medicina interna (8), Retén (6), UCI pediátrica (4), UCI adulto (4), Traumatología (3), pacientes ambulatorios (3).

patrón 1121+3 (ver tabla 1) (con 12 aislados) y el patrón 11121 (con 10 aislados). El mayor número de aislados correspondiente al patrón 11123 se obtuvo del servicio de medicina interna (8), ubicándose los demás aislados de dicho patrón en menor porcentaje, en otros servicios médicos como retén, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) tanto pediátrica como de adulto, traumatología e incluso en aislados obtenidos de pacientes ambulatorios. Los otros dos patrones obtenidos se aislaron de forma dispersa (o aleatoria) en varios servicios. En cuanto a las demás genoespecies, no se halló diferencia en los patrones de banda obtenidos.

Aunque en la literatura revisada no se encontró ningún reporte sobre la implicación clínica de *Acinetobacter* genoespecie 16, en el presente estudio se registró un aislado obtenido de una secreción de úlcera de un paciente atendido en el servicio de medicina interna y otro se aisló de un cultivo de punta de catéter de un neonato, hospitalizado en el servicio de retén patológico. Es de hacer notar que dichos aislados provenían de pacientes con factores predisponentes para que un oportunista como *Acinetobacter* pudiese colonizar e infectar.

Con respecto a los aislados que presentaron patrones de bandas distintos a los publicados actualmente para las especies de *Acinetobacter* descritas (Datos no mostrados), cabe destacar que dichos resultados fueron reproducibles cuando se repitieron los experimentos; pudiera tratarse de patrones distintos que no han sido considerados, por lo que, sería necesario aplicar otro método de identificación que aporte mayor información sobre la identificación bacteriana; al respecto, algunos investigadores, en casos como este, han recurrido a la secuenciación del ADNr 16S [2,10,11].

La tabla 2 muestra la distribución de los microorganismos aislados según la procedencia del paciente. En el caso de los pacientes hospitalizados se obtuvieron 45 (72,6) aislados

Tabla 2. Distribución de las especies de *Acinetobacter* identificadas según la procedencia de los pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Estado Sucre. Junio – diciembre 2008.

Procedencia	<i>A. bau</i>	<i>A. nos.</i>	<i>A. pittii</i>	<i>A. gen 16</i>	<i>A. sp</i>	Total
	N° (%)	N° (%)	N° (%)	N° (%)	N° (%)	N° (%)
Hospitalizados	45 (72,6)	1 (1,6)	1 (1,6)	2 (3,2)	8 (12,9)	57 (91,9)
Ambulatorios	5 (8,1)	-	-	-	-	5 (8,1)

A. bau.: *Acinetobacter baumannii*; *A. nos.*: *Acinetobacter nosocomialis*; *A. gen. 16.*: *Acinetobacter* genoespecie 16; *A.sp.*: *Acinetobacter* sp.

pertenecientes a la especie *A. baumannii*, 1 (1,6%) *A. nosocomialis*, 1 (1,6%) *A. pittii*, 2 (3,2%) *A. genoespecie 16*, y 8 (12,9%) cepas de *Acinetobacter* sp. que presentaron patrones de bandas no compatibles con los descritos actualmente para esta bacteria. En los pacientes ambulatorios se obtuvieron 5 (8,1%) aislados de *A. baumannii*.

Estos resultados demuestran que el mayor porcentaje de aislamiento se encontró en pacientes hospitalizados, principalmente, en servicios médicos donde estos suelen atenderse en estado crítico y/o inmunocomprometidos que ameritan larga estancia. Estudios realizados han revelado que la prevalencia de *Acinetobacter* sp. en medios hospitalarios va a depender, principalmente, de los factores predisponentes inherentes al hospedero y de los factores de virulencia de la bacteria, así como su capacidad de supervivencia y multirresistencia [1,25]. Al respecto, Rodríguez y col. afirmaron que las infecciones por *A. baumannii* son endémicas en las UCI en muchos centros asistenciales de la Argentina [26].

En cuanto al área de servicio médico de donde se aislaron las especies de *Acinetobacter*, el tiempo de hospitalización de los pacientes fue de 6 ± 4 días. Se encontró que el mayor porcentaje de aislamientos provenía de pacientes atendidos en el Servicio de Medicina Interna (36,8%), seguido por los de retén (24,6%), UCI (22,8%) y en un menor porcentaje se ubicaron los aislados provenientes de los pacientes de traumatología (7,0%), pediatría (7,0%) y sala posparto (1,8%).

Son escasos los estudios publicados a nivel nacional sobre la identificación precisa a nivel de especie de *Acinetobacter* [4,5,27], resaltando que la presente investigación es la primera en realizarse en la localidad, aplicando la técnica ARDRA como método genético, para la identificación de las especies de *Acinetobacter*. Por lo antes expuesto, se recomienda profundizar en este tipo de estudio, para ampliar el conocimiento sobre las distintas especies que pudieran estar circulando en las diferentes áreas de los centros hospitalarios, agravando la salud de los pacientes, lo que permitiría diseñar mejores estrategias terapéuticas y controlar la prevalencia de estas bacterias.

Conclusión

Especies distintas a *A. baumannii* se identificaron como agentes causales de infecciones en pacientes atendidos, principalmente, en los servicios de medicina interna, UCI y retén del SAHUAPA; de allí la importancia de los resultados aquí obtenidos, lo que demuestra que las infecciones producidas por este género sigue en aumento, con el añadido de nuevas especies involucradas tales como *A. pittii*, *A. nosocomialis* y *A. genoespecie 16*.

Agradecimientos

A las empresas privadas Aluminios PIPO, C.A., Toyota Proserpi y Centro de Especialidades, Carúpano, a través de la Corporación Parque Tecnológico de Oriente. A la UDO, que con sus aportes hizo posible el desarrollo de esta investigación, la cual forma parte del proyecto LOCTI (Ley Orgánica de Ciencia, Tecnología e Innovación) intitulado: “Epidemiología de cepas bacterianas, aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios que acuden al hospital “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre.

Referencias

- Zhang H, Zhang J, Qiao L. The *Acinetobacter baumannii* group: a systemic review. World J Emerg Med. 2013; 4:169-74.
- Dijkshoorn L, Nemec A, Vanechoutte M, ENEMTI group. Identification of *Acinetobacter* genomic species by means of amplified rDNA restriction analysis (ARDRA). Disponible en: <http://users.ugent.be/~mvaneech/ARDRA/Acinetobacter.html>. Acceso 20 de enero 2016.
- Ribera A, Fernández-Cuenca F, Beceiro A, Bou G, Martínez-Martínez L, Pascual A *et al.* Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance to quinolones and β -lactam antibiotics in *Acinetobacter genoespecies 3*. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48:1430-2.
- Salazar E, Nieves B, Araque M, Velasco E, Ruíz J, Vila J. Outbreak caused by *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006; 27:397-403.
- Salazar E, Nieves B, Ruíz J, Vila J, Araque M, Velázco E. Molecular epidemiology and characterization resistance mechanisms to various antimicrobial agents in *Acinetobacter baumannii* isolated in Mérida, Venezuela. Med Sci Monit. 2007; 13:89-94.
- Kilic A, Li H, Mellmann A, Basustaoglu A, Kul M, Senses Z *et al.* *Acinetobacter septicus* sp. nov. association with a nosocomial outbreak of bacteremia in neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol. 2008; 46:902-8.
- Jung J, Park W. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. Appl Microbiol

- Biotechnol. 2015; 99:2533-48.
8. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008; 21:538-82.
 9. Casellas JM. No todos los *Acinetobacter* son iguales en cuanto a patología y tratamiento. Es necesario esmerarse en diferenciarlos. La Gaceta Inf Mic Clín Lat. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=18667&Itemid=2012;2:1-3. Acceso 20 enero 2016.
 10. Nemeč A, Dijkshoorn L, Jezek, P. Recognition of two novel phenons of the genus *Acinetobacter* among non-glucose-acidifying isolates from human specimens. J Clin Microbiol. 2000; 38:3937-41.
 11. Salazar E, Nieves B, Ruíz J, Vila, J. Utilidad del Sistema API 20NE para identificar especies del género *Acinetobacter* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. Rev Soc Ven Microbiol. 2008; 28:89-95.
 12. Nemeč A, Krizova L, Maixnerova M, Van der Reijden T, Deschaght P, Passet V *et al.* Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). Res Microbiol. 2011; 162:393-404.
 13. De Abajo F. La declaración de Helsinki VI. Rev Esp Salud Púb. 2001; 75:407-20.
 14. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, editores. Diagnóstico Microbiológico. 6^{ta} edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2008.
 15. Castillo E. Manual de identificación de los bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa. Venezuela, estado Zulia: Coordinación Regional de Laboratorios del Estado Zulia, Laboratorio de Referencias Bacteriológicas para el control sanitario de alimentos y vigilancia epidemiológica (LARBCAVE); 2009.
 16. Chuang Y, Sheng W, Lin Y, Wang J, Chen Y. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *Acinetobacter* bacteremia. Clin Infect Dis. 2011; 52:352-60.
 17. Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M, Stefanik D, Higgins P, Edmond M *et al.* Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. J Infect. 2012; 64:282-90.
 18. Castro R, Adriana L, Trinda W, Soares S, Rezende E, Coutinho R *et al.* Outbreak of resistant *Acinetobacter baumannii* – measures and proposal for prevention and control. Brazilian J Infect Dis. 2009; 13:341-47.
 19. Bazargani A, Hashemizadeh Z. Bacteremia due to multidrug-resistant (MDR) and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Acinetobacter baumannii*. Afr J Microbiol Res. 2011; 5:3483-6.
 20. Hernández M, Valenzuela E, Pulido I, Reguero M, Restrepo S, Gualtero S. The genomic identification of Colombian *Acinetobacter baumannii* clinical isolates by RFLP-PCR analysis of the 16S-23S rRNA gene spacer region. Rev Colomb Biotecnol. 2011; XIII:110-4.
 21. Kong B, Hanifah Y, Yusof M, Thong K. Application of amplified ribosomal DNA restriction analysis in identification of *Acinetobacter baumannii* from a tertiary teaching hospital, Malaysia. Trop Biomed. 2011; 28:563-8.
 22. Arnold M. Infección por *Acinetobacter* spp. en el Hospital Universitario Clínico Quirúrgico Comandante Faustino Pérez Hernández de Matanzas. 2011-2012. Rev Med Electrón. 2014; 36:3-14.
 23. Karah N, Haldorsen B, Hegstad KG, Simonsen GS, Sundsfjord A, Samuelson O; Norwegian Study Group on *Acinetobacter*. Species identification and molecular characterization of *Acinetobacter* spp. blood culture isolates from Norway. J Antimicrobial Chemother. 2011; 66:738-44.
 24. Turton J, Shah J, Ozongwu C, Pike R. Incidence of *Acinetobacter* species other than *A. baumannii* among clinical isolates of *Acinetobacter*: evidence for emerging species. J Clin Microbiol. 2010; 48:1445-9.
 25. Dijkshoorn L, Nemeč A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nat Rev Microbiol. 2007; 5:939-51.
 26. Rodríguez C, Bombicino K, Granados G, Vay C, Famiglietti A. Evaluación microbiológica y epidemiológica de los clones de *Acinetobacter baumannii* resistentes a los carbapenemes aislados en la unidad de cuidados intensivos de un hospital universitario de la ciudad de Buenos Aires. Rev Argent Microbiol. 2009; 41:151-5.
 27. Cuaical N, Delgado Y, Anzola Y, Marcano D, Torres L. Detección de carbapenemasas tipo OXA en aislados de *Acinetobacter baumannii* de diferentes centros hospitalarios de Caracas, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2012; 32:95-100.