

## Artículos

- ***Acinetobacter baumannii*: Nuevo agente enterotoxigénico, aislado de niños con diarrea aguda.**
- **Introducción.**
- **Materiales y métodos**
- **Resultados**
- **Discusión**
- **Referencias**

### **Nina Polanco**

n5polanc@hotmail.com  
Laboratorio de Patogenicidad  
Bacteriana, Escuela de Bioanálisis,  
Facultad de Medicina, Universidad  
Central de Venezuela,  
Caracas, Venezuela.

### **Kirenia Méndez**

Laboratorio de Patogenicidad  
Bacteriana, Escuela de Bioanálisis,  
Facultad de Medicina, Universidad  
Central de Venezuela,  
Caracas, Venezuela.

### **Iván Flores**

Instituto de Cirugía Experimental.  
Universidad Central de Venezuela,  
Caracas, Venezuela.

### **Pául Coronel**

Instituto de Cirugía Experimental.  
Universidad Central de Venezuela,  
Caracas, Venezuela.

### **Microbiología**

## ***Acinetobacter baumannii*: Nuevo agente enterotoxigénico, aislado de niños con diarrea aguda.**

Fecha de recepción: 11/05/2012

Fecha de aceptación: 28/07/2012

Las enfermedades diarreicas son causa frecuente de mortalidad y morbilidad en niños. La etiología infecciosa no siempre se logra identificar. Recientemente, se ha reportado el aislamiento de *A. baumannii* en niños con diarrea aguda, las cuales fueron toxigénicas en la línea celular HT-29. Para determinar la actividad enterotoxigénica de *Acinetobacter* spp, las cepas fueron cultivadas en caldo infusión cerebro-corazón durante 24 h, a 35°C. Los sobrenadantes fueron obtenidos por centrifugación y filtración y su actividad fue probada en asa ileal de conejo New Zealand. Se evidenció que *A. baumannii* indujo mayor estimulación de secreción intestinal y de la respuesta inflamatoria que la cepa enterotoxigénica *E. coli* H10407. La actividad enterotoxigénica fue anulada al calentar los sobrenadantes a 70°C durante 15 minutos. *A. calcoaceticus* no produjo ningún efecto. Conclusión: *A. baumannii* presentó actividad enterotoxigénica a través de una exotoxina termolábil. Estos resultados sugieren un posible papel etiológico de *A. baumannii* en la diarrea aguda en niños.

**Palabras Claves:** *Acinetobacter baumannii*, enterotoxigénico, enterotoxina, exotoxina, diarrea aguda.

### **Title**

*Acinetobacter baumannii*: New enterotoxigenic agent, isolated from children with acute diarrhoea.

### **Abstract**

Diarrhoeal diseases are a common cause of mortality and morbidity in children but the infectious etiology is not always identified. Recently, it has been reported the isolation of *Acinetobacter baumannii*, in children with acute diarrhoea, which presented a toxigenic effect in the cell line HT-29. To determine the enterotoxigenic activity of *Acinetobacter* spp, the strains were cultured in brain-heart infusion for 24 h, at 35°C. The supernatants were obtained by centrifugation and filtration and their activity tested on New Zealand rabbit ileal loop assay. This test showed that *A. baumannii* induced a greater stimulation of intestinal secretion and inflammatory response, than enterotoxigenic strains *E. coli* H10407. Enterotoxigenic activity was eliminated when the supernatants were heated at 70° C during 15 minutes. *A. calcoaceticus* did not produce any effect. Conclusion: *A. baumannii* presented enterotoxigenic activity through a thermolabile exotoxin. These results suggest a possible etiologic role of *A. baumannii* in acute diarrhoea in children.

### **Key Word**

*Acinetobacter baumannii*, enterotoxigenic, enterotoxin, exotoxin, acute diarrhoea.

## ***Acinetobacter baumannii*: Nuevo agente enterotoxigénico, aislado de niños con diarrea aguda.**

### **Introducción.**

La diarrea de origen infeccioso es una entidad clínica que, pese a los esfuerzos dedicados en el mundo para combatirla, constituye una de las tres primeras causas de enfermedad y muerte en niños menores de cinco años<sup>(1,2)</sup>. De acuerdo a las estadísticas suministradas por el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS, 2.005), en el período de 2.002 al 2.004 en Venezuela se presentaron un total de 320.711 casos de diarrea en niños entre uno y cuatro años, con una tasa de morbilidad de 14.274,6/100.000 habitantes<sup>(3)</sup>. La información más reciente refiere que para el año 2.010 se registraron de 684.225 casos de diarreas en niños menores de 4 años<sup>(4)</sup>, para el 2011 se registraron 636.114 casos en niños menores de cinco años<sup>(5)</sup> y hasta el mes de marzo del presente año van 127.379 casos<sup>(6)</sup>. Estas cifras son indicativas de la persistencia del problema que representan las diarreas en la salud pública en nuestro país.

Los microorganismos más frecuentemente asociados con diarrea aguda en niños son los rotavirus los cuales representan del 30 al 40% de los casos. Las bacterias, el 20% causados principalmente por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Campylobacter jejuni*. Los parásitos son responsables de este síndrome gastrointestinal, en un 10% a 12% representados en su mayoría por *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides*. Estas cifras muestran que entre el 40% y 50 % de las diarreas quedan sin definición etiológica<sup>(7,8)</sup>, aunque no contemplan en estos estudios, la participación de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico, a pesar que, desde aproximadamente dos décadas, forma parte de los microorganismos bacterianos de importancia en el síndrome gastrointestinal en humanos, sobre todo en niños menores de 5 años<sup>(9,10,11,12)</sup>. La falta de estudios epidemiológicos en nuestro país sobre esta bacteria en la etiología de las diarreas, quizás es debido a: *i.*- Por su carácter de anaerobio no se investiga en los coprocultivos de rutina. *ii.*- Porque la demostración de la actividad enterotoxigénica es laboriosa<sup>(13,14,15)</sup>. Sin embargo, el alto porcentaje de diarreas sin definición etiológica sugiere que pudieran existir otros patógenos distintos a *B. fragilis* enterotoxigénico.

*Acinetobacter baumannii* forma parte del género *Acinetobacter*, el cual está constituido por un grupo de cocobacilos Gram-negativos de naturaleza ubicua ya que tiene la habilidad de sobrevivir y persistir sobre múltiples superficies abióticas. Puede formar parte de la flora normal de la piel de adultos sanos, especialmente en las manos, de donde puede colonizar otros sitios del cuerpo y/o ubicarse en diferentes instrumentos hospitalarios como aparatos de ventilación mecánica, catéteres, líquido de diálisis peritoneal, etc. En estos sitios se convierten en reservorios responsables de los brotes nosocomiales<sup>(16)</sup>, sobretodo en pacientes inmunosuprimidos y en aquellos recluidos en unidades de cuidados intensivos<sup>(17,18)</sup>.

Hasta el presente, la información sobre los factores de virulencia y fisiología ambiental de *A. baumannii* son limitados. Uno de los mecanismos por los cuales estos bacilos se adhieren a superficies clínicamente relevantes, es porque son capaces de formar biocapas en materiales de polipropilén, poliestireno y titanium, a través de una proteína asociada a la biocapa (Pab), esta proteína también está envuelta en la adherencia a las células epiteliales bronquiales en humanos y en los queratinositos en neonatos, pero no participa en la internalización de la bacteria en estas dos líneas celulares<sup>(19)</sup>.

Recientemente han sido reportados algunos factores de virulencia y su papel en la patogénesis de las infecciones por este cocobacilo. Entre estos factores de virulencia se encuentra la producción de enzimas extracelulares con actividades lipolíticas y citolíticas, la proteína de la membrana externa (AbOmpA) con efecto apoptóticos sobre células epiteliales<sup>(20)</sup>, las moléculas de adhesión (fimbria and AbOmpA) que funcionan durante la unión a células epiteliales<sup>(21,22)</sup>, la estructura capsular tipo K1 (23), pili tipo-1 (24), la formación de sideróforos (acinetobactin), o hemina que median en los mecanismos de adquisición de hierro<sup>(25)</sup>, el sistema "quorum sensing"

que funciona mediante la interacción de N-acyl homoserina como molécula inductora de la señal del sistema, junto con componentes celulares, facilitan la adaptación de las especies de *Acinetobacter* a vivir en condiciones ambientales inapropiadas tales como sequedad extrema, bajas temperaturas y restricción en elementos nutricionales necesarios para su supervivencia<sup>(26)</sup>.

*Acinetobacter baumannii* es uno de los patógenos más frecuentes en el ambiente hospitalario. En los últimos años se ha reportado un incremento significativo favorecido por el aumento de la resistencia que presenta a los antimicrobianos<sup>(27)</sup>, por tal razón, son frecuentemente aislados en pacientes con enfermedades serias tales como sepsis<sup>(28,29)</sup>, neumonía<sup>(30)</sup>, meningitis<sup>(31)</sup>, infecciones del tracto urinario<sup>(32)</sup> e infecciones de heridas<sup>(33)</sup>.

La línea celular HT-29 ha sido usada para detectar efecto enterotoxigénico en otras bacterias. Son un clon de células epiteliales de intestino humano, derivado de cáncer de colon y han sido usadas con éxito para detectar efecto enterotoxigénico en *B. fragilis*. Representan un 89% de sensibilidad y 100% de especificidad en relación con los ensayos de asa ligada de intestino delgado en animales de experimentación<sup>(13)</sup>.

Recientemente se ha reportado que sobrenadantes de cultivo de algunas cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de pacientes con diarrea, indujeron marcadas alteraciones en la monocapa y células HT-29. Estas alteraciones superaron en algunos casos, a las producidas por los controles positivos *Shigella dysenteriae* Tipo 1<sup>(8)</sup>. No obstante la actividad demostrada por *A. baumannii* sobre las células HT-29, se planteó determinar, el efecto enterotoxigénico de las cepas de *Acinetobacter* spp aisladas en niños con diarrea aguda, en asas ligadas de intestino delgado de conejo New Zealand.

## Materiales y métodos

Las bacterias del presente estudio están conformadas por cinco cepas pertenecientes al género *Acinetobacter* spp, las cuales fueron aisladas e identificadas en el Laboratorio de Patogenicidad bacteriana de la Cátedra de Microbiología de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. Provenían de niños menores de 5 años, ambulatorios, quienes presentaban diarrea aguda. Tres de las cinco cepas fueron identificadas como *A. baumannii* (Ab 016, Ab 032, Ab109<sup>a</sup>) y las otras dos cepas, como *A. calcoaceticus* (Ac108, Ac109<sup>b</sup>)<sup>(8)</sup>. Las cepas controles fueron: *Escherichia coli* K12, no enterotoxigénica y *E. coli* H10407, enterotoxigénica.

### Animales de experimentación.

Se utilizaron conejos albinos machos, raza New Zealand, con un peso aproximado de 2,0-2,5 Kg. Los conejos fueron manejados siguiendo las normas establecidas en el Código de Bioética y Bioseguridad<sup>(34)</sup>.

### Obtención del sobrenadante de los cultivos de *Acinetobacter* spp

Las cinco cepas de *Acinetobacter* spp se sembraron en placas de agar nutritivo y se incubaron a 35°C durante 24 horas en aerobiosis. De estos cultivos se tomaron 4 ó 5 colonias y se inocularon por duplicado en tubos que contenían caldo infusión-cerebro-corazón (Difco), hasta lograr una densidad comparable al patrón de Mc Farland número 0,5<sup>(35)</sup>. Posteriormente, los tubos fueron incubados 35°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se centrifugaron (Sorvall RC-5b) a 4°C durante 10 minutos a 2.000 g. El sobrenadante fue filtrado a través de una membrana de 0,22 µm (Fischer), posteriormente se separó en dos alícuotas, una se mantuvo en frío y la otra alícuota se calentó en baño de María a 70 ° C durante 15 minutos. Ambas fracciones fueron ensayadas en asa ligada de intestino delgado de conejo New Zealand. A fin de comprobar la pureza de los cultivos, los sedimentos resultantes se sembraron en placas de agar sangre para su cultivo en condiciones de aerobiosis.

De la misma forma se obtuvieron los sobrenadantes de las bacterias controles.

### Ensayo en asa ileal de conejo.

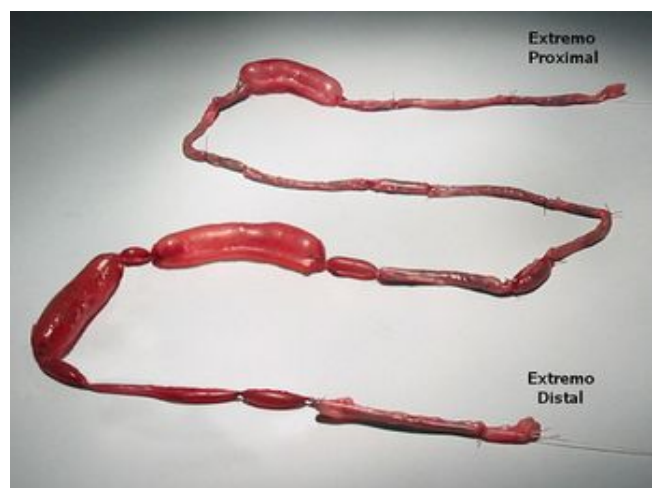
Durante 24-48 horas previas al acto quirúrgico, a los conejos se les suministró agua solamente. Para este acto, el conejo se sujetó a la mesa de operaciones y se anestesió mediante inyección por la vena auricular de 1,0 ml (25 mg/Kg) de Triptental sódico (Rotexmédica). Seguidamente se afeitó la región abdominal y bajo condiciones de asepsia se realizó una incisión con bisturí en la línea media de la cavidad abdominal, luego se exteriorizó el intestino delgado el cual se mantuvo húmedo mediante rocío de solución salina estéril, seguidamente se procedió a ligar con hilo de sutura crómico 2-0 (Catgut, Marca Ethicon), las asas ileales del conejo. La primera ligadura fue realizada a partir del extremo distal del intestino delgado. Antes de realizar las otras ligaduras, con una aguja calibre 25, se inyectaron 200 ml de solución salina estéril en la parte superior del intestino. Seguidamente se manipuló suavemente desde el intestino hasta el ciego. Luego se dividió el intestino en segmentos de 6 cm de longitud, separados por segmentos de 3 cm. En cada segmento de 6 cm se inoculó, con una inyectadora de insulina, 1 ml de cada sobrenadante calentado y sin calentar, de las distintas cepas de *Acinetobacter* spp. Igual cantidad se inyectó con los sobrenadantes de *Escherichia coli* enterotoxigénica H10407 y *E. coli* K12, así como con el caldo infusión-cerebro-corazón (CICC). Posteriormente el animal se mantuvo bajo la acción de calmantes y sin ingerir alimentos durante 18 horas, cuando fue sacrificado para extraerle nuevamente el intestino delgado y hacer las mediciones de cada segmento y del volumen acumulado en los mismos.

El efecto enterotoxigénico se estableció a través de la relación entre la longitud del asa y el volumen contenido en la misma. Esta relación debe ser mayor o igual a 1, para asignarle un efecto enterotoxigénico a la cepa en cuestión<sup>(36)</sup>.

## Resultados

### Determinación del efecto enterotoxigénico en asa ligada de intestino delgado de conejos New Zealand.

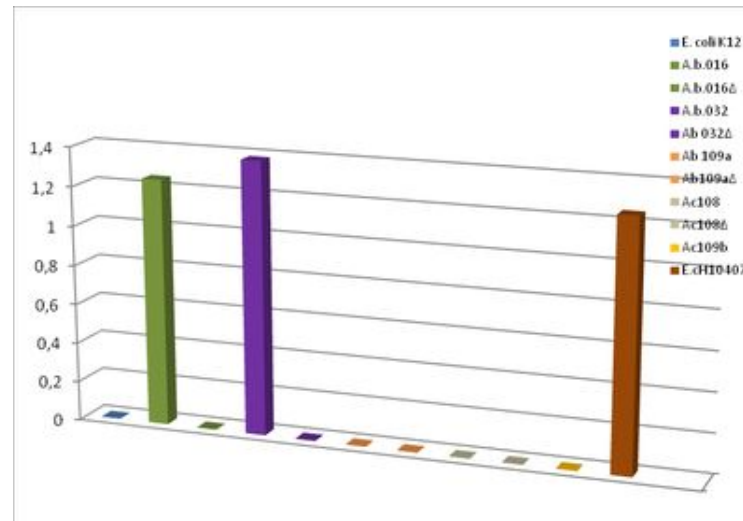
En la figura 1. Correspondiente al ensayo en asa ileal de intestino delgado de conejos New Zealand con sobrenadantes de cultivo de cinco cepas de *Acinetobacter* spp y de las cepas controles, se observa que las asas inoculadas con los sobrenadantes de cultivo de *Escherichia coli* K12 (A), *A. baumannii* 109<sup>a</sup> (F), *A. baumannii* 109a  $\Delta$  (G), *A. calcoaceticus* 108(H), *A. calcoaceticus* 108  $\Delta$  (I), *A. calcoaceticus* 109b(K) y con caldo infusión cerebro-corazón [CICC(L)], no presentaron acumulación de líquido, mientras que las asas inoculadas con los sobrenadantes de *A. baumannii* 016 (C), *A. baumannii* 032 (D) y la cepa enterotoxigénica *E. coli* H10407 si presentaron acumulación de líquido.



**Figura 1.** Ensayo en asa ileal de intestino delgado de conejos New Zealand con exoproductos de: *Escherichia coli* K12 (A), *Acinetobacter baumannii* 016 $\Delta$  (B), *A. baumannii* 016 (C), *A. baumannii* 032 (D), *A. baumannii* 032 $\Delta$  (E), *A. baumannii* 109a (F), *A. baumannii* 109a  $\Delta$  (G), *A. calcoaceticus* 108 (H), *A. calcoaceticus* 108  $\Delta$  (I), *E. coli* H10407 (J), *A. calcoaceticus* 109b (K), CICC (L).  $\Delta$ : calentado a 70°C por 15 minutos. CICC: caldo infusión cerebro-corazón.

El calentamiento a 70°C durante 15 minutos de los sobrenadantes de las cepas *Acinetobacter baumannii* 016 $\Delta$  (B), *A. baumannii* 032 $\Delta$  (E) eliminó el efecto enterotoxigénico.

El volumen acumulado por cm en las asas de intestino, se muestra en la Figura 2, donde se observa que en las asas inoculadas con *A. baumannii* 016 (Ab16) y *A. baumannii* 032 (Ab32), se extrajeron 1,25 ml/cm y 1,38 ml/cm respectivamente. El volumen medido en el asa inoculada con el sobrenadante de cultivo de la cepa enterotoxigénica *E. coli* H10407 fue de 1,25 ml/cm. En el resto de las asas la relación volumen/cm fue cero (0).



**Figura 2.** Volumen (ml/cm) extraído de las asas de intestino delgado de conejo New Zealand tras ser inoculadas con sobrenadantes de cultivo de las cepas de *Acinetobacter* spp y de las cepas controles. Ab: *A. baumannii*, Ac: *A. calcoaceticus*

Las características macroscópicas del líquido extraído de las asas de intestino, se presentan en la Tabla 1. Para el caso de la cepa *A. baumannii* 016 (Ab016), el aspecto fue denso, hemorrágico, con abundantes coágulos, moco y detritus celulares. En el caso de la cepa *A. baumannii* 032 (Ab032), fue denso, hemorrágico, con escasos coágulos, moco y detritus celulares. El líquido secretado en el asa inoculada con la cepa enterotoxigénica *E. coli* H10407 fue denso y amarillento.

Sobrenadante de cultivo		Líquido en las asas	
Especie	Cepa	ml/cm	Aspecto del líquido.
<i>E. coli</i> K12		0	-
<i>A. baumannii</i>	016	1,25	Denso, hemorrágico, coágulos (+++), moco, detritus celulares
	016 Δ	0	-
	032	1,38	Denso, hemorrágico, coágulos (++), moco, detritus celulares
	032 Δ	0	-
	109a	0	-
	109a Δ	0	-
<i>A. Calcoaceticus</i>	108	0	-
	108Δ	0	-
	109 b	0	-
<i>E. coli</i> H10407		1,25	Denso, amarillento.
CICC		0	-

Δ: Calentado a 70 °C x 15 minutos. CICC: Caldo infusión cerebro-corazón.

**Tabla 1.** Relación del volumen/cm y las características macroscópicas del líquido contenido en

las asas de intestino delgado de conejo New Zealand, inoculadas con sobrenadantes de cultivo de las diferentes cepas de *Acinetobacter* spp y de los controles.

## Discusión

A pesar de los esfuerzos realizados por distintas organizaciones mundiales de la salud, las enfermedades diarreicas continúan siendo un problema de salud pública en el mundo, sobre todo en los países en desarrollo, donde contribuyen de manera significativa a incrementar la tasa de morbilidad y mortalidad en niños menores de cinco años<sup>(1,2)</sup>. La etiología infecciosa de este síndrome no siempre se logra identificar. En la actualidad, la información existente refiere, que entre un 40% a 50% de las diarreas quedan sin definición etiológica, lo que sugiere que deben existir otros microorganismos responsables del síndrome diarreico. Recientemente, en un estudio constituido por 150 niños menores de 5 años con diarrea aguda, atendidos en la Consulta Externa de un hospital de Caracas, se aislaron, además de los enteropatógenos que se investigan de rutina, cinco cepas de *Acinetobacter* spp de las cuales, tres se agruparon en la genoespecie 2 correspondiente a *A. baumannii* y dos a la genoespecie 1 correspondiente a *A. calcoaceticus*. Las cepas de *A. baumannii* indujeron un marcado efecto toxigénico en la línea celular HT-29 el cual no se evidenció en *A. calcoaceticus*<sup>(8)</sup>. A pesar de estos hallazgos y de la utilidad de estas células en la definición de enterotoxigenicidad en bacterias tales como *Bacteroides fragilis*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile* y *Shigella dysenteriae*<sup>(13)</sup>, en este estudio, para definir la actividad enterotoxigénica de *A. baumannii* se ensayaron los sobrenadantes de cultivo de las cepas de *Acinetobacter* spp aisladas de niños con diarrea aguda en asa ileal de conejo New Zealand. En el ensayo se puso de manifiesto que las cepas A.b016 y A.b032 de *A. baumannii*, indujeron estimulación de la secreción intestinal (Fig 1C y D), la cual fue mayor que la cepa enterotoxigénica *E. coli* H10407 (Fig.2). Así mismo, se evidenció a través del aspecto macroscópico del líquido, la inducción de la respuesta inflamatoria, ya que en ambas, el líquido extraído fue hemorrágico, con abundantes coágulos, moco y detritus celulares por lo cual no se pudo extraer en su totalidad. Estas características resaltan con el aspecto del líquido extraído del asa inoculada con *E. coli* H10407, que a pesar de ser una cepa enterotoxigénica solamente fue denso y amarillento (Tabla 1), con lo cual se demuestra la mayor actividad por parte de *A. baumannii*. Similares alteraciones han sido provocadas por otros enteropatógenos productores de toxinas termolábiles tales como *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico<sup>(9)</sup>, *Vibrio cholerae*<sup>(37)</sup>, *Clostridium difficile*<sup>(38)</sup>, *Campylobacter jejuni*<sup>(39,40)</sup>, *Salmonella enteritidis*<sup>(41)</sup>, entre otras. La termolabilidad de la enterotoxina fue corroborada cuando se eliminó el efecto enterotoxigénico al calentar los sobrenadantes a 70°C durante 15 minutos.

De acuerdo con estos resultados, se concluye que el efecto enterotoxigénico aquí demostrado en las cepas de *A. baumannii* es a través una exotoxina termolábil. Por la sensibilidad de la toxina a la temperatura podría inferirse que se trata de una proteína de alto peso molecular (PM), semejante a las toxinas termolábiles de *E. coli* enterotoxigénica, la cual tiene un PM de 86.500 Da<sup>(42)</sup>, la toxina A de *Clostridium difficile* con 308.000 Da<sup>(38)</sup>, también podría mencionarse la metaloproteasa de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico con 20.000 Da<sup>(43,44)</sup>. El sobrenadante de la cepa Ab109a, no mostró alteración en las asas, no obstante haber producido pequeños espacios en los agregados de las células HT-29<sup>(8)</sup>. Este hecho podría sugerir que, para que una cepa pueda considerarse enterotoxigénica por su acción sobre las células HT-29 debe inducir pronunciados cambios morfológicos en la misma, tal como ocurrió con las cepas Ab016 y Ab032<sup>(8)</sup>. La falta de reacción en las asas ligadas de conejo también podría ser por diferencias en el tiempo de producción de la toxina y/o en la concentración de la misma. En casos como éste, en otros modelos experimentales se han planteado varias hipótesis que contemplan diferencias en la expresión o tiempo de secreción de la toxina así como la presencia de otros factores de virulencia<sup>(43)</sup>. La información obtenida de cepas de *Bacteroides fragilis* con baja producción de enterotoxina derivadas de cepas altamente toxigénicas, indican que el mecanismo probablemente responsable de este comportamiento es la regulación de la transcripción de los genes<sup>(43, 45)</sup>. Este mecanismo tal vez pudiera ocurrir en *A. baumannii*. Aunque *A. baumannii* está bien establecido como patógeno extraintestinal en el ambiente hospitalario<sup>(12,13,15)</sup>, también se ha encontrado asociado a infecciones en la comunidad, principalmente a infecciones respiratorias<sup>(46, 47)</sup>, pero no hay reportes conocidos sobre su etiología en el síndrome gastrointestinal. Cabe destacar que los pacientes de quienes se

aislaron las cepas eran ambulatorios, de manera que la fuente de infección no fue nosocomial. El posible papel etiológico de diarreas infantiles adjudicado en el presente trabajo a *A. baumannii* es sustentado por: *i.* Su aislamiento en ausencia de los enteropatógenos investigados de rutina <sup>(8)</sup>. *ii.* Efecto enterotoxigénico en células HT-29 (8). *iii.* Efecto enterotoxigénico en asa ileal de conejo New Zealand. Actualmente, en el laboratorio de Patogenicidad bacteriana, de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Medicina en la Universidad Central de Venezuela, se está caracterizando la (S) enterotoxina (s) y determinando el mecanismo definitivo de enterotoxigenicidad de este bacilo no fermentador de glucosa.

## Referencias

1. Kosek M, Bern C, Guerrant R.L. The global burden of diarrheal disease as estimated from studies published between 1992-2000. *Bull World Health Organ* 2003; 81(3):197-204.
2. Black R E, Morris S S, Bryce J. Where and Why are 10 million children dying every day? *Lancet* 2003; 361:2226-2234.
3. Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS). Boletín Epidemiológico 2005. Fuente: dirección de Epidemiología regional/ DVE/DEAE/MSDS. Venezuela. Año 2005.
4. Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). Boletín Epidemiológico 2010 N° 52.
5. Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). Boletín Epidemiológico 2011 N° 52.
6. Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). Boletín Epidemiológico 2012 N° 09.
7. Guerrant R, Hughes JM, Lima MI, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries, magnitude, special settings and etiologies. *Rev Infect Dis* 1990; 12:541-50.
8. Polanco N y Manzi L. Efecto toxigénico de *Acinetobacter baumannii* aislado en niños con diarrea aguda. *Invest Clin* 2008; 49(1):59-67.
9. Myers, LL, Shoop DS, Stackhouse LL, Newman SF, Flaherty RJ, Lestón W, Sack B. Isolation of *Bacteroides fragilis* from humans with diarrhea. *J Clin Microbiol* 1987; 25:2330-2333.
10. Polanco N, Garcia A, Candela E, Seijas U. Aislamiento de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico en pacientes del Hospital de Niños J. M. De los Ríos con síndrome gastrointestinal. *Acta Científica Venezolana. Memorias de la XLIV Convención Annual*, 1994. 45:236.
11. Durmaz B, Dalgalar M, Durmaz R. Prevalence of Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in children less than 5 years of age in Hanoi, Vietnam. *Anaerobe* 2005; 11:318-321.
12. Cohen SH, Shetab R, Tang-Feldman YJ, Sarma P, Silva J Jr, Prindiville TP. Prevalence of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in hospital-acquired diarrhea. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 55:251-254.
13. Weikel C, Grieco F, Reuben J, Myers L, Sack B. Human colonic cells, HT-29/C1, treated with crude *Bacteroides fragilis* enterotoxin dramatically alter their morphology. *Infect Immun* 1992; 60:321-327.
14. Polanco N, López T, Urbina G, Carmona O. *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico aislado de pacientes con vaginitis. *SVM* 2008; 28(1):43-47
15. Polanco N, Manzi L, Carmona O. Posible papel de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico en la etiología de la vaginitis infecciosa. *Invest Clin* 2012; 53(1):28-37.
16. Benitez L, Ricart M. Pathogenesis and environmental factors in ventilator-associated pneumonia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23:46-51.
17. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* 2006; 11:868-873.
18. Bergogne-Bézoin E, Towner K. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens: microbiological,

clinical and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9:148-165.

19. [Brossard KA](#), [Campagnari AA](#). The *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. Infect Immun 2012; 80(1):228-33. Infect Immun 2012; 80(1):228-33.
20. [Sook JJ](#), [Kwon S-O](#), [Moon D H](#), [Gurung M](#), [Lee JH](#), [Kim S I](#), [Lee J C](#) . *Acinetobacter baumannii* Secretes Cytotoxic Outer Membrane Protein A via Outer Membrane Vesicles. PLoS One 2011; 6(2): e17027.
21. [Lee JC](#), [Koerten H](#), [van den Broek P](#), [Beekhuizen H](#), [Wolterbeek R](#), et al. Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells. Res Microbiol 2006;157:360–366.
22. [Choi CH](#), [Lee JS](#), [Lee YC](#), [Park TI](#), [Lee JC](#). *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. BMC Microbiol 2008; 8: 216.
23. [Russo TA](#), [Luke NR](#), [Beanan JM](#), [Olson R](#), [Sauberan S](#), [MacDonald U](#) et al. The K1 Capsular Polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* Strain 307-0294 Is a Major Virulence Factor. Infect Immun 2010;78(9): 3993-4000.
24. [Tomaras AP](#), [Dorsey C W](#), [Edelmann R E](#), [Actis L A](#). Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. Microbiology 2003; 149 (12): 3473-3484.
25. [Zimble DL](#), [Penwell WF](#), [Gaddy JA](#), [Menke SM](#), [Tomaras AP](#), et al. Iron acquisition functions expressed by the human pathogen *Acinetobacter baumannii*. Biometals 2009; 22:23–32.
26. [Bhargava N](#), [Sharma P](#), [Capalash N](#). Quorum sensing in *Acinetobacter*: an emerging pathogen. Crit Rev Microbiol 2010 Nov; 36(4): 349-60.
27. [Gordon MC](#), [Wareham DW](#). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. Int J Antimicrob Agents 2010; 35:219–226.
28. [Peleq AY](#), [Potoski BA](#), [Rea R](#), [Adams J](#), [Sethi J](#), [Capitano B](#), [Husain S](#), [Kwak EJ](#), [Bhat SV](#), [Paterson DL](#). *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report. J Antimicrob Chemother 2007; 59:128-131.
29. [Aguirre-Avalos G.](#), [Mijangos-Mendez J.C.](#), [Amaya-Tapia G](#). Bacteriemia por *Acinetobacter baumannii*. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2010 Nov-Dec;48(6):625-34
30. [Benitez L](#), [Ricart M](#). Pathogenesis and environmental factors in ventilator-associated pneumonia. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23:10-17.
31. [Abbas M](#), [Chowdhury M](#). *Acinetobacter baumannii* meningitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21:212-214.
32. [Braun G](#), [Vidotto Mc](#). Evaluation of adherence, hemagglutination, and presence of genes codifying for virulence factors of *Acinetobacter baumannii* causing urinary tract infections. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004; 99:839-44.
33. [Guerrero DM](#), [Pérez F](#), [Conger NG](#), [Solomkin JS](#), [Adams MD](#), [Rather PN](#) et al. *Acinetobacter baumannii* –associated skin and soft tissue infections: recognizing a broadening spectrum of disease. Surgical Infec 2010; 11(1):49-59.
34. [Briceño E](#), [Suárez E](#), [Michelangi C](#), [Felicangeli D](#), [Ptaiza E](#), [Mendible J](#), [Villalón M](#), [Aguilera M](#), [Ceballo H](#), [Godoy J](#). Código de Bioética y Bioseguridad, Capítulo 2 y 3. Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT). 2da. Edición, 2010. Venezuela.
35. NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 2000. Approved standard M7-A5. NCCLS, Wayne Pa.
36. [Soderlind E](#), [O](#). Comparison of different assays for definition of heat-stable enterotoxigenicity of *Escherichia coli* porcine strains. J Clin Microb 1980; 11: 6-15.
37. [Haan L](#), [Hirst TR](#). Cholera toxin and related enterotoxins: a cell biological and immunological



perspective. *J Nat Toxins* 2000; 9(3):281-97.

38. Marcos F, Rocha G, José Júlio, Sidrim C, Aldo A M. O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarrea inflamatoria. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32(1):47-52.

39. Klipstein FA, Engert R F. Properties of crude *Campylobacter jejuni* eat-labile enterotoxin. *Infect Immun* 1984;45(2):314-319.

40. Florin I, Antillon F. Production of enterotoxin and cytotoxin I *Campylobacter jejuni* strains isolated in Costa Rica. *J Med Microbiol* 1992; 37:22-29.

41. Houston CW, Koo FC, Peterson JW. Characterization of Salmonella toxin released by mitomycin C-treated cells. *Infect Immun* 1981;32(2):916-926.

42. Svennerholm A.-M, Tobias J. Vaccines against enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Expert Rev. Vaccines* 2008; 7:795-804.

43. Polanco N. Caracterización de la enterotoxina de *Bacteroides fragilis* aislado de pacientes con diarrea. Trabajo de ascenso al escalafón de Profesor Asociado. 1999. Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela.

44. Moncrief J S, Obiso R, Barroso L, Kling JJ, Wright R, VanTassell R et al. The enterotoxin of *Bacteroides fragilis* is a metalloprotease. *Infect Immun* 1995; 63:175-181.

45. Wu S, Dreyfuss LA, Tzianabos AO, Hayashi CH, Sears C. Diversity of the metalloprotease toxin produce by enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*. *Infect Immun* 2002; 70:2464-2471.

46. Ong CW, Lye DC, Khoo KL, Chua GS, Yeoh SF, Leo YS, Tambyah PA, Chua AC. Severe community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia: an emerging highly lethal infectious disease in the Asia-Pacific. *Respirology* 2009;14(8):1200-5.

47. Falagas M F, Karveli E A, Kelesides J, Kelesides T. Community –acquired *Acinetobacter* infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26:857-68.

**NOTA:** Toda la información que se brinda en este artículo es de carácter investigativo y con fines académicos y de actualización para estudiantes y profesionales de la salud. En ningún caso es de carácter general ni sustituye el asesoramiento de un médico. Ante cualquier duda que pueda tener sobre su estado de salud, consulte con su médico o especialista.