

Higiene y Sanidad Ambiental, **21** (1): 1959-1964 (2021)

Detección de microorganismos productores de β -lactamasas AmpC en muestras clínicas de un hospital de La Habana (Cuba)

DETECTION OF MICROORGANISMS PRODUCING AmpC β -LACTAMASES IN CLINICAL SAMPLES OF A HOSPITAL OF HAVANA CITY (CUBA)

Abilio Ubaldo RODRÍGUEZ PÉREZ, Osiris HARVEY PEDROSO, Gleibys HERNÁNDEZ RICARDO, Regla Zenaida MORA GUERRA

Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de La Habana, Cuba (CPHEM La Habana). Departamento Provincial de Laboratorios. Sección Microbiología.

Correspondencia: Abilio Ubaldo Rodríguez Pérez. CPHEM La Habana, Cuba. Calle 102 s/n entre 31 y 31B, Reparto Hornos. Municipio Marianao 14. La Habana 11400, Cuba

Correo-e: ubaldo.rodriguez@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Las enzimas β -lactamasas AmpC tienen capacidad hidrolítica - llamadas también cefalosporinasas - pertenecientes al grupo 1 de la clasificación de *Bush-Jacoby-Medeiros*, pueden ser de tipo constitutivo e inducible y su determinación fenotípica es compleja por la interpretación de los resultados, es por ello que muchos investigadores plantean que esta línea de desarrollo constituye una sub-especialidad dentro de la Microbiología como ciencia. *Objetivo:* Determinar la presencia de microorganismos productores de β -lactamasas AmpC en muestras clínicas de un hospital de La Habana (Cuba), durante el primer semestre de 2020. *Material y métodos:* Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal, donde se seleccionaron 67 cepas bacterianas como sospechosas de β -lactamasas AmpC; las que se les realizó antibiograma interpretado por método de Bauer-Kirby y se determinó la frecuencia por tipo de muestra y Servicio. *Resultados:* De las 67 cepas bacterianas seleccionadas, el 58% se consideraron confirmatorias de β -lactamasas AmpC. *Conclusiones:* La detección oportuna de microorganismos productores de β -lactamasas AmpC permite establecer estrategias para evitar la circulación mediada por plásmidos en hospitales y utilización de mejores opciones terapéuticas que no induzcan a otros mecanismos de resistencia por otros grupos de antibióticos diferentes a las cefalosporinas.

Palabras clave: Resistencia a antibióticos, política de antibióticos, fenotipo AmpC, β -lactamasas AmpC.

ABSTRACT

Introduction: The AmpC β -lactamases enzymes have a hydrolytic capacity - also called cephalosporinases - belonging to group 1 of the *Bush-Jacoby-Medeiros* classification, they can be of constitutive and inducible type. Their phenotypic determination is complex for the interpretation of the results, that's why many investigators consider that this development line constitutes a sub-specialty inside of Microbiology like science. *Objective:* To determine the presence of microorganisms producing AmpC β -lactamases in clinical samples of a hospital in Havana City (Cuba) during the 1st semester 2020. *Material and methods:* An observational, descriptive and cross-sectional study was carried out, where 67 bacterial strains were selected as suspicious of AmpC β -lactamases; antibiogramme interpreted by method of Bauer-Kirby was made and the frequency was determined by type of sample and Service. *Results:* It was identified that of the 67 bacterial strains selected, 57% were considered as AmpC β -lactamases confirmed for their positivity to the test. *Conclusions:* the opportune detection of AmpC β -

lactamasas prevents the propagation mediated for plasmid in hospitals and the use of better therapeutic options that do not induce other mechanisms of resistance by other antibiotic's group different of cephalosporin.

Keywords: Antibiotics resistance, antibiotics policy, AmpC phenotypes, AmpC β -lactamasas.

INTRODUCCIÓN

Abordar el fenómeno de la resistencia bacteriana en la actualidad se hace indispensable por considerarse un problema de salud global que incide en la morbi-mortalidad con repercusión económico-social para todos los factores involucrados (paciente-familia-sociedad). Desde el inicio de la terapia antimicrobiana, se ha generado una presión selectiva que induce esta iatrogenia; el uso inadecuado de antibióticos como la automedicación, tratamientos empíricos sin cultivo previos y tratamientos incompletos entre otras prácticas no adecuadas, han marcado un comportamiento en las bacterias que de forma natural o adquirida desarrollan mecanismos para sobrevivir en condiciones difíciles por exposición a estos agentes; conllevando una variabilidad genética que logra una sobrevivencia a su progenie por mucho más tiempo.^{1,2}

Esta respuesta bacteriana genera un desafío en el desarrollo de estrategias en el control de enfermedades transmisibles; significando un gran reto la vigilancia de mecanismos de resistencia a los antibióticos de elección terapéutica y control del proceso infeccioso.^{2,3}

Existen diferentes mecanismos de expresión de la resistencia bacteriana cuyo principal objetivo es evitar que la molécula química llegue a su sitio blanco de acción por diferentes vías: cierre de porinas, bombas de expulsión, mutaciones del sitio de anclaje y la producción de enzimas hidrolíticas en el caso que sea de tipo enzimático expuesto por el agente biológico que genera enzimas capaces de hidrolizar antibióticos desde el rango de espectro reducido hasta amplio espectro.^{3,4}

La producción de β -lactamasas es uno de los principales mecanismos de resistencia en bacterias Gram negativas, el cual está controlado por un gen - cromosómico o transferible por plásmidos o transposones - que actúa rompiendo el enlace amídico del anillo betalactámico previa unión al grupo carboxilo, lo que provoca que el antibiótico pierda la capacidad de unirse a las proteínas fijadoras de la penicilina (PBP).^{2,3} Estas enzimas se encuentran en el espacio periplásmico y atacan al antibiótico antes de que este alcance su receptor. Su producción puede ser constitutiva o inducible sólo en presencia de un betalactámico.^{4,5}

β -lactamasas AmpC son serin- β -lactamasas pertenecientes al grupo 1 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros, presentes de forma natural en diversas Enterobacterias y en bacilos Gram negativos no fermentadores (BNF).⁶ La primera AmpC descrita de localización plasmídica (pAmpC) fue argumenta-

da por Papanicolaou, Medeiros y Jacoby, que describieron la resistencia transmisible a α -metoxi oximino-betalactámico mediada por una enzima / blaMIR-1, con propiedades químicas propias de β -lactamasas tipo 1 y con una homología del 90% con el gen AmpC de *Enterobacter cloacae*.^{6,7}

Se conocen como cefalosporinas debido a su acción hidrolítica sobre las cefalosporinas, este mecanismo de resistencia de tipo enzimático puede expresarse tanto cromosómico inducible principalmente en la familia Enterobacteriaceae, como su denotación en géneros bacterianos como *Aeromonas*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Pseudomonas*; de forma cromosómica pero constitutivo no inducible en *Shigella*, *Escherichia coli* y *Acinetobacter baumannii*.⁷⁻⁹

En circunstancias habituales esta enzima con actividad cefalosporinasa se secreta en pequeñas cantidades con nivel de expresión reducido y está relacionada con la resistencia a aminopenicilinas y a cefalosporinas de espectro reducido, no se hidrolizan con inhibidores de β -lactamasas. Su elaboración puede incrementarse de 100 a 1000 veces en presencia de antibióticos betalactámicos inductores, como cefoxitina o imipenem, ácido fenil borónico y cloxacilina, aunque es una sobreexpresión reversible que desaparece al retirar el agente inductor. La producción de AmpC también aumenta cuando se producen mutaciones cromosómicas que afectan a las proteínas comprometidas en su inducción, fenómeno que determina una expresión constitutiva de elevado nivel.⁹

Se plantea que los genes que codifican las enzimas constitutivas de tipo inducible plasmídicas (pAmpC) poseen la capacidad de integrarse a elementos genéticos como es el caso de algunos miembros de la familia Enterobacteriaceae, lo que facilita la diseminación a otros microorganismos de algunas diferencias o cambio de aminoácidos en la secuencia de estas enzimas plasmídicas, las que originaron 6 familias CIT (derivadas de blaAmpC de *Citrobacter freundii*) que incluyen los grupos CMY y LAT; DHA (derivadas de blaAmpC de *Morganella morganii*); ACC (derivada de blaAmpC de *Hafnia alvei*); FOX (derivada de blaAmpC de *Aeromonas media*); MOX (se cree que son derivadas de AmpC cromosómica de *Aeromonas caviae*), EBC (derivadas de blaAmpC de *Enterobacter cloacae* y *Enterobacter asburiae*) incluye ACT y MIR,⁹ posteriormente se descubre una nueva variante: CFE-1, derivada de blaAmpC de *Citrobacter freundii*.^{10,11}

Esta clase de β -lactamasa posee un sistema de expresión y represión del gen blaAmpC que lo codifica. En el mecanismo se reconocen precursores por los

cuales se genera este tipo de enzima, involucra un sistema molecular relacionado con la reutilización del peptidoglicano relacionando el balance entre la biosíntesis y la degradación del mismo; el proceso comienza con los productos de degradación de la pared 1,6 anhidromuropéptidos (1,6 Amp) los que atraviesan el citoplasma bacteriano a través de una proteína transmembranal llamada AmpG, esta tiene la función de inductor y promotor de la proteína transcripcional AmpR, es decir, cuando el AmpR se une con el 1,6 Amp, se induce la expresión del gen AmpC con la subsecuente producción de la enzima AmpC.¹¹

En el ambiente hospitalario la vigilancia de la resistencia bacteriana se realiza mediante la notificación diaria y sistematización de la información relacionada con los microorganismos y sus perfiles de susceptibilidad/resistencia, de esta manera se establece y mapea la microbiota presente en las instituciones, identificando la circulación de clones provenientes de la comunidad cada vez más frecuentes. En la presente investigación los microorganismos con expresión de β-lactamasas tipo AmpC se identifican de manera fenotípica.

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de betalactamasas AmpC en muestras clínicas de un hospital de La Habana (Cuba) durante el primer semestre de 2020.

MATERIAL Y MÉTODOS

Es un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal, donde se realizó la caracterización fenotípica de microorganismos portadores de β-lactamasas AmpC en muestras clínicas durante un periodo de 6 meses.

De 93 cepas de bacilos Gram negativos evaluados durante el primer semestre de 2020, el 72% (n = 67) fueron seleccionadas como casos sospechosos de β-lactamasas tipo AmpC con posible mecanismo de resistencia a estas, sensibles a carbapenémicos y resistentes a cefamicinas; y ampicilina-sulbactam; mecanismo confirmado con la prueba de aproximación de doble disco.¹²

Los microorganismos se identificaron por pruebas bioquímicas internacionalmente estandarizadas. El estudio de resistencia bacteriana se realizó según método de Bauer-Kirby, antibiograma interpretado.¹²⁻¹⁴

Para la prueba confirmatoria se utilizaron medios de cultivo sólido, selectivo y diferencial con incubación de 24 horas a 37° C. Se realizó método de difusión en discos a una escala de 0,5 Mc Farland; se utilizó ácido fenil borónico (300 mg) a 18 mm de distancia centro a centro con las cefalosporinas de tercera generación y cefoxitina a 27 mm de distancia centro a centro con ceftazidima (30 mg), ceftriaxona (30 mg) y cefotaxime (30 mg) como antibióticos reveladores o sustratos.^{13,14}

Se realizó la lectura interpretada después de 24

horas de incubación considerándose positiva al observar una expansión (distorsión) o achatamiento del halo de inhibición del antibiótico sustrato de una o ambas cefalosporinas en las proximidades al disco de ácido fenil borónico o cefoxitina. Como cepas control se utilizaron *E. coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Se determinó además la frecuencia de aislados β-lactamasas tipo AmpC por tipo de muestra y Servicio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A las 67 cepas bacterianas seleccionadas como posibles productoras de β-lactamasas tipo AmpC se les realizó lectura interpretada del antibiograma para evaluar la resistencia a los antibióticos ensayados y prueba fenotípica confirmatoria de aproximación de discos. Los microorganismos caracterizados se reflejan en la Tabla 1.

Se obtuvo 100% de resistencia a los antibióticos ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina y cefoxitina, de la misma manera en los datos mostrados por otros autores en estudios similares.¹⁵ En el test de sinergia de aproximación de discos se obtuvo la confirmación en 39 cepas bacterianas donde se encontró un perfil similar de resistencia, hidrolizando ampicilina inhibidora de β-lactamasa (ampicilina-sulbactam) y cefamicinas; antibióticos indicadores usuales para predecir una posible β-lactamasa tipo AmpC, en otras se observa hidrólisis de fluoroquinolonas, trimetropin-sulfametoxazol y cefalosporinas de primera a cuarta generación (Tabla 2).

De los microorganismos confirmados, las principales fuentes anatómicas fueron secreciones (puru-

Tabla 1. Géneros y especies bacterianas seleccionadas como posibles productoras de β-lactamasas tipo AmpC procedentes de muestras clínicas de un hospital clínico-quirúrgico de La Habana (Cuba). Primer semestre 2020.

Género y especie	Nº de aislamientos	Frecuencia de aislamientos (%)
<i>E. cloacae</i>	17	25
<i>S. marcescens</i>	11	16
<i>E. aerogenes</i>	23	35
<i>E. coli</i>	10	15
<i>K. pneumoniae</i>	2	3
<i>C. freundii</i>	2	3
<i>S. liquefaciens</i>	2	3
TOTAL	67	100

Fuente: Base de datos. Registro y proceso de cepas bacterianas. CPHEM La Habana (Cuba), 2020.

Tabla 2. Fenotipos de resistencia de las cepas bacterianas productoras de β -lactamasa AmpC aisladas de muestras clínicas de un hospital clínico-quirúrgico de La Habana (Cuba). Primer semestre, 2020.

<i>Microorganismo</i>	<i>No. Cepas (n = 39)</i>	<i>Fenotipo de Resistencia</i>
<i>E. cloacae</i> (6)	5	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina y cefoxitina
	1	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefoxitina, trimetropin-sulfametoxazol, cefepime, ceftriaxona y ceftazidima
<i>S. marcescens</i> (2)	2	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefoxitina, trimetropin-sulfametoxazol
<i>E. aerogenes</i> (16)	11	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefoxitina
	5	ampicilina, ampicilina-sulbactam, ciprofloxacina, levofloxacino, cefepime, ceftriaxona y ceftazidima
<i>E. coli</i> (7)	7	ampicilina, amoxicilina-clavulánico, cefepime, ceftriaxona y ceftazidima
<i>K. pneumoniae</i> (4)	4	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefoxitina, trimetropin-sulfametoxazol, cefepime, ceftriaxona y ceftazidima
<i>C. freundii</i> (2)	2	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefoxitina, trimetropin-sulfametoxazol
<i>S. liquefaciens</i> (2)	2	ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefoxitina, trimetropin-sulfametoxazol

Fuente: Base de datos. Registro y proceso de cepas bacterianas. CPHEM La Habana (Cuba), 2020.

lentos), 31%; orina, 26%; y secreción endotraqueal, 18% (Tabla 3); resultado que de manera similar se reporta en otros estudios de identificación fenotípica en centros hospitalarios donde los aislamientos AmpC provienen de muestras clínicas como secreciones de heridas quirúrgicas 36%, orina 41%, sangre 13% y secreciones respiratorias 10%; tomadas en servicios de cirugía, neurología y unidades de cuidados intensivos.¹⁶

La investigación realizada mostró que las AmpC identificadas con pruebas fenotípicas a nivel institucional presentan circulación en varios Servicios. Se observó (Tabla 4), que los principales fueron la unidad de cuidados intensivos (UCI) de adultos (33%, n = 13), seguido de urgencias (26%, n = 10), y cirugía general (18%, n = 7). En otro estudio en el país, las cepas de bacilos Gram negativos con el fenotipo AmpC mostraron distribución en todos los servicios de la institución: 52% en hospitalización de adultos, 26% en urgencias de adultos, 16% en unidad de cuidados intensivos, 4% en unidad de cuidados intermedios y 3% en cirugía; la principal fuente anatómica fue la orina con un 44% seguido de líquido abdominal con un 9% contrastando con el presente estudio.¹⁷

CONCLUSIONES

De las 67 cepas bacterianas seleccionadas en el estudio, 58% se consideraron confirmatorias de β -lactamasas AmpC mediante el test de sinergia de aproximación de discos. Se encontró un perfil de resistencia en estos microorganismos para ampicilina

inhibidora de β -lactamasa (ampicilina-sulbactam) y cefamicinas; fluoroquinolonas, trimetropin-sulfametoxazol y cefalosporinas de primera a cuarta generación. Los sitios de localización más frecuentes fueron: secreciones (purulentos), orina y secreción endotraqueal. Los mayores hallazgos por Servicios fueron a expensas de la unidad de cuidados intensivos de adultos, seguido de urgencias y cirugía general.

Los resultados obtenidos ofrecen un acercamiento al conocimiento de la epidemiología microbiana local en una institución de salud de La Habana, reconociendo el perfil fenotípico de un grupo de microorganismos con sospecha de β -lactamasas AmpC que pueden conllevar a riesgos de opciones terapéuticas limitadas y por lo tanto modificaciones en los índices de morbilidad de las Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria.

Establecer la prevalencia de la producción de esta enzima es primordial como parte de la vigilancia y monitoreo de la resistencia a los antibióticos para el control de infecciones, así como identifica la circulación de los posibles clones de la comunidad y que ingresan en dichos centros asistenciales.

La detección oportuna de genes que codifican para β -lactamasas AmpC evita la propagación mediada por plásmidos en centros donde se brinde atención médica y posibilita la utilización de una terapia antimicrobiana adecuada que no induzcan otros mecanismos de resistencia por otros grupos de antibióticos diferentes a las cefalosporinas.

Es esencial, en esta dirección, que los laboratorios de Microbiología posean una infraestructura adecuada, contar con tecnología de punta y capacitación continua de profesionales en esta temática, lo que

Tabla 3. Distribución de las cepas bacterianas aisladas productoras de β-lactamasa AmpC por tipo de muestra / sitio de localización de la infección procedentes de un hospital clínico-quirúrgico de La Habana (Cuba). Primer semestre, 2020.

Microorganismo	Sitio de localización de la infección						Total
	A	B	C	D	E	F	
<i>E. cloacae</i>	3	-	2	-	1	-	6
<i>S. marcescens</i>	2	-	-	-	-	-	2
<i>E. aerogenes</i>	3	4	5	4	3	-	19
<i>E. coli</i>	2	5	-	-	-	-	7
<i>K. pneumoniae</i>	-	1	-	-	-	1	2
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-	1	1
<i>S. liquefaciens</i>	2	-	-	-	-	-	2
Total	12	10	7	4	4	2	39

Fuente: Base de datos. Registro y proceso de cepas bacterianas. CPHEM La Habana (Cuba), 2020.

Leyenda: A: secreciones (purulentos); B: orina; C: secreción endotraqueal; D: sangre (hemocultivos); E: secreción bronquial; F: secreción bronquial; G: catéter (no colonización).

Tabla 4. Distribución de las cepas bacterianas aisladas productoras de β-lactamasa AmpC por Servicio procedentes de un hospital clínico-quirúrgico de La Habana (Cuba). Primer semestre, 2020.

Microorganismo	Servicio					Total
	G	H	I	J	K	
<i>E. cloacae</i>	3	1	1	1	-	6
<i>S. marcescens</i>	-	1	-	1	-	2
<i>E. aerogenes</i>	7	6	4	-	2	19
<i>E. coli</i>	2	2	1	-	2	7
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	2	-	2
<i>C. freundii</i>	-	-	1	-	-	1
<i>S. liquefaciens</i>	1	-	-	1	-	2
Total	13	10	7	5	4	39

Fuente: Base de datos. Registro y proceso de cepas bacterianas. CPHEM La Habana (Cuba), 2020.

Leyenda: G: unidad de cuidados intensivos de adultos; H: urgencias; I: cirugía general; J: medicina interna; K: ortopedia.

aportaría información relevante para el control de esta iatrogenia y alternativas terapéuticas.

Es conveniente el seguimiento molecular y la exploración de las posibles causas que inducen a la expresión fenotípica del mecanismo de resistencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Bustos YAC, Rubio VV, Navarro MMC. Perspectiva histórica del origen evolutivo de la resistencia a antibióticos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2017; 19(2):105-17.
- Mandell, Douglas y Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. *Enfermedades infecciosas. Principios y*

- práctica. 2017. Disponible en: <http://www.studentconsult.es/bookportal/mandell-douglas-bennett/bennett/obra/9788490229170/500/6749.html>
- Dantas J y Neto HM. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in cattle production - a threat around the world. 2020. *Heliyon*; 6:1-20. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03206>.
- Ramón HJ, Álvaro P, Rafael C, Luis M-M, Hospitalaria GdEdI. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica*. 2003; 21(2):77-82.
- Center for Disease Dynamics, Economics and Policy. *The state of the world's antibiotics*. Washington, DC; 2015. Disponible en: https://www.cddep.org/publications/state_worlds_antibiotics_2015/
- Tafur JD, McGowan A, McNaughton E. Antibiotic resistance. *Medicine Clinical key*. 2017 Oct; 45(10):622-628. Disponible en: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/journal/1-s2.0-S1357303917301883>
- Papanicolaou G, Medeiros A, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxymino-and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1990; 34(11):2200-9.
- Zeng X, Lin J. Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria. *Frontiers in microbiology*. 2013; 4:128.
- Seral C, Gude MJ, Castillo FJ. Emergencia de β-lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinas): origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas. *Revista Española de Quimioterapia*. 2012; 25(2).
- Pereira Relis E, Aboy CapoteI L, Pulido Armas JC. Uso de antimicrobianos en el servicio de medicina. Hospital General Docente "Dr. Enrique Cabrera". *Rev Habanera Ciencias Médicas*. 2016; 15(3):363-376.
- Shaikh S, Fátima J, Shakil S, Rizvi SM, MA K. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamasas: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2015; 22:90-101. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25561890>
- CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. CLSI supplement M100. 27ª ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- Tascini C, Sozio E, Viaggi B, Meini S. Reading and understanding an antibiogramme. *Italian Journal of Medicine*. 2016;10(4):289-300. Disponible en: <http://www.italjmed.org/index.php/ijm/article/view/794>

14. Revista Habanera de Ciencias Médicas *versión On-line* ISSN 1729-519X. Ciencias clínicas y patológicas. Fundamentos de la lectura interpretada del antibiograma para médicos de asistencia clínica. *Rev Haban Cienc Méd*, vol.17, no.4, La Habana, jul.-ago. 2018.
15. Montaña ELV, Salguero JCS, Torres LFB, Ortega HD. *Rev Haban Lab.* 2019
16. Japoni-Nejad A, Ghaznavi-Rad E, van Belkum A. Characterization of plasmid-mediated AmpC and carbapenemases among Iranian nosocomial isolates using phenotyping methods. *Osong Public Health and Research Perspectives.* 2014;5(6):333-8.
17. Montaña ELV, Salguero JCS, Torres LFB, Ortega HD. *Rev Haban Lab.* 2018.