

Acinetobacter Baumannii y resistencia a los antimicrobianos en un hospital de segundo nivel de la ciudad de México

Maria de Lourdes Patricia Ramirez Sandoval

Jefe del Servicio de Infectología en el Hospital General de zona no. 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro" IMSS
Correo electrónico: dra_patyramirez@hotmail.com,

Colaboradores en orden de aparición

Dr. Francisco J Moreno Pérez

Director Médico y Traumatólogo HGZ 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro"

Dr. José Luis Aranza Aguilar

Subdirector Médico e Internista del HGZ 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro"

Dra. Maribel A Varela Ramirez

Residente 1er año cirugía general

QFB. Georgina Vélez Castro

Adscrita al servicio de bacteriología del HGZ 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro"

QFB. Rosalba Salcedo Romero

Adscrita al servicio de bacteriología del HGZ 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro"

QFB María Mónica Fajardo Luz

Adscrita al servicio de bacteriología del HGZ 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro"

Dr. Enrique Pastrana Jiménez

Jefe de laboratorio HGZ 32 Villa Coapa "Mario Madrazo Navarro"

RESUMEN

Introducción: *Acinetobacter baumannii* es un cocobacilo germen gramnegativo que se ha convertido en un patógeno nosocomial muy importante debido a su capacidad para desarrollar panresistencia a los antimicrobianos de uso común y de uso restringido así como para colonizar e infectar a los pacientes y persistir en el medio ambiente hospitalario debido a que puede sobrevivir en superficies inanimadas como ventiladores mecánicos , lavamanos, catéteres, colchones, paredes debido a su versatilidad de utilizar diferentes fuentes de carbono y crecer en diferentes condiciones de humedad, pH y temperatura.

Objetivos: Describir la resistencia de *A. baumannii* a los diferentes antibióticos en pacientes ingresados del 01 de enero del 2011 al 30 de mayo del 2012 en el Hospital General de Zona No 32 "Mario Madrazo Navarro" en el Instituto Mexicano del Seguro social (HGZ32).

Material y Métodos: Se trato de un estudio prospectivo, observacional, transversal, que incluyó 50 cepas de *Acinetobacter baumannii* procedentes de diferentes muestras clínicas de pacientes pediátricos y adultos hospitalizados. Cada una de las cepas corresponde a un paciente y fueron aisladas en el periodo del estudio. Todas las cepas fueron identificadas según la metodología del Sistema automatizado VITEK 2, con Tarjetas ID GN, las pruebas de sensibilidad fueron realizadas con las tarjetas AST N82 con lectura automatizada.

Resultados: Se aislaron 50 cepas de *Acinetobacter baumannii*, 45 cepas fueron identificadas en cultivos de secreción bronquial, 3 de sitio de inserción de catéteres y 2 de hemocultivos. La susceptibilidad antimicrobiana reportó resistencia del 100% a los antibióticos: ampicilina, cefazolina, ceftriaxona, ceftazidime, cefepime, Aztreonam, ciprofloxacino, moxifloxacino, levofloxacino, nitrofurantoina, Para imipenem 20% y meropenem 22%, los aminoglucosidos amikacina 38%, gentamicina 28% y tobramicina 72%, trimetropim con sulfametoaxazol 98% y tigeciclina 0%

Conclusiones: Es importante considerar que los médicos debemos actuar de manera preventiva y es necesario instaurar cuatro estrategias fundamentales para evitar infecciones nosocomiales por gérmenes multirresistentes o panresistentes como son: El lavado de manos, limpieza exhaustiva del material inerte, el aislamiento temporal de los pacientes infectados y el uso racional de antibióticos.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, multirresistencia antibiótica, lavado de manos

ABSTRACT

Summary: *Acinetobacter baumannii* is a gram negative bacilli that has become a very important nosocomial pathogen due to its capacity to develop resistance to both commonly used and restricted antibiotics, as well as being able to colonize and infect patients and persist in medical care facilities environment thanks to its capacity to survive on inanimate surfaces such as mechanical ventilators, mattresses, catheters and walls by being able to process carbon from different sources and reproduce despite varying levels of pH, temperature and humidity.

Objectives: Describe *A. baumannii*'s resistance to different antibiotics used in patients admitted from January 1st 2011 to May the 30th 2012 in Hospital General de Zon No. 32 "Mario Madrazo Navarro" of Instituto Mexicano del Seguro Social (HGZ32).

Material and Methods: A transverse, prospective, observational study was conducted; it included 50 different *A. baumannii* strains obtained from admitted adult and pediatric patients, each strain belonging to a patient was then isolated for further study. All strains were identified according to the methodology of the VITEK 2 automated system with ID GN cards; sensitivity tests were conducted through AST N82 cards with automated reading.

Results: 50 strains of *A. Baumannii* were isolated; 45 out of the previous 50 were obtained from bronchial mucus, 3 from catheter insertion sites and 2 from hemo-cultures. Antimicrobial susceptibility reported 100% resistance to the following antibiotics: ampicilin, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, aztreonam, ciprofloxacin, moxifloxacin, levofloxacin and nitrofurantoin. 20% resistance to Imipenem, 22% resistance to Meropenem.

Aminoglycoside such as Amikacin reported 38% resistance, gentamicin 28%, Tobramycin 72%, TMP-SMZ 98% and Tigecycline 0%.

Conclusion: It's necessary to consider that physicians must always have prevention in mind which is why it is of the utmost importance to enforce 4 basic measures to prevent spreading of multi-drug-resistant nosocomial pathogens, which are: Proper and regular handwashing, exhaustive cleansing of hospital instruments and devices, temporary isolation of infected patients and rational antibiotic administration.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, multi-drug-resistance, handwashing.

Introducción

Acinetobacter baumannii es un cocobacilo gramnegativo que se ha convertido en un patógeno nosocomial muy importante debido a su capacidad para desarrollar multirresistencia a los antimicrobianos de uso común y de uso restringido, así como para colonizar e infectar a los pacientes y persistir en el medio ambiente hospitalario debido a que puede sobrevivir en superficies inertes como ventiladores mecánicos, lavamanos, catéteres, colchones o paredes debido a su versatilidad al utilizar diferentes fuentes de carbono y crecer en diferentes condiciones de humedad, pH y temperatura.^{1,2}

En los años setenta este microorganismo era considerado oportunista por su baja virulencia, sin embargo actualmente este cocobacilo ha creado multirresistencia a los antibióticos de amplio espectro, sobre todo en áreas de cuidados intensivos neonatales, pediátricas o de adultos, las cuales se han asociado a factores

de riesgo como son las edades extremas, en el caso del recién nacido se ha observado que el bajo peso y la prematuridad se asocian a menor cantidad de anticuerpos, así mismo se han identificado otros factores predisponentes como la severidad de la patología de base, estancias prolongadas en hospitalización, uso previo de antibióticos de amplio espectro, tiempos prolongados de ventilación mecánica y exposición a procedimientos invasivos como el uso de catéteres y ventilación mecánica.^{3,4}

La habilidad del microorganismo para adquirir multirresistencia a los antibióticos de amplio espectro es debido a la facilidad que tiene de tomar fragmentos de material genético de otras bacterias e incorporarlo a su cromosoma. Los mecanismos de resistencia que puede desarrollar incluyen la producción de diferentes tipos de β-lactamasas, cambios en las proteínas ligadoras de penicilinas, reducción en la captura de antibióticos mediados por modificaciones en las porinas y

bombas eflujo, alteración en el sitio blanco de acción farmacológica y producción de enzimas que alteran molecularmente a los fármacos; esto le confiere resistencia a penicilinas, inhibidores de β -lactamasas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, monobacteriales, aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclinas, carbapenémicos y recientemente, a las polimixinas y glicilciclinas.^{5,6}

Como mecanismo principal de transmisión del *A. baumannii* a nivel hospitalario se ha descrito que alrededor del 30% de los profesionales de la salud presentan colonización transitoria de microorganismos gramnegativos (7.5% *A. baumannii*) en las manos, las cuales interactúan entre los principales reservorios inanimados y los pacientes que se pueden comportar como reservorio y huésped.⁶⁻¹⁰

En el 2003, los porcentajes de susceptibilidad a antibióticos en Latinoamérica correspondían al 96% para polimixinas, 83% para carbapenémicos, 20% para cefalosporinas de tercera y cuarta generación, 50% para tetraciclinas y 32% para quinolonas y aminoglucósidos. Cinco años después, en Colombia específicamente, se reporta un incremento de los porcentajes de resistencia a carbapenémicos hasta 60%, quinolonas 70%, cefalosporinas de tercera y cuarta generación 70% y aminoglucósidos 40%.¹¹⁻¹⁴

Los brotes por *A. baumannii* han sido motivo de numerosos estudios para describir sus características, identificar factores de riesgo y aplicar medidas de control y tratamientos específicos, ya que, un factor de riesgo reportado es el empleo de antibióticos de amplio espectro.¹⁵⁻¹⁸

La morbilidad atribuible al *A. baumannii* varía entre el 7,8% y 23% para pacientes que se encuentran en servicios de hospitalización y alrededor del 10% y 43% en pacientes de las unidades de cuidados intensivos. La mortalidad crudas reportada en la literatura varía entre el 34% y el 43%.¹⁹⁻²³ En poblaciones especiales como las fuerzas militares de varios países, se ha descrito casos de infección por *A. baumannii* en piel y tejidos blandos, en los cuales se observa que la mortalidad aumenta cuando hay

coinfecciones y por la gravedad de las patologías de base.^{6,24}

Objetivo

Describir la resistencia de *A. baumannii* a los diferentes antibióticos en pacientes ingresados del 01 de enero del 2011 al 30 de mayo del 2012 en el Hospital General de Zona No. 32 “Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro social (HGZ32).

Material y Métodos

Estudio prospectivo, observacional y transversal que incluyó 50 cepas de *Acinetobacter baumannii* procedentes de diferentes muestras clínicas (hemocultivos, secreciones/aspirado bronquial, orina) de pacientes pediátricos y adultos hospitalizados. Cada una de las cepas corresponde a un paciente y fueron aisladas en el periodo de 01 de enero 2011 al 30 de mayo del 2012. Todas las cepas fueron identificadas según la metodología del sistema automatizado VITEK 2 compact, siguiendo las recomendaciones del fabricante (BioMérieux, Francia), con tarjetas ID GN, las pruebas de sensibilidad fueron realizadas con las tarjetas AST N82 con lectura automatizada.²⁴

La interpretación de los resultados, estandarizada por el fabricante con la incorporación de un sistema experto automatizado, permitió tomar para este estudio solo las cepas que mostraron identificación correcta, con más del 95 % de probabilidad.

El análisis de los datos se realizó inicialmente con estadística descriptiva y la representación gráfica de variables estudiadas para la determinación de los agentes bacterianos y la resistencia a los antibióticos del antibiótico se reportó como porcentajes, en el caso de las variables categóricas se realizó la prueba de X² cuadrada y en los casos que lo ameritó, por el tamaño de la muestra, se utilizó pruebas exactas de Fisher con corrección de Yates.

Resultados

En el presente estudio con el sistema VITEK2 se logró identificar la especie y la susceptibilidad antibiótica de *A. baumannii* con un promedio de 18 horas lo que favoreció un tratamiento oportuno a cada uno de los pacientes.

Tabla 1. Distribución del sitio de toma de muestra (N=50)

Servicio	Sitio de toma de muestra	Número cepas	%
Medicina Interna	secreción bronquial	45	90
	sitio de inserción de catéter	3	6
Cirugía General	hemocultivo	1	2
Pediatría	hemocultivo	1	2

Tabla 2. Cepas aisladas en pacientes con neumonía nosocomial por *Acinetobacter baumannii* N=45 cepas

Sitio de toma de muestra	Número de cepas	%
Neumonía asociada a ventilador	18	40
Neumonía NO asociada a ventilador	27	60

Se reportaron 50 cepas de *A. baumannii*. El 90% del total de cepas (45/ 50) fueron aisladas de cultivos de secreción bronquial y, de estas, el 40% (18/ 45) procedían de aspirado bronquial en pacientes intubados con neumonía asociada a ventilador; en el servicio de medicina interna también se identificaron 3 cepas en sitio de inserción de catéteres centrales y 2 cepas aisladas en hemocultivos.

En estudios de susceptibilidad antimicrobiana obtuvimos resistencia del 100% a los siguientes antibióticos: ampicilina, cefazolina, ceftriaxona, ceftazidime, cefepime, aztreonam, ciprofloxacino, moxifloxacino, levofloxacino y nitrofurantoína. En el grupo de los carbapenémicos, el imipenem mostró 20% y el meropenem 22% de resistencia. Los aminoglucósidos reportaron resistencias variables, a saber, amikacina 38%, gentamicina 28% y tobramicina 72%. El trimetoprim con sulfametoaxazol presentó 98% de resistencia. El único antibiótico que mostró sensibilidad al 100% fue tigeciclina (tabla 3).

Discusión

El impacto de la resistencia bacteriana a *A. baumannii* es cada día más frecuente y más severo en los hospitales en nuestro país y a nivel mundial.^{6,25-29} El presente estudio demuestra que *A. baumannii* en este hospital es altamente resistente, situación que pone en crisis al médico tratante al elegir un antibiótico donde la concentración mínima inhibitoria es importante para decidir un tratamiento dirigido.

En nuestro estudio tenemos una resistencia del 100% para los betalactámicos, como la ampicilina, cefazolina, ceftriaxona y cefepime, patrón de resistencia similar al reportado en España por Marcia Hart en 2010.²⁷ El Estudio SENTRY encontró una resistencia del 62.8% para Cefepime²⁹. En nuestro hospital hemos planteado que la resistencia encontrada se debe probablemente al abuso de estos antibióticos, aunado al hecho de que *A. baumannii* tiene la particularidad de disminuir la permeabilidad de cefalosporinas y carbapenémicos por mutación de las porinas de la membrana celular y

Tabla 3. Resistencia a los antibioticos de las cepas aisladas de *Acinetobacter Baumannii* del 01 de enero 2011 al 30 de mayo del 2012 (N=50)

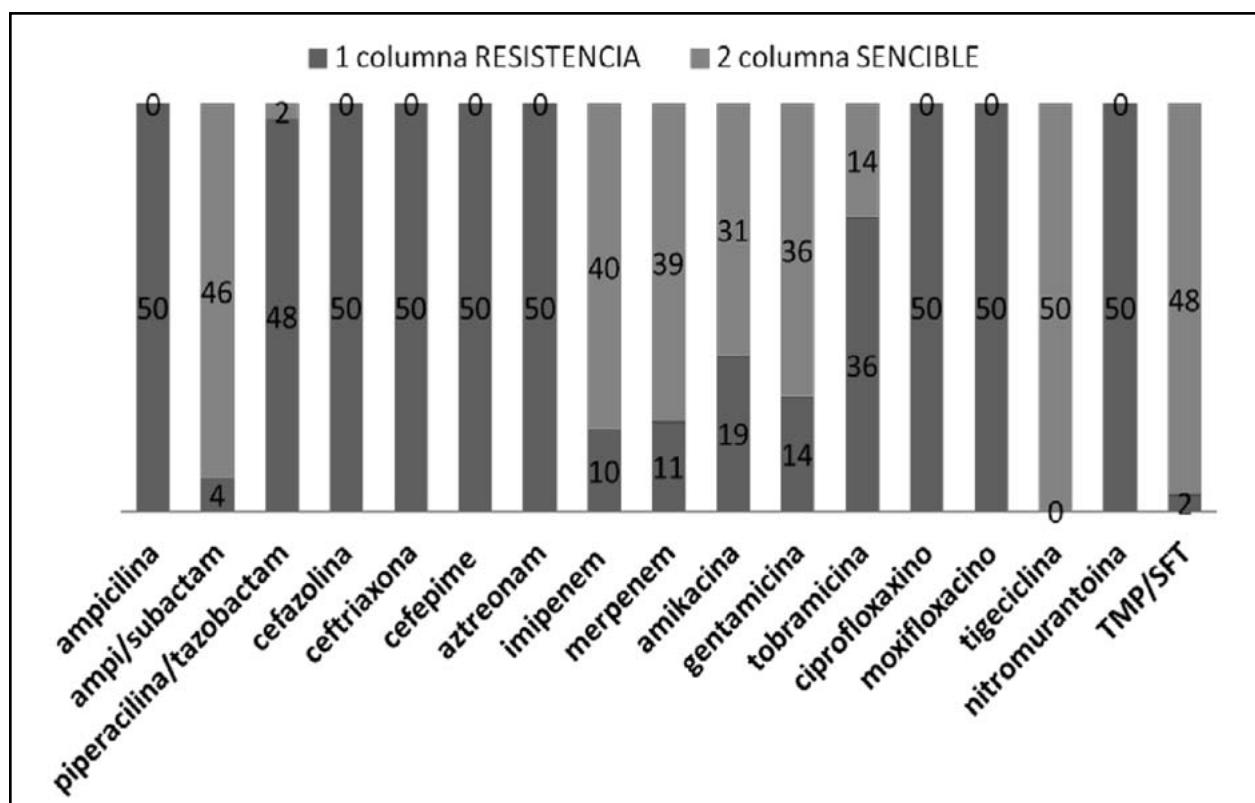
Antibiotico	Resistencia	%	Sensibilidad	%
Ampicilina	50	100	0	100
Ampicilina/Sulbactam	4	8	46	92
Piperacilina Tazobactam	48	96	2	4
Cefazolina	50	100	50	0
Ceftriaxona	50	100	50	0
Cefepime	50	100	50	0
Aztreonam	50	100	50	0
Imipenem	10	20	40	80
Meropenem	11	22	39	78
Amikacina	19	38	31	62
Gentamicina	14	28	36	72
Tobramicina	36	72	14	28
Ciprofloxacino	50	100	50	0
Moxifloxacino	50	100	50	0
Tigeciclina	0	0	50	100
Nitrofurantoina	50	100	50	0
Trimetoprim/Sulfametoxasol	48	96	2	4

las bombas de eflujo AdeABC, que expulsa no solo a betalactámicos, sino también a aminoglucósidos, tetracíclicas, trimetoprim y fluroquinolonas.

En el caso de antibióticos inhibidores de betalactama se identificó una resistencia de solo 8% para ampicilina/sulbactam y del 96% para piperacilina/tazobactam, datos semejantes a lo reportado por Marcia Hart²⁷, para ampicilina/ sulbactam la tasa de resis-

tencia es realmente baja, parecida a lo encontrado en el estudio SENTRY y consideramos que esto se debe probablemente al hecho de que este antibiótico no forma parte del cuadro básico hospitalario por lo que la exposición es nula.

Los aminoglucósidos han presentado altas tasas de resistencia, grupos españoles reportan 70 y 90% respectivamente, tendencia reafirmada por el estudio

Tabla 4. 50 sepas aisladas de *Acinetobacter baumannii*, se muestra en la tabla las sensibilidades y resistencias.

SENTRY, sin embargo en nuestro hospital la baja resistencia encontrada nos permite seguir utilizando Amikacina y gentamicina en pacientes infectados por *A. baumannii*.

Las quinolonas en general presentan una resistencia del 100%, muy similar a la que reporta Hart, dicha característica está mediada por cambios en la ADN girasa y la topoisomerasa IV mediados genéticamente.

La Tigeciclina ha mostrado el perfil de sensibilidad más favorable, pues vemos resistencia del 0%, mismo porcentaje reportado por Hart. En nuestra serie la sensibilidad es de 100%, lo cual se debe muy probablemente a que este antibiótico no está disponible en el cuadro básico vigente y potencialmente puede ser nuestra mejor arma terapéutica contra *A. baumannii* en un momento dado.

Conclusión

Es importante considerar que los médicos debemos favorecer acciones preventivas y concientizarnos que medidas tan básicas como el lavado de manos del personal de salud en los cinco momentos de higiene es considerada científicamente la mejor estrategia para evitar la propagación de microorganismos intrahospitalarios, sin embargo es también necesario vigilar el uso racional de antibióticos puesto que el abuso ocasiona la aparición de microorganismos multirresistentes, con la capacidad de realizar cambios genéticos de resistencia de acuerdo a la presión de antimicrobianos a los que se someten y el desarrollo de resistencia cruzada entre diferentes géneros de bacterias. Por lo tanto, el lavado de manos, la limpieza exhaustiva del material inerte, el aislamiento temporal de los pacientes infectados por *A. baumannii* y el uso racional de antibióticos son estándares de oro para minimizar en lo posible la aparición de brotes que pueden resultar catastróficos.

Referencias

1. Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32:106-19.
2. Diomedi A. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. *Rev Chil Infect* 2005; 22(4):298-320.
3. Katragkou A, Kotsiou M, Antachopoulos C, et al. Acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a pediatric intensive care unit: A case-control study. *Intensive Care Med* 2006; 32(9):1384-91.
4. Von Dolinger de Brito D, Oliveira EJ, Abdallah VO, da Costa Darini AL, Filho PP. An outbreak of *Acinetobacter baumannii* septicemia in a neonatal intensive care unit of a university hospital in Brazil. *Braz J Infect Dis* 2005; 9(4):301-9.
5. Alvares- Lerma F, Palomar M, Insausti J, et al. Infecciones por *Acinetobacter* spp En pacientes críticos en UCI. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2005; 23:533-9.
6. Galvis- Acevedo C, Villabon- González MA, Jimenez Ortiz- Lozano K. Factores asociados a infección por *Acinetobacter baumanni* en una unidad de cuidados intensivos en Bogotá O.C. Bogotá O.C 2009-2011.
7. Pinzón J, Mantilla J, Valenzuela E, Fernández F, Álvarez C, Osorio E. Caracterización molecular de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes de la unidad de quemados de un hospital de tercer nivel de Bogotá. *Infection* 2006; 10(2):71-8.
8. Murray CK, Hospenthal DR. *Acinetobacter* infection in the ICU. *Crit Care Clin* 2008; 24(2):237-48.
9. Salas- Coronas J, Cabezas- Fernández T, Álvarez-Osorio R, Rogado- González M, Delgado- Fernández M, Díez- Gracia F. Infección/ colonización nosocomial de las vías respiratorias por *Acinetobacter baumannii* en una planta de Medicina Interna. *An Med Interna* 2002; 19(10):511-14.
10. Tognim MC, Andrade SS, Silbert S, Gales AC, Jones RN, Sader HS. Resistance trends of *Acinetobacter* spp. in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strains: five-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Int J Infect Dis* 2004; 8(5):284-91.
11. Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *The Lancet Infectious Diseases* 2008; 8(12):751-62.
12. GREBO. Análisis de la información de resistencia bacteriana, resultados de la vigilancia desde el 2001 hasta el 2008. Bogotá D.C.: GREBO, 2008.
13. Goossens H. European Status of Resistance in Nosocomial Infections. *Chemotherapy* 2005; 26:177-81.
14. Tsai HT, Wang JT, Chen CJ, Chang SC. Association between antibiotic usage and subsequent colonization or infection of extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a matched case-control study in intensive care units. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62(3):298-305.
15. Afzal-Shah M, Livermore DM. Worldwide emergence of carbapenem- resistant *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41(5):576-7.
16. Corbella X, Montero A, Pujol M, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 2000; 38(11):4086-95.
17. Go ES, Urban C, Burns J, et al. Clinical and molecular epidemiology of *Acinetobacter* infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet* 1994; 344(8933):1329-32..
18. Koeleman JG, Parlevliet GA, Dijkshoorn L, Vandenbroucke-Grauls CM. Nosocomial outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* on a surgical ward: epidemiology and risk factors for acquisition. *J Hosp Infect* 1997; 37(2):113-23.
19. Sandiumenge A, Diaz E, Rodriguez A, et al. Impact of diversity of antibiotic use on the development of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(6):1197-204.
20. Falagas ME, Bliziotis IA, Siemplos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care* 2006; 10(2):R48.
21. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39(3):309-17.
22. Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, Diaz E, Rello J. Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: a matched cohort study. *Crit Care Med*. 2003; 31(10):2478-82.
23. Álvarez- Lerma F. Brotes epidémicos por *Acinetobacter* spp. en pacientes críticos. La Toja: Merck Sharp Dohme; 1996. p. 89-109.
24. Guerrero DM, Perez F, Conger NG, et al. *Acinetobacter baumannii*-associated skin and soft tissue infections: recognizing a broadening spectrum of disease. *Surgical infections* 2010; 11(1):49-57.
25. Díaz- Jiménez V. *Acinetobacter baumannii*: Actualidades. *Revis Enf Infec Ped* vol 2010; XXIII núm 92.
26. Aguirre- Ávalos V, Mijangos- Méndez JC, Zavala- Silva ML, Coronado- Magaña H, Amaya- Tapia G. Bacteremia por *Acinetobacter baumannii* en pacientes en estado crítico. *Gac Med Mex* 2009 (1); 21-25.
27. Marcia Hart Casares; Fidel Espinosa Rivera; María del Carmen Halley Posada; María Luisa Martínez, Batista; Zurelys Montes de Oca Mendez. Resistencia a Antibioticos en cepas de acinetobacter baumani aisladas de enero a marzo del 2010 en el hospital clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeras" Rev cubana med v.47 n.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. 2008
28. Antonio Oliver. Resistencia a Carbapenemas y *Acinetobacter baumannii*. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2004; 22(5):259-61.
29. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Liñares J, Sande HS, Verhoef J. Emerging Importance Of Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Species and *Stenotrophomonas maltophilia* as Pathogens in Seriously Ill Patients: Geography Patterns, Epidemiological Features, And trends in the Sentry Antimicrobial Surveillance Program 1997-1999. *CID* 2001; 32 (sup12).