



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**  
*La Universidad Católica de Loja*

**ÁREA BIOLÓGICA**

**TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013.**

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

**AUTOR:** Chalán Cabrera, Lucía Alexandra.

**DIRECTOR:** Toledo Barrigas, Zorayda Patricia, Bq.F.

LOJA – ECUADOR

2014

## APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

Bioquímica Farmacéutica.

Zorayda Patricia Toledo Barrigas.

### DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: **“Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo octubre-noviembre 2013”**, realizado por: Chalán Cabrera Lucía Alexandra, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por lo que se aprueba la presentación del mismo.

Loja, agosto de 2014

f).....

Bq.F. Zorayda Patricia Toledo Barrigas

## DECLARATORIA DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Chalán Cabrera Lucía Alexandra declaro ser autor (a) del presente trabajo de fin de titulación: **Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo octubre-noviembre 2013**, de la Titulación de Bioquímico Farmacéutico, siendo Zorayda Patricia Toledo Barrigas director (a) del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicional declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f).....

Autor: Chalán Cabrera Lucía Alexandra

Cédula: 1105032211

## DEDICATORIA

A

Dios y a la Virgen del Cisne, por haberme regalado la salud y darme la fortaleza para continuar cuando he estado a punto de caer y lograr así todas mis metas; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo al Todopoderoso.

Mi madre Teresa, por ser el ángel que guía mi vida, siendo ejemplo de esfuerzo, fortaleza, paciencia y amor; quien me ha brindado su apoyo incondicional, la amo con mi vida.

Mi hermano Cristian, que siempre ha estado junto a mí brindándome su apoyo y muchas veces poniéndose en el papel de padre.

Mi familia Milton, Henry, Verito y Vicente, porque me han brindado su apoyo incondicional, son quienes con su cariño hacen inolvidable cada momento.

## AGRADECIMIENTO

A

Dios y a la Virgen del Cisne por haberme conservado con vida, salud y por ser luz, camino y guía en mi vida.

A mi familia en general por creer en mis capacidades y el apoyo brindado frente a cada actividad que emprendo.

La Titulación de Bioquímica y Farmacia y sus docentes por todos los conocimientos impartidos durante mi formación académica.

Mi directora de tesis la Bq. F. Zorayda Toledo, por la profesionalidad y dedicación brindada para la realización de este trabajo.

Muy especialmente al grupo de trabajo y maravillosas amigas: Abi Torres, Jhomar Rivera, Yomaira Malla, Vanessa Cuenca y Bq. Sofía Ochoa con quienes compartí momentos maravillosos y llenos de alegría.

Al personal del Laboratorio Clínico del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros”, quienes me ayudaron con las muestras para efectuar la presente investigación.

## INDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN .....	ii
DECLARATORIA DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
INDICE DE CONTENIDOS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	ix
INDICE DE GRÁFICAS .....	x
ÍNDICE DE TABLAS .....	xi
ABREVIATURAS .....	xii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I .....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Generalidades de bacterias.....	6
1.2. Bacilos Gram negativos.....	6
1.2.1. Enterobacteriaceae .....	6
1.2.1.1. Estructura. ....	7
1.2.1.2. Patogenicidad. ....	7
1.2.1.3. Patógenos específicos. ....	7
1.2.2. Bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa (BGNNF) .....	9
1.2.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	9

1.2.2.2. <i>Acinetobacter spp.</i> .....	10
1.3. Antibiótico.....	11
1.3.1. Antibióticos betalactámicos. ....	12
1.3.1.1. <i>Penicilinas</i> .....	12
1.3.1.2. <i>Cefalosporinas</i> . ....	13
1.3.1.3. <i>Monobactams</i> . ....	14
1.3.1.4. <i>Carbapenems</i> . ....	14
1.3.1.4. <i>Inhibidores de betalactamasas</i> .....	14
1.4. Resistencia bacteriana.....	14
1.4.1. Tipos de resistencias. ....	15
1.4.1.1. <i>Resistencia Intrínseca</i> .....	15
1.4.1.2. <i>Resistencia Adquirida</i> . ....	15
1.4.2. Mecanismos bioquímicos de resistencia bacteriana.....	15
1.4.2.1. <i>Disminución de la captación de antibiótico</i> . ....	16
1.4.2.2. <i>Remoción del medicamento de la célula</i> . ....	16
1.5. Betalactamasas.....	17
1.5.1. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). ....	19
1.5.2. Betalactamasas de tipo AmpC. ....	20
1.5.3. Betalactamasas tipo carbapenemasas.....	21
1.6. Infecciones hospitalarias.....	21
<b>CAPITULO II</b> .....	<b>23</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>23</b>
2.1. Recolección de muestras.....	24
2.2. Identificación de la cepa bacteriana.....	24
2.3. Determinación de la susceptibilidad bacteriana.....	24
2.3.1. Detección de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).....	25

2.3.1.1. Prueba de sinergia de doble disco. ....	25
2.3.1.2. Prueba de discos combinados con inhibidor (Prueba de confirmación).....	25
2.3.2.1. Detección de betalactamasas tipo AmpC constitutiva. ....	26
2.3.2.2. Detección de betalactamasa tipo AmpC Inducible. ....	27
2.3.3. Detección de betalactamasas de tipo carbapenemasas.....	27
2.3.4. Análisis estadístico. ....	28
<b>CAPITULO III .....</b>	<b>29</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>45</b>

## INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección de BLEE. Se observa el efecto sinérgico “efecto huevo”, entre los discos de CAZ, CTX, FEP y ATM con el disco central de AMC.....25
- Figura 2.** Prueba de discos combinados positivo. Se observan diferencias >5mm entre los discos CTX y CAZ sin y con ácido clavulánico..... 26
- Figura 3.** Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección fenotípica de betalactamasa tipo AmpC constitutiva. Se observa la sinergia entre los discos de las cefalosporinas y el ácido clavulánico. .... 26
- Figura 4.** Prueba de aproximación de discos positiva para la detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC inducible. Se observa el achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte como indica la flecha. .... 27
- Figura 5.** Test de Hodge modificado donde se observan dos cepas positivas y una negativa. .... 28

## INDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Tipos de muestras clínicas analizadas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período octubre-noviembre 2013.....	30
<b>Gráfica 2.</b> Porcentaje de resistencia antimicrobiana en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	35
<b>Gráfica 3.</b> Betalactamasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y UCI del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período octubre-noviembre 2013.....	39
<b>Gráfica 4.</b> Porcentaje de BLEE presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y UCI del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período octubre-noviembre 2013.....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013. ....	32
<b>Tabla 2.</b> Frecuencia de los mecanismos de resistencia bacteriana presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013. ....	37
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de AmpC presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y UCI del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013. ....	41

## ABREVIATURAS

**ADN:** Acido desoxirribonucleico

**AMC:** Amoxicilina – ácido clavulánico.

**AMK:** Amicacina.

**AMP:** Ampicilina.

**AmpC:** cefalosporinasas mediadas cromosómicamente.

**ARN:** Ácido ribonucleico.

**NAL:** Ácido nalidixico.

**API:** Índice analítico de perfil (Analytical profile index).

**ARN:** Ácido ribonucleico.

**ATM:** Aztreonam.

**BGNMF:** Bacilos Gram negativos no fermentadores.

**BLEE:** betalactamasas de espectro extendido.

**BGNMF:** Bacilos Gram negativos no fermentadores.

**CAZ:** Ceftazidima.

**CIP:** Ciprofloxacina.

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standart Institute.

**CMT:** Complex mutant TEM

**CTX:** Cefotaxima.

**EDTA:** Ácido Etilendiaminotetracético.

**ESBL:** (Inglés) betalactamasas de espectro extendido.

**FEP:** Cefepime.

**FOX:** Cefoxitina.

**H<sub>2</sub>S:** Ácido sulfhídrico

**IH:** Infecciones hospitalarias.

**IBLs:** Inhibidores de betalactamasas.

**IMP:** Imipenem.

**ITU:** Infección del tracto urinario.

**IU:** Infección urinaria.

**LIA:** Agar Lisina Hierro (Lysine Iron Agar).

**LCR:** Líquido cefalorraquídeo.

**LPS:** Lipopolisacáridos.

**MDR:** Multidrogosresistentes.

**mm:** Milímetros

**NET:** Netilmicina.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PBP:** Proteínas ligadoras de penicilinas.

**SAM:** Ampicilina – sulbactam.

**SIM:** Motilidad-Indol-Sulfuro (Sulfide-Indol-Motility).

**spp:** Especie

**SPSS:** Stastiscal Package for the Social Science

**TSI:** Agar hierro triple azúcar (Triple Sugar Iron Agar)

**TZP:** Piperacilina – tazobactam.

**UCI:** Unidad de cuidados intensivos.

**UTPL:** Universidad Técnica Particular de Loja.

**WHONET:** World Health Organization.

**3-AMA:** Ácido 3-aminomonobactámico.

**3<sup>RA</sup> G:** Tercera generación.

**μm:** Micrómetros.

**μg:** Microgramo.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue identificar y determinar los mecanismos de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013.

Para identificar las cepas se realizó pruebas bioquímicas y la susceptibilidad bacteriana se determinó por el método de difusión con discos (técnica de Bauer y Kirby); considerando la resistencia a cefalosporinas de 3G, cefoxitina y carbapenémicos, se realizó las pruebas confirmatorias siguiendo las recomendaciones del CLSI 2012; el perfil de susceptibilidad se analizó mediante el programa WHONET 5.6.

Se recolectó un total de 88 cultivos, siendo la muestra de orina más frecuente 43,2%; la cepa aislada con mayor frecuencia fue *Escherichia coli*, 60,6% en hospitalización y 31,8% en UCI. Se identificaron 45 cepas productoras de betalactamasas: cepas productoras de BLEE: 86,7% en hospitalización y 13,3% en UCI; cepas productoras de AmpC: 66,7% en hospitalización y 33,3% en UCI; cepas productoras de carbapenemasas no se identificó.

Los resultados denotan que a nivel hospitalario existe una alta frecuencia de BLEE en dicha entidad de salud.

**Palabras Clave:** bacilos Gram negativos, resistencia bacteriana, betalactamasas, BLEE, AmpC, carbapenemasas

## ABSTRACT

The objective of this assay was to identify and determinate the bacterial resistance mechanism in gram negative bacilli from isolated cultures of clinic samples of inpatients of “Manuel Ygnacio Monteros” Hospital during the October – November 2013 period.

To identify these strains, it was performed biochemical tests and bacterial susceptibility was determined by disk diffusion method (Bauer and Kirby technique); considering the bacterial resistance to 3G cephalosporin, cefoxitin and carbapenems, it was performed confirmatory tests following the recommendations of the CLSI 2012; the susceptibility profile of the isolated strains were analyzed using the WHONET program.

It was collected 88 cultures, being the urine sample the most common, 43,2%, the most frequently isolated strain was *Escherichia coli*, 60,6% in inpatients and 31,8% in ICU. It was identified 45 beta-lactamases producers strains distributed as the following way; BLEE producer strains: 86,7% in hospitalization and 13,3% in ICU; AmpC producers strains: 66,7% in hospitalization and 33,3% in ICU; carbapenemase producers strains it was not identified.

The results show that in a inpatients of this Hospital there are a high frequency of BLEE.

**Key words:** gram negative bacilli, bacterial resistance, betalactamase, BLEE, AmpC, Carbapenemase

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas los bacilos Gram negativos especialmente la familia *Enterobacteriaceae* y los BGNNF son las bacterias aisladas con mayor frecuencia en muestras clínicas humanas, adquiriendo importancia médica como agentes causales de infecciones intra y extrahospitalarias, debido al desarrollo de mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos (Rivera, *et al.* 2011).

La resistencia bacteriana es la capacidad que desarrollan los microorganismos para escapar a la acción destructiva de los antibióticos, los mecanismos de resistencia bacteriana más comunes son: modificaciones de las proteínas fijadoras de penicilina, la inactivación enzimática del antibiótico por producción de betalactamasas, la alteración de la permeabilidad por reducción de las porinas de la pared bacteriana y la eliminación del antimicrobiano una vez penetrado en las bacterias debido a las bombas de expulsión presentes en las envolturas (Padgett, *et al.* 2011).

No obstante el principal mecanismo de resistencia es la producción de betalactamasas, dichas enzimas son capaces de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas; las de mayor estudio por su importancia clínica son: las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), betalactamasas tipo AmpC y carbapenemasas (Navarro, *et al.* 2011).

Existen factores de riesgo específicos para adquirir una cepa productora de BLEE, como una estadía prolongada en el hospital, la severidad de la enfermedad, el tiempo de permanencia en UCI, la intubación y la respiración mecánica asistida, el uso de catéteres urinarios o arteriales y la exposición previa a los antibióticos (Sánchez, *et al.* 2008).

Considerando la importancia que ha adquirido en las últimas décadas el problema de resistencia bacteriana y la poca existencia de investigaciones a nivel local y nacional; surge la idea de la presente investigación, la cual tiene como objetivo determinar los posibles mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y su frecuencia en nuestra localidad en pacientes hospitalizados del “Hospital Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo octubre-noviembre 2013, con la finalidad de obtener datos reales, confiables y actuales que sirvan para el tratamiento oportuno y eficaz previniendo la morbimortalidad por infecciones resistentes y evitar su diseminación.

Para ello, primeramente se realizó la identificación de cepas mediante pruebas bioquímicas, seguidamente se determinó el perfil de susceptibilidad de las cepas aisladas de acuerdo con las recomendaciones del CLSI 2012 (resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, cefoxitina y carbapenémicos). Posteriormente la producción de betalactamasas se confirmó mediante las pruebas de sinergia de doble disco y disco combinado. Finalmente se realizó un análisis de resistencia, de todas las cepas para todos los antibióticos betalactámicos a través del programa WHONET 5.4.

Los resultados obtenidos nos permitieron conocer la frecuencia de bacilos Gram negativos más comunes implicados en los procesos infecciosos de pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” y la incidencia de fenotipos presentes en pacientes hospitalizados de dicha institución.

**CAPÍTULO I**  
**MARCO TEÓRICO**

## **1.1. Generalidades de bacterias**

Las bacterias son seres unicelulares cuyo tamaño oscila entre 2 y 10  $\mu\text{m}$ . El material genético, constituido por ácido desoxirribonucleico (ADN) forma un conglomerado compacto (nucleoide) carente de membrana nuclear. El citoplasma se encuentra repleto de ribosomas y la membrana citoplasmática está rodeada externamente por una pared dura y elástica de peptidoglicano, que confiere la forma de la célula. De acuerdo a la morfología celular, las bacterias se clasifican en cocos cuando tiene forma redondeada, y bacilos, cuando muestran una forma alargada. En función de la estructura celular se clasifican en dos grupos, las Gram positivas, que poseen únicamente una gruesa capa de peptidoglicanos, y las Gram negativas que adicional a la capa de peptidoglicano poseen una membrana rica en lipopolisacáridos (LPS). Algunas bacterias tiene una cápsula rodeando la pared celular; también pueden poseer flagelos, que facilitan su movilidad y fimbrias, fundamentalmente de adherencia; en las bacterias, además del ADN cromosómico puede existir ADN extracromosómico formando plásmidos (Prats, 2007).

## **1.2. Bacilos Gram negativos**

Son bacterias con forma de barra o vara; en la tinción de Gram se tiñen de color rosado claro, esta característica está ligada a la estructura de la envoltura celular, compuesta por dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared de peptidoglicanos que no retiene el colorante cristal violeta, pero si la safranina (Prats, 2007).

Este grupo bacteriano comparten características tales como poseer en su pared externa un LPS que les otorga características patogénicas particulares, tóxicas, la llamada endotoxina de las bacterias Gram negativas (Algorta, 2009).

El desarrollo de resistencias a antibióticos se debe fundamentalmente a la presencia de la membrana externa, la cual evita que ciertos fármacos y antibióticos penetren en la célula; el intercambio de material genético mutado entre especie iguales o diferentes es un medio de desarrollo y propagación de la misma resistencia (MSD, 2014).

### **1.2.1. *Enterobacteriaceae*.**

La familia *Enterobacteriaceae* es un grupo heterogéneo y extenso formado por bacilos y cocobacilos Gram negativos con importancia clínica, generalmente miden 1-3  $\mu\text{m}$  de largo y 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro (Algorta, 2009). Son anaerobios facultativos, no formadores de esporas, fermentadores de glucosa, catalasa positiva, oxidasa negativa, reducen nitritos, y las especies

móviles lo son mediante flagelos de distribución períttrica. Están muy diseminados, en la naturaleza, los encontramos en el agua, la tierra, los animales etc. En el hombre se localizan en las vías aéreas superiores, en la piel de modo mayoritario en la región perianal, en la uretra anterior y sobre todo en el intestino donde la concentración aumenta al alejarse del estómago (Merino & Losh, 2014).

#### **1.2.1.1. Estructura.**

Su envoltura celular se caracteriza por una estructura multilaminar. La membrana interna o citoplasmática consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas; la capa externa es un peptidoglucano delgado junto con un espacio periplásmico que contiene una elevada concentración de proteínas; la membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen LPS que son un importante factor de virulencia, lipoproteínas que están fijadas al peptidoglucano, proteínas porinas multiméricas que facilitan el paso de diversas sustancias, incluidos los antibióticos betalactámicos y otras proteínas de la membrana externa. Entre estas proteínas existen organelas que irradian hacia el exterior: los flagelos de locomoción, las fimbrias o pili comunes que actúan como adhesinas y los pili sexuales que contienen plásmidos conjugativos que las bacterias utilizan para la transferencia conjugativa de ADN del plásmido (García & Rodríguez, 2010).

#### **1.2.1.2. Patogenicidad.**

Las *Enterobacteriaceae* posee estructuras de patogenicidad: la cápsula tiene propiedades de adhesina y es antifagocitaria, las exoenzimas (ureasa, gelatinasa, lipasa, desoxirribonucleasa) permiten la sobrevivencia de la bacteria dentro del órgano afectado, las aerobactinas intervienen en la captación de hierro desde el medio para el cumplimiento de ciertas funciones bacterianas y las endotoxinas producidas por los patógenos obligados y poseen efectos específicos, se liberan al destruirse la bacteria (Merino & Losh, 2014).

#### **1.1.1.3. Patógenos específicos.**

En este grupo se incluyen especies que forman parte de la flora normal del hombre y los animales, están presentes en el suelo, agua y plantas. Producen infección cuando salen de su hábitat o hay alteraciones de las defensas locales. Los géneros oportunistas que con mayor frecuencia se aíslan de muestras clínicas son *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*,

*Proteus*. Generalmente producen infecciones intraintraestinales, infecciones urinarias, sepsis, meningitis, abscesos, neumonías, otitis, sinusitis, etc. (Merino & Losh, 2014).

**Género *Escherichia***, ampliamente difundido, la especie de mayor importancia es *Escherichia coli*, son microorganismos de vida libre, no forma esporas, móvil por flagelos pericéntricos, anaerobio facultativo, fermentador de lactosa, es miembro de la microflora intestinal y tiene la capacidad de suprimir el crecimiento de microorganismos proteolíticos debido a la liberación de bacteriocinas (colicinas) sustancias con actividad bactericida, y está relacionado con la síntesis de vitamina K. Es el principal agente etiológico de infecciones urinarias, tanto en pacientes internados como en ambulatorios ya que posee fimbrias capaces de adherirse al epitelio urinario y colonizarlo. Producen además peritonitis, abscesos, meningitis, endocarditis, neumonías nosocomiales (Merino & Losh, 2014).

**Género *Klebsiella***, está ampliamente extendido en la naturaleza: en la tierra, agua, polvo, leche y alimentos. Son organismos saprofitos de las vías respiratorias y del tracto digestivo del hombre y de los animales. Son microorganismos capsulados, anaerobios facultativos, inmóviles, fermentadores de glucosa y lactosa, sus colonias son de aspecto mucoso, usan el citrato como única fuente de carbono. Dentro de este género la especie más importante es *Klebsiella pneumoniae* produce infecciones urinarias, respiratorias y sepsis, siendo frecuentemente involucrada en brotes de infecciones hospitalarias (IH) (Merino & Losch, 2014).

**Género *Enterobacter***, son móviles, capsulados, fermentan lactosa; sus colonias tienen aspecto mucoso; suelen colonizar a los pacientes hospitalizados, en particular a los tratados con antibióticos y han sido asociados con infecciones de quemaduras, de heridas, de las vías respiratorias y del tracto urinario. La mayor parte de las cepas poseen una betalactamasa cromosómica denominada AmpC que las vuelven intrínsecamente resistentes a la ampicilina y cefalosporinas de primera y segunda generación. Las mutaciones suelen producir un exceso de betalactamasa que confiere resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (García & Rodríguez, 2010).

**Género *Citrobacter***, denominados así por su capacidad de usar el citrato como única fuente de carbono, convierten el triptófano en indol, fermentan la lactosa y utilizan el malonato. El tracto urinario asociado a un catéter es el lugar de origen de los cultivos de *Citrobacter*, también lo son las vías respiratorias, las infecciones intraabdominales, de tejidos blandos, osteomielitis y septicemia. *Citrobacter freundii* produce ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S), además tienen genes AmpC inducibles (García & Rodríguez, 2010).

**Género *Proteus***, está muy difundido en la naturaleza, se lo encuentra en el suelo, agua, aguas servidas, materiales de animales en descomposición, tracto intestinal del hombre. Son lactosa negativos, producen H<sub>2</sub>S, se diferencian de los bacilos enterobacterianos típicos al expresar fimbrias y flagelos pericéntricos abundantes que hacen que “hormiguee” sobre la superficie de un medio sólido de cultivo; las especies más importantes son: *Proteus mirabilis* (indol negativo) y *Proteus vulgaris* (indol positivo) (García & Rodríguez, 2010). Son productores de ureasa, factor de patogenicidad en la producción de infecciones urinarias ya que esta enzima desdobla a la urea en amoniaco y dióxido de carbono. El amoniaco es tóxico para las células con lo que se produce la irritación del epitelio urinario, lo que desencadena una reacción inflamatoria, la alcalinidad alcanzada por la orina predispone a la litiasis urinaria. Este género se aíslan de modo ocasional en huéspedes sanos y con mucha frecuencia en pacientes hospitalizados con catéteres, anomalías anatómicas o funcionales del tracto urinario (Merino & Losh, 2014).

**Género *Shigella***, fermentan glucosa pero no fermentan lactosa, forman ácido a partir de hidratos de carbono pero pocas veces producen gas; se dividen en las que fermentan manitol y las que no lo fermentan. Es responsable de la disentería bacilar, la infección se produce a través de la contaminación de vegetales (García & Rodríguez, 2010).

### **1.2.2. Bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa (BGNNF)**

Son un grupo heterogéneo de microorganismos incapaces de fermentar diversos hidratos de carbono. Este grupo bacteriano incluye gérmenes pertenecientes a diferentes familias y otros géneros de incierta clasificación, ellos: *Pseudomonas*, *Favobacterium*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, muchos de ellos se comportan como oportunistas y pueden causar infecciones graves (Algorta, 2009).

Actualmente, han cobrado notoria importancia por su incidencia en infecciones hospitalarias, denominándolos “bacterias problemáticas”; se destaca el hallazgo de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* como las especies con mayor frecuencia, se asocian a infecciones nosocomiales graves y a la muerte; esta situación es más preocupante aún, ya que hoy, ningún nuevo antimicrobiano contra las variantes multidrogasresistentes (MDR) de estos organismos, está en fases avanzadas de desarrollo clínico (Larrondo, 2010).

#### **1.2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*.**

Es la especie más patógena de la familia *Pseudomonadaceae*, son bacilos Gram negativos, móviles por medio de flagelos polares, no esporulados, con forma de bastoncitos finos con un

tamaño aproximado de 1 a 3  $\mu\text{m}$  de largo y 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$  de ancho, utiliza pocos hidratos de carbono mediante metabolismo oxidativo. Es un microorganismo altamente versátil, producen exotoxinas citotóxicas y es capaz de tolerar condiciones baja de oxígeno, sobrevive con bajos niveles de nutrientes y crece en rangos de temperatura de 4 a 42°C. Produce pigmentos como la pioverdina, que da un color verde amarillento o marrón amarillento, otro pigmento es la piocianina que dar un color azulado. Otras variedades producen colonias de color rojo o negro debido a la producción de pigmentos llamados piorrubina y piomelanina respectivamente (Lloria, 2009).

Son capaces de adherirse y sobrevivir en equipos médicos y en otras superficies hospitalarias, resisten la desecación y la humedad lo cual favorece las infecciones nosocomiales en pacientes inmunocomprometidos. Puede causar neumonías, infecciones de tracto urinario, bacteremias, colonizar áreas de tejido quemado o con heridas, tejido corneal, tejido blando, infecciones de oído, infecciones del sistema nervioso, del tracto gastrointestinal etc. Este microorganismo es causal del 10 al 20% de infecciones intrahospitalarias en pacientes con fibrosis quística, en enfermedades neoplásica o quemaduras severas.

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca, además de su capacidad para adquirir resistencia a diversos antibióticos. La resistencia específica a carbapenémicos es atribuida a la falta de permeabilidad de la porina (OprD), a un incremento de la expresión de las bombas de expulsión activa (MexAB-OprM) y a la producción de metaloenzimas (Ochoa, *et al.*, 2013).

### **1.2.2.2. *Acinetobacter* spp.**

Los microorganismos de este género son Gram negativos, inmóviles, no fermentadores de azúcares, con limitados factores de adhesividad, pobre dotación de exotoxinas y el lípido A de su LPS de la membrana externa no es tan agresiva. El espectro de infecciones nosocomiales causadas por *Acinetobacter* spp. incluye: bacteremias, neumonías, meningitis, infecciones urinarias, infecciones relacionadas con catéteres intravasculares, abscesos abdominales e infecciones de heridas de cirugía (Castellas, 2011).

La especie aislada con mayor frecuencia es *Acinetobacter baumannii*, la problemática de esta especie radica en su capacidad para desarrollar rápidamente resistencias, característica que ha

sido invocada como causa de mortalidad y esto empeora cuando se trata de pacientes en estado grave (Larrondo, 2010).

En el medio hospitalario se ha aislado en humidificadores, ventiladores, la piel del personal de salud, colchones, cojines y otros equipamientos. Se ha reportado una sobrevida en superficies secas mayor a 25 días, por lo cual se le relaciona con brotes nosocomiales. En Latinoamérica, las bacteriemias ocasionadas por este microorganismo, representan 5,3% de los aislamientos de bacteriemias nosocomiales (Díaz, 2010).

### **1.3. Antibióticos**

Son antimicrobianos, que ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función de los microorganismos patógenos; estas sustancias son producidas por diferentes especies de bacterias, hongos y actinomicetos. Los antibióticos difieren en cuanto a sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, su espectro antimicrobiano y su mecanismo de acción (Brunton, Lazo & Parker, 2007).

El objetivo de la antibioticoterapia es controlar y disminuir el número de microorganismos viables, para que el sistema inmunológico sea capaz de eliminar totalmente a los mismos. De acuerdo a la interacción germen-antibiótico, estos fármacos se dividen en bactericidas, bacteriostáticos (Sejia & Vignoli, 2008).

Los antibióticos se clasifican con base en su estructura química y mecanismo de acción de la siguiente manera: 1) sustancias que inhiben la síntesis de paredes celulares bacterianas, como betalactámicos y otros medicamentos vancomicina y bacitracina; 2) sustancias que actúan directamente en la membrana celular del microorganismo, aumentando la permeabilidad y provocando la salida de compuestos intracelulares, como detergentes del tipo de la polimixina; 3) sustancias que alteran la función de las subunidades ribosómicas 30S o 50S para inhibir en forma reversible la síntesis de proteínas, que suelen ser bacteriostáticos; 4) sustancias que se unen a la subunidad ribosómica 30S y alteran la síntesis de proteínas, que suelen ser bactericidas; 5) sustancias que modifican el metabolismo del ácido nucleico bacteriano, que inhiben la polimerasa del ARN, que inhiben las topoisomerasas y 6) antimetabolitos que bloquean a ciertas enzimas esenciales del metabolismo del folato (Brunton, Lazo & Parker, 2007).

### **1.3.1. Antibióticos betalactámicos.**

Son medicamentos de gran utilidad en el tratamiento de infecciones bacterianas, comparten una estructura común y el mismo mecanismo de acción. Su origen puede ser natural o semisintético (Brunton, Lazo & Parker, 2007).

Los antibióticos betalactámicos tienen acción bactericida, actúan impidiendo la síntesis de la pared bacteriana, inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, que es el componente que confiere estabilidad y rigidez a la bacteria, protegiéndola de la rotura osmótica. Estos antibióticos se unen a las proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), cuya función es catalizar una serie de reacciones de transpeptidación y carboxipeptidación necesarias para la síntesis del peptidoglicano de la pared bacteriana. Los betalactámicos actúan también activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano. La presencia de un anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, de la que se han originado diversos grupos:

- a) Penicilinas
- b) Cefalosporinas
- c) Monobactams
- d) Carbapenems
- e) Inhibidores de las betalactamasas (Marín & Gudiol, 2006).

#### **1.3.1.1. Penicilinas.**

Constituyen uno de los grupos de antibióticos bactericidas de mayor importancia, su origen puede ser natural o semisintético; la estructura básica consiste en un anillo betalactámico unido a un anillo de tiazolidina que está conectado con una cadena lateral que varía de unas penicilinas a otras y es la que define sus propiedades. El propio núcleo de la penicilina es el elemento estructural fundamental de actividad biológica, la transformación metabólica o la alteración química de esta parte de la molécula hacen que se pierda toda la acción bacteriana. Originan reacciones alérgicas, lo cual constituye un inconveniente para su uso, se calcula que aproximadamente 5-10% de personas sanas presentan alergias a las penicilinas. En la actualidad se dispone de los siguientes tipos de penicilinas:

- a) **Penicilina G:** bencílica es la que presenta mayor actividad antimicrobiana de todas y la única penicilina natural que se utiliza en la clínica.

- b) **Penicilinas resistentes a la penicilinasa:** destruyen algunas bacterias Gram positivas que producen penicilinasa natural como los estafilococos y neumococos. Las más utilizadas son: oxaciclina por vía intravenosa y dicloxacilina por vía oral.
- c) **Aminopenicilinas:** las más utilizadas son: ampicilina y amoxicilina. Estos betalactámicos tienen actividad frente a bacterias Gram negativas productoras de penicilinasa natural. Son efectivas para cepas productoras de betalactamasas al asociarse con inhibidores betalactámicos como el ácido clavulánico, sulbactam etc.
- d) **Penicilinas anti-*Pseudomonas*:** actúan contra *Pseudomonas* spp. Las más utilizadas son carbenicilina, mezlocilina y piperacilina (Brunton, Lazo & Parker, 2007).

### **1.3.1.2. Cefalosporinas.**

También conocidos como cefems, son antimicrobianos bactericidas de amplio espectro que al igual que las cefamicinas inhiben la síntesis de la pared bacteriana. Su origen es semisintético, derivan de la fermentación del hongo *Cephalosporium acremonium* que produce la cefalosporina C; su estructura básica está formada por un núcleo cefem, que consiste en la fusión de un anillo dihidritihacínico y un anillo betalactámico. Las cefalosporinas están clasificadas en cuatro generaciones, en función de su espectro de actividad.

- a) **Cefalosporinas de primera generación:** son semejantes en su espectro de acción pero difieren notablemente en acciones farmacológicas. Presentan actividad frente a los cocos Gram positivos, excepto enterococos y algunos estafilococos, tiene actividad frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*.
- b) **Cefalosporinas de segunda generación:** tienen un espectro de acción más amplio frente a bacilos Gram negativos. La cefuroxima resiste notablemente la hidrólisis por las betalactamasas y es la única cefalosporina de segunda generación que penetra en cantidades suficientes al líquido cefalorraquídeo (LCR), siendo eficaz para tratar meningitis, infecciones del tracto respiratorio inferior y en la profilaxis de tórax.
- c) **Cefalosporinas de tercera generación:** su espectro de acción es aún más amplio y son más estables frente a la hidrólisis de las betalactamasas, tiene una mayor potencia frente a bacilos Gram negativos, pero su actividad es menor contra bacilos Gram positivos. Una de las cefalosporinas de tercera generación más utilizadas es la ceftriaxona, tiene importante actividad para sepsis, meningitis, infecciones abdominales, infecciones de hueso, articulaciones, tejido blando, piel y heridas; es eficaz en pacientes con defensas bajas, infecciones del tracto urinario y del tracto respiratorio.

**d) Cefalosporinas de cuarta generación:** son las más nuevas, cefepima y cefpiroma. Son poco afines a las betalactamasas tipo 1 y tienen buena penetración a través de la membrana celular externa de la bacteria por lo cual la degradación enzimática es menor a la que presentan cefalosporinas de otras generaciones (Brunton, Lazo & Parker, 2007).

#### ***1.3.1.3. Monobactams.***

Actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular, son derivados del ácido 3-aminomonobactámico (3-AMA), su estructura betalactámica es sencilla, el anillo betalactámico no está fusionado a ninguno otro anillo secundario. Aztreonam es el único monobactámico disponible para uso clínico con excelente actividad bactericida sobre bacterias Gram negativas aerobias y facultativas (Marín & Gudiol, 2006).

#### ***1.3.1.4. Carbapenems.***

Conocidos también como carbapenémicos, son antibióticos bactericidas que contienen un anillo betalactámico fusionado y un sistema de anillos de cinco miembros que difiere de las penicilinas en que están insaturados y contienen un átomo de carbono en lugar del de azufre (Brunton, Lazo, & Parker, 2007). Posee un espectro de actividad más amplio que casi todos los otros antibióticos betalactámicos. Imipenem, meropenem y ertapenem son los betalactámicos disponibles para la terapia antibiótica, estos no se absorben por vía oral. Recientemente se ha incorporado el doripenem a la terapéutica de patógenos Gram positivos y Gram negativos (Marín & Gudiol, 2006).

#### ***1.3.1.4. Inhibidores de betalactamasas.***

Son moléculas que contienen en su estructura un anillo betalactámico, ejercen su función inactivando a las betalactamasas e impidiendo la destrucción del antibiótico betalactámico. Ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam son los inhibidores de betalactamasas (IBLs) que unidos a penicilinas o cefalosporinas recuperan la actividad perdida del antibiótico (Marín & Gudiol, 2006).

### **1.4. Resistencia bacteriana**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la resistencia bacteriana como la capacidad natural o adquirida por la cual algunos microorganismos ya no se ven afectados por un antimicrobiano al cual anteriormente eran sensibles produciendo que los tratamientos habituales se vuelven ineficaces y las infecciones persistan y puedan transmitirse a otras

personas. La resistencia bacteriana es producto de la presión evolutiva en el uso terapéutico y uso indiscriminado e irracional de los antibióticos, lo cual constituye la base de la mutación del microorganismo o adquisición de genes de resistencia. Inicialmente el problema fue resuelto con el descubrimiento de nuevas sustancias capaces de controlar las bacterias con este fenómeno, sin embargo en la actualidad esto no es suficiente debido al apareamiento de nuevos mecanismos de resistencia que son difíciles de controlar. Cuando las infecciones no responden a los medicamentos de primera línea, hay que recurrir a productos químicamente más fuertes y caros (OMS, 2014).

#### **1.4.1. Tipos de resistencias.**

La resistencia bacteriana puede ser intrínseca y adquirida:

##### ***1.4.1.1. Resistencia Intrínseca.***

Se desarrolla en forma natural en ausencia de mecanismo de presión de selección antimicrobiana es decir que no ha existido una exposición previa a antibióticos; esto implica que no todas las especies bacterianas son susceptibles naturalmente a los antimicrobianos. Esto puede deberse a las características del antibiótico o a las características de la bacteria que impiden al fármaco llegue normalmente al sitio de acción o modificaciones naturales del sitio diana de acción o cuando la propia bacteria produce de modo natural un mecanismo de resistencia (Pérez, 2014).

##### ***1.4.1.2. Resistencia Adquirida.***

La aparición de este tipo de resistencia es progresiva y no depende únicamente de la frecuencia o grado de exposición a un antimicrobiano, sino que puede ser producto de la modificación genética ya sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia como plásmidos, transposones o integrones. Cuando la resistencia es producto de la mutación, esta se transmite de forma vertical es decir generación tras generación, y cuando la resistencia es producida por adquisición de genes, esta se puede transmitir de forma horizontal es decir, se transmite a las siguientes generaciones y también a otras especies bacterianas (Pérez, 2014).

#### **1.4.2. Mecanismos bioquímicos de resistencia bacteriana.**

Las bacterias pueden desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y estos pueden ser inhibidos por distintos mecanismos y por diversas especies bacterianas. Los mecanismos de resistencia podrían resumirse en tres categorías:

#### **1.4.2.1. Disminución de la captación de antibiótico.**

Es consecuencia de la *disminución de la permeabilidad de la membrana* al antibiótico, es el mecanismo por medio del cual muchas bacterias Gram negativas naturalmente no permiten el paso a moléculas hidrofóbicas como la eritromicina a través de la membrana plasmática externa, dado la presencia de lipopolisacáridos en esta. Otro mecanismo de resistencia son las *mutaciones en las porinas*, que conlleva cambios en su estructura o en la cantidad de porinas impidiendo el ingreso de medicamentos; este es el caso de la *Pseudomonas aeruginosa* que mediante la mutación del porina OprD, hace que esta porina esté ausente en la membrana, con lo cual adquiere resistencia al imipenem al no ingresar este a la bacteria (Pérez, 2014).

#### **1.4.2.2. Remoción del medicamento de la célula.**

Es considerado uno de los principales mecanismos de resistencia; consiste en bombas de reflujo de medicamento dependiente de energía, es decir expulsa el antibiótico una vez que entró en la bacteria. Se comporta como bombas de sodio/potasio, que actúan en contra de un gradiente de concentración, pero en este caso no intercambia electrolitos, sino que expulsa el antibiótico. Los altos niveles de resistencia se deben a la sobreproducción intrínseca de estas bombas de reflujo o a la adquisición extrínseca de genes que los codifican. Ejemplos de este tipo de resistencia lo muestra *Escherichia coli* que mediante una bomba de reflujo de antibióticos se hace resistente a la tetraciclina, eritromicina, y algunas fluoroquinolonas, y *Pseudomonas aeruginosa* que adquiere multiresistencia mediante sobreexpresión de genes de reflujo (Pérez, 2014).

Si el germen no ha evitado que entre el antibiótico, o no ha sido capaz de expulsarlo una vez que ingresó a la bacteria, le queda un camino que es inactivar o destruir el antibiótico; para esto las bacterias han desarrollado mecanismos enzimáticos para defenderse de los antimicrobianos. El principal exponente de este mecanismo de resistencia lo constituyen un grupo de enzimas que tienen la capacidad de inactivar o modificar antibióticos betalactámicos como los carbapenems, penicilinas y cefalosporinas, y de las cuales han sido descritas una gran cantidad (Pérez, 2014).

Las betalactamasas son producidas por una gran variedad de bacterias que incluye especies de Gram positivos, Gram negativos y anaerobios. Estas pueden ser codificadas por genes en cromosomas o plásmidos; en las bacterias Gram negativas, se encuentran en el espacio

periplásmico. Los diferentes tipos de betalactamasas varían en su capacidad de inactivar un betalactámico determinado y en su susceptibilidad a inhibidores como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Existen muchos tipos de betalactamasas y clasificaciones para esta, pero tres tipos revisten verdadera importancia: betalactamasas de espectro extendido (BLEE), cefalosporinasas mediadas cromosómicamente (AmpC) y carbapenemasas (Pérez, 2014).

### **1.5. Betalactamasas**

Las betalactamasas representan una forma importante de resistencia bacteriana hacia los antibióticos. Son producidas principalmente por bacilos Gram negativos, sobre todo por *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa* entre otros. La actividad de estas enzimas está dirigida específicamente a la hidrólisis de la unión betalactama del anillo betalactámico provocando la producción de un compuesto ácido carente de actividad antibacteriana. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos, lo cual permite su fácil transferencia entre diferentes bacterias, lo que representa un gran reto para el control de las infecciones (Tafur, Torres & Villegas, 2008).

Las betalactamasas se clasifican según dos esquemas: la clasificación molecular de Ambler y la clasificación funcional de Bush-Jacoby-Mideiros (Cuadro 1).

Basándose en datos de secuencia parcial del ADN de las betalactamasas, Ambler en 1980 propone clasificarlas en cuatro clases: A, B, C y D. Las enzimas de clase A, cuyo prototipo es la enzima TEM-1, están codificadas en plásmidos al igual que las de clase B y D, en la actualidad representan más del 50% de los aislamientos de enterobacterias en general. Las enzimas de clase B requieren zinc para su actividad y son consideradas por ello metalobetalactamasas, en general son plasmídicas inhibidas por el ácido Etilendiaminotetracético (EDTA), incluyéndose aquí las enzimas que confieren resistencia a los carbapenems. Las enzimas de clase C, están generalmente codificadas en el cromosoma bacteriano y son típicamente inducibles por betalactámicos, en algunas especies, la región reguladora del gen ha desaparecido, y en consecuencia la enzima se expresa constitutivamente. Las enzimas de clase D constituyen un grupo reducido de enzimas plasmídicas, con actividad incrementada sobre oxacilina (OXA-1), inhibibles por iones cloruros y de forma variable por inhibidores del tipo ácido clavulánico o sulbactam. Estas enzimas, al igual que lo observado en las enzimas de clase A, han ampliado su espectro de acción mediado por mutaciones puntuales a partir de enzimas con actividad reducida a penicilinas como es el caso de las OXA derivadas.

En 1995 Bush, Jacob y Medeiros proponen una clasificación funcional para las betalactamasas. Esta se basa en el peso molecular de la enzima, su punto isoeléctrico (pI), el perfil de sustrato y la propiedad de ser inhibidas por la presencia de ácido clavulánico o EDTA. En base a este esquema surgen cuatro grupos funcionales que se correlacionan bien con la clasificación de Ambler, denominándose: 1, 2, 3 y 4. Las del grupo 1 corresponden a enzimas con acción cefalosporinasa, no inhibibles ni por ácido clavulánico ni por EDTA, y que se correlacionan con las enzimas cromosómicas de los bacilos Gram negativas de tipo AmpC. Las del grupo 2 están constituidas por penicilinasas y cefalosporinasas inhibibles por ácido clavulánico, y coinciden mayoritariamente con el tipo A de Ambler. Las del grupo 3 son inhibibles por EDTA pero no por ácido clavulánico, se corresponden con las metaloenzimas de tipo B. Por último, un grupo poco importante no descrito por Ambler, las del grupo 4, que incluye penicilinasas no inhibibles por ácido clavulánico encontradas en *Pseudomonas cepacia*. Esta clasificación es mucho más importante en el diagnóstico microbiológico de laboratorio ya que considera los sustratos y los inhibidores de las betalactamasas clínicamente relevantes (Sejia & Vignoli, 2008).

**Tabla 1. Clasificación de betalactamasas.**

Grupo	Características	Clase molecular (Ambler)	Inh AC	Inh EDTA	Enzimas respectivas
1	Cefalosporinasas	C	-	-	AmpC; MIR-1
2 a	Penicilinasas	A	+	-	PCI ( <i>S. aureus</i> )
2 b	Enzimas de amplio espectro				TEM 1,2; SHV 1
2be	Enzimas de espectro extendido (BLEE)	A	+	-	TEM3-28; SHV 2,6
2br	Enzimas de amplio espectro resistente a inhibidores	A	+/-	-	TEM30-36; TCR-1
2c	Carbenicilinasas	A	+	-	PSE-1; CARB3
2d	Cloxacilinasas	D	+/-	-	OXA1-11; PSE-2
2e	Cefalosporinasas	A	+	-	<i>P. vulgaris</i>
2f	Carbapenemasas	A	+	-	IMI1, NMCA, Sme1
3	Metallo-betalactamasas	B	-	+	L1 ( <i>S. maltophilia</i> )
4	Penicilinasas	ND	-	?	<i>B. cepacia</i>

Carrillo A. y García A. 2007. *β-lactamasas de Espectro Extendido - Importancia Clínica Médica*. Taller de Laboratorio Clínico. Asociación Española de Biopatología Médica. España.

La continua descripción de nuevas betalactamasas ha creado problemas en su clasificación y nomenclatura pero de entre las betalactamasas descritas hasta el momento, cabe destacar por su interés e implicaciones clínicas se destaca las siguientes: 1) betalactamasas de espectro extendido "BLEE", 2) betalactamasas tipo AmpC y 3) Carbapenemasas.

### **1.5.1. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).**

En las bacterias Gram negativas el mecanismo de resistencia más común a los betalactámicos es la producción de betalactamasas; estas enzimas son capaces de hidrolizar el anillo betalactámico inactivando los antibióticos. Un grupo importante de estas enzimas son las BLEE que hidrolizan y causan resistencia a penicilinas, oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y monobactámicos (aztreonam) pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni a carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico. Los genes que las codifican se encuentran en elementos móviles que facilitan su diseminación y frecuentemente presentan co-resistencia a otros antibacterianos como aminoglucósidos, clotrimazol y quinolonas.

Las BLEE se pueden clasificar en diferentes grupos, según las distintas clasificaciones. La mayoría de ellas pertenecen a la clase molecular A de Ambler. Entre ellas se encuentran las TEM y SHV, derivadas de betalactamasas con menor espectro de hidrólisis, la familia CTX-M, procedente de betalactamasas cromosómicas del género *Kluyvera*, y otras menos prevalentes como las PER, VEB, BES, GES, TLA y SFO, incluidas todas ellas en el grupo funcional 2be de Bush y Jacoby. Otras BLEE pertenecientes a la clase A, aunque del subgrupo 2ber son las betalactamasas *complex mutant* TEM (CMT), como la TEM-50 que combinan una cierta resistencia a la inhibición por el ácido clavulánico junto a una mayor actividad frente a oximino-cefalosporinas. Algunas enzimas de la familia OXA (clase D de Ambler y grupo funcional 2de), son también betalactamasas de espectro extendido. Desde su descripción inicial, se han identificado más de 300 BLEE diferentes, y la mayoría pertenecen a las familias TEM, SHV y CTX-M. La detección rápida de la resistencia a los antimicrobianos así como su caracterización es una prioridad en los laboratorios de microbiología clínica, su conocimiento ayuda en la elección del antibiótico más adecuado para el tratamiento de la infección y permite instaurar las medidas adecuadas de aislamiento para evitar la dispersión del microorganismo a otros pacientes (Calvo, Cantón, Fernández, Mirelis & Navarro, 2011).

### 1.5.2. Betalactamasas de tipo AmpC.

Estas betalactamasas corresponden a la clase molecular C de Ambler (grupo 1 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros) se caracterizan por su espectro de hidrólisis y por su perfil de inhibición. Las AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas y, en menor medida, las de tercera generación, mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación y los carbapenémicos. Este espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (AmpC de espectro extendido), pero se desconoce cuál es la prevalencia y la relevancia clínica y epidemiológica de estas variantes de AmpC. La cloxacilina y el aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados, inhiben a las betalactamasas de tipo AmpC, mientras que el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores.

La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, siendo los niveles de producción dependientes del grado de expresión del gen *blaAmpC*. Cuando el gen *blaAmpC* se expresa de forma constitutiva puede hacerlo a niveles basales bajos, confiriendo un fenotipo de resistencia natural o salvaje característico de la especie bacteriana, o puede hacerlo a unos niveles muy superiores al basal produciendo cantidades elevadas de AmpC (hiperproducción de AmpC). Las AmpC plasmídicas se han descrito principalmente en algunas especies de enterobacterias (*Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*, entre otras) con relevancia clínica y epidemiológica. La distribución de estas enzimas es mundial y con una prevalencia variable, dependiente del microorganismo, del tipo de AmpC plasmídica y del área geográfica.

En general, la prevalencia de las AmpC plasmídicas suele ser relativamente baja, aunque parece que existe una tendencia a incrementarse. En un estudio multicéntrico realizado en España se ha observado un incremento en la prevalencia de enterobacterias productoras de AmpC plasmídicas en 2007 (1,3%) respecto a 1999 (0,06%), siendo *Proteus mirabilis* la especie con mayor prevalencia (0,95%) y CMY-2 la AmpC plasmídica más frecuente (66,7%). La producción de betalactamasas de tipo AmpC plasmídicas puede dar lugar a fracasos terapéuticos. Desde el punto de vista epidemiológico, las AmpC plasmídicas tienen mucha mayor relevancia o trascendencia que las AmpC cromosómicas, debido a su capacidad para movilizarse, y se pueden transferir tanto en el ambiente nosocomial, donde tienen un claro potencial epidémico, como en la comunidad (Calvo, *et al.* 2011).

### 1.5.3. Betalactamasas tipo carbapenemasas.

Estas enzimas se denominan genéricamente carbapenemasas y se agrupan en las diferentes clases moleculares de Ambler que corresponden a diferentes grupos funcionales de la clasificación de Bush y Jacoby. Las betalactamasas tipo carbapenemasas están codificadas en el cromosoma bacteriano o están presentes en elementos genéticos móviles; los aislados productores en general son resistentes a imipenem y meropenem. Son enzimas que hidrolizan los antibióticos betalactámicos a excepción del aztreonam, no se inhiben por inhibidores betalactámicos pero son inhibidas con agentes quelantes como el EDTA y compuestos tiólicos. Se ha difundido rápidamente entre los patógenos de importancia clínica como enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Se clasifican en dos grupos:

- a) **Metalobetalactamasas o de clase B:** sus características principales son: 1) poseen actividad contra los carbapenémicos; 2) no hidrolizan los monobactámicos; 3) son inhibidas por agentes quelantes como el EDTA o el mercapto acetato de sodio. El ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no bloquean la acción de estas betalactamasas; 4) requieren cationes divalentes (generalmente zinc) como cofactores para su actividad catalítica.
- b) **Serino carbapenemasas o de clase A:** denominadas así por su dependencia a los metales como el zinc para su funcionamiento, predominan en bacilos Gram negativos no fermentadores como *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* (Calvo, et al. 2011).

### 1.6. Infecciones hospitalarias.

Las infecciones hospitalarias (IH) o nosocomiales es la que se adquiere en el hospital u otro servicio de salud, como regla general se establece un plazo de 48-72 horas luego del ingreso hospitalario para establecer la infección adquirida, este plazo consiste en el periodo de incubación; por ello es importante conocer el periodo de incubación del agente en causa para reconocer si la infección es de origen hospitalario o comunitario.

Un factor contribuyente para este tipo de infecciones, es el aumento de la sobrevida en el ambiente hospitalario de individuos particularmente sensibles: recién nacidos prematuros, inmunodeprimidos, quemados. Otros factores que contribuyen a la patogenia infecciosa hospitalaria son: factores que dependen del microorganismo (patogenicidad, virulencia, y resistencia microbiana) factores que dependen de la susceptibilidad del paciente (edad, sexo, enfermedad subyacente, estado inmunológicos) y los factores que dependen del medio ambiente, planta física, personal hospitalario, régimen de visitas.

La mayoría de IH son de carácter endémico es decir que se presentan de forma esperada tanto sus características y frecuencia. Pueden ser por contaminación cruzada denominadas también como exógenas es decir son causadas por agentes de la propia flora del paciente. Para que la infección sea exógena debe existir un reservorio del agente infeccioso, un mecanismo de transmisión y una puerta abierta para el contagio.

**CAPITULO II**  
**METODOLOGÍA**

## **2.1. Recolección de muestras**

Se realizó un estudio descriptivo prospectivo de los cultivos obtenidos de muestras clínicas de pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo octubre-noviembre 2013.

## **2.2. Identificación de la cepa bacteriana**

El cultivo proveniente del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros”, se sembró en agar MacConkey para obtener un cultivo puro, posteriormente la identificación de las cepas se realizó considerando las características metabólicas de cada una de ellas mediante pruebas bioquímicas (Citrato, Urea, SIM, LIA, TSI) de la casa comercial HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. y los sistemas miniaturizados Índice de Perfil Analítico (API) “Microgen™ GnA+B-ID System” de la casa comercial MICROGEN BIOPRODUCTS.

## **2.3. Determinación de la susceptibilidad bacteriana**

La susceptibilidad bacteriana se determinó aplicando el método de disco difusión en agar Muller Hinton de la casa comercial Difco™ Laboratories, utilizando la técnica de Kirby y Bauer con una turbidez equivalente 0,5 de la escala de McFarland a una temperatura de  $35 \pm 2$  °C siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI, 2012).

Los antibióticos analizados fueron: amoxicilina-ácido clavulánico (AMC-20/10 µg), cefotaxime (CTX-30 µg), ceftazidime-CAZ-30 µg), aztreonam (ATM-30 µg), imipenem (IMP-10 µg), ampicilina-sulbactam (SAM-30 µg), cefoxitina (FOX-30 µg), cefepime (FEP-30 µg), ampicilina (AMK-30 µg), ciprofloxacina (CIP-5 µg), ácido nalidixico (NAL-30 µg), piperacilina-tazobactam (PTZ-100/10 µg) y ampicilina (AMP-30 µg).

El criterio de selección fueron cepas con halos <21mm en cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima y ceftazidima), cefoxitina <15mm y en carbapenems (imipenem) <20mm, a las cuales se les realizó las siguientes pruebas.

### 2.3.1. Detección de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

#### 2.3.1.1. Prueba de sinergia de doble disco.

Consiste en colocar un disco con amoxicilina-ácido clavulánico (AMC-20/10 µg) a una distancia de 25mm de los discos de ceftazidima (CAZ-30 µg), cefotaxime (CTX-30 µg), cefepime (FEP-30 µg) y aztreonam (ATM-30 µg). La producción de BLEE se demostró por la ampliación del halo de inhibición o el efecto sinérgico llamado “efecto huevo” entre el disco con inhibidor y los discos de ceftazidima (CAZ-30 µg), cefotaxime (CTX-30 µg), aztreonam (ATM-30 µg) y amoxicilina-ácido clavulánico (Figura 1).

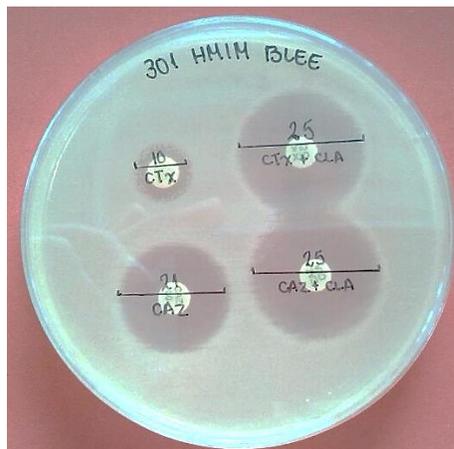


**Figura 1. Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección de BLEE.** Se observa el efecto sinérgico “efecto huevo”, entre los discos de CAZ, CTX, FEP y ATM con el disco central de AMC.

Fuente: Chalán, L. (2013)

#### 2.3.1.2. Prueba de discos combinados con inhibidor (Prueba de confirmación).

Esta prueba se utilizó para la confirmación de cepas productoras de BLEE, el método consiste en comparar los halos de inhibición de las cefalosporinas de tercera generación con y sin inhibidor de betalactamasa. Se utilizó discos de cefotaxime (CTX-30 µg), cefotaxime/ácido clavulánico (30/10 µg), ceftazidima (CAZ-30 µg) y ceftazidima/ácido clavulánico (30/10 µg). Se interpreta como una BLEE positiva cuando hay incremento en el diámetro del halo del disco con inhibidor  $\geq 5$ mm respecto de la cefalosporina correspondiente sin inhibidor (Figura 2).



**Figura 2.** Prueba de discos combinados positivo. Se observan diferencias >5mm entre los discos CTX y CAZ sin y con ácido clavulánico.

Fuente: Chalán, L. (2013)

### 2.3.2. Detección de betalactamasas de tipo AmpC.

#### 2.3.2.1. Detección de betalactamasas tipo AmpC constitutiva.

Se realizó mediante la prueba sinergia de doble disco; el método consiste en colocar un disco con ceftriaxona (30 µg) y un disco con ceftazidima (30 µg) a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con ácido borónico (30 µg). Se interpreta como AmpC constitutiva positiva cuando se produce la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del inhibidor.



**Figura 3.** Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección fenotípica de betalactamasa tipo AmpC constitutiva. Se observa la sinergia entre los discos de las cefalosporinas y el ácido clavulánico.

Fuente: (Calvo, *et al.* 2011).

### 2.3.2.2. Detección de betalactamasa tipo AmpC Inducible.

Se realizó mediante la prueba aproximación de discos; el método consiste en colocar un disco betalactámico inductor débil (cefotaxima, ceftazidima y aztreonam) cercano a un betalactámico inductor fuerte (imipenem, ceftoxitina). El achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte demuestra la expresión inducible de la betalactamasa.

### 2.3.3. Detección de betalactamasas de tipo carbapenemasas



**Figura 4.** Prueba de aproximación de discos positiva para la detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC inducible. Se observa el achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte.

Fuente: (Calvo, *et al.* 2011).

Se realizó mediante el Test de Hodge Modificado; el método consiste en inocular en una placa de agar Mueller-Hinton una suspensión de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 de turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland diluida al 1:10, posteriormente se colocó un disco de imipenem en el centro de la placa y se inoculó 3 colonias de la cepa problema formando una estría radial desde 2-3 mm del disco de imipenem hacia el borde de la placa, finalmente se incubó a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 16-20 horas.



**Figura 5.** Test de Hodge modificado donde se observan dos cepas positivas y una negativa.

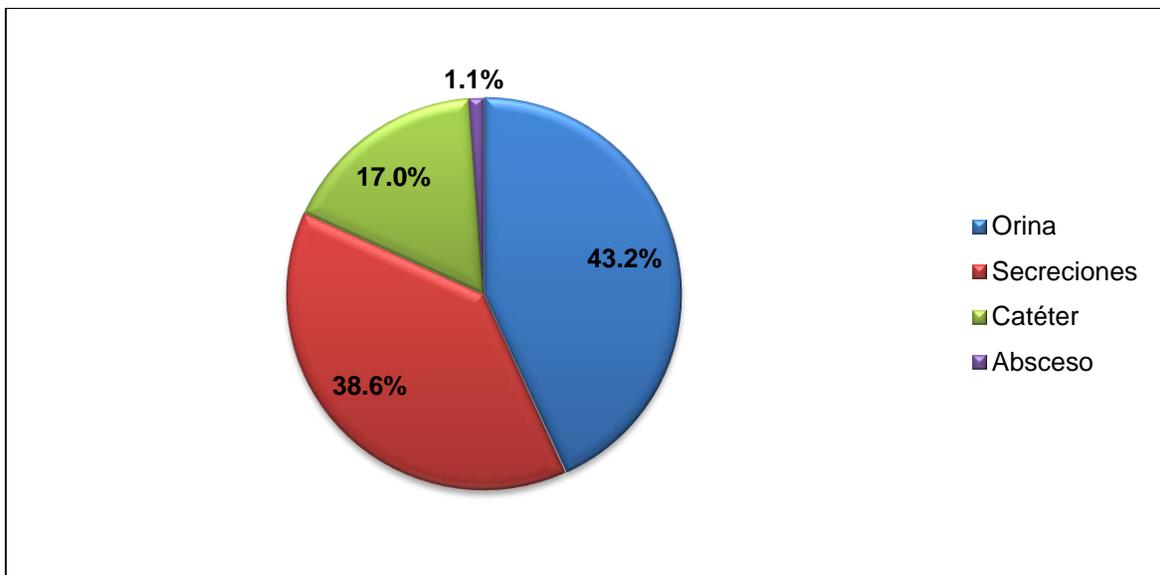
Fuente: (Calvo, *et al.* 2011)

#### **2.3.4. Análisis estadístico.**

Se realizó la recopilación y análisis de la información relacionada con los microorganismos identificados; el porcentaje de resistencia y sensibilidad se determinó utilizando el programa WHONET (World Health Organization Versión 5.6).

**CAPITULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la presente investigación se determinó la frecuencia de los mecanismos de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas de pacientes hospitalizados provenientes del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013. Se recolectó un total de 88 muestras clínicas de las cuales el 43,2% correspondieron a cultivos de orina, 38,6% a catéter, 17,0 % a secreciones vaginales y uretrales y 1,1% a absceso (Gráfica 1).



**Gráfica 1.** Tipos de muestras clínicas analizadas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período octubre-noviembre 2013.

Fuente: Chalán, L. (2013)

En investigaciones realizadas en Loja, por Aguirre (2012), señala a la muestra de orina (95%) como la más frecuente, seguido por muestras de sangre (1%) y faringe (4%); estudios similares realizados por Guadalima (2012), en el hospital de SOLCA reporta una frecuencia de urocultivo de 47,6%, nasofaríngeo 26,4%, secreción vaginal 20,8% y hemocultivo 5,2%; Rivera (2014), en el Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” indica una frecuencia de muestras de orina del 56,9%, catéter y secreciones 18,1%, líquido cefalorraquídeo 5,5% y herida 1,4%.

En Cuenca, en un estudio realizado por León & Astudillo (2010), en el hospital Vozandes-Quito reporta que la mayoría de muestras fueron de orina con 33,8%, luego esputo 21,4%, úlceras y heridas 19,6%, secreciones 5,4%, absceso, catéter y dren 3,6% y hueso 1,8%; Jaramillo (2011) en Quito, documenta la distribución del tipo de muestras biológicas analizadas, siendo la muestra de orina la de mayor frecuencia con 78,46%, seguido por secreción de vía respiratoria

5,47%, herida quirúrgica 2,45%, hemocultivo 2,30%, herida 2,19%, liquido intrabdominal 1,85%, hisopado de cavidades 1,81%, abscesos 1,02%, muestras del SNC, de dispositivo invasivo, heces, hueso y ulcera constituyen el 4,45% restante de muestras.

Estudios realizados en Perú por Escalante *et al.* (2013) reportó que las muestras de cultivos positivos para bacterias productoras de BLEE en un 86,4% correspondieron a urocultivos y 13,6% a hemocultivos, lo antes señalado corrobora los resultados de la presente investigación donde se encontró un mayor porcentaje de muestras de orina.

En diferentes partes del mundo las infecciones urinarias (IU) constituyen una de las causas más frecuentes de enfermedad infecciosa, misma que se caracteriza por altas tasas de incidencia y morbilidad en la población pediátrica y adulta (Díaz, Cabrera, Fernández, González, Carrasco, & Bravo, 2006). La infección del tracto urinario (ITU) es la más frecuente de las infecciones nosocomiales, constituye un problema mayor en los centros de larga estancia y con personas de edad avanzadas; son responsables del 35 al 45% de todas las infecciones nosocomiales asociadas a drenajes urinarios (sondas uretrales) y manipulaciones genitourinarias (Revert, 2005).

Los bacilos Gram negativos (BGN) son microorganismos de amplia distribución y de mayor frecuencia en los aislados de las casas de salud, en la mayoría de los casos se hace referencia a BGN facultativos o aerobios como: Enterobacterias, Pseudomonas y Acinetobacter. Algunos poseen ciertas estructuras como cápsula (antígeno K) que favorece la virulencia (Ossa, 2010).

En el caso de las especies que suelen colonizar a los seres humanos pueden producirse infecciones cuando las cepas bacterianas propias de un paciente establecen infecciones en un sitio del cuerpo que por lo general es estéril. Otros microorganismos también pueden transmitirse de un paciente a otro y esas infecciones a menudo dependen del estado de debilidad de un paciente hospitalizado y se adquieren en el hospital (Forbes, *et al.* 2009).

Entre los bacilos Gram negativos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del área de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) encontramos:

**Tabla 1.** Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013.

CEPAS	Hospitalización		UCI	
	F	%	f	%
<i>Escherichia coli</i>	40	60.6	7	31.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	15.2	3	13.6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	5	22.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	6.1	1	4.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	6.1	3	13.6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	4.5	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	2	3	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1.5	2	9.1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1.5	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	1	4.5
<i>Salmonella spp.</i>	1	1.5	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>66</b>	<b>100</b>	<b>22</b>	<b>100</b>

Fuente: Chalán, L. (2013)

De las 88 cepas aisladas, 66 (75%) corresponden al área de hospitalización y 22 (25%) corresponden a UCI.

En el área de hospitalización *Escherichia coli* constituye el 60,6%, seguido de *Klebsiella pneumoniae* 15,2%, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter cloacae* 6,1%, *Klebsiella oxytoca* 4,5%, *Proteus vulgaris* 3%, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella spp.* 1,5%. En UCI *Escherichia coli* constituye el 31,8%, seguido por *Acinetobacter baumannii* 22,7%, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae* 13,6%, *Enterobacter aerogenes* 9,1%, *Citrobacter freundii* y *Pseudomonas aeruginosa* 4,5% (Tabla 1).

En un estudio realizado en Loja, por Gonzaga (2012), en el hospital Manuel Ygnacio Monteros reporta que en muestras de urocultivo existe predominio de la cepa *Escherichia coli* con 59,3% de los aislados, seguido de *Enterobacter aerogenes* 12,9%, *Klebsiella spp.* 9,26%, *Proteus spp.* y *Pseudomonas aeruginosa* 5,56%, *Staphylococcus epidermidis* 3,7% y *Staphylococcus albus* y *cogulasa negativo* 1,85%; similar estudio realizado en la misma entidad de salud por Rivera (2014), señala que en el área de hospitalización *Escherichia coli* (61,5%) es la cepa aislada con

mayor frecuencia, seguida de *Pseudomonas aeruginosa* (11,5%), *Klebsiella oxytoca* (9,6%), *Proteus mirabilis* (5,8%), *Enterobacter cloacae* (3,9%), *Klebsiella pneumoniae* (3,9%), *Proteus vulgaris* (1,9%) y *Acinetobacter baumannii* (1,9%); así mismo indica que en UCI la cepa más frecuente es *Escherichia coli* (60%) seguida de *Acinetobacter baumannii* (15%), *Enterobacter aerogenes* (10%), *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomonas aeruginosa* (5%).

En Colombia, Chávez *et al.* (2013), indicó que en pacientes hospitalizados las bacterias de la familia Enterobacteriaceae durante los años 2007 y 2008 representaron 75,4% y 74,3% de los aislados respectivamente. De los aislados del 2007, correspondieron a *Escherichia coli* 48,5%, *Klebsiella pneumoniae* 27,6%, *Proteus mirabilis* 9,8%, *Enterobacter aerogenes* 4,9%, *Enterobacter cloacae* 4,0%, *Morganella morganii* 3,1%, *Citrobacter freundii* 1,5% y *Proteus vulgaris* 1,3%; en 2008 los aislamientos correspondieron a *Escherichia coli* 46,5%, seguido por *Klebsiella pneumoniae* 30,8%, *Proteus mirabilis* 14,1%, *Enterobacter aerogenes* 6,2%, *Enterobacter cloacae* y *Morganella morganii* 0,43%, *Citrobacter freundii* 1,2%, y *Proteus vulgaris* 0,43%. Los aislamientos de bacterias Gram negativas no fermentadoras de lactosa representaron 24,6 % durante el año 2007, con 69,5% para los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* y 30,5% para *Acinetobacter baumannii*; en el año 2008 los aislamiento de estas bacterias representaron 25,7%, de los cuales 70,5% correspondió a *Pseudomonas aeruginosa* y 29,5% para *Acinetobacter baumannii*.

Briceño *et al.* (2010), registraron a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Acinetobacter baumannii* como las cepas aisladas con mayor frecuencia en las UCI de Colombia; resultados semejantes reporta Hernández (2014), indica que de 38,048 microorganismos aislados durante los últimos cuatro años 24,203 corresponden a bacilos Gram negativos; de ellos se identificaron 5,637 de *Escherichia coli*, 5,302 de *Klebsiella pneumoniae* 3,647 de *Pseudomonas aeruginosa* y 1,525 de *Acinetobacter baumannii*.

Así mismo en Perú, Escalante *et al.* (2013), reportó que las cepas aisladas con mayor frecuencia a nivel hospitalario corresponden a *Escherichia coli* 61% y *Klebsiella pneumoniae* 39%; Espinosa *et al.* (2013), en Cuba identificaron en urocultivos de pacientes hospitalizados a *Escherichia coli*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Citrobacter spp.*, y *Estafilococos spp.* como los microorganismos más frecuentemente aislados. En otra investigación realizada en España por Briongos *et al.* (2012), señala a *Escherichia coli* como la cepa aislada con mayor frecuencia con 93% seguido por *Klebsiella spp.* 7%.

De esta manera se confirma los resultados obtenidos en la presente investigación, siendo *Escherichia coli* la enterobacteria más frecuentemente aislada en las dos áreas de estudio; por otra parte en el grupo de BGNNF en el área de hospitalización y UCI prevalecen *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* respectivamente.

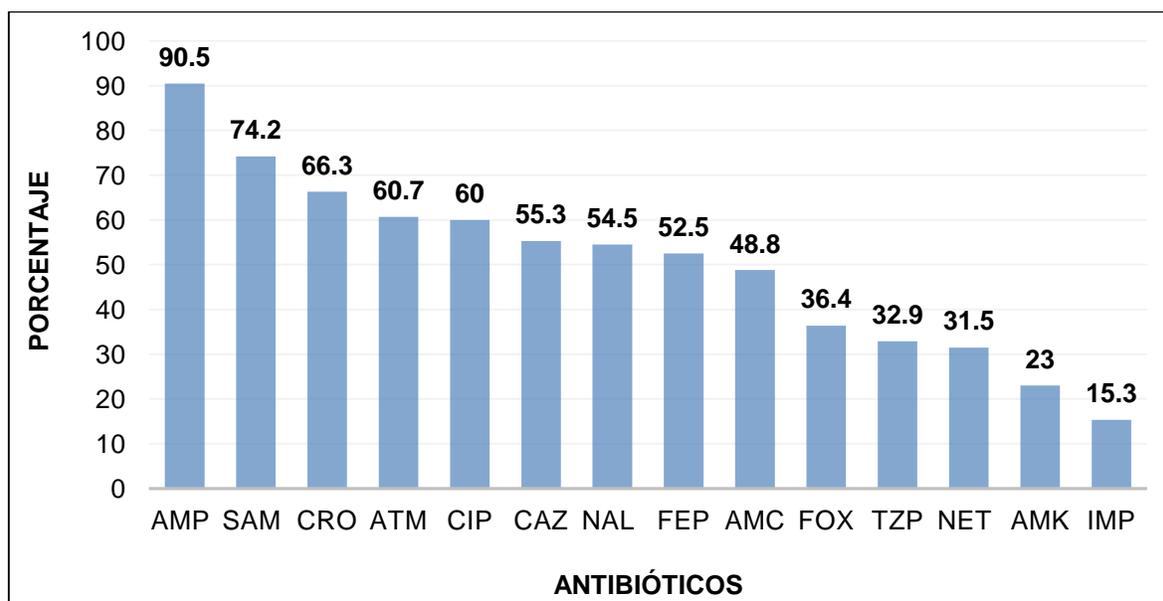
Las ITU son producidas generalmente por bacilos Gram negativos (enterobacterias) de los cuales la mayor frecuencia corresponde a serotipos de *Escherichia coli*, seguidas de *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterococos* spp., *Estafilococos* spp., así como especies de *Pseudomonas* y hongos del género *Candida* (Rivera, Hart, Ponce & Suárez, 2013). La frecuencia de *Escherichia coli* en los aislados de pacientes hospitalizados se debe a que siendo parte de la microflora normal del paciente consigue ocasionar infección cuando sus defensas se alteran, además esta bacteria puede adherirse a la superficie de dispositivos como la sonda vesical, siendo de esta manera un factor de riesgo para la formación de biopelículas que originan infecciones refractarias a la terapia antimicrobiana (Faleiro, 2010).

Los BGNNF de lactosa son invasores secundarios que infectan fundamentalmente a pacientes hospitalizados que tienen defectos en sus barreras defensivas o violación de sus barreras anatómicas, o que han sido tratados repetidamente con antibióticos, lo que disminuye la flora normal, que es en cierto modo una barrera a la penetración de intrusos. La infección por *Pseudomonas aeruginosa* se adquiere en la comunidad y en el medio hospitalario, ya que este microorganismo se encuentra distribuido en la naturaleza y tiene predilección por los medios húmedos; puede colonizar la piel, el oído externo, el aparato respiratorio superior y el intestino grueso en personas sanas; las personas con alteración inmunológica o con patologías base son consideradas portadoras del microorganismo. En el caso de *Acinetobacter baumannii* mayoritariamente produce infección del aparato respiratorio y dispositivos intravasculares, puede infectar en menos frecuencia las vías urinarias luego de colocar una sonda, áreas quirúrgicas, zonas de quemaduras, cánulas biliares y senos paranasales (Ossa, 2010).

Casellas (2011), afirma que la resistencia bacteriana se presenta fundamentalmente en la familia Enterobacteriaceae y en BGNNF. Actualmente en nuestro país existen bacterias habituales tanto en el medio extrahospitalario como hospitalario que han desarrollado mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos, lo cual dificulta su tratamiento y frecuentemente provocan fracasos terapéuticos; los mecanismos de resistencia bacteriana adquiridos por mutación o por adquisición de plásmidos y transposones desde otras bacterias conlleva la diseminación de la resistencia una vez que ésta emerge tanto en la comunidad como

en los hospitales donde adquiere gran relevancia en las infecciones intrahospitalarias. (Maggiolo, 2008).

En la actualidad los antibióticos de mayor significancia clínica en el tratamiento de infecciones bacterianas son los betalactámicos debido a su baja toxicidad y su amplio espectro de acción (Sandrea, *et al.* 2007). Por ende en la presente investigación se analizó el porcentaje de resistencia de los antibióticos recomendados por el CLSI, para el posterior análisis a través del programa WHONET.



**Gráfica 2.** Porcentaje de resistencia antimicrobiana en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

Fuente: WHONET 5.6

Se analizó el perfil de susceptibilidad en Enterobacterias y en BGNNF aislados, para los antibióticos betalactámicos los porcentajes de resistencia presentaron un alto nivel en ampicilina (AMP) 90,5%, ampicilina/sulbactam (SAM) 74,2%, ceftriaxona (CRO) 66,3%, aztreonam (ATM) 60,7%, ceftazidima (CAZ) 55,3%, cefepima (FEP) 52,5%; sin embargo, amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) presentó un nivel de resistencia de 48,8%, cefoxitina (FOX) 36,4%, piperacilina/tazobactam (TZP) 32,9%, e imipinem (IMP) 15,3%.

También se analizó el perfil de susceptibilidad de dos aminoglucósidos: netilmicina (NET) 31,5 y amikacina (AMK) 23%; quinolonas: ácido nalidixico (NAL) 54,5%; fluoroquinolonas: ciprofloxacino (CIP) 60% (Gráfica 2).

Estudios realizados en Loja, por Rivera (2014), en el hospital Manuel Ygnacio Monteros indican que los máximos niveles de resistencia en orden decreciente se encontraron en ampicilina (AMP) 95,7%, aztreonam (ATM) 69,2%, cefotaxime (CTX) 67,6%, ceftazidima (CAZ) 56,9%, ampicilina/sulbactam (SAM) 54,9%, cefepime (FEP) 52,8%, ceftaxidina (FOX) 28,3%, imipenem (IMI) 13,9% y piperacilina/tazobactam (TPZ) 2,6%; indicando a la ampicilina (95,7%) como el betalactámico con mayor porcentaje de resistencia y piperacilina/tazobactam como el de menor porcentaje de resistencia, lo cual difiere de los resultados de nuestro estudio donde se reportó a imipenem (15,3%) como el antibiótico con menor porcentaje de resistencia.

En Colombia, Orozco *et al.* (2010), en un estudio realizado durante los años 2005-2008 señala que los aislamientos de Gram negativos mostraron una alta resistencia a la ampicilina desde 84,3 a 100 %, amoxicilina/ácido clavulánico desde 66,5 a 80% y ciprofloxacino desde 40 a 57,9 % respectivamente durante este periodo; así mismo Machado & Murillo (2012), establecen una sensibilidad del 100% para amoxicilina/clavulánico, 94,8% nitrofurantoina, 86,3% ceftriaxona, 71% ciprofloxacino y establecen resistencia elevada para ampicilina 54,7%, trimetoprim sulfametoxazol (43,8%), amoxicilina (50%) y cefalotina (42,8%); Cardona *et al.* (2011), indicó que el antibiótico con mayor porcentaje de resistencia fue la ampicilina (58,9%), mientras que el antibiótico con menor porcentaje de resistencia fue imipenem (0,9%), lo cual corrobora los resultados de nuestro estudio ya que la ampicilina (90,5%) presentó los porcentajes más altos de resistencia y los porcentajes más bajos los presentó imipenem (15,3%).

Las enterobacterias y los BGNNF a nivel mundial presentan alta resistencia a algunos betalactámicos, en el caso de la ampicilina el principal mecanismo de resistencia es mediante betalactamasas; hasta la actualidad se ha descrito más de 890 betalactamasas, las familias más comunes en enterobacterias son: TEM, SHV, OXA-1 y CARB. Todas son penicilinasas, pero las dos primeras son inhibidas por el ácido clavulánico y en algunos casos también tienen acción contra cefalosporinas de tercera generación, la OXA-1 y CARB se caracterizan por hidrolizar la cloxacilina y carbenicilina respectivamente, las GES se caracterizan por hidrolizar la ceftazidima; la creciente frecuencia de estas enzimas como consecuencia del uso irracional de los medicamentos promueve la resistencia bacteriana especialmente en aquellos antibióticos de uso masivo. En el caso del imipenem la presencia de betalactamasas es menos frecuente aunque en ciertos países se encuentra en notable incremento, esto se debe principalmente al uso restringido del antibiótico y a la escasa frecuencia de las betalactamasas tipo KPC-2, IMI-1,

SME-1, IMP-1, VIM-1, CrA, IND-1, mismas que se caracterizan por hidrolizar carbapenems, oximinobetalactámicos y cefamicinas (Mosquito *et al.* 2011).

El alto porcentaje de resistencia antimicrobiana se atribuye a lo que la OMS establece como principales causas de incremento de la resistencia bacteriana, como son: el uso abusivo de los antibióticos, la inadecuada prescripción médica, la aplicación de dosis no óptimas, la irregularidad en la toma del medicamento, lo cual constituye la base de la mutación del microorganismo o adquisición de genes de resistencia. Para determinar los mecanismos de resistencia implicados en los bacilos Gram negativos se evaluó principalmente la resistencia a cefalosporinas de tercera generación, cefoxitina e imipenem, obteniendo los siguientes resultados:

**Tabla 2.** Frecuencia de los mecanismos de resistencia bacteriana presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013.

Mecanismos de resistencia	Cepas resistentes a CEFALOSPORINAS DE 3 <sup>RA</sup> G		Cepas resistentes a CEFOXITINA		Cepas resistentes a IMIPINEM	
	BLEE		AmpC		Carbapenemasas	
	f	%	f	%	f	%
Betalactamasas	39	73,6	6	35,9	0	0
Otros mecanismos	14	26,4	11	64,7	10	100
<b>TOTAL</b>	<b>53</b>	<b>100</b>	<b>17</b>	<b>100</b>	<b>11</b>	<b>100</b>

Fuente: Chalán, L. (2013)

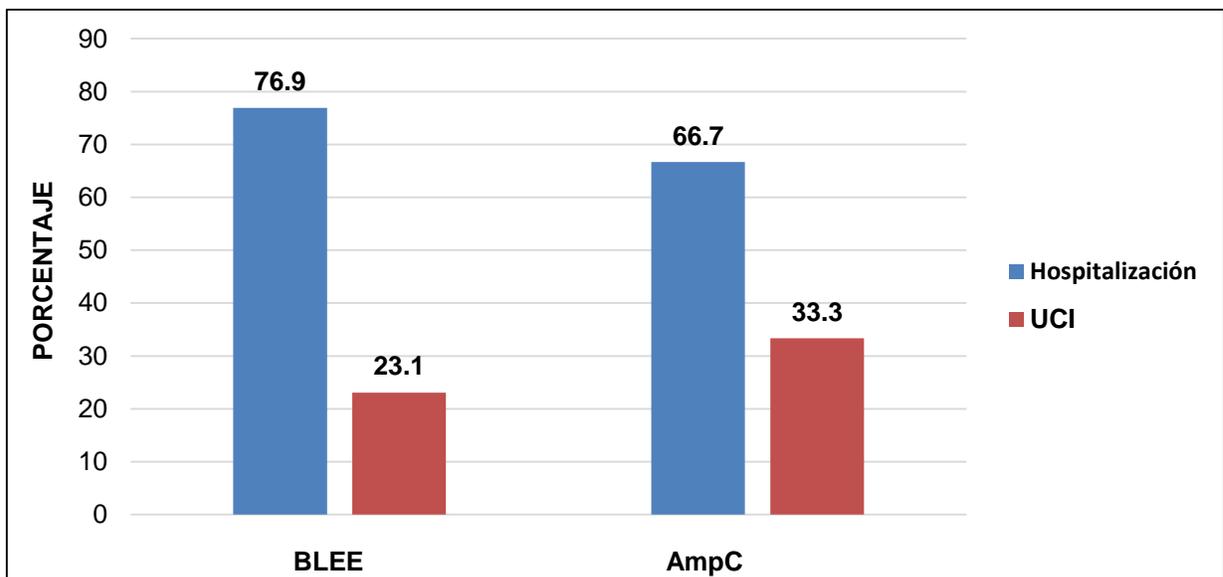
Del total de cepas aisladas 53 son sospechosas para la producción de BLEE, 17 cepas son posibles AmpC y 11 cepas son posibles productoras de carbapenemasas. Al evaluar las cepas resistentes a los antibióticos mediante las pruebas de confirmación, se identificó un 73,6% de cepas productoras de BLEE, 35,9% de cepas productoras de AmpC y no se identificó la presencia de carbapenemasas; en el porcentaje de resistencia restante se encuentran involucrados otros mecanismos de resistencia como bombas de expulsión, cambios en la permeabilidad de la membrana y alteraciones en el sitio de acción (Tafur, *et al.* 2008). Con lo cual se determina que la producción de betalactamasas es el principal mecanismo de resistencia presente en bacilos Gram negativos (Tabla 3).

Rivera (2014), en un estudio realizado en Loja en el Hospital “Manuel Ygnacio Monteros indicó que de las 45 cepas resistentes a las cefalosporinas de tercera generación, se confirmó la producción de BLEE en el 71,1%, mientras que el 28,9 % se debe a la presencia de otros mecanismos de resistencia; de las 20 cepas resistentes a cefoxitina el 15% presentó producción de betalactamasas tipo AmpC y el 85% se debe a otros mecanismos de resistencia; de las 10 cepas resistentes a imipenem el 20% presentó producción de carbapenemasas y el 80% corresponden a otros mecanismos de resistencia, resultados que coinciden con los obtenidos en la presente investigación.

En otro estudio realizado en Venezuela por Marcano *et al.* (2011) reportó que la frecuencia de mecanismos enzimáticos capaces de hidrolizar betalactámicos de amplio espectro fue de 16,8%, que se distribuyó de la siguiente manera: fenotipo BLEE 93,8%; fenotipo AmpC dereprimido 4,3%, y fenotipo carbapenemasa 1,9%.

Las BLEE son una importante forma de resistencia bacteriana, la actividad de estas enzimas está dirigida específicamente a la hidrólisis de la unión betalactama del anillo betalactámico provocando la producción de un compuesto ácido carente de actividad antibacteriana; este mecanismo se encuentran codificado en plásmidos conjugativos, lo cual facilita su diseminación, no sólo entre distintas cepas de la misma especie, sino también entre bacterias de distintos géneros y grupos bacterianos, esto permite la amplia distribución de la resistencia a los antibióticos mediante las betalactamasas (Perozo *et al.* 2009). Se han identificado cepas con BLEE en casi todas las Enterobacterias y una porción de ellas son además resistentes a quinolonas. Además es necesario recalcar que en los bacilos Gram negativos no fermentadores existe la presencia de resistencia natural a muchos antimicrobianos (penicilina, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, tetraciclina, cloranfenicol, cotrimoxazol y rinfapicina) y con gran facilidad desarrolla mutaciones cromosómicas y adquiere material genético que incrementa sus resistencia (Gómez *et al.* 2012).

En la presente investigación se analizó los fenotipos de resistencia bacteriana presentes en las áreas de hospitalización y UCI, los resultados fueron los siguientes:

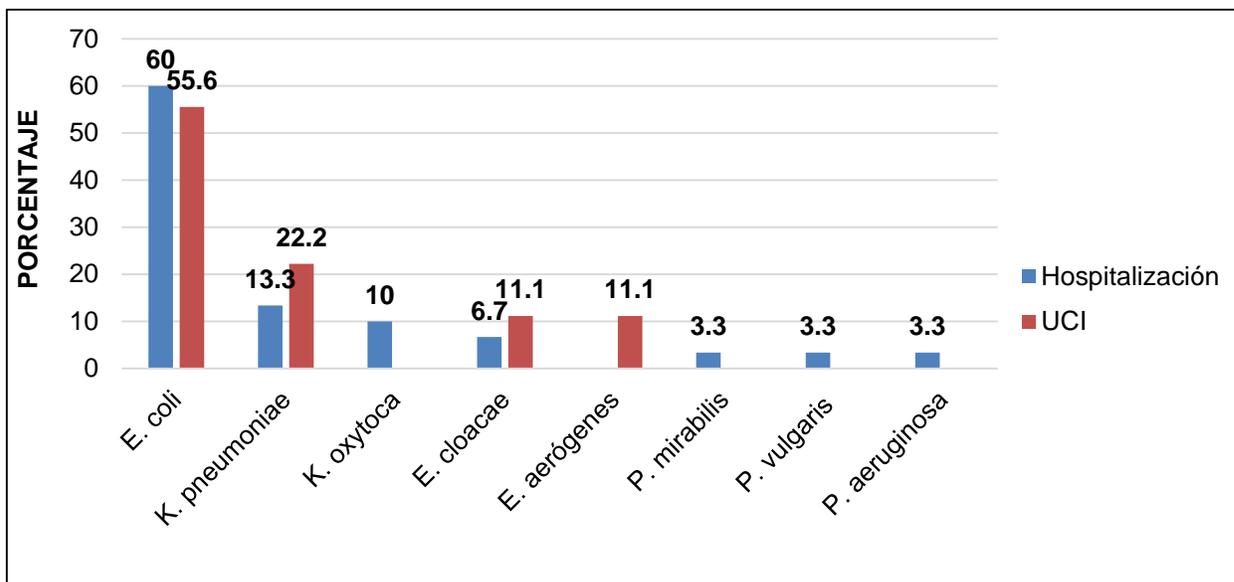


**Gráfica 3.** Betalactamasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y UCI del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013.

Fuente: Chalán, L. (2013)

Del total de cepas productoras de BLEE, el 76,9% corresponden al área de hospitalización, mientras que el 23,1% corresponden a UCI; del total de cepas productoras de betalactamasas tipo AmpC el 66,7% corresponden al área de hospitalización, mientras que el 33,3% corresponden a UCI (Gráfica 3).

En una investigación realizada en Loja, por Rivera (2014), se indicó, que de 71,1% de cepas productoras de BLEE, el 46,7% correspondió al área de hospitalización, mientras que el 24,4% correspondió a UCI; del 15% de cepas productoras de betalactamasas tipo AmpC, el 10% correspondió al área de hospitalización, mientras que el 5% correspondió a UCI; el 20% restante son productoras de carbapenemasas encontrándose el 10% en hospitalización y el 10% restante en UCI; en su gran mayoría los resultados ilustrados son similares a los obtenidos en la presente investigación, la variación radica en el hecho que no existió la presencia de betalactamasas tipo carbapenemasas. Sin embargo, Rivera *et al.* (2011) indicó que el amplio, inadecuado y muchas veces irracional uso de antimicrobianos, así como la falta de programas integrales de vigilancia y control, son causas de la selección de bacterias resistentes siendo las personas más expuestas las que están en los hospitales, lo que puede empeorar su pronóstico e incrementar los costos de atención incluyendo un mayor tiempo de estancia hospitalaria.



**Gráfica 4.** Porcentaje de BLEE presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y UCI del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período octubre-noviembre 2013.

Fuente: Chalán, L. (2013)

Del total de cepas productoras de BLEE aisladas en el área de hospitalización el 60% corresponde a *Escherichia coli*, constituyéndose como la cepa aislada con mayor frecuencia seguido por *Klebsiella pneumoniae* con 13,5%, *Klebsiella oxytoca* con 10%, *Enterobacter cloacae* con 6,7% y *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomonas aeruginosa* con 3,3% cada cepa. En la Unidad de Cuidados Intensivos, del total de cepas productoras de BLEE aisladas el 55,6% corresponde a *Escherichia coli*, seguido por *Klebsiella pneumoniae* con 22,2% y *Enterobacter cloacae* y *E. aerogenes* con 11,1% cada cepa (Gráfica 4).

Estudios realizados en Loja, en el hospital Manuel Ygnacio Monteros por Rivera (2014), documento que en el área de hospitalización el 46,7% de las cepas aisladas son productoras de BLEE, siendo *Escherichia coli* la cepa productora de BLEE encontrada con mayor frecuencia que corresponde al 31,1%, seguido por *Klebsiella oxytoca* y *Pseudomonas aeruginosa* con un porcentaje del 4,4% cada cepa, mientras que *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* presentaron un porcentaje del 2,2% cada una. Sin embargo, en UCI el 24,4% de las cepas aisladas son productoras de BLEE, siendo *Escherichia coli* la cepa productora de BLEE encontrada con mayor frecuencia que corresponde al 17,6%, seguido por *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomonas aeruginosa* que corresponden al 2,2% cada una; lo

anteriormente señalado coincide con los resultados de la presente investigación, siendo en la cepa de *Escherichia coli* donde se presenta la mayor parte de mecanismos de resistencia, específicamente BLEE.

En Ecuador, Pacheco & León (2011), reportaron que el mayor número de cultivos con microorganismos productores de BLEE perteneció a *Escherichia coli* con un 62,5%, correspondientes en su mayor parte a infecciones del tracto urinario.

En Maracaibo-Venezuela, Perozo *et al.* (2009), reportó que el 27,34% de las cepas de *Escherichia coli* pertenecientes al área de hospitalización son productoras de BLEE. Adrianzén *et al.* (2013), reportó que en Latinoamérica se han informado frecuencias entre 14 y 45% de cepas productoras de BLEE en bacteriemias causadas por *Escherichia coli*, valores que se encuentran por encima de lo que se ha descrito en otras regiones, ello podría deberse al uso poco racional de las cefalosporinas y a tratamientos empíricos inadecuados. Se han señalado como factores asociados a adquirir cepas productoras de BLEE: la exposición previa a antibióticos, especialmente oximino-cefalosporinas, brotes nosocomiales, procedimientos invasivos, líneas centrales, ventilación mecánica, admisión a UCI, inmunosupresión.

**Tabla 3.** Porcentaje de AmpC presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y UCI del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CEPAS	Hospitalización		UCI	
	f	%	f	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	75	1	50
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	1	50
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	25	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>100</b>	<b>2</b>	<b>100</b>

Fuente: Chalán, L. (2013)

Del total de cepas productoras de betalactamasas tipo AmpC aisladas en el área de hospitalización el 75% corresponde a *Pseudomonas aeruginosa* y el 25% restante corresponde a *Enterobacter cloacae*. En UCI *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* cada una con 50% constituyen las cepas productoras de este tipo de mecanismo de resistencia bacteriana (Gráfica 5).

Rivera, (2014), en un estudio realizado en Loja, en el hospital Manuel Ygnacio Monteros señaló que el 15% de las cepas aisladas presentaron producción de betalactamasas tipo AmpC, encontrándose distribuidos de la siguiente manera: el 10% pertenece al área de hospitalización, que corresponde a una cepa de *Proteus vulgaris* y una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*; mientras que el 5% restante pertenece a UCI que corresponde a una cepa de *Escherichia coli*, por lo cual se establece como el segundo mecanismo de resistencia bacteriana por producción de betalactamasas tipo AmpC.

## CONCLUSIONES

- Los bacilos Gram negativos más comunes implicados en los procesos infecciosos de pacientes hospitalizados fueron *Escherichia coli* con un porcentaje de 60,6% seguido de *Klebsiella pneumoniae* con un porcentaje de 15,2% y *Pseudomonas aeruginosa* 6,1%. En UCI los bacilos Gram negativos más comunes fueron *Escherichia coli* con un 31,8%%, seguido de *Acinetobacter baumannii* con un 22,7% y *Klebsiella pneumoniae* con un 13,6%.
- Los fenotipos de betalactamasas registrados son: betalactamasas de espectro extendido BLEE (73,6%), betalactamasas tipo AmpC (35,9%) y betalactamasas de tipo carbapenemasa no se registró.
- Se identificó y determinó a las betalactamasas como el principal mecanismo de resistencia bacteriana que presentan los bacilos Gram negativos, encontrándose distribuidos de la siguiente manera: en hospitalización las BLEE con el 79,6% betalactamasas tipo AmpC con el 66,7%; mientras que en UCI las BLEE corresponden al 21,1% y las betalactamasas tipo AmpC 33,3%.

## RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio más extenso acerca de los mecanismos de resistencia presentes en bacilos Gram negativos a nivel local (hospitales del Cantón y Provincia) y publicar los resultados obtenidos con la finalidad de describir la magnitud de la resistencia bacteriana en los hospitales y mejorar la toma de decisiones en relación a la terapéutica antibiótica.
- Realizar estudios en hospitales del Ministerio de Salud Pública (MSP) y compararlos con los del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS).
- Continuar el estudio mediante la aplicación de técnicas moleculares que permitan caracterizar los genes implicados en los mecanismos de resistencia de los bacilos Gram negativos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Adrianzén, D., Arbizu, A., Ortiz, J., & Samalvides, F., (2013). Mortalidad por bacteriemia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. productoras de betalactamasas de espectro extendido: cohorte retrospectiva en un hospital de Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, Volumen 30 (1)*, pp. 18-25.

Aguirre, G. (2012). Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el hospital UTPL de la ciudad de Loja en los meses de junio a noviembre de 2010. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.

Algorta, G. (2009). Bacilos Gram negativos no exigentes. *Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, Pseudomonas* spp. Uruguay.

Briceño, D., Correa, A., Valencia, C., Torres, J., Pacheco, R., Montealegre, M., Ospina, D. & Villegas, M. Actualización de la resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de nivel III de Colombia: años 2006, 2007 y 2008. *Revista Biomédica, Volumen 30 (37)*, pp. 371-391.

Briungos, L., Gómez, T., Bachiller, P., Domínguez, M., Gómez, A., Pallacios, T., González, M., Dueñas, A. & Pérez, J. (2012). Epidemiology, risk factors and comorbidity for urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteria. *US National Library of Medicine National Institutes of Health. NCBI-PubMed, Volumen 66 (9)*, pp. 891-896. Doi: 10.1111/j.1742-1241.2012.02991.x.

Brunton, L., Lazo, J., & Parker, K. (2007). Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. (11ª Ed) México : MacGraw-Hill Interamericana.

Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F., Mirelis, B., & Navarro, F., (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Descargado el 7 de mayo de 2014, de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiología/seimc-procedimientomicrobiología38.pdf>

Cardona, M., Castaño, J., Coral, S., Gallo, X., Gañán, A., García, Y., López, V., Pineda, P., Serna, C., & Villegas, O., (2011, 20 de mayo). Comportamiento de la sensibilidad y resistencias en urocultivos de pacientes adultos con infección urinaria de Manizales, 2009. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, Volumen 11 (1)*, pp. 9-22.

Casellas, J., (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública, Volumen 30(6)*:pp.519–28.

Chavez, M., Salazar, C., Cabrera, C., Gómez, R. & Pallanes, C. (2013). Bacterias resistentes a los antibióticos en infecciones nosocomiales de un hospital en Colombia. *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Volumen 33 (1)*, pp. 19-25.

Díaz, L., Cabrera, L., Fernández, T., González, O., Carrasco, M., & Bravo, L. (2006). Etiología bacteriana de la infección urinaria y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli*. *Revista Cubana Pediatría, 78(3)*.

Díaz, V., (2010, junio). *Acinetobacter baumannii*: actualidades. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría, Volumen (23)*, pp. 104-110.

Escalante, J., Sime, A., & Díaz, C., (2013 abril). Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con infección intrahospitalaria por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. *Revista Peruana de Epidemiología, Volumen 17 (1)*, pp. 1-6.

Escalante, J. & Sime, A. (2013 febrero). Características clínicas de pacientes con infección intrahospitalaria por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en el Hospital “Almanzor Aguinaga Asenjo” de Chiclayo en el periodo enero-diciembre 2013. Tesis para optar por el título de Médico cirujano no publicada. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.

Faleiro, P. (2010). Formación de biopelículas por “*Escherichia coli*” y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a biopelículas. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

Forbes B., Sahm D., Weissfeld A., & Treviño, E. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. (12ª Ed). Argentina: Medica Panamericana.

García, A. & Rodríguez, M. (2010). Enterobacterias. Unidad de enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. *Complejo Hospitalario del Albacete, Volumen 10 (51)*, pp. 57-66. España.

Gonzaga, K. (2012). Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el hospital Manuel Ygnacio Monteros de la ciudad de Loja en los meses de junio – noviembre de 2010. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.

Guadalima, L. (2012). Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el hospital de SOLCA de Loja en los meses de junio a noviembre de 2010. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.

Hernández, C., Blanco, V., Motoa, G., Correa, A., Maya, J., Cadena, E., Perenguez, M., Rojas, L., Hernández, A., Vallejo, M. & Villegas, M., (2014). Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Revista Biomédica, Volumen 34 (1)*, pp. 91-100.

Jaramillo, A., (2011). Presencia de Carbapenemasas en enterobacterias de muestras recolectadas de nueve hospitales de la ciudad de Quito, de mayo del 2009 a noviembre del 2010. Tesis de especialización no publicada. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ecuador.

Larrondo, H., (2010). *Infección por bacilos gramnegativos no fermentadores. Problemática en las unidades de cuidados intensivos. Revista Habanera de Ciencias Médicas, Volumen 9(5)*, pp. 680-687.

León, C., & Pacheco M. (2010). Epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE en el Hospital Vozandes Quito entre los años 2005 y 2009. Tesis de grado no publicada. Universidad del Azuay. Ecuador.

Lloria, M. (2009). Infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*. Sociedad Argentina de Terapia Intensiva. Comité de Infectología Crítica.

Machado, J. & Murillo M. (2012). Evaluación de sensibilidad antibiótica en urocultivos de pacientes en primer nivel de atención en salud de Pereira. *Revista de Salud Pública, Volumen 14(4)*, pp. 710–714.

Maggiolo, C. (2008). *Farmacología*. Chile: Mediterráneo.

Marcano, D., De Jesús, A., Hernández, L., & Torres, L., (2011). Frecuencia de enzimas asociadas a sensibilidad disminuida a betalactámicos en aislados de enterobacterias, Caracas, Venezuela. *Revista Panamericana de Salud Pública, Volumen 30(6)*, pp. 529–34.

Marín, M. Gudiol, F. 2002. Antibióticos Betalactámicos. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Bellvitge. Feixa Llarga, s/n. 08907 Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.

Merino, L & Losch, L. (2005). Familia Enterobacteriaceae. Universidad Nacional del Nordeste- Facultad de Medicina- Microbiología e Inmunología. 2280-5061, 8938-0730.

MDS. Merck Sharp & Dohme Corp. Infecciones por bacilos Gramnegativos. Descargado el 7 de mayo de 2014, de: <http://pacientes.msd.com.co/manual-merck/017-infecciones/177-infecciones-por-bacilos/infecciones-por-bacilos-gramnegativos.aspx>

Mosquito, s., Ruiz, J., Bauer, J. & Ochoa, T. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica, Volumen 28 (4)*, pp. 648/656.

Ochoa, S., López, F., Escalona, G., Cruz, A., Dávila, L., Briseida, B., Jiménez, Y., Giono, S., Eslava, C., Hernández, R. & Xicohtencat, J. (2013). Características patogénicas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Bol Med Hosp Infant Mex 2013, Volumen 70(2)*, pp. 138-150. Bolivia.

OMS. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Descargado el 7 de mayo del 2014, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>

Orozco, R., Barreto, A., Guzmán, H., Ortega, R. & Benítez, L. (2010). Patrones de resistencia antimicrobiana en uropatógenos gramnegativos aislados de pacientes ambulatorios y hospitalizados Cartagena, 2005-2008. *Revista salud pública, Volumen 12 (6)*, pp. 1010-1019.

Ossa, G. (2010). Infecciones por bacilos Gram negativos. *Unidad de Infectología*. Universidad de La Frontera. Chile.

Pacheco, M., & León, C. (2011, 22 de enero). Epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE en el Hospital Vozandes Quito entre los años 2005-2009. *Revista Médica Vozandes. Volumen 22*, pp.15-19.

Pérez, C. (2007, 20 de junio). Resistencia Bacteriana. Servicios y Asesorías en Infectología. Bogotá-Colombia.

Perozo, M., Armindo, J., González, C., & Josefina, M., (2009, 6 de junio). Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*. *Revista Kamera, Volumen 37 (1)*, pp. 25-37.

Prats, G. (2007). Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. Madrid-España.

Revert, C., (2005). Estudio epidemiológico de la infección nosocomial en el servicio de UCI del Hospital Universitario de Canarias. Tesis doctoral no publicada. Universidad de la Laguna.

Rivera, J., (2014). Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el periodo agosto-septiembre 2013. Tesis de grado no publicada. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.

Rivera, M., Hart, M., Ponce, M. & Suárez, B. (2013). Importancia epidemiológica, asistencial y económica del cultivo de orina, en pacientes hospitalizados y de la comunidad. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". La Habana-Cuba.

Rivera, M., Rodríguez, C., Huayán, G., & Mercado, P., (2011). Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacteriaceae* aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú. *Revista Médica Herediana, Volumen 22 (2)*, pp. 69-75.

Sandrea, L., Paz, A., Piña, E., & Perozo, A., (2007, 18 de junio). Enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario de Venezuela. *Revista Kasma, Volumen 35(1)*, pp. 1-10.

Sejia, V. & Vignoli, R. (2008). Principales grupos de Antibióticos. Temas de Bacteriología y virología Médica. Pág. 631. Uruguay.

Tafur J., Torres J. & Villegas, M., (2008, 3 de julio). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Revista Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM, Volumen 12 (3)*, pp. 217-226.