



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 ambulatorios del hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo agosto - septiembre 2013

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR: Torres Rosales, Abigail Daniela
DIRECTOR: Toledo Barrigas, Zorayda Patricia, B.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 ambulatorios del hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo agosto - septiembre 2013”** realizado por: Torres Rosales Abigail Daniela, 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

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Torres Rosales Abigail Daniela declaro ser autora del presente trabajo de fin de titulación: **Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes ambulatorios del hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo agosto - septiembre 2013**, de la Titulación de Bioquímico Farmacéutico, siendo la Bq.F. Zorayda Patricia Toledo Barrigas directora 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.

Adicionalmente 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: Torres Rosales Abigail Daniela

Cédula: 1104905441

DEDICATORIA

A mi ángel de la guarda, Monfilio Torres Castillo.

Con todo mi amor.

AGRADECIMIENTO

Al hablar de gratitud, lo primero que viene a mi mente y corazón, es el reconocimiento a Dios, por darme la vida, y en ella, infinito amor.

En segundo lugar, a mis maravillosos padres Ramiro y Enith, se los debo todo!
A mis amados hermanos Dieguito y Tyron.

A mi admirable y grande familia, por la bendición de su apoyo a lo largo de toda mi vida

Y por último, mi más sincero agradecimiento a cada uno de los docentes que impartieron sus conocimientos en el transcurso de mi carrera universitaria, de manera especial, a mi estimada directora de tesis B.F. Zorayda Toledo, por la confianza, dedicación y paciencia con la que me guio para la realización del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
INDICE DE FIGURAS	viii
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE GRAFICAS	x
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO I	5
MARCO TEÓRICO	5
1.1. Paciente Ambulatorio.....	6
1.2. Bacilos Gram negativos	6
1.2.1. Enterobacterias (fermentadores de glucosa).	7
1.2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	7
1.2.1.2. <i>Klebsiella spp.</i>	8
1.2.1.3. <i>Proteus spp.</i>	8
1.2.1.4. <i>Enterobacter spp.</i>	8
1.2.2. Bacilos no fermentadores de glucosa.	9
1.2.2.1. <i>Pseudomonas spp.</i>	9
1.2.2.2. <i>Acinetobacter spp.</i>	9
1.3. Antibióticos betalactámicos.....	10
1.3.1. Penicilinas.	10
1.3.2. Monobactámicos	11
1.3.3. Cefalosporinas.....	11
1.3.4. Carbapenémicos	11
1.3.5. Betalactámicos asociados a los Inhibidores de betalactamasas	12
1.4. Resistencia bacteriana	13
1.4.1 Tipos de resistencia.....	14
1.4.1.1. Resistencia intrínseca.....	14
1.4.1.2. Resistencia Adquirida.	15
1.4.2. Mecanismos de resistencia.....	16
1.4.2.1. Barreras de permeabilidad.....	16

1.4.2.2.	Alteración del sitio blanco.....	17
1.4.2.3.	Inactivación del antibiótico.....	18
CAPITULO II		21
METODOLOGÍA.....		21
2.1.	Recolección de la muestra.....	22
2.2.	Identificación del germen.....	22
2.3.	Determinación del mecanismo de resistencia	22
2.3.1.	Detección de <i>betalactamasas de espectro extendido (BLEE)</i>	22
2.3.2.	Detección fenotípica de <i>betalactamasas tipo AmpC</i>	23
2.3.2.1.	Detección fenotípica de <i>betalactamasas tipo AmpC cromosómica inducible</i>	24
2.3.2.2.	Detección fenotípica de <i>betalactamasas tipo AmpC cromosómica no inducible (constitutiva)</i>	24
2.3.3.	Detección fenotípica de <i>carbapenemasas</i>	25
2.4.	Análisis estadístico: Porcentaje de resistencia.....	26
CAPÍTULO III		27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		27
3.1.	Tipo de muestras clínicas aisladas.....	28
3.2.	Especies de bacilos Gram negativos.....	29
3.3.	Resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos.....	32
3.3.1	Producción de <i>betalactamasas</i>	35
3.3.1.1.	Cepas productoras de <i>BLEE</i>	37
3.3.1.2.	Cepas productoras de <i>betalactamasas de tipo AmpC</i>	39
3.3.1.3.	Cepas productoras de <i>carbapenemasas</i>	41
CONCLUSIONES.....		42
RECOMENDACIONES.....		43
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....		44

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Detección fenotípica de *BLEE*. (a). Método de sinergia de doble disco positivo, se observa el efecto sinérgico (distorsión de los halos de inhibición) (b). Método confirmatorio discos combinados con inhibidor positivo, se observa diferencias mayores a 5mm..... 23
- Figura 2.** Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC inducible. Prueba de aproximación de discos positiva, se observa el achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte como indica la flecha. 24
- Figura 3.** Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC cromosómica constitutiva. Método de sinergia de doble disco positivo, se observa la sinergia entre los discos de las cefalosporinas y el ácido clavulánico. 25
- Figura 4.** Detección fenotípica de *carbapenemasas*. Test de Hodge modificado positivo, se observan dos cepas positivas (derecha) y una negativa (izquierda). 26

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los antibióticos betalactámicos.....	12
Tabla 2. Tipo de muestras clínicas analizadas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.	28
Tabla 3. Especies de bacilos Gram negativos analizados en muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.	29
Tabla 4. Mecanismo de resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos aislados de muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período Agosto-Septiembre 2013.	35
Tabla 5. Cepas de bacilos Gram negativos productoras de BLEE aisladas de UROCULTIVOS en relación a la localización de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.	37
Tabla 6. Cepas de bacilos Gram negativos productoras de betalactamasas AmpC, aisladas de UROCULTIVOS en relación a la localización de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.	39
Tabla 7. Cepas de bacilos Gram negativos productoras de carbapenemasas, aisladas de UROCULTIVOS en relación a la localización de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.	41

INDICE DE GRAFICAS

- Gráfica 1.** Tipo de muestras clínicas analizadas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013 **28**
- Gráfica 2.** Especies de bacilos Gram negativos analizados en muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013. **30**
- Gráfica 3.** Resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos aislados de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013. **32**
- Gráfica 4.** Porcentaje del mecanismo de resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos aislados de muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período Agosto-Septiembre 2013..... **35**

ABREVIATURAS

AMC	Amoxicilina con ácido clavulánico
ATM	Aztreonam
AMK	Amikacina
AMP	Ampicilina
BLEE	Betalactamasas de espectro extendido
BGN	Bacilos Gram negativos
CLSI	Clinical and Laboratory Standart Institute
CIM	Concentración mínima inhibitoria
CAZ	Ceftazidime
CTX	Cefotaxime
CIP	Ciprofloxacino
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
FEP	Cefepime
FOX	Cefoxitina
IMP	Imipenem
LPS	Lipopolisacárido
MBC	Concentración bactericida mínima
MBL	Metalo-betalactamasas
NAL	Ácido nalidíxico
NET	Netilmicina
PFP	Proteínas fijadoras de penicilina
Ph	Potencial de hidrógeno

SAM	Ampicilina con sulbactam
TZP	Piperacilina con tazobactam
WHONET	World Health Organization. Net

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal, identificar y determinar los mecanismos de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes ambulatorios del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

Se realizó un estudio descriptivo-prospectivo, con un enfoque cuantitativo de 78 muestras recolectadas; la identificación de las cepas implicadas se consiguió por pruebas bioquímicas para caracterización de Gram negativos. El criterio de selección para determinar resistencia fue realizado con las cepas que presentaron susceptibilidad disminuida a cefalosporinas de tercera generación, y a carbapenémicos. El porcentaje de resistencia fue medido por el programa WHONET 5.6. La presencia de los mecanismos de resistencia de interés, betalactamasas de *espectro extendido (BLEE)*, *AmpC*, y *carbapenemasas*, se midieron mediante las técnicas recomendadas por el CLSI (Clinical and Laboratory Standart Institute). Del total de las muestras analizadas, el 86% pertenecieron a urocultivos, la especie implicada con mayor frecuencia fue *Escherichia coli* con un 82%. Se reportó únicamente en cultivos de orina; *BLEE* en un 19%, *AmpC* 4% y *carbapenemasas* 1%. Los resultados obtenidos revelan un índice considerable de prevalencia de *BLEE* en las infecciones urinarias comunitarias.

PALABRAS CLAVE: *bacilos Gram negativos, paciente ambulatorio, resistencia bacteriana, betalactamasas.*

ABSTRACT

The present investigation work, has as main objective to identify and determine the mechanisms of bacterial resistance in Gram negative bacilli from isolated cultures of clinic samples in outpatients of the "Manuel Ygnacio Monteros' Hospital in the August-September 2013.

A descriptive-prospective study with a quantitative approach of 78 samples collected; the identification of the bacterial strains involved was performed by biochemical tests for characterization of Gram-negative. The criterion for determining resistance was conducted with strains that showed reduced susceptibility third generation cephalosporins, and carbapenems. The resistance percentage was measured by the WHONET 5.6 program. The presence of the resistance mechanisms of interest, extended-spectrum *beta-lactamases* (*ESBLs*), *AmpC*, and *carbapenemase* were measured by means recommended by the CLSI (Clinical and Laboratory Standart Institute) techniques.

Of all the samples analyzed, 86% were urine cultures, the species most frequently involved was *Escherichia coli* with 82%.The production of beta-lactamases was reported only in urine cultures; *ESBL* with 19%, *AmpC* 4% and *carbapenemase* with 1%. The results show a significant prevalence rate of *ESBL* in community urinary tract infections.

KEYWORDS: *Gram-negative bacilli, outpatient, bacterial resistance, beta-lactamase.*

INTRODUCCIÓN

La capacidad de las bacterias para eludir el efecto de los antibióticos es inagotable; y, se ha convertido en un serio problema de salud mundial, teniendo como principales consecuencias, el fracaso de la terapia antimicrobiana, aumento de la morbilidad, mortalidad y en los costos de atención médica; se estima que son billones de dólares los que anualmente se gastan como resultado de dicha resistencia, con una prevalencia sobre todo en infecciones causadas por bacterias Gram negativas; causando el porcentaje mayoritario de bacterias multirresistentes a nivel mundial, sobrepasando la barrera nosocomial para afectar también a la comunidad. Las bacterias Gram negativas que causan infecciones extrahospitalarias de importancia clínica son fundamentalmente de la familia *Enterobacteriaceae* y bacilos Gram negativos no fermentadores (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2011; Martínez & Calvo, 2010; Casellas, 2011).

La *Infectious Diseases Society of America (IDSA)* publicó, en el año 2006, una lista negra sobre los microorganismos más peligrosos que tenemos entre manos; y frente a ello, en los últimos años se fueron agregando más de 200 compuestos antibióticos, entre ellos los denominados “betalactámicos” (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos), que, son fármacos que por su vasta distribución y escasa toxicidad han sido considerados como idóneos en el tratamiento de infecciones por bacilos Gram negativos, lo cual hizo presuponer, que las enfermedades infecciosas terminarían siendo dominadas. Sin embargo, actualmente el panorama no es tan prometedor, pues los índices de resistencia a los mismos es cada vez mayor, debido a los potentes mecanismos de resistencia originados. (Suárez & Gudiol, 2009; Hart & Espinosa, 2008).

Sumado a ello, la OMS, estima que más de la mitad de los medicamentos son prescritos, dispensados o vendidos inapropiadamente; y la mitad de todos los pacientes fallan en tomar tales medicamentos correctamente, de tal manera que son todos factores de riesgo para crear resistencia (WHO, 2010).

El mecanismo de importancia clínica, por inactivar los betalactámicos, radica principalmente en la producción de enzimas denominadas *betalactamasas*; que hidrolizan el anillo betalactámico de los mismos, quedando fuera de ejercer alguna acción terapéutica. Los tipos de *betalactamasas* producidas pueden ser de *espectro extendido (BLEE)*, *betalactamasas AmpC* y *carbapenemasas*, capaces de dejarnos desprovistos del arsenal terapéutico actual (García, Castillo, & Salazar, 2014).

En nuestro país, la Red Nacional de Resistencia Bacteriana, tiene por objeto conocer los patrones de resistencia de varios hospitales para mejorar la calidad de los laboratorios y otorgar una base para mejorar la efectividad de las terapias antimicrobianas, dicho objetivo

no ha podido llevarse a cabo debido a que son pocas las investigaciones existentes sobre este tema tanto a nivel regional como nacional (Gonzaga, 2010).

De la misma manera, son escasos los estudios que determinan los índices de producción de *betalactamasas*, en las infecciones extrahospitalarias, porque han sido tratadas, la mayoría de veces de forma empírica, y el hecho resulta un poco absurdo sabiendo del crecimiento exponencial de resistencia, y de la minoría de aparición de nuevos fármacos.

Expuesto todo ello, el propósito del presente trabajo de investigación, es determinar la resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes ambulatorios; para ello, se centró en tres fines específicos; la determinación de la especie más frecuente, la determinación de los patrones de resistencia, y finalmente la determinación del mecanismo de resistencia de interés, en las muestras clínicas del Hospital Manuel Ygnacio Monteros, por ser una de las entidades de salud con más demanda de infecciones asociadas a Gram negativos por parte de la comunidad.

El fin propuesto, se llevó a cabo siguiendo la metodología establecida por el CLSI (Clinical and Laboratory Standart Institute, 2012). Para la determinación de *BLEE*, se utilizó los métodos de *sinergia de doble disco* y *discos combinados con inhibidor*. La determinación de *betalactamasas de tipo AmpC* mediante *aproximación de discos (AmpC inducible)* y *sinergia de doble disco (AmpC constitutiva)* y para la determinación de *carbapenemasas*, el *test de Hodge modificado*.

Los resultados obtenidos permitieron estimar la realidad de la resistencia bacteriana de una forma más cercana, siendo el 24% de las muestras aisladas productoras de *BLEE*, y la especie *Escherichia coli*, la más implicada en los procesos infecciosos de los pacientes ambulatorios.

CAPITULO I
MARCO TEÓRICO

1.1. Paciente Ambulatorio

Se define como “paciente ambulatorio”, al paciente que visita un establecimiento de atención de salud por razones de diagnóstico o tratamiento sin pasar la noche en el mismo. A veces, se llama paciente de día o paciente diurno (NCI, 2009).

Más específicamente, es el paciente que no ha sido internado dentro de un hospital o centro médico y que ingresó infectado, es decir, que desarrolló la afección fuera del hospital (infecciones extrahospitalarias), a diferencia de las infecciones intrahospitalarias, que son adquiridas y desarrolladas en pacientes internados por alguna otra dolencia (NIH, 2011).

Las infecciones extrahospitalarias comúnmente son debidas a bacterias del tipo bacilos Gram negativos (OMS, 2010).

1.2. Bacilos Gram negativos

El término bacilo se usa para describir cualquier bacteria con forma de barra o vara, y puede encontrarse en muchos grupos taxonómicos diferentes a las bacterias, la palabra Bacillus, por su parte, hace referencia a un género específico de bacteria y la calificación “Gram negativo” se debe a que no fijan el violeta de genciana en su membrana (EcuRed, 2014).

Todas las bacterias poseen una membrana celular interna, pero las bacterias Gram negativas se caracterizan por la presencia de una membrana más, una membrana externa de lipopolisacárido (peptidoglicano) que es la que no permite que el colorante entre y tiña a la bacteria, a diferencia de los Gram positivos, que fijan el violeta de genciana (tinción de Gram) en la pared celular porque carecen de ésta capa de lipopolisacárido.

Por supuesto, ésta doble membrana evita también la entrada de cuerpos extraños, entre ellos ciertos fármacos y antibióticos a la célula, lo que explica parcialmente por qué suelen ser más resistentes a los antibióticos que las bacterias Gram positivas.

Otra característica a más de la membrana de péptidoglicano importante en los Gram negativos es su propiedad para intercambiar material genético (ADN) entre variedades de la misma especie e incluso entre especies diferentes, lo que significa que si una bacteria Gram negativa desarrolla mecanismos de defensa a un antibiótico, esa bacteria más tarde puede compartir su ADN con otro tipo de bacterias y éstas también pueden desarrollar los mismo mecanismos (MSD, 2013).

Cuando los Gram negativos infectan las células, los mecanismos de defensa del ser humano comprenden:

- Integridad de las barreras anatómicas
- Presencia de anticuerpos normales en el suero contra el antígeno O de los bacilos Gram (-)
- Fagocitosis mediada por granulocitos.
- Complemento (poder bactericida suero) que se puede activar por vía alterna, éste último mecanismo, sólo sensibiliza a los bacilos Gram negativos que no poseen cápsula (sólo antígeno o somático de superficie), pues se sabe que existen bacilos Gram negativos que poseen cápsula (con antígeno K) y que son los más virulentos por ser resistentes a este mecanismo de defensa, y el complemento sólo puede actuar sobre ellos en presencia de anticuerpos específicos (Ossa, 2011).

Las infecciones de importancia clínica causadas por bacilos Gram negativos en su mayoría de los casos hacen referencia a bacilos Gram negativos de tipo Enterobacterias y no fermentadores: *Pseudomonas* y *Acinetobacter* principalmente, por ser los gérmenes más comunes y multiresistentes (Vila & Francesc , 2010).

1.2.1. Enterobacterias (fermentadores de glucosa).

Esta familia comprende un número muy variado de géneros y especies bacterianas cuyo hábitat natural es el tubo digestivo del hombre, no son patógenos primarios, pero su presencia en otras zonas del organismo producen infecciones básicamente en 4 localizaciones: infecciones biliares, infecciones a partir de una lesión del intestino, infecciones ginecológicas y urinarias (Ossa, 2011).

Como su nombre lo indica son bacterias que se caracterizan por fermentar y oxidar la glucosa como fuente de carbono para vivir, reducen los nitratos a nitritos y se desarrollan rápidamente en medios simples, no siendo exigentes desde el punto de vista nutricional (Algorta, 2011).

Las infecciones extrahospitalarias más comunes por enterobacterias en América Latina son producidas por *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, y *Proteus mirabilis* (Salas, Setas, & Mazón, 2006).

1.2.1.1. *Escherichia coli*.

Constituye el microorganismo más prevalente de esta familia, y es la especie dominante de la flora aerobia del tubo digestivo, más de 10 serotipos coexisten normalmente en el mismo individuo. Son estas mismas bacterias integrantes de la flora normal las que pueden causar

en diversas circunstancias infecciones no solo intestinales sino también, extraintestinales como: urinarias, septicemias, meningitis etc. El poseer determinadas características antigénicas, como el antígeno de envoltura K, que ya se mencionó anteriormente, daría a este germen potencialidades invasivas (Algorta, 2011).

Además poseen la habilidad de transmitir su ADN, lo que les confiere una mayor capacidad de evolucionar y hacerse fuertes, por así decirlo.

Se estima que más del 80% de las infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad son ocasionadas por *Escherichia coli* (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2009).

1.2.1.2. *Klebsiella spp.*

Son bacilos Gram negativos inmóviles, a menudo capsulados. La cápsula es de naturaleza polisacárida. Abundan en el ambiente y colonizan las superficies mucosas de los mamíferos. En seres humanos sanos: 5 - 35% en colon y 1 - 5% en bucofaringe. Se adquiere principalmente por contacto entre personas. Produce infecciones extraintestinales similares a las causadas por *Eschechiria coli*; la incidencia por *Klebsiella* es menor, a excepción de las infecciones del aparato respiratorio. La especie de mayor importancia es *Klebsiella pneumoniae* ya que produce un alto índice de infecciones adquiridas en la comunidad, y también intrahospitalariamente (Ossa, 2011).

Klebsiella pneumoniae, tiene como característica natural, ser insensible a los efecto de la penicilina y como característica evolutiva crear mecanismos de defensa contra los fármacos más fuertes descritos hasta hoy (Nordmann, Cuzon, & Naas, 2009).

La neumonía por *Klebsiella pneumoniae* es la más frecuente de las infecciones adquiridas en la comunidad causadas por gérmenes Gram negativos (Salas, Setas, & Mazón, 2006).

1.2.1.3. *Proteus spp.*

A diferencia del género *Klebsiella*, éstos organismos poseen una movilidad extrema que les permite invadir los medios sólidos bajo forma de "hauch".

La especie más importante es *Proteus mirabilis* que causa el 90% de las bacteriemias y un gran número de Infecciones de la comunidad, produciendo infecciones extraintestinales fundamentalmente a nivel de las vías urinarias (Ossa, 2011).

1.2.1.4. *Enterobacter spp.*

Las cepas de *Enterobacter* suelen colonizar a los pacientes hospitalizados, o a pacientes que en particular han sido tratados ya con antibióticos, y han sido asociados con infecciones de quemaduras, de heridas, de las vías respiratorias y del tracto urinario (Puerta & Mateos, 2010).

1.2.2. Bacilos no fermentadores de glucosa.

Con el término de bacilos Gram negativos no fermentadores se designa un grupo heterogéneo de microorganismos incapaces de fermentar diversos hidratos de carbono, entre ellos la glucosa. La mayoría de ellos son aerobios estrictos y abundan en reservorios naturales como el suelo y agua, formando también parte de la microbiota normal del hombre. Muchos de ellos se comportan como patógenos oportunistas y pueden causar infecciones graves en el hombre. Los más importantes desde el punto de vista clínico son: *Pseudomonas spp.* y *Acinetobacter spp.* (Vila & Francesc, 2010).

1.2.2.1. *Pseudomonas spp.*

De las numerosas especies de *Pseudomonas*, *Pseudomonas aeruginosa* es la más importante por su frecuencia en la patología humana, capaz de sobrepasar las barreras intrahospitalarias. Son muy móviles, lo cual favorece su capacidad de invadir el tracto respiratorio y las vías urinarias, produce exotoxinas citotóxicas, es sumamente adherente y forma biopelículas densas (Casellas, 2011).

Entre las proteínas que intervienen en la infección de *Pseudomonas aeruginosa* se encuentran toxinas, como las exotoxinas A y S, así como enzimas hidrolíticas que degradan las membranas y el tejido conectivo de diversos órganos. Esta situación se ve agravada por la dificultad para tratar las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, ya que esta bacteria presenta una alta resistencia natural a distintos antimicrobianos y desinfectantes (Malbrán, 2010).

1.2.2.2. *Acinetobacter spp.*

Sin duda alguna, *Acinetobacter baumannii* es la especie aislada con más frecuencia y con mayor importancia clínica, además de ser de manera significativa la especie más resistente a los antibióticos (Vila & Francesc, 2010).

A diferencia de *Pseudomonas aeruginosa*, son inmóviles, poseen limitados factores de adherencia, tienen una pobre dotación de exotoxinas y el lípido A de su LPS (endotoxina) de

la membrana externa no es tan agresivo (Casellas, 2011). Los *Acinetobacter* pueden provocar infecciones purulentas en casi cualquier órgano del cuerpo y si bien estas bacterias se consideran oportunistas en el ámbito hospitalario, hay cada vez más casos de infecciones adquiridas en la comunidad (Ferrero, 2005).

Los lugares de infección frecuente son el aparato respiratorio y dispositivos intravasculares; ocasionalmente puede colonizar las vías urinarias después de colocar una sonda, áreas quirúrgicas, zonas de quemadura cánulas biliares, y senos paranasales (Algorta, 2011).

1.3. Antibióticos betalactámicos

Se entiende por “antibióticos” a las sustancias naturales, sintéticas o semi-sintéticas, capaces de inducir la muerte o la detención del crecimiento bacteriano, debido a sus diferentes comportamientos farmacocinético y farmacodinámico (Seija & Vignoli, 2009).

Se ha escogido mencionar a los antibióticos betalactámicos, porque constituyen la familia más numerosa de antibióticos y la más utilizada en la práctica clínica para las infecciones causadas por bacilos Gram negativos, debido a su buena distribución y escasa toxicidad.

El mecanismo de acción de todos los betalactámicos es inhibir la síntesis de la pared celular externa de los bacilos Gram negativos, produciendo la muerte de la bacteria, ya que la pared protege a la bacteria del medio externo.

Según el espectro, se dividen en cinco grupos: penicilinas, monobactámicos, cefalosporinas, carbapenémicos y betalactámicos asociados a los inhibidores (*Tabla 1*) (Suárez & Gudiol, 2009).

1.3.1. Penicilinas.

Las penicilinas fueron los primeros betalactámicos en descubrirse, y también los de menor espectro en la actualidad (Suárez & Gudiol, 2009).

Pueden ser de origen natural (producidos por *Penicillium spp.*) y semisintético. Contienen un núcleo constituido por ácido 6-aminopenicilánico, y las sustituciones en ésta posición 6 del anillo, hacen que la penicilinas difieran unas con otras induciendo modificaciones en la actividad antibacteriana y en las propiedades farmacocinéticas. Su clasificación es de acuerdo al origen y su espectro de acción, siendo en éste último patrón, las aminopenicilinas las que tienen efecto sobre *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella spp.* y las carboxi y ureidopenicilinas sobre *Pseudomonas spp.* (Seija & Vignoli, 2009).

1.3.2. Monobactámicos

Los monobactámicos son derivados del ácido 3-aminomonobactámico (3-AMA). Tienen una estructura betalactámica sencilla con una estructura monocíclica en la que el anillo betalactámico no está fusionado a otro secundario (Marín & Gudiol, 2003).

El “Aztreonam”, es el único monobactámico disponible para uso clínico, posee una excelente actividad sobre los Gram negativos aerobios y facultativos, incluyendo a *Pseudomonas spp.* (IntraMed, 2010).

1.3.3. Cefalosporinas

Son betalactámicos de origen natural (derivados de productos de la fermentación del *Cephalosporium acremonium*). Contienen un núcleo constituido por ácido 7-aminocefalosporánico, que al igual que en las penicilinas, las modificaciones en las posiciones de los enlaces del anillo, ocasionan diversos tipos de las mismas (modificaciones en la posición 7 del ácido 7-aminocefalosporánico están asociadas con la alteración en su actividad antibacteriana y sustituciones en la posición 3 están asociadas con la farmacocinética y con los parámetros metabólicos del agente). Su clasificación define cuatro generaciones de cefalosporinas: de primera, segunda, tercera y cuarta generación; y todas ellas tienen efecto sobre las bacterias Gram negativas, en menor proporción las de primera generación, las demás depende del grado de resistencia evolutivo que adquieran las bacterias (Seija & Vignoli, 2009).

1.3.4. Carbapenémicos

Son una clase única de betalactámicos que presentan el mayor espectro de actividad conocido dentro de este grupo de antibióticos (Seija & Vignoli, 2009).

El anillo carbapenem es un anillo azobicyclo (condensación de un anillo betalactámico y otro pirrolidínico de 5 miembros. Posee en posición 1 un átomo de carbono y un enlace no saturado en 2 y 3), los distintos carbapenems son fruto (al igual que penicilinas y cefalosporinas) de sustituciones en 1 y 2, siendo todos similares en cuanto espectro, se diferencian en la actividad antimicrobiana que ejercen.

Se reconocen cuatro carbapenémicos: imipenem, meropenem, ertapenem y recientemente el incorporado doripenem; todos indicados para bacilos Gram negativos y para positivos también. (Fresnadillo, García, García, & Sánchez, 2010).

1.3.5. Betalactámicos asociados a los Inhibidores de betalactamasas

Los llamados inhibidores de las betalactamasas son moléculas que contienen en su estructura un anillo betalactámico. No tienen casi ninguna acción antibiótica por si solos (con la excepción de sulbactam frente a *Acinetobacter baumannii*), pero presentan una gran afinidad por las betalactamasas, que son enzimas producidas por las bacterias que destruyen la actividad de determinados betalactámicos, como mecanismo de resistencia que se verá más adelante. Los inhibidores son conocidos como inhibidores suicidas, debido a que una vez que se unen a la enzima la destruyen pero también son destruidos por esta. Hay tres en uso clínico: ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Estos inhibidores unidos a penicilinas o cefalosporinas recuperan la actividad perdida por éstas como consecuencia de la producción de betalactamasas, las mismas que deben ser susceptibles al inhibidor para que la combinación sea efectiva. Se encuentran disponibles: ampicilina/sulbactam, amoxicilina/clavulánico, piperacilina/tazobactam y cefoperazona/sulbactam, la última es una cefalosporina asociada a un inhibidor (Seija & Vignoli, 2009).

Tabla 1. Clasificación de los antibióticos betalactámicos.

Antibióticos Betalactámicos	
Penicilinas	
Bencilpenicilina	Penicilina G Fenoxialquilpenicilina Penicilina V
Aminopenicilinas	Ampicilina Amoxicilina
Carboxipenicilinas	Carbenicilina Ticarcilina
Ureidopenicilinas	Azlocilina
Monobactámicos	Aztreonam
Cefalosporinas	
Primera generación	Cefazolina Cefalexina Cefadroxilo Cefradina
Segunda generación	Cefoxitina Cefuroxima

	Cefaclor Cefonicid Cefprozilo
Tercera generación	Cefminox Cefotaxima Ceftazidima Cefditoreno Ceftriaxona Cefixima
Carbapenémicos	Imipenem Meropenem Ertapenem
Inhibidores de los betalactámicos	Amoxicilina/Ácido clavulánico Ampicilina/Sulbactam Piperazilina/Tazobactam

Fuente: Lorenzo, Moreno, Leza, Lizasoain & Portolés (2013)

1.4. Resistencia bacteriana

Coloquialmente, la resistencia es el fenómeno por el cual un microorganismo deja de verse afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible (WHO, 2013).

Desde el punto de vista clínico se considera que una bacteria es sensible a un antibacteriano cuando la concentración de éste en el lugar de la infección es al menos 4 veces superior a la concentración inhibitoria mínima (CIM). Una concentración por debajo de la CIM califica a la bacteria de resistente y los valores intermedios como de moderadamente sensibles (Chalán, 2013).

La resistencia bacteriana actualmente se ha convertido en un serio problema de salud mundial y tiene como principales consecuencias el fracaso de la terapia antimicrobiana, el aumento de la morbilidad y mortalidad y en los costos de la atención médica (Hart & Espinosa, 2008).

Se considera que la resistencia bacteriana se da como resultado del abuso de antibióticos. Se estima que más de la mitad de los medicamentos son prescritos, dispensados o vendidos inapropiadamente y la mitad de todos los pacientes fallan en tomar tales medicamentos correctamente, de tal manera que las indicaciones médicas incorrectas así

como el uso indebido de agentes antimicrobianos, administración, ruta, dosis y duración del tratamiento son todos factores de riesgo para crear resistencia (WHO, 2010).

La resistencia que presentan las bacterias Gram negativas son un grave problema de salud en todo el mundo, ello se relaciona con la gravedad de las infecciones que pueden causar, las dificultades para establecer un tratamiento empírico correcto, la ausencia de nuevos antimicrobianos activos y la facilidad para la dispersión de la multirresistencia. Además, el número de infecciones comunitarias por éstas bacterias va en ascenso, algunas de las especies de Gram negativas, cuya resistencia es más preocupante desde el punto de vista de la salud pública son *E.coli*, y *Klebsiella pneumoniae*, los no fermentadores: *P. aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* en menor cantidad, pues en su mayoría ocasionan infecciones intrahospitalarias (Fariñas & Martínez, 2013).

Los últimos datos disponibles del año 2008 en Ecuador reportan, que a nivel comunitario la resistencia a cefalosporinas y penicilinas por parte de *Eschechiria coli* es de un 71%, *Shiguella spp.* del 96% y *Salmonella spp.* en un 30% (Quizphe, Murray, Muñoz, Peralta, & Calle, 2011).

1.4.1 Tipos de resistencia.

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. De esta manera puede observarse la resistencia desde el ambiente biológico y otro el bioquímico (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

1.4.1.1. Resistencia intrínseca.

Es una propiedad innata que permite que todas las bacterias de una misma especie sean resistentes por naturaleza a algunas familias de antibióticos y eso les ofrece tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y puedan sobrevivir en caso que se emplee un antibiótico de esa familia (Fernández, López, Ponce, & Machado, 2003).

La resistencia natural es un carácter constante, un mecanismo permanente, determinado genéticamente y sin correlación con la dosis de antibiótico, como ejemplo se puede mencionar la resistencia natural que presentan los bacilos Gram negativos aeróbios a la clindamicina, *Proteus mirabilis* a las tetraciclinas, o aún más conocida la resistencia que tiene *Klebsiella pneumoniae* a las penicilinas (Pérez & Robles, 2013).

1.4.1.2. Resistencia Adquirida.

La aparición de la resistencia adquirida en una bacteria se da evolutivamente y su frecuencia depende de la utilización de los antibióticos (Pérez & Robles, 2013).

Se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos, integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos (Fernández, López, Ponce, & Machado, 2003).

Cuando se habla de las mutaciones, éstas pueden ser sólo cambios microevolutivos, es decir que comprometen un par de nucleótidos en la estructura del DNA, mientras que los macroevolutivos involucran grandes segmentos del mismo incluyendo inversiones, duplicaciones, inserciones, deleciones y transposiciones. Es decir que pueden existir mutaciones de genes preexistentes o adquisición de nuevos genes (Gonzaga, 2010).

Los plásmidos y transposones son elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia. Los plásmidos son fragmentos de DNA bacteriano con longitud variable, algunos con capacidad para replicarse independiente de la maquinaria genética que dispone la célula, lo que les da el apelativo de conjugativos y no conjugativos según esta capacidad. Por otro lado los transposones son secuencias de DNA (doble cadena) que pueden ser trasladados entre cromosomas o de un cromosoma a un plásmido o entre plásmidos, gracias a un sistema de recombinación propio; esto sumado a la capacidad de los plásmidos de trasladarse de una célula a otra, durante la conjugación, permite la adquisición de genes de resistencia entre bacterias de la misma especie o especies distintas lo que facilita la expansión epidémica de la resistencia. Y finalmente los integrones son elementos genéticos que algunos plásmidos y transposones poseen que les permite capturar varios genes exógenos determinando la aparición de una resistencia a varios antibióticos (resistencia múltiple) (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Cabe mencionar, que no siempre la resistencia es inducida por la dosis de antibióticos, así lo manifiesta José Martínez, microbiólogo del Centro Nacional de Biotecnología de España, que sugiere que la mayoría de las resistencias surgen cuando los antibióticos matan a las bacterias susceptibles y únicamente las pocas que son resistentes prevalecen y se reproducen. En otras palabras, los antibióticos no ocasionarían resistencia, más bien inducirían que se seleccionen las bacterias resistentes e incrementan la prevalencia proporcional (Rosenblatt, 2009).

Además de los términos “natural” y “adquirida”, existen otras denominaciones de resistencia:

- *Resistencia relativa o intermedia.* Ocurre un incremento gradual de la CIM a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados. La susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de concentración.
- *Resistencia absoluta.* Sucede un incremento súbito en la CIM de un cultivo durante o después de la terapia. Es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual, ejemplo de ello es la *Pseudomonas spp.* resistente a gentamicina.
- *Seudoresistencia.* Fenómeno en el cual la diferencia entre MBC (concentración bactericida mínima) y la CIM es muy grande, lo cual sucede con las relaciones MBC/MIC mayores de 8, lo que permite la persistencia del microorganismo (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

1.4.2. Mecanismos de resistencia.

Las bacterias pueden desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos y por diversas especies bacterianas (Nicola & Jose, 2012).

Los mecanismos de resistencia adquiridos son más importantes clínicamente y de ellos los transmisibles aún más, pues las mutaciones son relativamente raras, ocurren únicamente en 1 evento por cada 10⁷-10¹⁰ bacterias, según un estudio del 2009 del Canadian Medical Association Journal (Rosenblatt, 2009).

En fin, convencionalmente se conocen desde el punto de vista molecular y bioquímico tres mecanismos por los cuales las bacterias se vuelven resistentes; aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana, es decir, barreras de permeabilidad, variación del propio punto diana o alteración del sitio blanco y la inactivación del antibiótico debido a la producción de enzimas bacterianas (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

A continuación se describirá éstos tres mecanismos, y se hará hincapié a la inactivación del antibiótico, por ser el mecanismo que elude la acción de los betalactámicos propuestos.

1.4.2.1. Barreras de permeabilidad.

Las bacterias pueden generar modificaciones que impidan la llegada del fármaco al punto diana mediante dos formas.

- *Entrada disminuida del fármaco.*

**Permeabilidad de la membrana externa:* claramente definida en los microorganismos Gram negativos que poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de antibiótico.

**Permeabilidad de la membrana interna:* otra forma de resistencia de la bacteria consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos.

**Porinas:* son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antibiótico. Éste es el mecanismo empleado por *Serratia marcescens*, *Eschechiria coli* y *Pseudomonas aeruginosa* contra aminoglucósidos y carbapenémicos.

- *Bombas de eflujo.*

En la membrana celular se encuentran las llamadas bombas de eflujo que llevan a cabo la internalización y expulsión de los antimicrobianos. El eflujo es mediado por proteínas transmembranales, en el caso de las bacterias Gram negativas involucra también componentes en la membrana externa y citoplasma, debido a que altera la producción de energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico sino que a su vez las bacterias reducen la concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa del mismo. Confiere resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloramfenicol y betalactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario (Pérez & Robles, 2013; Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

1.4.2.2. Alteración del sitio blanco.

Consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras. Por ejemplo, la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasas II y IV respectivamente, ofrecen resistencia bacteriana a *Pseudomona aeruginosa* y a *Eschechiria coli* frente a las quinolonas.

En cuanto a las modificaciones a nivel ribosomal podemos mencionar los cambios que ocurren en las subunidades 30S y 50S los cuales son los sitios de acción de aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas y lincosamidas. La resistencia bacteriana contra gentamicina, tobramicina y amikacina consiste en una mutación de la subunidad ribosomal 30S (Pérez & Robles, 2013).

1.4.2.3. Inactivación del antibiótico.

La inactivación del antibiótico es un proceso molecular caracterizado por ser fenotípico, pues se da mediante la producción de enzimas que causan destrucción o modificación de la estructura química del fármaco (Giedraitien, Vitkauskien, Naginien, & Pavidonis, 2011).

Las enzimas que causan destrucción de la estructura química del antibiótico, más conocidas y utilizadas por los Gram negativos, son las betalactamasas y son el mecanismo resistente más común en las bacterias Gram negativas, porque hidrolizan el núcleo betalactámico rompiendo el enlace amida, de los antibióticos betalactámicos y carbapenémicos; pueden ser de origen cromosómico o plasmídico, las primeras, como se verá a continuación son mecanismos de resistencia natural, que permiten establecer patrones específicos y las segundas son mecanismo de resistencia evolutiva que confieren nuevas abstinencias.

Como ya se mencionó, cada bacteria o grupo bacteriano tiene su patrón de resistencia natural y adquirida que hay que tener presente, pues muchos grupos bacterianos comparten determinados tipos de resistencia, es así, que se decidió clasificar a las enzimas inactivadoras, según la resistencia al tipo de antimicrobiano (Navarro, Calvo, Cantón, Fernández, & Mirelis, 2011).

1.4.2.3.1. *Betalactamasas resistentes a los inhibidores (IRT, OXA) o de espectro ampliado.*

Originalmente son un mecanismo de resistencia natural; las primeras betalactamasas reconocidas fueron las penicilinasas, luego, las betalactamasas TEM-1 y TEM-2, ambas de codificación plasmídica y transferibles a otras bacterias por conjugación, lo que explicó su rápida dispersión. Posteriormente se encontró otro tipo de betalactamasa denominado SHV-1, que si bien inicialmente fue cromosómica, hoy en día es codificada generalmente en plásmidos transferibles. Estas betalactamasas ampliaban el espectro de hidrólisis de la penicilinasas por lo que se las llamo de espectro ampliado (BLEA). Pronto a partir de estas enzimas y mediante mutaciones puntuales aparecieron las betalactamasas resistentes a la inhibición por los inhibidores de betalactamasas. Estas enzimas se han denominado IRT (inhibitor-resistant TEM mutant) porque en su mayoría derivan de TEM-1 y TEM-2, aunque también se han descrito derivadas de SHV-1. Además, algunas oxacilinasas como la OXA-1, también confieren un fenotipo similar al de las IRT, que se caracteriza por resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas siendo insensibles a la acción de los inhibidores de betalactamasa de clase A como el ácido clavulánico y, en su gran mayoría no tienen actividad sobre el resto de betalactámicos (Navarro, Calvo, Cantón, Fernández, & Mirelis, 2011).

1.4.2.3.2. *Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).*

Son todas de origen plasmídico y son responsables de la resistencia adquirida, la cual se presenta de acuerdo con diferentes factores, entre ellos, la presión selectiva de los antibióticos y los sistemas de comunicación genética (Crespo, 2006).

Tienen la capacidad de hidrolizar y causar resistencia o sensibilidad disminuida a penicilinas, oximino-cefalosporinas (cefotaxime, cefoxitina, ceftazidime, cefepime) y monobactámicos (aztreonam), en pocas palabras son capaces de lograr resistencia bacteriana a las cefalosporinas de 3ra generación, monobactámicos y aminoglucósidos, pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico. Estas betalactamasas pertenecen a la clase molecular relacionadas con TEM y SHV. Como se extendió el espectro de la hidrólisis con respecto a las BLEA, fueron denominadas betalactamasas de espectro extendido (*BLEE*). Posteriormente a ello se encontró *BLEE* llamadas CTX-M por su efecto particular sobre la cefotaxime y la ceftriaxona. En fin, Desde su descripción inicial, se han identificado más de 300 *BLEE* diferentes, y la mayoría pertenece a las familias TEM, SHV y CTX-M

Otras enzimas *BLEE* también pertenecientes a la clase A, son las betalactamasas CMT (complex mutant TEM) 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 se consideran también betalactamasas de espectro extendido y se han descrito con mayor frecuencia en *Pseudomonas aeruginosa* (Casellas, 2011).

1.4.2.3.3. *Betalactamasas cromosómicas AmpC.*

Otro tipo de betalactamasas son las serin-betalactamasas, que pueden ser de origen cromosómico constitutivo o inducible y plásmidico constitutivo o inducible. Para que la producción sea constitutiva o inducible, depende 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 salvaje característico de la especie bacteriana o puede hacerlo a unos niveles muy superiores al basal produciendo cantidades elevadas de AmpC (hiperproducción de AmpC). Así, naturalmente son resistentes a aminopenicilinas, aminopenicilinas combinadas con inhibidores, cefalosporinas de 1ra generación y cefamicinas (cefoxitina, cefotetán), éste espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (AmpC de espectro extendido), por resistencia adquirida, pero se desconoce cuál es la prevalencia, la relevancia clínica y epidemiológica de estas variantes de AmpC, pues en los aislados que tienen un genblaAmpC inducible, su expresión puede estar desreprimida establemente de forma

parcial o total. A diferencia de los clásicos productores de *BLEE*, los productores de AmpC son resistentes a cefoxitina, La cloxacilina y el aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados (ácido fenil-borónico), inhiben a las betalactamasas de tipo AmpC, mientras que el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores (Martinez, 2009).

1.4.2.3.4. Carbapenemasas.

Este grupo de enzimas hidroliza hasta el último escalón terapéutico, los antibióticos carbapenémicos; las carbapenemasas al igual que todas las betalactamasas ya mencionadas pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o en elementos móviles. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: carbapenemasas de serina y metalo-betalactamasas (MBL); las primeras confieren patrones de resistencia únicos y a todos los betalactámicos, a diferencia de las MBL, que son sensibles a todos excepto al aztreonam (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

El EDTA, es un determinante de éstas dos clases convencionales, pues inhiben a las MBL, pero no a las de clase A. que tienen pero como peculiaridad la inhibición parcial por ácido clavulánico (mejor con tazobactam). Dentro de las carbapenemasas de clase A, las que tienen mayor importancia epidemiológica son las denominas KPC que se han descrito no solo en Enterobacteriaceae sino también en *Pseudomonas aeruginosa* y en *Acinetobacter baumannii*.

Desde el punto de vista fenotípico, las enzimas KPC hidrolizan de forma eficiente penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos y son inhibidas por el ácido borónico, aunque ésta inhibición no es exclusiva, ya que también es un inhibidor eficiente de las betalactamasas de tipo AmpC.

Dentro de la clasificación molecular tenemos un grupo más, el grupo de las OXA (clase D de Ambler y 2df de Bush y Jacoby) también se encuentran variantes que hidrolizan los carbapenémicos. Entre ellas destacan las variantes de los subgrupos OXA-23, OXA-24, OXA-58 (Giedraitien, Vitkauskien, Naginien, & Pavilonis, 2011).

CAPITULO II
METODOLOGÍA

El presente proyecto de investigación fue de tipo descriptivo-prospectivo, con un enfoque cuantitativo, basado ordenadamente en tres fases:

2.1. Recolección de la muestra

El estudio se realizó con los cultivos obtenidos de muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros”, durante el periodo Agosto - Septiembre del 2013, positivos para bacilos Gram negativos.

2.2. Identificación del germen

La identificación de la cepa bacteriana se consiguió, en principio obteniendo cultivos puros (re-siembra en medio Agar McConkey en placa), luego, mediante pruebas bioquímicas para caracterización de Gram negativos: Agar de hierro y lisina (LIA), Agar de hierro y triple azúcar (TSI), citrato de Simmons (SIM), Ureasa (Urea), y Sulfuro indo-motilidad (SIM).

2.3. Determinación del mecanismo de resistencia

Una vez identificado el bacilo Gram negativo, inicialmente, su susceptibilidad bacteriana se determinó con el método de disco difusión en agar Mueller Hinton mediante la técnica de Bauer y Kirby con una turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland a una temperatura $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), para los antibióticos: amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) (20/10 μg), cefotaxime (CTX) (30 μg), ceftazidime (CAZ) (30 μg), aztreonam (ATM) (30 μg), imipenem (IMI) (10 μg), ampicilina-sulbactam (SAM) (30 μg), cefoxitina (FOX) (30 μg), cefepime (FEP) (30 μg), amikacina (AMK) (30 μg), ciprofloxacino (CIP) (5 μg), ácido nalidíxico (NAL) (30 μg), piperacilina-tazobactam (100/10 μg) y ampicilina (AMP) (30 μg).

Posterior a ello, el criterio de selección para evaluar una posible cepa sospechosa se realizó con las muestras que presentaron susceptibilidad disminuida o resistencia a cefalosporinas de tercera generación, cefoxitina y a carbapenems (halos de inhibición iguales o inferiores a los diámetros referidos, para al menos uno de los antibióticos).

2.3.1. Detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Se usaron dos métodos: el método de *sinergia del doble disco* para detectar una posible *BLEE* y el método de *discos combinados con inhibidor*, éste último como prueba confirmatoria; en el método de *sinergia de doble disco*, se utilizó una placa de Agar Mueller Hinton (MH) inoculada previamente con la suspensión bacteriana sospechosa, sobre ella y en el centro se colocó el disco de amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) (20/10 µg), y a una distancia de 25 mm los discos de cefotaxime (CTX) (30 µg), ceftazidime (CAZ) (30 µg), aztreonam (ATM) (30 µg) y cefepime (FEP) (30 µg). El aumento del halo con un efecto sinérgico en forma de huevo entre el inhibidor y los discos de cefalosporinas, fue tomado como positivo. En el método de *discos combinados con inhibidor*, se colocó los discos de cefotaxime + Ac. Clavulánico (CTC) (30/10 µg) y ceftazidime + Ac. Clavulánico (CCV) (30/10 µg) al frente de los discos de cefotaxime (CTX) (30 µg), y ceftazidime (CAZ) (30 µg) respectivamente. La diferencia del tamaño del halo entre los discos con el inhibidor debe ser menor a cinco en relación a los discos de cefalosporinas solas para evidenciar la detección de *BLEE*.

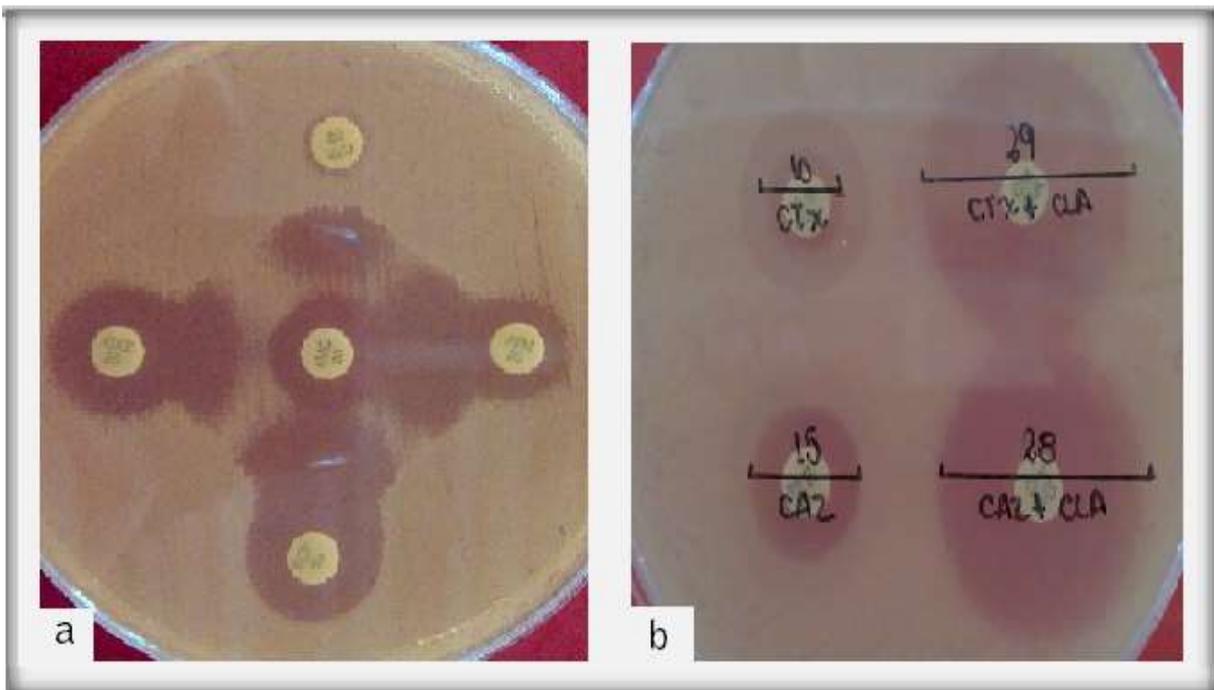


Figura 1. Detección fenotípica de *BLEE*. (a). Método de sinergia de doble disco positivo, se observa el efecto sinérgico (distorsión de los halos de inhibición) (b). Método confirmatorio discos combinados con inhibidor positivo, se observa diferencias mayores a 5mm. Fuente: Torres, A. (2013)

2.3.2. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC.

Como ya se lo mencionó las bacterias Gram negativas tienen la facultad de producir *betalactamasas tipo AmpC* cromosómica inducibles, como no inducibles (constitutiva), y es posible detectar las dos clases de las mismas.

2.3.2.1. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC cromosómica inducible.

Se realizó la prueba de *aproximación de discos*; en éste, se situaron los discos de inductores débiles [cefotaxime (CTX), ceftazidima (CAZ) y aztreonam (ATM)] cercano a un disco inhibitor fuerte [imipenem (IMI) (10 µg), o cefoxitina (FOX) (30 µg)], el achatamiento del halo del betaláctamico inductor débil, en la zona adyacente del inductor fuerte demuestra la expresión inducible de la betalactamasa

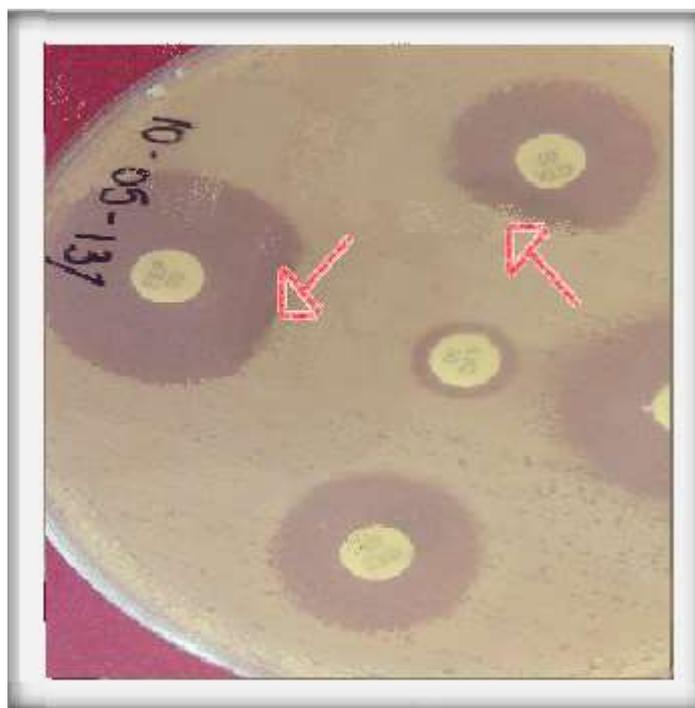


Figura 2. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC inducible. Prueba de aproximación de discos positiva, se observa el achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte como indica la flecha.

Fuente: Torres, A. (2013)

2.3.2.2. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC cromosómica no inducible (constitutiva).

Al igual que la detección de *BLEE*, se realizó mediante el método de *sinergia de doble disco*, se situó en el centro el disco de ácido borónico (30 µg) y a una distancia de 25 mm los discos de cefotaxime (CTX) (30 µg) y ceftazidime (CAZ) (30 µg), el aumento del halo de

las cefalosporinas respecto al inhibidor (efecto sinérgico) demuestra la expresión no inducible de la betalactamasa.



Figura 3. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC cromosómica constitutiva. Método de sinergia de doble disco positivo, se observa la sinergia entre los discos de las cefalosporinas y el ácido clavulánico.
Fuente: Torres, A. (2013)

2.3.3. Detección fenotípica de Carbapenemasas

Para la detección de carbapenemasas se aplicó el *Test de Hodge Modificado*; se inoculó una placa de agar Mueller-Hinton con una suspensión de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 en solución salina con una turbidez equivalente a un 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 sospechosa formando una estría radial desde 2-3 mm del disco de imipenem hacia el borde de la placa, el crecimiento de la cepa indicadora a los lados de la estría, nos afirma la presencia de carbapenemasas.

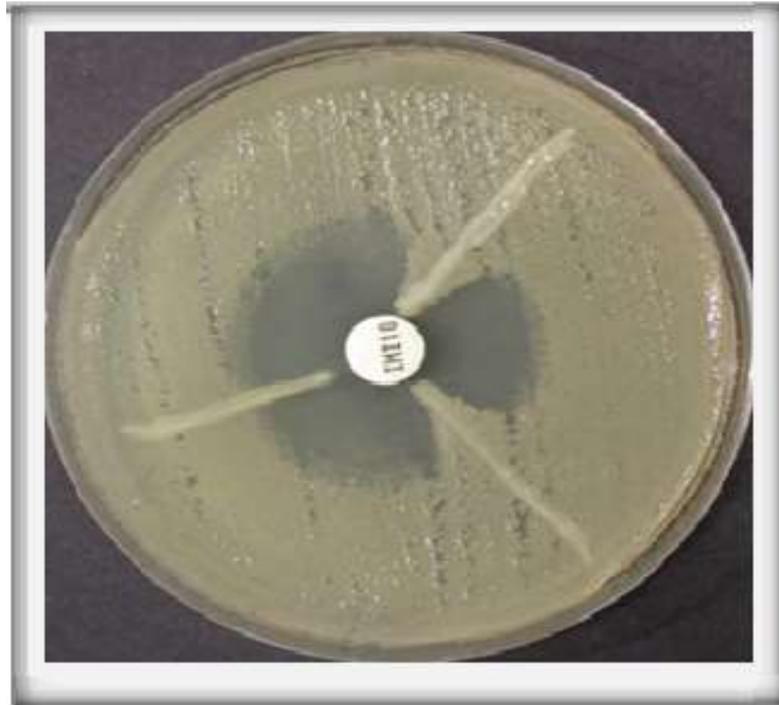


Figura 4. Detección fenotípica de *carbapenemasas*. Test de Hodge modificado positivo, se observan dos cepas positivas (derecha) y una negativa (izquierda). Fuente: Torres, A. (2013)

2.4. Análisis estadístico: Porcentaje de resistencia.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó la prueba del Chi-cuadrado de Pearson con un nivel de significancia del 95% con el programa SPPS para Windows. Los perfiles de susceptibilidad y los porcentajes de resistencia fueron analizados con el programa WHONET versión 5.6 recomendado por la Organización Mundial de la Salud.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

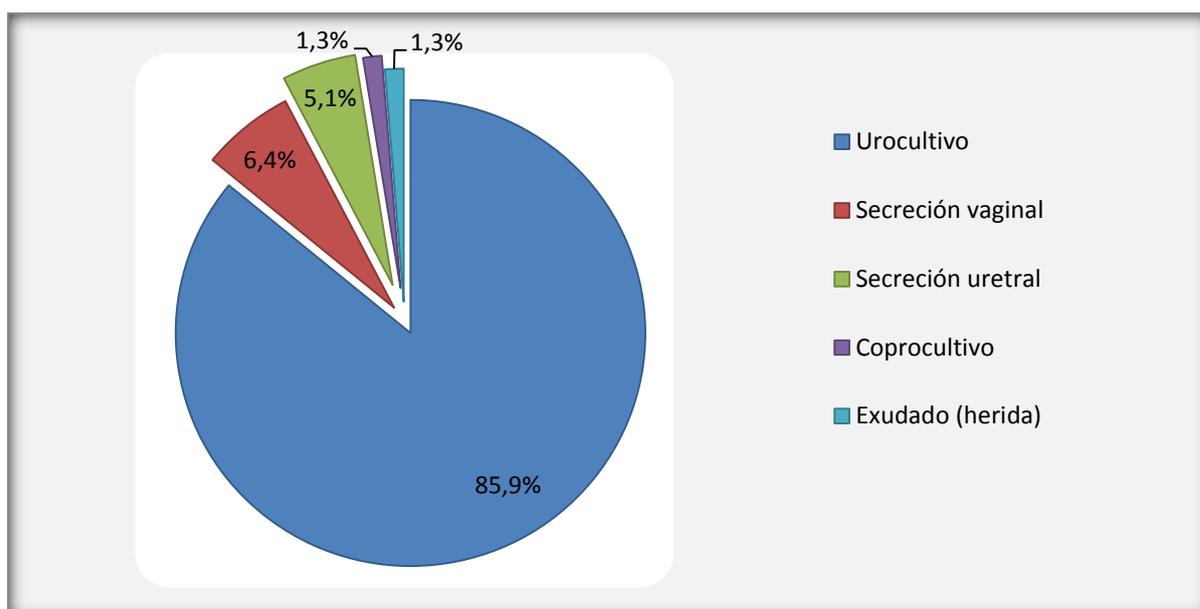
Con el propósito de identificar y determinar el patrón de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013, se detallan los siguientes resultados.

3.1. Tipo de muestras clínicas aisladas.

Tabla 2. Tipo de muestras clínicas analizadas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.

<i>Tipo de muestras clínicas</i>	<i>Frecuencia (n)</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
Urocultivo	67	85,9%
Secreción vaginal	5	6,4%
Secreción uretral	4	5,1%
Coprocultivo	1	1,3%
Exudado (herida)	1	1,3%
Total	78	100%

Fuente: Torres, A. (2013)



Gráfica 1. Tipo de muestras clínicas analizadas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013

Fuente: Torres, A. (2013)

Se analizaron 78 muestras clínicas (Tabla 2), de las cuales en su mayoría, correspondieron a cultivos de orina (85,9%), secreciones vaginales (6,4%) y secreciones uretrales (5,1%); el porcentaje restante proviene de cultivos de heces y de exudado (1,3%) (Gráfica 1).

Son un motivo frecuente de consulta médica en diferentes regiones del mundo, las infecciones del tracto urinario, las mismas que son causadas, en el 93%, por bacilos Gram negativos; constituyendo altas tasas de incidencia y morbilidad en la población pediátrica y adulta (Díaz, Cabrera, Fernández, González, Carrasco, & Bravo, 2006).

Reportes de las últimas décadas, en países hispanos como Guatemala y España, determinan que las muestras clínicas aisladas con más frecuencia por bacilos Gram negativos derivan de infecciones urinarias; urocultivos, seguidos por secreciones vaginales y finalmente secreciones uretrales (Hotchandani & Aggarwal, 2012).

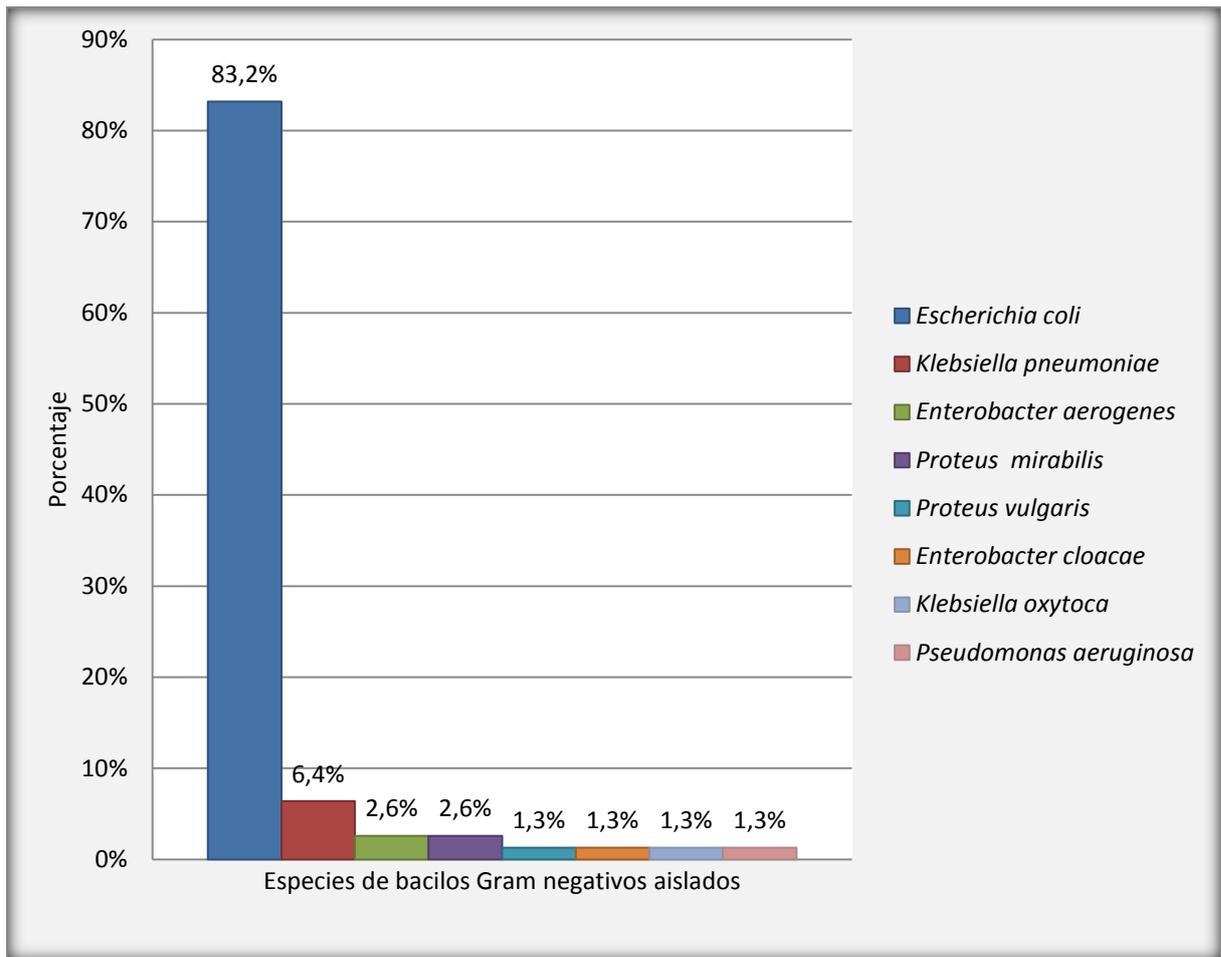
En nuestro país y ciudad, estudios relacionados en los años 2009 y 2013 respectivamente, semejan los mismos resultados, siendo los cultivos de orina, las muestras clínicas más comunes asociadas a bacilos Gram negativos por parte de la comunidad (Sánchez, Carrasco, & Campoverde, 2010; Malla, 2014).

3.2. Especies de bacilos Gram negativos.

Tabla 3. Especies de bacilos Gram negativos analizados en muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.

<i>Especies de bacilos Gram negativos</i>	<i>Frecuencia (n)</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
<i>Escherichia coli</i>	65	83,2%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	6,4%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	2,6%
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2,6%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1,3%
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,3%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1,3%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,3%
Total	78	100%

Fuente: Torres, A. (2013)



Gráfica 2. Especies de bacilos Gram negativos analizados en muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.

Fuente. Torres, A. (2013)

Dentro del grupo de bacilos Gram negativos, los que causan la mayoría de las infecciones comunitarias urinarias, ginecológicas, biliares y a partir de lesiones intestinales son del tipo Enterobacterias, porque son bacterias que de manera natural habitan en el tubo digestivo del hombre, se desarrollan rápidamente en medios simples, y no son exigentes desde el punto de vista nutricional (Ossa, 2011).

Los resultados del presente estudio indicaron una incidencia mayoritaria por parte de *Escherichia coli* (83,2%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (6,4%), y de las bacterias *Enterobacter aerogenes* y *Proteus mirabilis* con el mismo porcentaje (2,6%) (Tabla 3 y Gráfica 2).

Las especies mencionadas son consideradas como patógenas de importancia clínica, debido al incremento de las infecciones ocasionadas, y al uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas para combatirlas, sin contar con el costo económico que implica el tratamiento adecuado (Puerta & Mateos, 2010).

Se considera que las bacterias *Escherichia coli*, infectan el tracto urinario con mayor facilidad e invasividad, porque poseen propiedades aún más específicas que otras especies de Gram negativos, que les confieren mayor virulencia. Presentan una mayor capacidad de adherencia al epitelio vaginal y urinario, mediada por "Pili" o fimbrias, tienen una mayor resistencia a los factores bactericidas del suero y producen hemolisinas y antígeno capsular (antígeno K), que les permite alterar funcional y estructuralmente el sistema excretor-urinario (Blanquer, Solé-Violán, Carvajal, & Lucena, 2010).

Actualmente se estima que del 86 al 90% de las infecciones comunes del tracto urinario a nivel mundial son provocadas por ésta especie. (Rivera, Casares, Ponce, & Suárez, 2013).

En el año 2009, el *Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia de los antibióticos* reportó a *Escherichia coli* en todas las infecciones causadas en el ámbito comunitario y en la mayoría de países estudiados se situaba en primer lugar, dentro de ellos, Ecuador.

En dependencia de la localización en el sistema genito-urinario, de las capacidades de virulencia antes mencionados y de factores predisponentes como edad, sexo, estado inmunológico, malformaciones renales, entre otros, se determinan diferentes formas clínicas de presentación de las infecciones urinarias, entre las que se pueden mencionar la pielonefritis, cistitis o uretritis, con evolución aguda o crónica, siendo el diagnóstico más común en pacientes ambulatorios y caso posterior de hospitalización. (Díaz, Cabrera, Fernández, González, Carrasco, & Bravo, 2006).

La bacteria *Klebsiella pneumoniae* (6,4%), actualmente es considerada como un importante germen causante de bacteriemias extrahospitalarias, sólo después de *Escherichia coli*, y que presenta mayor perfil de resistencia a antibióticos fuertes, además su virulencia es mucho mayor en pacientes ambulatorios que cuando ocasiona las infecciones nosocomiales comunes (Puerta & Mateos, 2010).

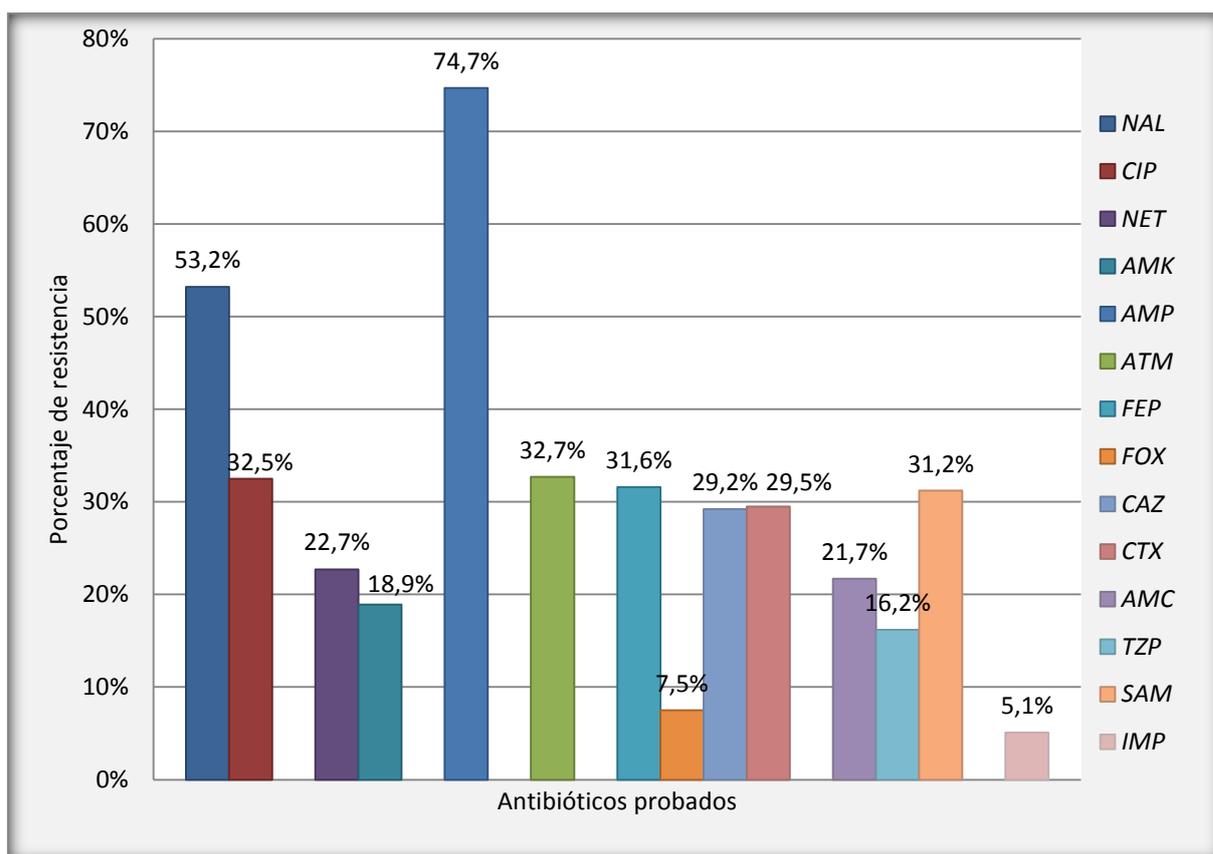
En Colombia, se reportó un índice del 5,4% de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, en el periodo de los años 2005 a 2008 en pacientes ambulatorios (Castro, Barreto, Guzman, Ortega, & Benitez, 2010).

En Loja, en el 2010 y 2013, se reportaron índices del 27% y 5,1% respectivamente (Aguirre, 2011; Malla, 2013).

En los últimos porcentajes; las bacterias *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas aeruginosa* se sabe que son gérmenes oportunistas, en especial *Pseudomonas aeruginosa*, que podría causar infecciones urinarias más invasivas con peor pronóstico, debido a la resistencia natural que presenta a los antimicrobianos (Fariñas & Martinez, 2013).

3.3. Resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos.

Expuesta la interpretación de la concurrencia de especies de bacilos Gram negativos aislados con mayor frecuencia, en las infecciones de pacientes ambulatorios, se determinó resistencia bacteriana en mayor o menor proporción a todos los antibióticos probados. (Gráfica 3).



Gráfica 3. Resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos aislados de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.
Fuente: WHONET 5.6

La resistencia para quinolonas [ácido nalidíxico (NAL) (53%) y ciprofloxacino (CIP) (33%)] y aminoglucósidos [netilmicina (NET) (22,7%) y amikacina (AMK) (18,9%)] fue considerable. Congruentemente, éstos grupos de antibióticos son considerados como de primer orden para infecciones bacterianas en general, y son inactivados por mecanismos diferentes a los usados para betalactámicos, como mutaciones de DNA y alteración del sitio blanco comúnmente (Zurita, 2010).

El betalactámico que presentó el mayor índice de resistencia fue la ampicilina (AMP) (75%)., se considera que la ampicilina actualmente se encuentra fuera de alcanzar una respuesta terapéutica como tratamiento antibiótico, debido a que la gran mayoría de bacterias han adquirido una resistencia natural a lo largo del tiempo. (Zurita, 2010).

Seguidamente, se reportó una resistencia significativa para el monobactámico aztreonam (ATM) (32,7%); y para las cefalosporinas [cefepime (FEP) (31,6%), ceftazidime (CAZ) (29,2%) y cefotaxime (CTX) (29,5%)].

Los resultados de los antibióticos mostrados presentan una íntima relación, en cuanto a los mecanismos de resistencia producidos por los Gram negativos para disminuir su susceptibilidad; y de interés clínico, por la efectividad de causar resistencia casi total al tratamiento es la producción de *betalactamasas de espectro extendido (BLEE)*; a excepción del uso con cefoxitina (Calvo, Cabtón, Cuenca, Mirelis, & Navarro, 2011).

Los otros mecanismos menos eficaces de resistencia para cefalosporinas, son la falla para atravesar la membrana externa dificultada por los lipopolisacáridos y proteínas de la pared celular y la deficiencia para ligarse a las PFP; otro posible mecanismo es la unión en el medio de la cefalosporina con la *BLEE* excretada lo que previene la unión del antibacteriano con la PFP (Zurita, 2010).

Investigaciones actuales realizadas en España, muestran que la resistencia de éste grupo de antibióticos betalactámicos junto con la ampicilina llega hasta el 100% (Carlet & Pittet, 2013).

En Ecuador, datos disponibles del año 2008, indican que la resistencia a ampicilina (AMP) es del 71% por parte de *Escherichia coli*, a nivel comunitario (Quizphe, Murray, Muñoz, Peralta, & Calle, 2011).

Un estudio descriptivo realizado en un hospital regional de tercer nivel en la ciudad de Quito, en el año 2012, infieren una alta resistencia para ampicilina del 67% a 88%, y para cefalosporinas del 67% al 100%, especialmente para ceftazidime (Silva, Montalvo, Martínez, Palma, & Delgado, 2012).

Para el año 2013, en el Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” se reportaron porcentajes tan similares para las cefalosporinas cefepime (FEP), ceftazidime (CAZ) y cefotaxime (FEP) y menores para el aztreonam (ATM) (27%) (Malla, 2014).

Cabe mencionar que resulta interesante que la cefoxitina (FOX) presente un índice mucho menor de resistencia (8%); siendo también, una cefalosporina. No se ha establecido alguna relación porque la producción de *betalactamasas de espectro extendido (BLEE)* no inactivan la acción de éste fármaco, se cree que, quizás pueda deberse a que la cefoxitina (FOX) es de naturaleza de “cefamicinas”, un tipo de cefalosporinas también, pero con variaciones etiológicas y estructurales derivadas (Daoust, Onishi, Wallick, Hendlin, & Stapley, 2010).

Sin embargo, el mecanismo de producción de *betalactamasas de tipo AmpC*, si sería el responsable en gran parte de presentar resistencia a la Cefoxitina (FOX), de hecho,

dichoefecto es considerando como un indicador de la producción de éste tipo de betalactamasas (Calvo, Cabtón, Cuenca, Mirelis, & Navarro, 2011).

Además, las *betalactamasas de tipo AmpC*, están relacionadas en la resistencia observada en los inhibidores del ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (Martinez, 2009).

Después de los índices de resistencia para cefalosporinas, se encontró los reportados para los inhibidores de betalactamasas [amoxicilina/Ac. clavulánico (AMC) (21,7%), piperacilina/tazobactam (TZP) (16,2%) y ampicilina/sulbactam (SAM) (31,2%)].

En Colombia en el año 2010, se reportó que del 50-80% de aislamientos uropatógenos, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* presentaron resistencia considerable frente a antibióticos ampicilina/sulbactam (SAM) y amoxicilina/Ac. clavulánico (AMC), y la resistencia global por pacientes ambulatorios fue de 64,6% y 66,5% respectivamente (Castro, Barreto, Guzmán, Rolando, & Benitez, 2010).

En el *Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia de los antibióticos/2009*, se reportaron las mismas prevalencias de resistencia, sin embargo, en el estudio descriptivo realizado en la ciudad de Quito, en el año 2012, el porcentaje de resistencia para inhibidores de betalactámicos es más parecido a los resultados del presente estudio, 19% al 33% por debajo de cefalosporinas (Silva, Montalvo, Martinez, Palma, & Delgado, 2012).

En Loja, en el 2013, en el Hospital del Día, se reportaron porcentajes menores de resistencia para SAM (17%) y para TZP (2%) (Alvarado, 2014).

El índice de resistencia para el carbapenémico probado imipenem (IMP) fue relativamente bajo (5%), no obstante, es muchísimo menor que el reportado por el estudio denotado anteriormente, donde la resistencia fue tan solo del 0,4% y por el estudio reportado por Malla (2013), donde el índice fue del 3,7%.

La inactivación o la disminución de la actividad de estos fármacos es debida a la producción de *carbapenemasas*, donde se ha propuesto que las de clase “*serina*”, confieren patrones de resistencia únicos y a todos los betalactámicos, quedando así desprovistos algún tipo antimicrobiano eficaz (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

Los otros mecanismos que confieren resistencia son similares a la de los betalactámicos, falla para atravesar la membrana externa (impermeabilidad) y deficiencia para ligarse a las PFP de resistencia (CSLI, 2012).

Por otro lado, se ha encontrado que la resistencia a imipenem (IMP) es más dependiente de la pérdida de porinas exclusivamente y no de las bombas de expulsión que serían selectivas para otros carbapenémicos (meropenem y doripenem) (Tafur, Torres, & Villegas, 2008)

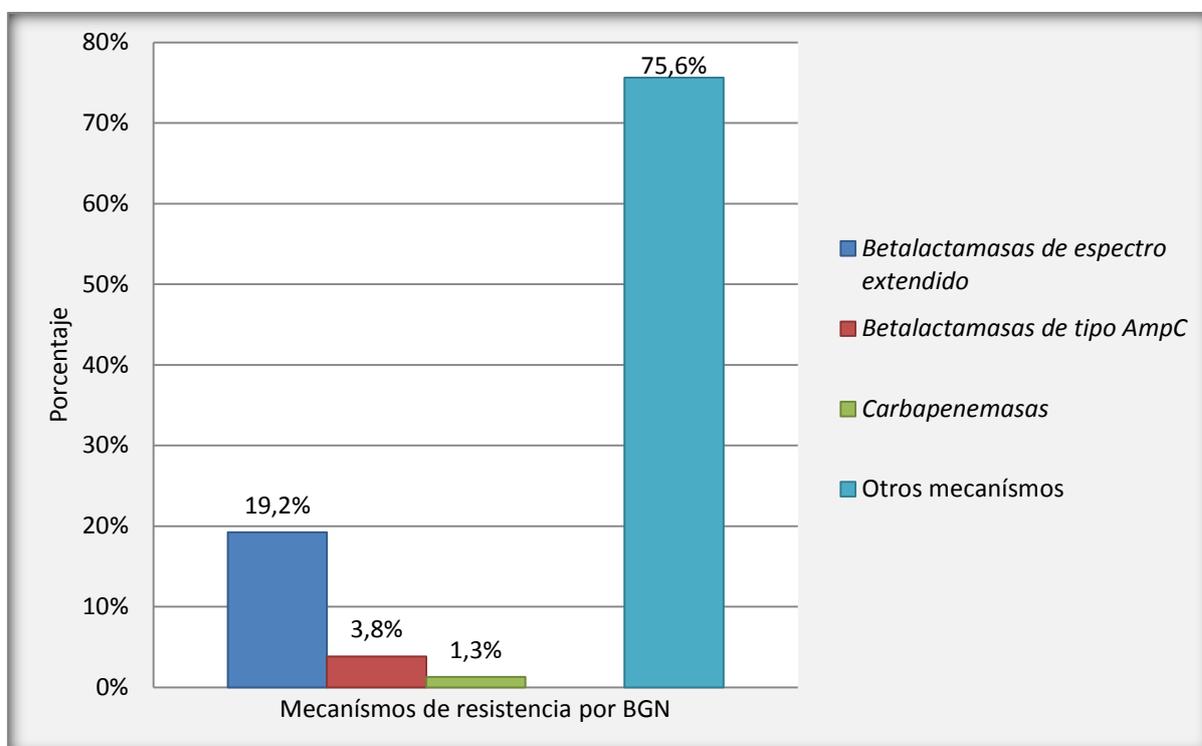
3.3.1 Producción de betalactamasas.

Una vez estimado el porcentaje de resistencia para cada antibiótico, se determinó las cepas bacterianas que presentaron producción de *betalactamasas*.

Tabla 4. Mecanismo de resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos aislados de muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período Agosto-Septiembre 2013.

<i>Mecanismo de resistencia</i>	<i>Frecuencia (n)</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
<i>Betalactamasas de espectro extendido</i>	15	19,2%
<i>Betalactamasas de tipo AmpC</i>	3	3,8%
<i>Carbapenemasas</i>	1	1,3%
Otros mecanismos	59	75,6%
<i>Total</i>	78	100%

Fuente: Torres, A. (2013)



Gráfica 4. Porcentaje del mecanismo de resistencia bacteriana de bacilos Gram negativos aislados de muestras clínicas de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período Agosto-Septiembre 2013.

Fuente: Torres, A. (2013)

La producción de betalactamasas se determinó en el 24% de las especies aisladas, y en cultivos de orina únicamente; de éste porcentaje, la mayoría fue del fenotipo *betalactamasas de espectro extendido BLEE* (19,2%), y en menor proporción del fenotipo *betalactamasas AmpC* (3,8%) y *carbapenemasas* (1,3%) (Tabla 4 y Gráfica 4).

Actualmente se estima que la tasa de producción de *BLEE* por las enterobacterias en países de Latinoamérica es más alta que en otras regiones del mundo, constituyendo un problema, ya que en estos casos las opciones terapéuticas se limitan a los carbapenémicos; además, los plásmidos que codifican para la producción de *BLEE*, contienen frecuentemente genes que inducen resistencia a otros agentes antimicrobianos; sumado a ello, la verdadera prevalencia de *BLEE* es desconocida y probablemente esté subestimada por las dificultades de su detección; sin embargo, queda claro que los microorganismos productores de *BLEE* están distribuidos mundialmente y su prevalencia está en aumento, por ejemplo; parecen ser frecuentes en muchos países de la región, como España y Cuba, donde los porcentajes llegan hasta el 22% (García, Castillo, & Salazar, 2014; García, 2012)

Las *betalactamasas AmpC* a diferencia de las *BLEE*, al no poseer un método estandarizado para su detección fenotípica, ha dificultado dilucidar su fenotipo cromosómico y plasmídico, además, la carencia de un tratamiento específico, hacen considerar a estas enzimas como un emergente problema terapéutico; en Argelia, Messai y otros países de América latina, no existen datos suficientes acerca de la prevalencia de *AmpC*, pero señalan que el 1% de cepas de *Eschechiria coli* encontradas tienen el fenotipo. En Cuba, el porcentaje es del 8,2 % y de 4,2% en la producción de *carbapenemasas* (García, Castillo, & Salazar, 2014).

En Venezuela en el año 2011, se determinó que el potencial de inactivación del antibiótico por *BLEE* fue de 93,8%; por *betalactamasas tipo AmpC* de 4,3%, y por *carbapenemasas* 1,9% (Marcano, De Jesús, Hernández, & Torres, 2011).

En nuestro país, en la ciudad de Guayaquil, un estudio presentado en el 2008, reportó un índice de producción de *BLEE* de 13,20% con un potencial de inactivación a los betalactámicos del 100% (Guevara, Mejia, Lopez, & Barberán, 2008).

En el 2013, en Loja, se asilaron 117 muestras clínicas de bacilos Gram negativos, de las cuales, 20 fueron productoras de *BLEE* y 3 productoras de *betalactamasas AmpC*, que en porcentajes equivaldrían al 17% y 3% respectivamente (Malla, 2014).

Cabe mencionar, que la mayor parte de cepas que produjeron *betalactamasas* fueron aisladas en pacientes ambulatorios que fueron ingresados al área de emergencia, éstos resultados son indiscutibles, porque al ser pacientes con infecciones bacterianas donde el tratamiento no es eficaz, son remitidos de urgencia, porque sus afecciones ya han alcanzado picos más altos de invasividad y desarrollado quizás trastornos relacionados más graves (Gomez & García, 2011; Casella, 2011).

Y en contexto, la mayoría de las infecciones comunitarias, causadas por Gram negativos que requieren hospitalización posterior son las del tracto urinario (Blanquer, Solé-Violán, Carvajal, & Lucena, 2010).

3.3.1.1. Cepas productoras de BLEE.

Tabla 5. Cepas de bacilos Gram negativos productoras de BLEE aisladas de UROCULTIVOS en relación a la localización de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.

Cepas productoras de BLEE	Emergencia		Consulta externa	
	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
<i>Escherichia coli</i>	9	11,5%	4	6,4%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			1	1,3%
Total	9	11,5%	6	7,7%

Fuente: Torres, A. (2013)

El 19% de las cepas productoras de BLEE, correspondieron a las especies *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Tabla 5).

La producción de BLEE por *Escherichia coli*, fue reportado en pacientes de emergencia (10,9%) y en menor proporción en pacientes de consulta externa (7,0%). La producción de BLEE por *Klebsiella pneumoniae* fue reportada únicamente en pacientes de emergencia (1,3%).

Una publicación que incluyó 504 aislamientos de *Escherichia coli* en el 2008 en instituciones de toda América Latina, encontró una tasa de producción de BLEE (García, 2012). En España, un análisis retrospectivo determinó que, de 5.247 aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de cultivos de orina, existía una tendencia creciente en cuanto a la producción de BLEE, del 0,8% en 2000-2001, el 2,5% en 2001-2003 y el 3,5% en 2004-2005, y para el 2010 de 7,5% (Blanquer, Solé-Violán, Carvajal, & Lucena, 2010). En México, se determinó que, alrededor del 10% de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones urinarias, mostraron producción de BLEE, considerándolas en estado de emergencia (Arreguín, Cebada, & Simón, 2009).

En Cuba éste índice fue del 16,9% en el 2012 (Rivera, Casares, Ponce, & Suárez, 2013).

En nuestro país, Quito reportó índices del 51,8% y 23,2% en los años 2008 y 2009 respectivamente (Pacheco & León, 2011).

En Loja, en el año 2013, en dos centros de salud, se reportaron cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE, del 9,1% y del 11,9% (de 239 y 117 muestras clínicas) respectivamente (Malla; Alvarado, 2013).

Se han descrito algunos factores de riesgo asociados a las infecciones urinarias comunitarias por enterobacterias productoras de BLEE ingresadas a emergencia: edad avanzada, sexo, diabetes, hospitalización previa, tratamiento antibiótico en los meses previos (incluyendo penicilina, cefalosporinas de tercera y de segunda generación y quinolonas) e infección urinaria recurrente, donde la demostración en estudios experimentales muestra la capacidad que tiene *Escherichia coli* de invadir las células epiteliales vesicales y formar “comunidades bacterianas intracelulares” en *biofilms*, lo que constituye un reservorio interior de *Escherichia coli* productora de las infecciones urinarias recurrentes (Pigrau, 2013).

La producción de BLEE por *Klebsiella pneumoniae* en infecciones comunitarias, es relativamente baja, sin embargo, su distribución se ha reportado en diversas regiones del mundo (Fernandez, Saballs, & Grau, 2009).

Una publicación que evaluó 2 841 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* de infecciones intraabdominales y urinarias, en más de 100 centros distribuidos en todo el mundo del periodo 2008 - 2009 determinó que el 22,4% de aislamientos eran productores de BLEE. La tasa más alta de producción de BLEE fue encontrada en aislamientos provenientes de América Latina (34,6 %), comparado con Europa (19,7 %) y Norte América (10 %) (García, 2012).

Como se sabe, *Klebsiella pneumoniae* es un germen característico de producir infecciones en pacientes hospitalizados, su aislamiento en el ámbito ambulatorio, puede deberse a que el paciente pudo haber tenido una hospitalización anterior, portador de sonda vesical, pues se estima que la producción de BLEE, en estos casos es común y del 15% tanto si el origen es nosocomial como comunitario (Martínez, Cobos, & Mensa, 2013).

También, al igual que *Escherichia coli*, ésta bacteria usa *biofilms* para protegerse del ataque bactericida, y producir incrustaciones en el epitelio uretral lo que facilitaría una infección más invasiva (Antonia, 2013).

Un artículo científico, sobre aislados consecutivos de *Eschechiria coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE en hospitales españoles presentado en el 2013, reportó un índice mayor de producción de BLEE en *Klebsiella pneumoniae* (5%) que en *Escherichia coli* (4%) y la adquisición se consideró como comunitaria estricta en el 10% con posible hospitalización a futuro.

Hallazgos moleculares han determinado la presencia de enzimas cefotaximasas plasmídicas (CTX-M) en *Escherichia coli* y en *Klebsiella pneumoniae* causantes de infecciones comunitarias, relacionadas a una hospitalización posterior debido a la gravedad de resistencia que otorgan dichas enzimas (SSeral, Pardos, & Castillo, 2010).

En el *Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia de los antibióticos* presentado en el año 2009, *Klebsiella pneumoniae* muestra índices elevados de resistencia a CTX y CAZ, reaccionándolos con la producción de BLEE con fenotipo (CTX-M) en nuestro país. En nuestra ciudad, en el “Hospital del Día”, la producción de BLEE por ésta especie es del 1,2% (3 aislamientos de 239 muestras clínicas) (Alvarado, 2013).

El tratamiento de elección para infecciones serias por enterobacterias productoras de BLEE son los carbapenémicos, en infecciones no severas, el uso de quinolonas o aminoglucósidos podrían ser indicados (si el aislamiento es sensible a alguno de estos antimicrobianos). Sin embargo, las alternativas terapéuticas son limitadas ya que las enterobacterias productoras de BLEE tienen generalmente mayores niveles de resistencia a las quinolonas y aminoglucósidos, lo cual se puede constatar en el presente trabajo. Si bien las BLEE son inhibidas in vitro por los inhibidores de las betalactamasas, éstos no serían de elección para enfermedades serias, ya que la producción de BLEE y la pérdida de las porinas pueden provocar una reducción en la actividad de dichos inhibidores, y como consecuencia, la falla terapéutica (García, 2012)

3.3.1.2. Cepas productoras de betalactamasas de tipo AmpC

Tabla 6. Cepas de bacilos Gram negativos productoras de betalactamasas AmpC, aisladas de UROCULTIVOS en relación a la localización de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.

Cepas productoras de betalactamasas AmpC	Emergencia		Consulta externa	
	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
<i>Escherichia coli</i>			1	1,3%
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2,5%		
Total	2	2,5%	1	1,3%

Fuente: Torres, A. (2013)

Con respecto a la producción de *betalactamasas de tipo AmpC* (3,8%), las especies etiológicas encontradas fueron *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* (Tabla 5).

La producción por *Escherichia coli*, fue reportada en pacientes de consulta externa (1,3%) y la producción por *Proteus mirabilis* en pacientes de emergencia (2,5%).

Hasta el momento se sabe, que la síntesis de *betalactamasas de tipo AmpC*, en dichas especies, son relativamente escasas. Los datos obtenidos del estudio SENTRY 2007, en el que participaron 30 hospitales americanos; determinaron, la producción de *betalactamasas de tipo AmpC* por *Escherichia coli* en 1,2%. En España el índice para el año 2009 fue de un 2% para *Escherichia coli* y del 0,43% para *Proteus mirabilis* (Seral, Castillo, & Gude, 2012).

En Santiago, a lo largo de tres años y ocho meses (2006 - 2009), se encontró que la prevalencia de *Proteus mirabilis* productor de AmpC pasó del 0,17% al 4,5%, mayoritariamente asociado a infección urinaria en pacientes ancianos comunitarios (Treviño, Navarro, Areses, García & Regueiro, 2012).

En Loja, en el "Hospital de Día" se reportó un índice del 1,6% (4 cepas, de 239 muestras) (Alvarado, 2013).

Al decir que la producción de *betalactamasas de tipo AmpC* por cepas de *Escherichia coli* y por *Proteus mirabilis* son infrecuentes, es debido a que normalmente este fenotipo no es producido por dichas especies. Cromosómicamente de manera intrínseca (inducible), la producción de *betalactamasas de tipo AmpC* es comúnmente reconocida de las especies *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, y *Pseudomonas aeruginosa*, y explican la resistencia natural a las aminopenicilinas y a los betalactámicos con inhibidor. *Escherichia coli*, también posee *betalactamasas de tipo AmpC cromosómicas* pero no del tipo inducibles; sino del tipo constitutivas, y aun así su expresión a niveles bajos no otorgarían resistencia; para ello debe de existir una hiperproducción de las mismas; y cuando hay dicha hiperproducción es capaz de conferir resistencia a todos los betalactámicos a excepción de cefalosporinas de cuarta generación y carbapenémicos. En *Proteus mirabilis*, sin embargo, la resistencia a los inhibidores de betalactamasas y cefoxitina, no es ocasionada por *betalactamasas de tipo AmpC cromosómicas*, pues esta bacteria y algunas otras (*Salmonella spp.*, *K. pneumoniae*) naturalmente no poseen los genes correspondientes de esto tipo de *betalactamasas*, por lo que se infiere, que han sido adquiridas por plásmidos, es decir son *betalactamasas AmpC plasmídicas*, y su estado es preocupante debido a la capacidad de transmisión que tienen hacia otras especies, y por la dificultad de detección en el laboratorio, no existe un método estandarizado. (Martínez, 2009).

3.3.1.3. Cepas productoras de carbapenemasas.

Tabla 7. Cepas de bacilos Gram negativos productoras de carbapenemasas, aisladas de UROCULTIVOS en relación a la localización de pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" en el período agosto-septiembre 2013.

Cepas productoras de carbapenemasas	Emergencia	
	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,3%
Total		1,3%

Fuente: Torres, A. (2013)

La producción de carbapenemasas (1,3%), fue encontrada en la especie *Pseudomonas aeruginosa* únicamente y en el área de Emergencia (Tabla 6).

La resistencia a carbapenems es poco común, como bien se lo ha delimitado, aún más en pacientes ambulatorios, las investigaciones infieren que para generar éste tipo de resistencia, debe existir a la par producción de carbapenemasas, y algún otro mecanismo, el más implicado hasta el momento es la disminución de la permeabilidad de la membrana por pérdida de porinas (Zavascki, Bulitta, & Landersdorfer, 2013).

En *Pseudomonas aeruginosa*, además se ha descubierto que la producción de carbapenemasas, está asociada a la formación de biopelículas embebidas, que contienen moléculas involucradas en evadir el sistema inmune del cuerpo humano presentando una mejor predisposición para causar resistencia, además de moléculas formadoras de agregación bacteriana en microcolonias independientes de responder a la hidrólisis de los carbapenémicos, así, se aproxima que es capaz de presentar una resistencia tan agresiva del casi 75 - 90% a estos antibióticos (*Imipenem* y *meropenem*) (Ochoa, López, Escalona, Cruz, & Davila, 2013).

Los descubrimientos de resistencia originados en los que se encuentran implicadas éstas especies varían de la casa de Salud y de las regiones, pero se estiman que van desde 2% al 27% en pacientes con infecciones comunitarias de tipo urinarias en su mayoría, a nivel intrahospitalario, éstos porcentajes se multiplican como ya es de esperarse (Nicolau & Oliver, 2010)

CONCLUSIONES

Al finalizar el estudio realizado en pacientes ambulatorios del hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo agosto-septiembre del 2013 se pudo concluir:

El germen Gram negativo más común implicado en los procesos infecciosos de pacientes ambulatorios es *Escherichia coli* (82%).

La producción de *betalactamasas* se encontró en cultivos de orina; *BLEE* (19,2%), *betalactamasas AmpC* (3,8%) y *carbapenemasas* (1,3%); y, las bacterias *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomonas aeruginosa*, fueron las especies predominantes asociadas a dichas *betalactamasas* respectivamente.

Los resultados obtenidos revelan que las infecciones del tracto urinario son una de las condiciones más comunes en la consulta ambulatoria; y considerando que, *Escherichia coli* es el agente causal más frecuente, y productor de *BLEE*, es imperativo tomar medidas específicas a la brevedad posible, pues posiblemente los índices seguirán en ascenso a lo largo del tiempo.

RECOMENDACIONES

Al ser un problema global y en ascenso, la determinación de resistencia bacteriana debería incluir más centros hospitalarios de la provincia de Loja en próximos estudios; de ésta manera se lograría tener una visión más realista de dicha problemática y nos pudiéramos enfocar en los índices alcanzados, con el fin de proponer medidas de prevención y manejo.

Para conseguir una mejor estimación sobre la naturaleza específica de la producción de *betalactamasas*, se debería implementar técnicas moleculares que nos permita determinar los genes y las enzimas implicadas, que ayudaría a la búsqueda de terapias mejor dirigidas.

Instaurar los métodos de detección fenotípica de *betalactamasas* en los laboratorios microbiológicos para que las infecciones comunitarias persistentes no sean tratadas de forma empírica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguirre, G. (2011). *Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el Hospital UTPL de la Ciudad de Loja en los meses de junio – noviembre de 2010*. (Tesis de grado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Algorta, G. (2011). Bacilos Gram negativos no exigentes. Enteroacteriaciae, Vibrionaceae, Pseudomonas. *EducaMadrid*, 1, 1-14.
- Alvarado, C. (2014). *Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther Gonzales durante el periodo agosto-noviembre 2013*. (Tesis de grado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Andreu, A. (2013). Patogenia de la Infecciones del tracto urinario. En C. Pigrau, *Infección del tracto urinario* (págs. 23-25). Barcelona: Salvat.
- Andreu, A., & Planells, I. (2008). Etiology of community-acquired lower urinary infections and antimicrobial resistance of Escherichia coli: a national surveillance study. *Elsevier. Medicina clínica*, 130(13), 481-486. doi: 10.1157/13119488.
- Antonia, A. (2013). Patogenia de la Infecciones del tracto urinario. En C. Pigrau, *Infecciones del tracto urinario* (págs. 23-52). Madrid. España: Salvat.
- Arreguín, V., Cebada, M., & Simón, J. (2009). Microbiología de las infecciones urinarias en pacientes ambulatorios. *Rev Invest Clin*, 59(4), 239-245.
- Blanquer, J., Solé-Violán, J., Carvajal, J., & Lucena, F. (2010). Community infections that require admission to the ICU. *Scielo Med. Intensiva*, 34(6), 388-396.
- Calvo, J., Cabtón, R., Cuenca, F., Mirelis, B., & Navarro, F. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en Gramnegativos. En *Procedimientos en Microbiología clínica*. SEIMC.
- Carlet, J., & Pittet, D. (2013). Access to antibiotics: a safety and equity challenge for the next decade. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2(1), 1-3.
- Casellas, J. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América: consecuencias para la infectología. *Rev Panam Salud Publica.*, 30(6), 519-528.
- Castro, R., Barreto, A., Guzman, H., Ortega, R., & Benitez, L. (2010). Antimicrobial resistance pattern for gram-negative uropathogens isolated from hospitalised patients and outpatients in Cartagena, 2005-2008. *Rev. salud pública*, 12(6), 1010-1019.
- Castro, R., Barreto, A., Guzmán, H., Rolando, O., & Benitez, L. (2010). Antimicrobial resistance pattern for gram-negative uropathogens isolated from hospitalised patients and outpatients in Cartagena, 2005-2008. *Rev. Salud Publica*, 12(6), 1010-1019.
- Chalán, A. (2013). *Infección de vías urinarias en embarazadas asitentes de consutla externa del subcentro de salud de enero a abril 2012*. Machala, Ecuador: (Tesis inédita de maestría).
- Cohen-Nahum, K., SaideL, L., Riesenber, K., Schlaeffer, F., & Borer, A. (2010). Urinary Tract Infections Caused by Multi-Drug Resistant Proteus mirabilis: Risk Factors and Clinical Outcomes. 38(1), 41-46. doi: 10.1007/s15010-009-8460-5.

- Cornejo, P., Velásquez, C., Sandoval, S., Gordillo, P., & Volkow, P. (2007). Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos en un hospital oncológico. *Salud Pública Méx*, 49(5), 330-336.
- Crespo, M. (2006). La resistencia bacteriana, ¿estamos preparados? *Grupo de Microbiología Médica y Enfermedades Infecciosas*, 9, 1-15.
- CSLI. (2012). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Twenty-Second Informational Supplement* (Vol. 32). USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Daoust, D., Onishi, R., Wallick, H., Hendlin, D., & Stapley, E. (2010). Cephamycins, a New Family of β -Lactam Antibiotics: Antibacterial Activity and Resistance to β -Lactamase Degradation. *Antimicrob. Agents Chemother*, 3(2), 254-261. doi: 10.1128/AAC.3.2.254.
- 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*. *Rev Cubana Pediatr*, 78(3).
- Díaz, M., Hernández, J., Martínez, L., Rodríguez, J., & Pascual, A. (2009). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH-BLEE 2006). *Enferm Infecc Microbiol*, 27(9), 503-510. doi: 10.1016/j.eimc.2008.09.006.
- EcuRed. (21 de Enero de 2014). *Conocimiento con todos y para todos. Bacilos gram negativos*. Obtenido de http://www.ecured.cu/index.php/Bacilo_Gram_negativo
- Fariñas, M., & Martínez, L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 31(6), 402-409. doi: 10.1016/j.eimc.2013.03.016.
- Fernandez, F., Lopez, J., Ponce, L., & Machado, C. (2003). Resistencia bacteriana. *Rev Cub Med Mil*, 32(1), 0-0.
- Fernandez, O., Saballs, P., & Grau, S. (2009). Bacteremias por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas, epidemiología, factores de riesgo, adquisición, marcadores de evolución clínica y adecuación del tratamiento antibiótico. *Servel deBibiloteques*.
- Ferrero, S. (2005). Incidencia y resistencia de bacilos gram negativos no fermentadores. *Rivadavia*, 136, 1-4.
- Fresnadillo, M., García, M., García, E., & Sánchez, J. (2010). Available carbapenems: properties and differences. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 28(2), 53-64. doi: 10.1016/S0213-005X(10)70031-8.
- García, C. (2012). Antimicrobial resistance in Peru and Latin America. *Acta méd. peruana*, 29(2), 99-103.
- García, T., Castillo, A., & Salazar, D. (2014). Mechanisms of resistance to beta-lactams in Gram-negative bacteria. *Rev Cubana Salud Pública*, 40(1).
- Garza, U., Silva, J., & Martínez, E. (2009). Genética y genómica enfocadas en el estudio de la resistencia bacteriana. *Salud Pública Méx*, 51(3), 439-446.
- Giedraitien, A., Vitkauskien, A., Naginien, R., & Pavilonis, A. (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (kaunas)*, 47(3), 137-146.

- Gomez, M., & García, M. (2011). *Programa de Vigilancia y control de microorganismo multirresistentes*. Gráficas Hache.
- Gonzaga, K. (2010). *Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el hospital Manuel Ygnacio Monteros de la ciudad de Loja*. (Tesis inédita de maestría). Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.
- Gonzalez, E. (2 de Febrero de 2011). *Sociedad Española de Nefrología*. Recuperado el 27 de Julio de 2014, de Infecciones del tracto urinario: <http://nefrologiadigital.revistanefrologia.com/modules.php?name=libro&op=viewCap&idpublication=1&idedition=13&idcapitulo=52>
- Guevara, E., Mejia, M., Lopez, M., & Barberán, P. (2008). Incidencia de cepas gramnegativas productoras de betalactamasa de espectro extendido en hospital regional Teodoro Maldonado Carbo, 2004, 2005. *Rev. Medicina*, 13(2).
- Hart, M., & Espinosa, F. (2008). Resistencia antimicrobiana de bacilos gramnegativos. *Rev cubana med*, 47(4), 0-0.
- Hotchandani, R., & Aggarwal, K. (2012). Urinary Tract Infections in Women. *Indian Journal of Clinical Practice*, 23(4).
- IntraMed. (2010). *Libros virtuales IntraMed. Generalidades de antibióticos*. Obtenido de <http://www.intramed.net/>.
http://www.intramed.net/sitios/librovirtual1/pdf/librovirtual1_50.pdf
- Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia de los antibióticos, 2009*. Lima. Recuperado de file:///C:/Users/Usuario/Documents/TESIS/BookInforme_2009_inside_LR_Sep16.pdf
- Lorenzo, P., Moreno, A., Leza, J., Lizasoain I., Moro, M., & Portolés, A. (2013). *Manual de farmacología básica y clínica*. Madrid: Medica Panamericana
- Malbrán, C. (2010). Identificación de bacilos gram negativos no fermentadores. *INEI*, 21, 1-64.
- Malla, Y. (2014). *Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes ambulatorios del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el periodo octubre – noviembre 2013*. (Tesis de grado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Marcano, D., De Jesús, A., Hernández, L., & Torres, L. (2011). Frecuencia de enzimas asociadas a sensibilidad disminuida a betalactámicos en aislados de enterobacterias. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30(6), 529–34.
- Marín, M., & Gudiol, F. (2003). Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 21(1), 42-55.
- Martinez, D. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29, 78-83.
- Martínez, J., Cobos, N., & Mensa, J. (2013). Infección urinaria asociada a catéteres urinarios. En C. Pigrau, *Infecciones del tracto urinario* (págs. 121-136). Madrid España: Salvat.
- Martinez, L., & Calvo, J. (2010). The growing problem of antibiotic resistance in clinically relevant Gram-negative bacteria: current situation. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 28(2), 25-31. doi: 10.1016/S0213-005X(10)70027-6 .

- MSD. (Febrero de 2013). *MSD. MSD salud. Manual Merck de información médica para el hogar. Infecciones por bacilos*. Obtenido de http://www.msdsalud.es/manual-merck-hogar.aspx?u=/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_17/seccion_17_177.html
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. M. (2009). *Microbiología médica* (sexta ed.). España: Elsevier.
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F., & Mirelis, B. (2011). Detection of resistance phenotypes in gram-negative bacteria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29(7), 524–534. doi: 10.1016/j.eimc.2011.03.011.
- Navarro, M., Robles, R., Garibay, A., & Ruiz, E. (2011). Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae comunitarias y hospitalarias productoras de β -lactamasas en hospitales de Hermosillo, Sonora. *Salud Pública de México*, 53(4), 341-344. doi:10.1590/S0036-36342011000400009.
- NCI. (Mayo de 2009). *Instituto Nacional del cancer. Diccionario del cáncer. Paciente ambulatorio*. Obtenido de <http://www.cancer.gov/diccionario?cdrid=44520>
- Nicola, F., & Jose, C. (2012). ¿Cómo predecir el éxito o fracaso del tratamiento antibiótico? *La Gaceta de infectología y microbiología clínica Latinoamericana*, 2(2), 32-39.
- Nicolau, C., & Oliver, A. (2010). Carbapenemas en el género Pseudomonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 28(1), 19-28.
- NIH. (Abril de 2011). *The National Institutes of Health. Manual de paciente*. Obtenido de <http://clinicalcenter.nih.gov/>. http://clinicalcenter.nih.gov/participate/_pdf/pthbksp.pdf
- Nordmann, P., Cuzon, J., & Naas, T. (2009). Klebsiella pneumoniae-carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infectious Diseases*, 9, 228-236.
- Ochoa, S., López, F., Escalona, G., Cruz, A., & Davila, L. (2013). Pathogenic characteristics of Pseudomonas aeruginosa strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 70(2), 138-150.
- Ossa, G. (2011). Infecciones por bacilos Gram negativos. *Universidad de la Frontera*, 1-6.
- Ossa, G. (2011). Infecciones por bacilos Gram negativos. *Universidad de la Frontera*, 1-6.
- Padilla, C., Lobos, O., Padilla, R., Fuentes, L., & Núñez, L. (2007). AISLAMIENTO DE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI DESDE CASOS CLÍNICOS DE INFECCIÓN VAGINAL: ASOCIACIÓN CON OTROS MICROORGANISMOS Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIBACTERIANA. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 72(4), 222-228. doi: 10.4067/S0717-75262007000400005.
- Pérez, H., & Robles, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia. *Revista médica MD*, 4(3), 186-191.
- Pigrau, C. (2013). *Infección del tracto urinario*. Madrid. España: Salvat.
- Puerta, A., & Mateos, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-3431.
- Quizphe, A., Murray, M., Muñoz, G., Peralta, J., & Calle, K. (2011). Recuperar la salud integral y la armonía de los ecosistemas, para contener la resistencia bacteriana a los antibióticos. *ReAct Global*, 23, 1-26.

- Rivera, F., Casares, M., Ponce, M., & Suárez, B. (2013). Epidemiological, economical and assistance importance of urine culture on in-patients and out-patients. Hermanos Ameijeira Hospital. *Revista Cubana de Medicina*, 52(1), 49-59.
- Rivera, M. (2012). Betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* *Rev Esp Quimioter*, 25(2), 161-163.
- Rivera, M. (2012). Betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* *Rev Esp Quimioter*, 25(2), 161-163.
- Rodriguez, J. (2013). Infección urinaria causada por enterobacterias de betalactamasas de espectro extendido. En C. Pigrau, & C. Pigrau (Ed.), *Infección del tracto urinario* (págs. 137-143). Barcelona: Salvat.
- Rosenblatt, N. (2009). El paisaje de la resistencia a los antibióticos. *Salud Pública Méx*, 51(5), 435-442.
- Salas, M., Setas, G., & Mazón, A. (2006). Etiología y sensibilidad antibiótica de las infecciones extrahospitalarias más frecuentes. *Sin San Navarra*, 29, 27-36. doi.org/10.4321/S1137-66272006000100003.
- Sánchez, D., Carrasco, M., & Campoverde, M. (2010). *Caracterización y resistencia de proteus, pseudomona, klebsiella y enterobacter en 1000 cultivos primarios en pacientes de los hospitales Vicente corral Moscoso y José Carrasco Arteaga. Cuenca, 2008-2009.* (Tesis de grado). Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Seija, V., & Vignoli, R. (2009). Principales grupos de antibióticos. 34, 631-647.
- Seral, C., Castillo, J., & Gude, J. (2012). Emergencia de betalactamasas Ampc plámidicas (pAmpC o Cefamicinas) origen, importancia, detección, y alternativas terapéuticas. *Rev Esp Quimioter*, 25(2), 89-99.
- Silva, J., Montalvo, A., Martinez, R., Palma, R., & Delgado, A. (2012). Resistencia bacteriana en infecciones hospitalarias y adquiridas y su relación con hábitos de prescripción de medicamentos. *Tsafique. Revista de Investigación Científica*(3), 1-21.
- Siu-Au, A., Calderón, J., Guillén, A., & Silva, A. (2011). Microbial flora in the vaginal infection and comparison of two drug combination treatments. *Rev Soc Peru Med Interna*, 24(1), 1-12.
- Solórzano, A. (2005). *Betalactamas de espectro extendido en nuestro medio. Aportaciones científicas.* Granada: Editorial de la Universidad de Granada.
- SSeral, C., Pardos, M., & Castillo, J. (2010). Extended-spectrum beta-lactamases in enterobacteria other than *Escherichia coli* and *Klebsiella*. 28(1), 12-18.
- Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Beta-lactam Antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 27(2), 116-129. doi: 10.1016/j.eimc.2008.12.001.
- Sussmann, O., Mattos, L., & Restrepo, A. (2010). Resistencia bacteriana. *Universitas médica*, 51(3), 1-12.
- Tafur, J., Torres, J., & Villegas, M. (2008). Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria. *CIDEIM*, 12(3), 217-226.
- Treviño, M., Navarro, D., Areses, P., García, C., & Regueiro, B. (2012). *Proteus mirabilis*

productor de AmpC plasmídica en el Área Sanitaria de Santiago de Compostela: prevalencia y caracterización molecular por rep-PCR y MALDI-TOF MS. *Rev Esp Quimioter*, 25(2), 122-128

Vila, J., & Francisc , M. (2010). Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram. *Enferm Infecc Microbiol* , 28(10), 726–736.

WHO. (Mayo de 2010). Obtenido de World Health Organization. Medicines: rational use of medicines: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs338/en/>

WHO. (Mayo de 2013). *World Health Organization. Antimicrobial resistance*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>

WHO. (2014). Recuperado el Julio de 2014, de World Health Organization. : <http://www.who.int/drugresistance/whonetsoftware/en/>

Zavascki, A., Bulitta, J., & Landersdorfer, C. (2013). Combination Therapy for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacteria. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 11(12), 1333-1353.

Zurita, J. (2010). Resistencia bacteriana. *Brrystol Myers Squibb*, 3-6.