



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

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

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR: Rivera Quizhpe, Rita Jhomar

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

LOJA – ECUADOR

2014

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

Bioquímica Farmacéutica.

Zorayda Patricia Toledo Barrigas.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: **“Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital Manuel Ygnacio Monteros durante el período agosto-septiembre 2013”** realizado por: Rivera Quizhpe Rita Jhomar, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por lo que se aprueba la presentación del mismo.

Loja, marzo de 2014

f).

Bq.F. Zorayda Patricia Toledo Barrigas

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

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

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: Rivera Quizhpe Rita Jhomar

Cédula: 1104439805

DEDICATORIA

Dedicado especialmente a Dios, por haberme regalado salud permitiéndome así llegar hasta este punto de mi vida, por muchas bendiciones que he recibido y porque siempre en él encontré solución a todas las dificultades que se me presentaron.

A mis queridos papacitos Vismar y Rita, quienes con amor siempre estuvieron conmigo en todo momento, porque ellos han sido la base fundamental para edificar mi vida, lo que me ha permitido lograr esta meta. Por darme siempre su apoyo y valor para seguir adelante, por sus sabias palabras y consejos que me ayudaron en mi formación personal y profesional.

A mi tía Bris, a quien quiero de corazón, porque ha estado conmigo desde el momento en que más necesite de su compañía compartiendo una etapa muy importante de mi vida estudiantil, porque más que mi tía ha sido mi mejor amiga, por estar siempre pendiente de mí, por sus palabras de aliento y consejos en todo momento.

Rita Jhomar

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios, por ser la luz que guía mi camino, por regalarme salud y sabiduría.

Mi más sincero e infinito agradecimiento a mis queridos papacitos Vismar y Rita, por brindarme siempre su apoyo incondicional en todo, por educarme en valores y darme la oportunidad de tener una excelente educación durante el transcurso de mi vida estudiantil, porque por ellos he podido lograr todas mis metas, son mi ejemplo de vida a seguir y el motivo de inspiración para culminar mis estudios académicos, gracias por todos sus sacrificios y paciencia, a ustedes les debo todo.

A mi directora de tesis Bq. Zorayda Toledo, por sus valiosos conocimientos impartidos, paciencia y tiempo brindado en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis amigas y grupo de estudio: Yomaira, Abigail, Lucía, Vanesa, Cecilia, y Bq. Sofía, con quienes trabajé durante la realización de mi tesis, gracias por compartir conmigo momentos inolvidables.

Rita Jhomar

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I	5
MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. <i>Bacilos Gram negativos</i>	6
1.1.1. <i>Enterobacteriaceae</i>	6
1.1.1.1. <i>Escherichia coli</i>	6
1.1.1.2. <i>Klebsiella</i>	7
1.1.1.3. <i>Proteus</i>	7
1.1.1.4. <i>Citrobacter</i>	7
1.1.1.5. <i>Enterobacter</i>	7
1.1.2. <i>Bacilos Gram negativos no fermentadores</i>	8
1.1.2.1. <i>Acinetobacter spp.</i>	9
1.1.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
1.1.2.3. <i>Otros bacilos Gram negativos no fermentadores</i>	10

1.2. Antibióticos.....	10
1.2.1. Clasificación.....	11
1.2.1.2. Antibióticos β -lactámicos.....	12
1.2.1.2.1. Clasificación de los antibióticos β -lactámicos.....	12
1.2.1.2.1.1. Penicilinas.....	12
1.2.1.2.1.2. Cefalosporinas.....	12
1.2.1.2.1.4. Monobactams.....	13
1.2.1.2.1.5. Inhibidores de β -lactamasas.....	13
1.3. Factores que definen la sensibilidad y resistencia de los microorganismos a los antibióticos.....	15
1.4. Resistencia a los fármacos antimicrobianos.....	15
1.4.1. Tipos de resistencia.....	17
1.4.1.1. Natural o intrínseca.....	17
1.4.1.2. Adquirida.....	17
1.4.2. Mecanismos de resistencia.....	18
1.4.2.1. Modificación enzimática del antibiótico.....	18
1.4.2.1.1. Clasificación.....	19
1.4.2.1.1.1. β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).....	21
1.4.2.1.1.2. β -lactamasas tipo AmpC.....	22
1.4.2.1.1.3. Carbapenemasas.....	23
1.4.2.2. Bombas de expulsión.....	24
1.4.2.3. Cambios en la permeabilidad de la membrana externa.....	25
1.4.2.4. Alteraciones del sitio de acción.....	25
CAPÍTULO II.....	28
METODOLOGÍA.....	28
2.1. Recolección de la muestra.....	28
2.2. Identificación de la cepa.....	28
2.3. Determinación de la susceptibilidad bacteriana.....	28

2.3.1. Detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).....	29
2.3.2. Detección fenotípica de β -lactamasas tipo AmpC.	30
2.3.2.1. Detección fenotípica de β -lactamasa tipo AmpC constitutiva.	30
2.3.2.2. Detección fenotípica de β -lactamasa tipo AmpC inducible.	30
2.3.3. Detección de Carbapenemasas.....	30
2.3.4. Análisis estadístico.....	31
CAPÍTULO III	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de resistencia bacteriana.....	18
Figura 2. (A) Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección de BLEE. Se observa el efecto sinérgico (distorsión de los halos de inhibición) como indica la flecha, entre los discos de cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), aztreoman (ATM) con el disco central de amoxicilina y ácido clavulánico (AMC).....	28
Figura 2. (B) Prueba de discos combinados positivo. Se observan diferencias >5mm entre los discos de cefotaxime (CTX) y ceftazidime (CAZ) sin y con ácido clavulánico.. ..	29
Figura 3. (A) Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección fenotípica de betalactamasa tipo Ampc constitutiva.....	29
Figura 3. (B) Prueba de aproximación de discos positiva para la detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC inducible.....	30
Figura 4. Test de Hodge modificado donde se observan dos cepas positivas y una negativa.	31

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Tipos de muestras analizadas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	33
Gráfica 2. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	35
Gráfica 3. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	37
Gráfica 4. Porcentaje de resistencia a antibióticos en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	39
Gráfica 5. Mecanismos de resistencia bacteriana presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto septiembre 2013.....	41
Gráfica 6. Betalactamasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	43
Gráfica 7. Porcentaje de BLEE presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y UCI del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de muestras analizadas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	33
Tabla 2. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	34
Tabla 3. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	36
Tabla 4. Porcentaje de resistencia a antibióticos en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	39
Tabla 5. Mecanismos de resistencia bacteriana presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto septiembre 2013.....	41
Tabla 6. Betalactamasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	43
Tabla 7. Porcentaje de BLEE presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y UCI del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	44
Tabla 8. Frecuencia y porcentaje de AmpC presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	47
Tabla 9. Frecuencia y porcentaje de carbapenemasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.....	48

ABREVIATURAS

ATP	Adenosín trifosfato
AmpC	Betalactamasa tipo AmpC
AMC	Amoxicilina con ácido clavulánico
ATM	Aztreonam
AMK	Amikacina
AMP	Ampicilina
BLEE	Betalactamasas de espectro extendido
BGNMF	Bacilos gramnegativos no fermentadores
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
IMI	Imipenem
LPS	Lipopolisacárido
NAL	Ácido nalidíxico
NET	Netilmicina
PBP	Proteínas de anclaje de penicilinas
Ph	Potencial de hidrógeno

SAM	Ampicilina con sulbactam
TZP	Piperacilina con tazobactam
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
WHONET	World Health Organization. Net

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad identificar y determinar los mecanismos de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013. Se recolectó un total de 72 cultivos; siendo la muestra de orina más frecuente, constituyendo el 56,9% (n= 41). La identificación de cepas se realizó mediante pruebas bioquímicas, con mayor frecuencia se aisló *Escherichia coli*, encontrándose el 61,5% en hospitalización y el 60% en UCI. El perfil de susceptibilidad de las cepas aisladas se analizó mediante el programa WHONET versión 5.4. Posteriormente se confirmó la producción de betalactamasas mediante las pruebas de sinergia de doble disco y disco combinado, encontrándose 37 cepas productoras de betalactamasas distribuidas de la siguiente manera; cepas productoras de BLEE: 21 (46,7%) en hospitalización y 11 (24,4%) en UCI; cepas productoras de AmpC: 2 (10%) en hospitalización y 1 (5%) en UCI; cepas productoras de carbapenemasas: 2 (20%) en hospitalización y UCI. Los resultados denotan que a nivel hospitalario existe una alta prevalencia de BLEE en dicha entidad de salud.

PALABRAS CLAVE: bacilos Gram negativos, resistencia bacteriana, betalactamasas.

ABSTRACT

The following investigation work has as objective to identify and determinate the bacterial resistance mechanism in gram-negative bacillus from isolated cultures of clinic samples in hospitalized patients of the "Manuel Ygnacio Monteros" hospital during the period August-September 2013. It was recollected 72 cultures; the urine sample was the most frequent, being the 56, 9% (n=41). The strain identification was performed by biochemical tests, being the most common the *Escherichia coli*, it was found in 61, 5% in hospitalization and 60% in intensive care unit (ICU). The susceptibility profile of the isolated strains was analyzed using the WHONET program, 5.4 versions. After that was confirmed the production of beta lactamase using the synergy test of double disc and combined disc, founding beta lactamase producer strains distributed as the following way: ESBL producer strains: 21 (46,7%) in hospitalization and 11 (24,4%) in ICU; AmpC producer strain: 2 (10%) in hospitalization and 1 (ICU); Carbapenemases producer strains: 2 (20%) in hospitalization and ICU. The obtained results show that in a hospital level there is a high prevalence of ESBL in that health center.

KEY WORDS: Gram-negative bacillus, bacterial resistance, beta-lactamases

INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antibióticos constituye un problema serio de salud pública en el mundo el cual se agudizado durante los últimos años, especialmente en los países subdesarrollados donde carecen de políticas apropiadas para la utilización de estos fármacos, contribuyendo a su uso indiscriminado y por consiguiente a la aparición de cepas bacterianas multirresistentes a los antibióticos. Las cepas bacterianas resistentes son altamente transmisibles y se diseminan rápidamente debido a la infraestructura ineficiente en salud pública y las prácticas de control erradas de las infecciones (Sandrea, *et al.* 2007).

En el medio hospitalario la severidad del proceso infeccioso y la resistencia bacteriana a los antibióticos son los mayores problemas a que se enfrenta día a día el grupo de salud de los hospitales (Martín & Carmona, 2003). Las áreas de cirugía y terapia intensiva, representan sitios propicios para el desarrollo de infecciones intrahospitalarias por bacterias resistentes a antibióticos (Albarado, *et al.* 2009).

No obstante, la resistencia de las bacterias Gram negativas de importancia clínica a los antibióticos se presenta fundamentalmente en la familia *Enterobacteriaceae* y en bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF) (Casellas, 2011). La resistencia bacteriana a los antimicrobianos es la capacidad que desarrollan los microorganismos para eludir la acción destructiva de los antibióticos (Padgett, *et al.* 2011).

De hecho, uno de los grupos de antibióticos mayormente utilizados en la actualidad y con gran significancia clínica es el llamado grupo de los β -lactámicos, los cuales incluyen penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenems y monobactams, entre otros, los cuales son ampliamente utilizados para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas, debido a su baja toxicidad y su amplio espectro de acción (Sandrea, *et al.* 2007).

Sin embargo, los microorganismos son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia a los antibióticos, entre ellos: modificación enzimática del antibiótico, bombas de expulsión y cambios en la permeabilidad de la membrana. Siendo el principal mecanismo la producción de β -lactamasas, las mismas que son capaces de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas, esto evita que dichos antibióticos puedan unirse a las proteínas transportadoras (PBP) y de esta forma impedir la formación de la pared bacteriana, por lo que no se logra la lisis bacteriana. Algunas de estas enzimas son las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), β -talactamsas tipo AmpC y carbapenemasas (Navarro, *et al.* 2011).

La prevalencia de la producción de BLEE varía geográficamente y la administración indiscriminada de cefalosporinas de amplio espectro es un factor común en las instituciones. Existen factores de riesgo específicos para adquirir una cepa productora de BLEE, como una estadía prolongada en el hospital, la severidad de la enfermedad, el tiempo de permanencia en UCI, la intubación y la respiración mecánica asistida, el uso de catéteres urinarios o arteriales y la exposición previa a los antibióticos (Sánchez, *et al.* 2008).

A pesar de la importancia de este problema son pocas las investigaciones realizadas sobre este tema a nivel local y no se dispone en la actualidad de datos consolidados que describan la magnitud de la resistencia bacteriana en los hospitales o que describa la respuesta que desde los sistemas y políticas de salud, se ha dado a esta situación. Teniendo en cuenta que las bacterias Gram negativas tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y que la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica (Tafur, *et al.* 2008), es importante identificar y determinar a nivel de la Provincia de Loja los mecanismos de resistencia más prevalentes en bacterias Gram negativas en pacientes hospitalizados en el Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

Para ello, primeramente se realizó la identificación de cepas mediante pruebas bioquímicas, seguidamente se determinó el perfil de susceptibilidad de las cepas aisladas de acuerdo con las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI, 2012). Posteriormente la producción de β -lactamasas se confirmó mediante las pruebas de sinergia de doble disco y disco combinado.

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

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

1.1. Bacilos Gram negativos

El grupo de bacilos Gram negativos no exigentes incluye diferentes familias y géneros muchos de ellos muy frecuentes en patología médica. Comparten algunas características tales como poseer en su pared externa un lipopolisacárido (LPS), que les otorga características patogénicas particulares, tóxicas, la llamada endotoxina de las bacterias Gram negativas (Brooks, *et al.* 2008).

La resistencia de las bacterias Gram negativas de importancia clínica a los antibacterianos se presenta fundamentalmente en la familia *Enterobacteriaceae* y en bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF) (Casellas, 2011).

1.1.1. *Enterobacteriaceae*.

La familia *Enterobacteriaceae* incluye múltiples géneros y especies de bacilos Gram negativos, algunos de los cuales son patógenos para el ser humano (Casellas, 2011). Está formada por bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos (Prats Pastor, 2013). Fermentan la glucosa, reducen los nitratos a nitritos, crecen en agar MacConkey, son catalasa positivos y oxidasa negativos (Forbes, *et al.* 2009). Se encuentran de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación y también en la flora intestinal normal de muchos animales, incluido el ser humano (Murray, *et al.* 2009). En el caso de las especies que suelen colonizar a los seres humanos pueden producirse infecciones cuando las cepas bacterianas propias de un paciente establecen infecciones en un sitio del cuerpo que por lo general es estéril. Estos microorganismos también pueden transmitirse de un paciente a otro y esas infecciones a menudo dependen del estado de debilidad de un paciente hospitalizado y se adquieren en el hospital (Forbes, *et al.* 2009).

1.1.1.1. *Escherichia coli*.

Es la especie bacteriana más común encontrada en el tracto gastrointestinal de los seres humanos, y el patógeno, más común de las enterobacterias. *Escherichia coli* es parte de la flora intestinal de los individuos sanos; sin embargo, ciertas cepas pueden causar infecciones extraintestinales e intestinales en individuos sanos o inmunocomprometidos. Las infecciones del tracto urinario, bacteriemia, meningitis, y enfermedad diarreica son los síndromes clínicos más comunes (Díaz, *et al.* 2007).

La eficacia de *Escherichia coli* como patógeno se ilustra por el hecho de que estas bacterias son: 1) los bacilos Gram negativos que con más frecuencia se aíslan de pacientes con sepsis; 2) responsables del más del 80% de las infecciones del tracto urinario adquiridas en

la comunidad y del mismo número de las infecciones hospitalarias, y 3) una causa destacada de gastroenteritis en los países en vías de desarrollo. La mayor parte de las infecciones (salvo la meningitis y la gastroenteritis neonatales) son endógenas, de forma que *Escherichia coli* de la propia flora microbiana normal del paciente consigue ocasionar infección cuando sus defensas se alteran (Murray, *et al.* 2009).

1.1.1.2. Klebsiella.

Las bacterias pertenecientes al género *Klebsiella* poseen una cápsula prominente que confiere el aspecto mucoso a las colonias aisladas y la mayor virulencia de los microorganismos in vivo. Los miembros de este género que se aíslan con mayor frecuencia son *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* (Murray, *et al.* 2009). La más frecuente es *Klebsiella pneumoniae*, capaz de producir neumonía lobar clásica, que es una característica de otras bacterias encapsuladas (Ryan & Ray, 2005).

1.1.1.3. Proteus.

La infección del aparato urinario por *Proteus mirabilis* es la enfermedad más frecuente causada por este género. *Proteus mirabilis* produce grandes cantidades de ureasa, que escinde la urea en dióxido de carbono y amonio. Este proceso eleva el pH urinario, precipitan el magnesio y el calcio en forma de cristales de estruvita y apatita, respectivamente, y dan lugar a la formación de cálculos renales (Murray, *et al.* 2009).

1.1.1.4. Citrobacter.

Los miembros del género *Citrobacter*, son causa poco frecuente de infecciones oportunistas; no producen enterocolitis ni fiebre intestinal. Las cepas de *Citrobacter* pueden formar parte de la flora intestinal normal y producir infecciones oportunistas (Ryan & Ray, 2005).

1.1.1.5. Enterobacter.

Las especies de *Enterobacter* por lo general fermentan la lactosa con mayor rapidez y producen colonias semejantes a las de *Klebsiella*, aunque no tan mucoides. Las especies de *Enterobacter*, que parecen ser menos virulentas que las de *Klebsiella*, suelen encontrarse en infecciones mixtas. La mayor parte de aislamientos son resistentes a cefalosporinas de primera generación, pero pueden ser susceptibles a las de segunda y tercera generaciones; sin embargo, aparecen mutantes que producen β -lactamasa con frecuencia relativamente elevada y que confieren resistencia contra muchas cefalosporinas (Ryan & Ray, 2005).

Las infecciones producidas por *Enterobacter* y *Citrobacter* son infrecuentes en pacientes inmunocompetentes. Con mayor frecuencia son responsables de infecciones nosocomiales en neonatos y en pacientes inmunodeprimidos (Murray, *et al.* 2009).

Muchas enterobacterias tienen una β -lactamasa cromosómica (de las clases A o C) y expresan de forma basal o aumentada bombas de expulsión activa, lo que determina una resistencia intrínseca a bastantes antimicrobianos. Además, se pueden seleccionar con facilidad mutaciones cromosómicas en los genes que codifican las topoisomerasas de clase II (relacionadas con la resistencia a quinolonas) o las porinas (responsables de un ligero incremento del nivel basal de resistencia a múltiples compuestos). También adquieren fácilmente plásmidos que codifican otras β -lactamasas y mecanismos de resistencia a aminoglucósidos (enzimas modificadoras y metilasas), a quinolonas (proteínas Qnr) o a otros grupos de antimicrobianos clínicamente relevantes.

La mayoría de estudios han relacionado la multirresistencia en enterobacterias con la presencia de β -lactamasas adquiridas, en especial las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), las cefamicinasas (enzimas de clase C) plasmídicas y las carbapenemasas (Casellas, 2011).

1.1.2. Bacilos Gram negativos no fermentadores.

Este grupo de microorganismos son bacilos Gram negativos, aeróbicos que no forman esporas, la mayoría de ellos son móviles debido a la presencia de uno o varios flagelos polares, son catalasa positivos y casi todos son oxidasa positivos. Crecen en agar MacConkey como no fermentadores de la lactosa y utilizan la glucosa oxidativamente (Díaz, *et al.* 2007).

En el medio hospitalario de Latinoamérica, el mayor problema de resistencia es ocasionado por las infecciones por bacilos Gram negativos no fermentadores. Si bien este grupo de bacterias es numeroso, las especies más problemáticas, por su resistencia extrema, son *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*. Ambas son multirresistentes, aunque tienen diferencias notables en su virulencia. Mientras que las especies de *Acinetobacter* 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, las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* 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. Como consecuencia, los aislados de *Acinetobacter* spp. son frecuentemente colonizadoras, en tanto que los de *Pseudomonas*

aeruginosa suelen ser patógenos. Estas especies tienen dos factores en común que facilitan su permanencia en el hospital: 1) capacidad de crecer con fuentes muy simples de nitrógeno y carbono. Pueden utilizar fuentes exóticas y complejas de carbono, y 2) tienen capacidad de resistir la desecación y la humedad, ya que el suelo y el agua son su hábitat natural (Casellas, 2011).

1.1.2.1. *Acinetobacter* spp.

El género *Acinetobacter* incluye actualmente más de 20 genoespecies; la bioespecie más frecuente en infecciones hospitalarias (> 90%) corresponde a *Acinetobacter baumannii*, de fácil diagnóstico, y cuya resistencia a antibióticos ha sido bien estudiada (Casellas, 2011). *Acinetobacter baumannii* causa infecciones oportunistas en pacientes hospitalizados, las más frecuentes son neumonía nosocomial asociada a ventilador y bacteriemia secundaria a infecciones respiratorias (Díaz, *et al.* 2007). Coloniza con frecuencia la piel humana y aunque no es un germen entérico, se ha demostrado que el tracto digestivo es el mayor reservorio en las epidemias de infección por *Acinetobacter baumannii* (Larrondo, 2010). En el medio hospitalario se ha aislado en humidificadores, ventiladores, la piel del personal de salud, colchones, cojines y otros equipamientos. Se ha reportado una sobrevivencia en superficies secas mayor a 25 días, por lo cual se le relaciona con brotes nosocomiales.

En Latinoamérica, las bacteriemias ocasionadas por este microorganismo, representan 5,3% de los aislamientos de bacteriemias nosocomiales (Díaz, 2010).

1.1.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*.

El género *Pseudomonas* incluye múltiples especies con amplia distribución en diversos ambientes, en especial los húmedos. La especie más importante en patología humana es *Pseudomonas aeruginosa*, que causa infecciones graves, con elevada morbimortalidad, en pacientes inmunosuprimidos, principalmente en el ámbito hospitalario, en UCI y en unidades de críticos oncohematológicos; además, es la causa más frecuente de infección respiratoria crónica en pacientes con fibrosis quística. Las infecciones nosocomiales generalmente incluyen neumonías, bacteriemias, infección de herida quirúrgica e infecciones de vías urinarias (Fariñas & Martínez, 2013).

Pseudomonas aeruginosa coloniza cualquier órgano o tejido (desde una simple herida o quemadura), invadir el oído externo y colonizar las vías urinarias, los pulmones, el endocardio, la córnea y los huesos. De una infección localizada en alguno de esos tejidos,

puede diseminarse por el torrente circulatorio, producir septicemias de alta gravedad e instalarse en otros tejidos, dando lugar a procesos supurativos (Romero, 2007).

1.1.2.3. Otros bacilos Gram negativos no fermentadores.

Se han descrito infinidad de bacilos Gram negativos no fermentadores causantes de patología humana. De entre los de mayor relevancia hemos de mencionar diversas especies; *Stenotrophomonas maltophilia* (probablemente el agente de mayor interés en esta amplio grupo), *Burkholderia cepacia complex*, *Chryseobacterium spp.*, *Myroides spp.*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Ochrobactrum anthropi*, *Shewanella putrefaciens-algae*, *Sphingomonas paucimobilis*, etc.

Stenotrophomonas maltophilia se encuentra con mayor frecuencia en las vías respiratorias de pacientes intubados, donde a menudo es difícil establecer la diferencia entre si es colonizador o patógeno. También se ha descrito la infección relacionada con catéteres venosos centrales (con o sin bacteriemia), las cuales son más frecuentes en pacientes inmunosuprimidos con neoplasias. Presenta resistencia intrínseca a la mayor parte de los antibióticos (incluidos los carbapenems), lo cual hace difícil su tratamiento. Los antibióticos a los que es más habitualmente sensible (aunque no de manera uniforme) son trimetoprim-sulfametoxazol, ticarcilina-clavulánico y, quizá, algunas quinolonas (levofloxacino, moxifloxacino) (Fariñas & Martínez, 2013).

No obstante, los microorganismos son naturalmente sensibles a unos antimicrobianos y resistentes a otros. Además, la mayoría de ellos pueden adquirir resistencia a antimicrobianos a los que previamente eran sensibles. Por ello una de las actividades más relevantes que se realiza en un laboratorio de microbiología clínica es la de determinar la sensibilidad o la resistencia de los microorganismos a los diferentes antimicrobianos, para orientar el tratamiento antibiótico (Prats, 2013).

1.2. Antibióticos

La historia de los antibióticos comienza en 1928 con el descubrimiento de la penicilina. La generalización de su empleo permitió reducir la mortalidad por enfermedades infecciosas. Desde entonces y hasta nuestros días se ha desarrollado un elevado número de antibióticos (Cruz & Díaz, 2010).

Los antibióticos son sustancias antimicrobianas producidas por diversas especies de microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos) (Brunton, *et al.* 2007), que en bajas concentraciones es capaz de inhibir e, incluso, destruir otros microorganismos sin producir

efectos tóxicos en el huésped. Una propiedad común de todos los antibióticos es la toxicidad selectiva: presentan una toxicidad hacia los organismos invasores superior a la que muestran frente a animales o seres humanos (Lorenzo, *et al.* 2013).

1.2.1. Clasificación.

- Por su estructura química: los antibióticos se agregan en familias, con propiedades generales similares.
- Por su espectro de acción:
 - De amplio espectro: tetraciclinas, cloranfenicol y algunos β -lactámicos.
 - De espectro intermedio: macrólidos y aminoglucósidos.
 - De espectro reducido: glucopéptidos.
- Por su efecto antimicrobiano:
 - Bacteriostáticos (bloquean del desarrollo de las bacterias): tetraciclinas, sulfamidas, trimetoprima, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas.
 - Bactericidas (provocan la muerte bacteriana): β -lactámicos, aminoglucósidos, fosfomicina, nitrofurantoína, polipéptidos, quinolonas, rifampicina y vancomicina.
- Por su mecanismo de acción:
 - Inhibidores de la síntesis de la pared celular: β -lactámicos (p.ej., penicilinas, cefalosporinas y carbapenem) y otros medicamentos como cicloserina, vancomicina y bacitracina.
 - Inhibidores de la permeabilidad de la membrana plasmática: aumentando la permeabilidad y provocando la salida de compuestos intracelulares, como detergentes del tipo de polimixina; antimicóticos de tipo polieno (p. ej., niostatina y anfotericina B) que se adhieren a los esteroides de la pared celular y el polipéptido daptomicina.
 - Inhibidores de la síntesis proteica: alteran la función de las subunidades ribosómicas 30S o 50S para inhibir en forma reversible la síntesis de proteínas, que suelen ser bacteriostáticos (p. ej., cloranfenicol, tetraciclinas, eritromicina, clindamicina, estreptograminas y linezólido).
 - Inhibidores de la síntesis o función de ácidos nucleicos: estos agentes antimicrobianos pueden actuar interfiriendo en la replicación del DNA (quinolonas), impidiendo la transcripción (rifamicinas y nitroimidazoles) o inhibiendo la síntesis de metabolitos esenciales (sulfamidas, trimetoprima, ácido paraaminosalicílico, sulfonas) (Brunton, *et al.* 2007).

Por su menor nivel de toxicidad y efectos secundarios, los β -lactámicos representan el grupo de antimicrobianos de uso más habitual en la terapéutica anti-infecciosa (Espino, *et al.* 2010).

1.2.1.2. Antibióticos β -lactámicos.

Los antibióticos β -lactámicos constituyen uno de los grupos más importantes dentro de la terapéutica anti-infecciosa, puesto que continúan siendo el tratamiento de primera elección en numerosos procesos infecciosos (Lorenzo, *et al.* 2013). Inhiben la síntesis de las paredes celulares bacterianas, y se fundamenta en la similitud química de los núcleos bases en su estructura molecular; lo que permite agrupar familias con características fisicoquímicas y farmacológicas comunes (Cruz & Díaz, 2010).

1.2.1.2.1. Clasificación de los antibióticos β -lactámicos.

Los antibióticos β -lactámicos son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura química el anillo β -lactámico, que resulta de la unión de alanina y β -dimetilcisteína. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana. Constituyen la familia más numerosa de antibióticos y la más utilizada en la práctica clínica.

Este grupo comprende las penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactams y los inhibidores de β -lactamasas (Cuadro 1) (Lorenzo, *et al.* 2013).

1.2.1.2.1.1. Penicilinas.

Son un grupo de antibióticos de origen natural y semisintético que poseen en su estructura un anillo tiazolidínico unido a un anillo β -lactámico. La cadena lateral del anillo β -lactámico determina las propiedades farmacológicas concretas de las diferentes penicilinas. Los microorganismos sensibles tienen proteínas fijadoras de penicilinas a las que se une el antibiótico. Esta interacción inhibe la formación de enlaces cruzados peptídicos dentro de la pared de la célula microbiana y activa indirectamente las enzimas autolíticas. El resultado de todo esto es la lisis del microorganismo (Yassin, 2011).

1.2.1.2.1.2. Cefalosporinas.

Se parecen químicamente a las penicilinas, poseen un similar mecanismo de acción. En otras palabras, inhiben la formación de la pared celular de las bacterias pero difieren de ellas en que el anillo tiazolínico de cinco miembros está sustituido por un anillo dihidrotiacínico de seis miembros con un grupo sulfuro (Lorenzo, *et al.* 2013). Ante estas modificaciones las

cefalosporinas son más estables frente a muchas β -lactamasas y, por tanto, tienen un espectro de actividad más amplio. (Katzung, *et al.* 2010).

Se ha clasificado a las cefalosporinas como de primera, segunda, tercera y cuarta generación según su orden de aparición. Así, las cefalosporinas de segunda generación son más activas frente a bacterias Gram negativas que las de primera generación, y menos que las de tercera y cuarta generación (Castells & Hernández, 2007).

1.2.1.2.1.3. Carbapenems.

La estructura básica de los carbapenems consiste en un anillo β -lactámico fusionado a un pirrolidínico compartiendo un nitrógeno (Castells & Hernández, 2007). Constituyen una clase de antibióticos de amplio espectro con estabilidad contra β -lactamasas y β -lactamasas AmpC cromosómico. Son bien tolerados por los pacientes y eficaces en el tratamiento de una variedad de infecciones bacterianas, siendo activos frente a numerosos patógenos Gram positivos y Gram negativos, aerobios y anaerobios. Su amplio espectro, así como su baja toxicidad los hace importantes quimioterápicos en el tratamiento de pacientes con infecciones bacterianas. Sin embargo, estos agentes deben usarse con mucho cuidado para minimizar el riesgo de desarrollo de organismos resistentes a carbapenems (Mendoza, 2008).

1.2.1.2.1.4. Monobactams.

Son antimicrobianos que presentan un anillo β -lactámico monocíclico en su estructura, al que se unen diferentes radicales. La acción antimicrobiana del aztreonam difiere de la de otros antibióticos β -lactámicos y se asemeja muy íntimamente a la de un aminoglucósido. El aztreonam posee actividad únicamente contra bacterias Gram negativas; carece de actividad contra bacterias Gram positivas y microorganismos anaerobios. Sin embargo, es excelente su actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (Brunton, *et al.* 2007).

1.2.1.2.1.5. Inhibidores de β -lactamasas.

El aumento de resistencias por la producción de β -lactamasas obligó a que se crearan compuestos capaces de resistir la hidrólisis de estas enzimas y de sustancias que inhibieran su actividad (Castells & Hernández, 2007).

El primero en desarrollarse fue el ácido clavulánico. Este grupo de compuestos presentan el anillo β -lactámico en su estructura, pero tienen muy baja actividad antibacteriana. Son capaces de unirse de forma irreversible a las β -lactamasas e inactivarlas (Lorenzo, *et al.* 2013).

Cuadro 1. Clasificación de los antibióticos β -lactámicos.

PENICILINAS	CEFALOSPORINAS	CARBAPENEMS
<u>Bencilpenicilina</u>	<u>Primera generación</u>	Imipenem
Penicilina G (procaína, benzatina)	Cefalotina	Meropenem
Fenoxialquilpenicilina	Cefazolina	Ertapenem
Penicilina V	Cefalexina	INHIBIDORES β-LACTÁMICOS
<u>Dimetoxifenilpenicilina</u>	Cefapirina	Ácido clavulánico
Meticilina	Cefadroxilo	Sulbactam
<u>Etoxinafilpenicilina</u>	Cefradina	Tazobactam
Nafcilina	<u>Segunda generación</u>	MONOBACTAMS
<u>Isoxazolilpenicilinas</u>	Cefoxitina	Aztreoman
Oxacilina	Cefuroxima	
Cloxacilina	Cefaclor	
Dicloxacilina	Cefonicid	
<u>Aminopenicilinas</u>	Cefprozilo	
Ampicilina	<u>Tercera generación</u>	
Amoxicilina	Cefminox	
<u>Carboxipenicilinas</u>	Cefotaxima	
Carbenicilina	Ceftazidima	
Ticarcilina	Cefditoreno	
<u>Ureidopenicilinas</u>	Ceftriaxona	
Azlocilina	Cefixima	

Mezlocilina Piperacilina	Cefpodoxima Ceftibuteno <u>Cuarta generación</u> Cefepima	
-----------------------------	---	--

Fuente: Lorenzo, *et al.* 2013

1.3. Factores que definen la sensibilidad y resistencia de los microorganismos a los antibióticos

Los microorganismos pueden adaptarse a las presiones ambientales en diversas formas eficaces y su respuesta a la presión por antibióticos no es la excepción. Una consecuencia inevitable del uso de antimicrobianos es la selección de microorganismos resistentes. El uso exagerado e inapropiado de los antibióticos ha favorecido un aumento importante en la prevalencia de microorganismos patógenos resistentes a múltiples fármacos (Katzung, *et al.* 2010).

El tratamiento satisfactorio de una infección con antibióticos depende finalmente de la concentración del antibiótico en el sitio de infección. Esta concentración debe ser suficiente como para inhibir el crecimiento del agente causal. Si las defensas del hospedador se encuentran intactas y activas, basta con un efecto inhibitor mínimo, como el que proporcionan los bacteriostáticos (p.ej., sustancias que interfieren en el crecimiento o la multiplicación del microorganismo sin aniquilarlo). Por otro lado, cuando las defensas del hospedador son deficientes, se necesita un antibiótico aniquilador (es decir, con efecto bactericida) para erradicar la infección. La concentración del fármaco en el sitio de infección no sólo debe inhibir al microorganismo sino también permanecer por debajo de la concentración que es tóxica para las células humanas. Si esto se logra, se considera que el microorganismo es sensible al antibiótico. Cuando la concentración inhibitora o bactericida es mayor de la que se puede utilizar con cierto margen de seguridad in vivo, se considera que el microorganismo es resistente a ese fármaco (Brunton, *et al.* 2007).

1.4. Resistencia a los fármacos antimicrobianos

El problema de la resistencia a los antibióticos es global, complejo, incluye un gran número de especies bacterianas de importancia médica y es de difícil control por su multicausalidad

(Benavides, *et al.* 2005). La resistencia a antibióticos se ha convertido en un serio problema de salud pública con implicaciones sociales y económicas en todo el mundo (Cabrera & Mejía, 2008).

El consumo masivo de antibióticos en los últimos 50 años ha creado un ambiente favorable a la selección de bacterias que soportan los efectos tóxicos de los antimicrobianos. Los cambios en la ecología de las infecciones nosocomiales observadas en los hospitales desde la introducción de los agentes antimicrobianos han sido ampliamente documentados.

Entre los factores que han contribuido al aumento de la resistencia a los antibióticos están la concentración de la población en centros urbanos, el inadecuado control de las infecciones en los hospitales, la tendencia a internar en hospitales a los pacientes seriamente enfermos, la migración masiva a través de las regiones del globo y el uso inadecuado de los antibióticos, entre otros (Benavides, *et al.* 2005).

Las consecuencias del uso indiscriminado de antibióticos no se han demostrado claramente, pero es muy probable que este uso influya en una hospitalización más prolongada, toxicidad innecesaria, selección de organismos resistentes y aumento considerable en los costos para las instituciones. Aunque las infecciones bacterianas continúan causando mortalidad y morbilidad sustanciales a nivel mundial, no existen criterios estándar para determinar la relación entre infección y muerte, o la contribución de la resistencia a la mortalidad y a la morbilidad (Briones, 2006).

Una enfermedad nosocomial es una enfermedad que no muestra evidencias de su presencia, ni de estar siendo incubada en el momento del ingreso a un hospital; se adquiere como consecuencia de la estadía en un hospital.

Aunque se realicen todos los esfuerzos posibles para eliminar o controlar la proliferación de microorganismos en el hospital, el ambiente hospitalario es un reservorio importante de diversos patógenos. Esto se debe en parte a que ciertos miembros de la microflora normal del cuerpo humano son oportunistas y representan un peligro particularmente grande para los pacientes hospitalizados (Tortora, *et al.* 2007).

La prevalencia de la producción de las BLEE varía geográficamente y la administración indiscriminada de cefalosporinas de amplio espectro es un factor común en las instituciones. Existen factores de riesgo específicos para adquirir una cepa productora de BLEE, como una estadía prolongada en el hospital, la severidad de la enfermedad, el tiempo de permanencia en la unidad de cuidados intensivos, la intubación y la respiración mecánica asistida, el uso de catéteres urinarios o arteriales y la exposición previa a los antibióticos.

Muchos de los pacientes infectados con cepas productoras de BLEE se encuentran en la unidad de cuidados intensivos aunque la infección también puede ocurrir en la sala de cirugía y en otras áreas del hospital (Sánchez, 2008).

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos es la capacidad que desarrollan los microorganismos para eludir la acción destructiva de los antibióticos (Padgett, *et al.* 2011). La resistencia bacteriana a los antimicrobianos es un fenómeno inquietante que reduce las posibilidades de tratamiento de las enfermedades infecciosas y conduce a que enfermedades antes curables se vuelvan difíciles de tratar, mientras que otras que se creían controladas se hayan incrementado (González, *et al.* 2006).

En los hospitales, las unidades de cuidados intensivos (UCI), debido a sus características permiten la concentración de los factores que conllevan a la resistencia bacteriana: uso frecuente de antibióticos de amplio espectro, uso de procedimientos y dispositivos invasivos, pacientes con alta frecuencia de comorbilidad y estancias prolongadas, entre otras. Por tanto, es frecuente observar mayores tasas de resistencia bacteriana en los aislamientos de microorganismos provenientes de estas unidades (Álvarez, *et al.* 2006).

Actualmente 70% de las bacterias responsables de las infecciones nosocomiales son resistentes al menos a uno de los antibióticos más comúnmente utilizados para tratarlas. Las bacterias se adaptan rápidamente a las condiciones de su medio, aun en la presencia de estos fármacos. Los antibióticos difieren de los otros medicamentos porque no sólo ejercen un efecto terapéutico sino que alteran también la ecología de la microflora del cuerpo y del medio externo (Benavides, *et al.* 2005).

Un antibiótico puede no tener acción o perder su efectividad bacteriostática o bactericida frente a microorganismos que inicialmente eran sensibles. Este fenómeno, llamado << resistencia >> puede ser natural o adquirida.

1.4.1. Tipos de resistencia.

1.4.1.1. Natural o intrínseca.

Es innata y se debe a la ausencia del target o sitio de acción del antibiótico en la célula microbiana.

1.4.1.2. Adquirida.

Es aquella que se origina en un cambio genético en el genoma bacteriano por mutación o por adquisición de plásmidos y transposones desde otras bacterias, a través de los

siguientes fenómenos: transformación, transducción y conjugación. Estos fenómenos de intercambio genético son los responsables de la diseminación de la resistencia una vez que ésta emerge tanto en la comunidad como en los hospitales donde adquiere gran relevancia en las infecciones intrahospitalarias. (Maggiolo, 2008).

1.4.2. Mecanismos de resistencia.

Se denomina diana de un antibiótico aquella estructura o enzima a la que se une el antibiótico y sobre la que actúa, de modo que como consecuencia de esa acción se inactiva o mata a la bacteria. Para que un antibacteriano actúe es necesario que penetre al interior de la bacteria alcanzando una concentración intracelular suficiente para unirse a su diana. Los antimicrobianos para penetrar en las bacterias deben atravesar la pared y la membrana celular del microorganismo (Prats, 2013).

Los mecanismos por los que una bacteria puede adquirir resistencia a los antibacterianos son (Figura 1):

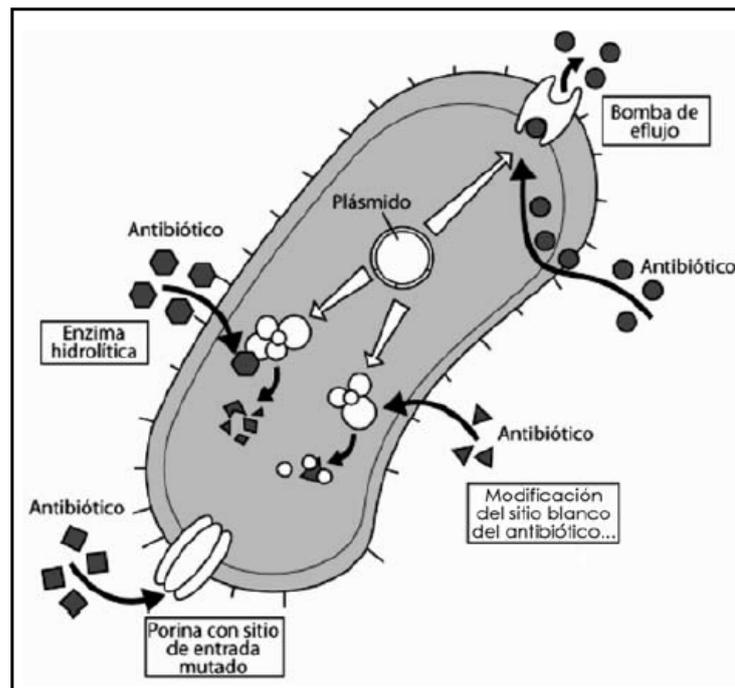


Figura 1. Mecanismos de resistencia bacteriana.

Fuente: (Tafur, *et al.* 2008)

1.4.2.1. Modificación enzimática del antibiótico.

Las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad. Las enzimas que inactivan penicilinas y

cefalosporinas son llamadas β -lactamasas, las mismas son capaces de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas, esto evita que dichos antibióticos puedan unirse a las proteínas transportadoras (PBP) y de esta forma impedir la formación de la pared bacteriana, por lo que no se logra la lisis bacteriana.

1.4.2.1.1. Clasificación.

El desarrollo de las β -lactamasas ha provocado la creación de distintas clasificaciones, desde la de *Sawai* y otros, en 1968, pasando por la conocida de *Richmond* y *Sykes*, en 1973, hasta la más moderna: la creada por *Ambler*, en 1980, basada en la estructura molecular y la secuencia de aminoácidos de las β -lactamasas. Esta reconoce 4 tipos moleculares denominados; A, B, C y D. Los tipos A, C, D poseen serina (serinoenzimas) en su zona activa, las del grupo B poseen una o más moléculas de zinc (metaloenzimas).

La clasificación más utilizada en la actualidad es la desarrollada por *Bush*, *Medeiros* y *Jacoby*, en 1995, basada en los sustratos que las enzimas hidrolizan y en la inhibición de su actividad por el ácido clavulánico, EDTA, aztreonam u oxacilina. En esta clasificación se definen 4 grupos (Cuadro 2) (Morejón, 2013).

Cuadro 2. Clasificación de las β -lactamasas de Bush, Jacoby y Medeiros.

Grupo Funcional y subgrupo	Clase Molecular (Ambler)*	Características
1	C	Cefalosporinasas, a menudo cromosómicas, pero pueden ser plasmídicas. Resistencia a todos los β -lactámicos, excepto carbapenems (a no ser que coexistan alteraciones en las porinas). No inhibidas por el ácido clavulánico.
2	A,D	Penicilinasas, cefalosporinasas o ambas. La mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico (salvo casos de hiperproducción).

2a	A	<p>Penicilinasas. Incluye las de Enterococcus y Staphylococcus.</p> <p>Resistencia a penicilinas.</p> <p>Inhibidas por el ácido clavulánico.</p>
2b	A	<p>β-lactamasas de amplio espectro (penicilinasas y cefalosporinasas), incluyendo TEM-1 y SHV-1.</p>
2be	A	<p>β-lactamasas de espectro extendido (BLEE).</p> <p>Resistencia a oximino-cefalosporinas y a monobactams (aztreonam).</p>
2br	A	<p>β-lactamasas tipo IRT (Inhibidor Resistant TEM).</p> <p>Resistentes a los inhibidores de β-lactamasas ácido clavulánico y sulbactam, pero sensibles a tazobactam.</p>
2c	A	<p>Enzimas hidrolizantes de carbenicilina fundamentalmente, con algún efecto sobre cloxacilina.</p>
2d	D	<p>Enzimas hidrolizantes de cloxacilina (oxacilina) fundamentalmente, con algún efecto sobre carbenicilina.</p> <p>Inhibidas escasamente por ácido clavulánico.</p> <p>Algunas son BLEE (BLEE tipo OXA).</p>
2e	A	<p>Cefalosporinasas y aztreonamasas. Inhibidas por ácido clavulánico.</p>
2f	A	<p>Serina-β-lactamasas.</p> <p>Carbapenemasas.</p> <p>Inhibidas por ácido clavulánico.</p>

3a, 3b, 3c	B	<p>Metallo (Zn)-β-lactamasas.</p> <p>Resistencia a carbapenems y a todos los β-lactámicos, excepto los monobactams.</p> <p>No inhibidas por el ácido clavulánico.</p>
4		<p>Miscelánea.</p> <p>Penicilinas no incluidas en los otros grupos.</p> <p>No inhibidas por ácido clavulánico.</p>
<p>* Basada en las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas. Las clases A, C y D actúan mediante un mecanismo basado en la serina. La clase B necesita zinc.</p>		

Fuente: (Morejón García, 2013)

El principal mecanismo de resistencia a los antibióticos β -lactámicos en bacilos Gram negativos es la producción de β -lactamasas. Por un lado enzimas que ampliaban su espectro a las cefalosporinas, las denominadas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) por otro, mutaciones en otras posiciones nucleotídicas, daban lugar a β -lactamasas resistentes a la inhibición de los inhibidores de β -lactamasas. 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. Todas estas enzimas pertenecen a la clase A de Ambler. Además, algunas oxacilinasas (como la OXA-1), pertenecientes a la clase D de Ambler, dan lugar a un fenotipo similar al de las IRT. Todas estas β -lactamasas (IRT y algunas OXA) se caracterizan por conferir resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas siendo insensibles a la acción de los inhibidores de β -lactamasa y, en su gran mayoría, no tienen actividad sobre el resto de β -lactámicos (Navarro, *et al.* 2011).

1.4.2.1.1.1. β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Las β -lactamasas de espectro extendido, son enzimas producidas por los bacilos Gram negativos, fundamentalmente enterobacterias frecuentes en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, aunque también por microorganismos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y otros. Son capaces de inactivar, además de las penicilinas y las cefalosporinas de primera y segunda generación, a las oximinocefalosporinas (como las cefalosporinas de tercera generación) y al aztreonam (Álvarez, 2010).

Por el contrario, son incapaces de hidrolizar cefamicinas (cefoxitina y cefotetán) y carbapenems. Las BLEE son inhibidas por los inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam, lo cual las diferencia de las β -lactamasas tipo AmpC. Se han descrito varias familias de BLEE, y las más prevalentes son las TEM, SHV y CTX-M. La mayoría de BLEE se ha originado por medio de mutaciones espontáneas de β -lactamasas de espectro reducido, por cambios en los aminoácidos en su sitio activo, lo que permite ampliar su capacidad hidrolítica.

Usualmente, las BLEE tipo TEM y SHV hidrolizan a ceftazidime con mayor eficiencia que a ceftriaxona o cefotaxime, mientras que las CTX-M, usualmente, hidrolizan cefotaxime y ceftriaxona más rápidamente que ceftazidime; de esta manera, los laboratorios que tamizan con ceftazidime o ceftriaxona solamente, podrían no detectar estas BLEE, lo cual obliga a todo laboratorio de microbiología a tamizar simultáneamente con ceftazidime y ceftriaxona (o cefotaxime) para detectar cualquiera de estas BLEE. La CTX-M también hidroliza cefepime con gran eficiencia y las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) son mayores que las observadas en otros productores de BLEE.

Una característica importante de las BLEE es que son mediadas por plásmidos, lo cual les confiere una increíble capacidad de diseminación entre diferentes especies. Además, en el mismo plásmido que porta los genes de BLEE, pueden encontrarse genes que codifican resistencia para aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim/sulfametoxazol, lo cual puede contribuir a la resistencia de múltiples antibióticos. La resistencia concomitante a quinolonas es multifactorial y depende de alteraciones en la topoisomerasa, bombas de salida y algunas proteínas mediadas por plásmidos (Tafur, *et al.* 2008).

La prevalencia de cepas productoras de BLEE no ha cesado de aumentar en una amplia gama de bacterias Gram positivas y Gram negativas, dentro de estas últimas, muchas especies pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, que son responsables de infecciones nosocomiales graves, habitualmente en pacientes críticos; aunque naturalmente pueden producirse también infecciones de menor gravedad (Perozo, *et al.* 2009).

A escala mundial, las cepas productoras de BLEE, están ampliamente diseminadas en los hospitales y en la comunidad (Espino, *et al.* 2010).

1.4.2.1.1.2. β -lactamasas tipo AmpC.

Las β -lactamasas de la clase molecular C de Ambler (grupo 1 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros) se caracterizan por su espectro de hidrólisis (actividad cefalosporinasa) y

por su perfil de inhibición. Las AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera generación (cefalotina) y segunda generación (cefuroxima), incluidas las cefamicinas (cefotaxima y cefotetán) y, en menor medida, las de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima y cefpiroma) y los carbapenems (imipenem y meropenem). Este espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (AmpC de espectro extendido), pero se desconoce cuál es la prevalencia y la relevancia clínica y epidemiológica de estas variantes de AmpC. La cloxacilina y el aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados (ácido fenil-borónico), inhiben a las β -lactamasas de tipo AmpC, mientras que el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores.

La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, siendo los niveles de producción dependientes del grado de expresión del gen *blaAmpC*. Cuando el gen *blaAmpC* se expresa de forma constitutiva (ausencia de genes reguladores del tipo *ampD* o *ampR*) puede hacerlo a niveles basales bajos, confiriendo un fenotipo de resistencia natural o salvaje característico de la especie bacteriana, o puede hacerlo a unos niveles muy superiores al basal (sobreexpresión de *blaAmpC* mediada por mutaciones en el atenuador y/o promotor de *blaAmpC*, adquisición de promotores fuertes para la expresión de *blaAmpC*) produciendo cantidades elevadas de AmpC (hiperproducción de AmpC). Los aislados con este fenotipo AmpC suelen ser además sensibles a cefalosporinas de cuarta generación y a los carbapenems, aunque dicha sensibilidad se reduce significativamente si se produce la pérdida de alguna porina relacionada con la resistencia antimicrobiana.

Las AmpC plasmídicas se han descrito principalmente en algunas especies de enterobacterias (*Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*, entre otras) con relevancia clínica y epidemiológica. La distribución de estas enzimas es mundial, habiéndose descrito en todos los continentes y con una prevalencia variable, dependiente del microorganismo, del tipo de AmpC plasmídica y del área geográfica (Navarro, *et al.* 2011).

1.4.2.1.1.3. Carbapenemasas

Este grupo de enzimas hidroliza hasta los carbapenems. Pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en elementos genéticos móviles. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: carbapenemasas de serina (incluidas en la clasificación molecular de Ambler, clases A y D) y metalo- β -lactamasas, MBL (Ambler, clase B),

denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Aunque las carbapenemasas fueron inicialmente consideradas poco frecuentes, los recientes reportes en la literatura han generado preocupación entre los clínicos y los grupos de investigación por el reto terapéutico que representan y por su impacto en el desenlace clínico de los pacientes, ya que la resistencia a los carbapenems implica resistencia a otros β -lactámicos. Un fenotipo que puede ayudar a la detección de carbapenemasas tipo MBL, es la resistencia a todos los β -lactámicos, excepto a aztreonam (Tafur, *et al.* 2008).

Existen al menos tres variantes de las carbapenemasas de clase A (SME-1, -2 y -3) que confieren un fenotipo con pérdida marcada de sensibilidad a los carbapenems y un perfil hidrolítico que incluye el aztreonam y en menor medida o inexistente a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. No son inhibidas por el EDTA pero como peculiaridad destaca la inhibición parcial por ácido clavulánico (mejor con tazobactam). Otras enzimas relacionadas son las de los grupos IMI (IMI-1 y -2) y NMC-A encontradas inicialmente en diferentes especies del género *Enterobacter*. No obstante, dentro de las carbapenemasas de clase A, las que mayor importancia epidemiológica tienen son las denominadas KPC que reciben este nombre por haberse encontrado inicialmente en *Klebsiella pneumoniae* (KPC = *Klebsiella pneumoniae carbapenemasas*). Por el momento se conocen once variantes, siendo KPC-1 y KPC-2 las descritas con mayor frecuencia. Son de naturaleza plasmídica asociadas al trasposón *Tn4401*. Asimismo, y aunque no de manera exclusiva, se han encontrado mayoritariamente ligadas a la secuencia tipo (ST) 258 de *Klebsiella pneumoniae*. No se inhiben por el ácido clavulánico pero sí por el ácido borónico, inhibidor que se utiliza para el reconocimiento fenotípico (Navarro, *et al.* 2011).

1.4.2.2. Bombas de expulsión

Las bombas de expulsión operan tomando el antibiótico del espacio periplasmático y expulsándolo al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción. Este mecanismo es frecuentemente utilizado por las bacterias Gram negativas.

Se encuentran en la membrana externa de la célula y expulsan hacia el exterior de la bacteria gran cantidad de moléculas, entre ellas, metabolitos, detergentes, solventes orgánicos y antibióticos. Para ello, utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato energético. El principal papel de este mecanismo es mantener bajas las concentraciones de sustancias tóxicas dentro de la célula.

Usualmente, las bombas de salida causan pequeños aumentos en las CIM; sin embargo, cuando aparecen simultáneamente varios mecanismos de resistencia, se produce una

resistencia clínicamente evidente. De esta manera, las bombas de salida, el cierre de porinas, las mutaciones en los sitios de acción y las enzimas hidrolíticas trabajan armónicamente para defender la bacteria del antibiótico y, por lo tanto, de su muerte.

1.4.2.3. Cambios en la permeabilidad de la membrana externa.

Las bacterias pueden generar cambios de la bicapa lipídica, aunque la permeabilidad de la membrana se ve alterada, principalmente, por cambios en las porinas. Las porinas son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos, los antibióticos. Los cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico.

Además de otras funciones vitales, estas moléculas tienen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Los antibióticos β -lactámicos deben penetrar a través de estos canales; cuando se pierde una porina por mutaciones, aumentan las CIM para el antibiótico. Las porinas pueden ser específicas o inespecíficas dependiendo de su selectividad para las moléculas que dejan pasar. En *Pseudomonas aeruginosa*, los carbapenems, como el imipenem y el meropenem, utilizan una porina específica llamada OprD. La OprD puede cerrarse durante la terapia con carbapenems, lo que lleva a una resistencia. El meropenem es menos dependiente que el imipenem del paso por esta porina; algunos aislamientos resistentes a imipenem, pueden permanecer, entonces, sensibles al meropenem. Por otro lado, el meropenem puede ser expulsado por bombas de salida, lo cual no es el caso del imipenem. Simplificando, la resistencia al imipenem es más dependiente del cierre de porinas y la resistencia al meropenem, de las bombas de salida (Tafur, *et al.* 2008).

1.4.2.4. Alteraciones del sitio de acción.

Algunos microorganismos debido a mutaciones cromosómicas o por adquisición de genes exógenos pueden presentar modificaciones en los sitios de acción, como por ejemplo las PBP (Penicillin-binding proteins) o la DNA girasa que son dianas para los β -lactámicos y las quinolonas respectivamente. Las modificaciones no impiden a las dianas seguir realizando su función fisiológica en la bacteria, pero disminuyen la afinidad de su unión con el antibiótico por lo que el microorganismo se vuelve resistente (Prats, 2013).

Las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria para interrumpir una función vital de ésta. Este mecanismo es, principalmente, utilizado por las bacterias

Gram positivas, las cuales generan cambios estructurales en los sitios de acción de los antibióticos β -lactámicos a nivel de las proteínas unidoras de penicilinas (Tafur, *et al.* 2008).

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

2.1. Recolección de la muestra

Se recolectaron cultivos obtenidos de muestras clínicas de pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

Los cultivos recolectados fueron aquellos que cumplieron con los criterios que se mencionan a continuación:

- ✓ Criterios de inclusión:
 - Cultivos de muestras clínicas de pacientes hospitalizados realizados en el período agosto-septiembre 2013 en el Hospital “Manuel Ygnacio Monteros”
 - Cultivos positivos para bacilos Gram negativos.

- ✓ Criterios de exclusión:
 - Cultivos que no se realizaron durante el período de agosto-septiembre 2013.
 - Cultivos negativos para bacilos Gram negativos.

2.2. Identificación de la cepa

La identificación de las cepas se realizó basándose en las características metabólicas de cada una de ellos, mediante pruebas bioquímicas de la casa comercial HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.

2.3. Determinación de la susceptibilidad bacteriana

La susceptibilidad bacteriana se determinó mediante el método de disco difusión en agar Mueller Hinton utilizando la técnica de Kirby y Bauer con una turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland a una temperatura de 35 ± 2 °C siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI, 2012).

Los antibióticos analizados fueron: amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) (20/10 µg), cefotaxime (CTX) (30 µg), ceftazidime (CAZ) (30 µg), aztreonam (ATM) (30 µg), imipenem (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).

Se seleccionó aquellas cepas con susceptibilidad disminuida a cefalosporinas de tercera generación (halo <18mm), cefoxitina (halo <15mm) y carbapenems (halo <20mm). Las cepas sospechosas fueron sometidas a las siguientes pruebas:

2.3.1. Detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Para la detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se realizó la prueba de sinergia de doble disco; se colocó un disco con amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) (20/10 μ g) próximo a discos de cefotaxime (CTX) (30 μ g), ceftazidime (CAZ) (30 μ g) y aztreonam (ATM) (30 μ g).

La producción de BLEE se demostró por la ampliación del halo de inhibición o el efecto sinérgico producido entre el cefotaxime (CTX) (30 μ g), ceftazidime (CAZ) (30 μ g), aztreonam (ATM) (30 μ g) y el ácido clavulánico (Figura 2A).

La confirmación de BLEE se realizó mediante la prueba de discos combinados con inhibidor, en el cual se usó discos de cefotaxime (CTX) (30 μ g), cefotaxime/ácido clavulánico (30/10 μ g), ceftazidime (CAZ) (30 μ g), ceftazidime/ácido clavulánico (30/10 μ g). Esta prueba es positiva si se observa un incremento de diámetro de inhibición de ceftriaxone o ceftazidime en presencia de ácido clavulánico ≥ 5 mm respecto al de cefotaxime o ceftazidime sin ácido clavulánico (Figura 2B).

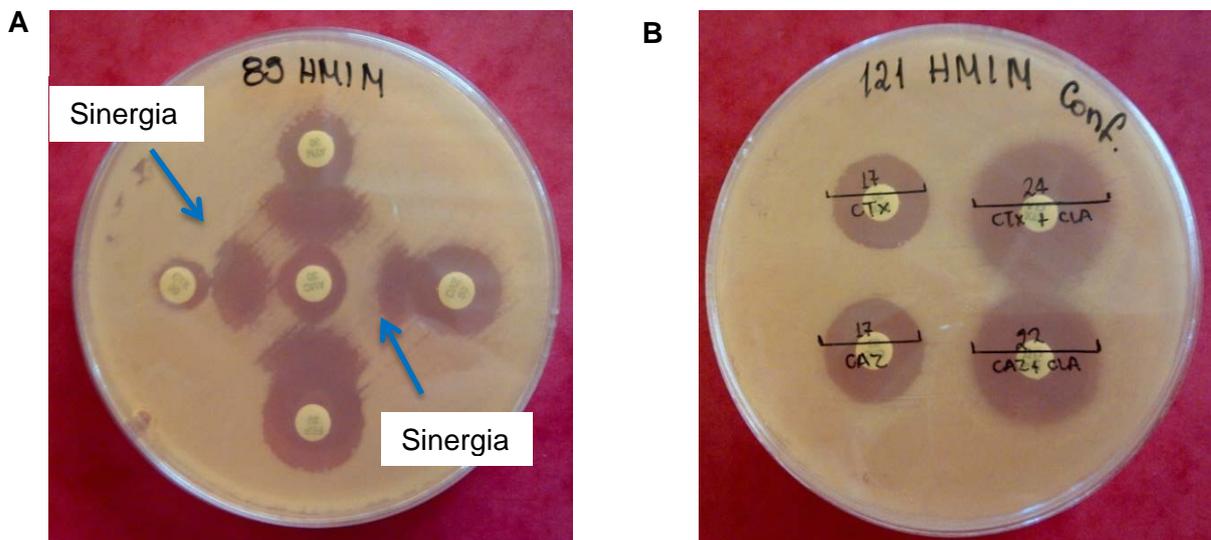


Figura 2 (A). Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección de BLEE. Se observa el efecto sinérgico (distorsión de los halos de inhibición) como indica la flecha, entre los discos de CTX, CAZ, ATM con el disco central de AMC. **Figura 2 (B) Prueba de discos combinados positivo.** Se observan diferencias >5 mm entre los discos de CTX y CAZ sin y con ácido clavulánico.

Fuente: Autor

2.3.2. Detección fenotípica de β -lactamasas tipo AmpC.

2.3.2.1. Detección fenotípica de β -lactamasa tipo AmpC constitutiva.

Para la detección de β -lactamasas tipo AmpC se realizó la prueba de sinergia de doble disco; se situó un disco con cefotaxime (CTX) (30 μ g) y un disco con ceftazidime (CAZ) (30 μ g) a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con ácido borónico (30 μ g) y se incubó a $35\pm 2^\circ\text{C}$ durante 16-20 horas (Figura 3A).

2.3.2.2. Detección fenotípica de β -lactamasa tipo AmpC inducible.

Para la detección fenotípica de β -lactamasa tipo AmpC inducible se realizó la prueba de aproximación de discos; se situó un disco de cefotaxime (CTX), ceftazidima (CAZ) y aztreonam (ATM) cercano a un disco de imipenem y se incubó a $35\pm 2^\circ\text{C}$ durante 16-20 horas.

El achatamiento del halo del β -lactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte demuestra la expresión inducible de la β -lactamasa (Figura 3B).

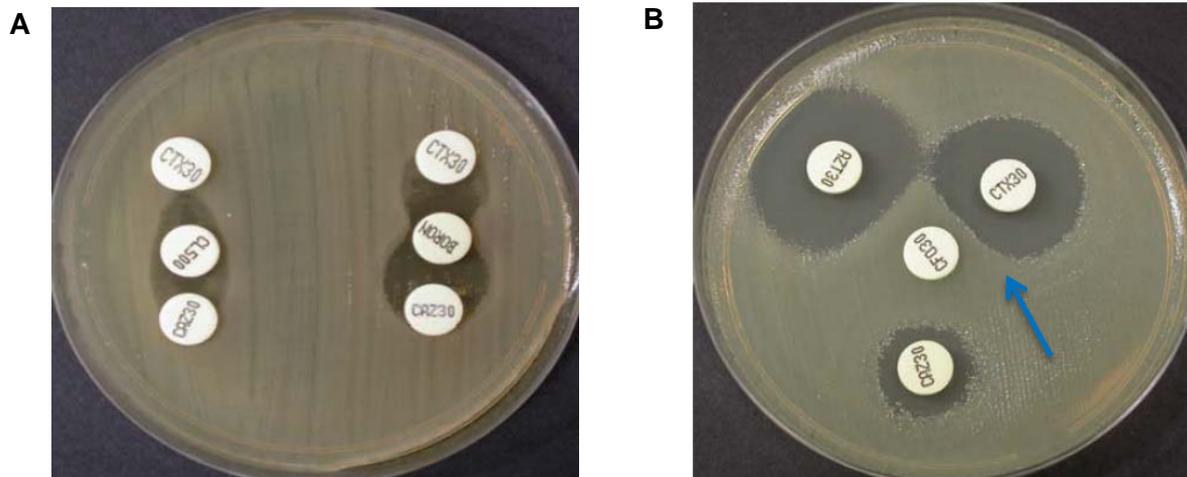


Figura 3 (A) Prueba de sinergia de doble disco positivo para la detección fenotípica de betalactamasa tipo AmpC constitutiva. Se observa la sinergia entre los discos de las cefalosporinas y el ácido clavulánico. **Figura 3 (B)** Prueba de aproximación de discos positiva para la detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC inducible. Se observa el achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte como indica la flecha.

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

2.3.3. Detección de Carbapenemasas.

Para la detección de carbapenemasas se aplicó el Test de Hodge Modificado; se inoculó una placa de agar Mueller-Hinton a partir de 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 problema formando una estría radial desde 2-3 mm del disco de imipenem hacia el borde de la placa, finalmente se incubó a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 16-20 horas (Figura 4).

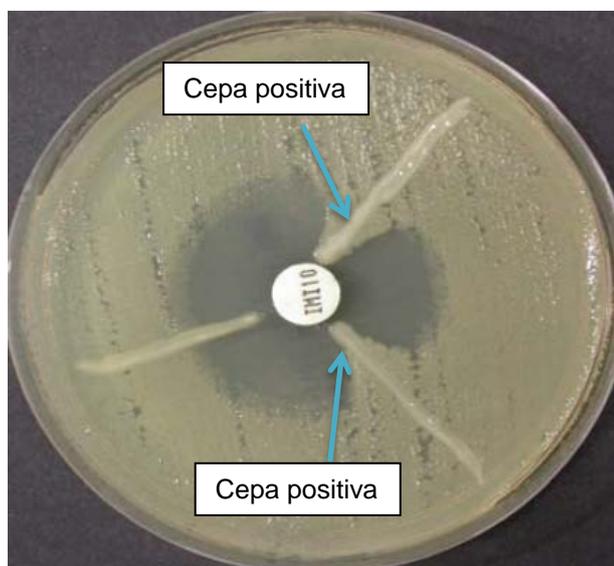


Figura 4. Test de Hodge modificado donde se observan dos cepas positivas y una negativa.

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

2.3.4. Análisis estadístico.

Para la determinación de los porcentajes de resistencia y sensibilidad, así como los resultados de los antibiogramas se utilizó el programa WHONET (World Health Organization. Net. Versión 5.6). El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante la prueba del Chi-Cuadrado (χ^2) de Pearson, utilizando el programa SPSS para Windows.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

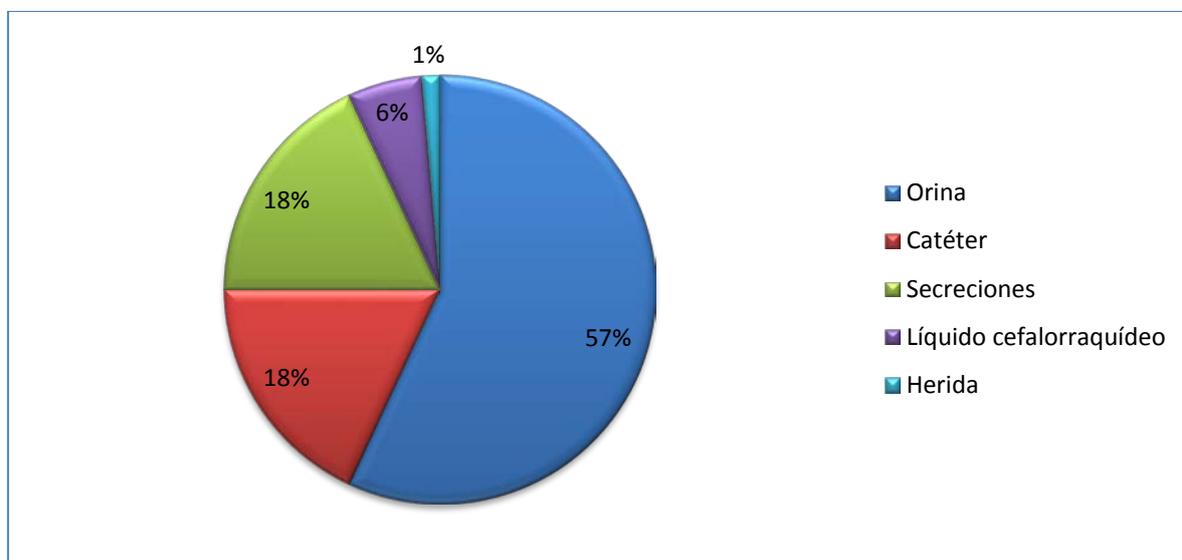
En la presente investigación se recolectó un total de 72 cultivos provenientes de muestras clínicas de pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 1. Tipos de muestras analizadas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.

MUESTRAS	f	%
Orina	41	56,9
Catéter	13	18,1
Secreciones	13	18,1
Líquido cefalorraquídeo	4	5,5
Herida	1	1,4
TOTAL	72	100

Elaborado por: Rita Rivera

Gráfica 1. Tipos de muestras analizadas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013.



Elaborado por: Rita Rivera

Del total de cultivos recolectados el 56,9% corresponden a muestras de orina, 18,1% a catéter, 18,1% a secreciones, 5,5% a líquido cefalorraquídeo y 1,4% a herida como se indica en la Tabla 1 y Gráfica 1.

En un estudio realizado en la ciudad de Loja por Gonzaga (2012), indicó que el 83,7% de los cultivos recolectados corresponden a los de origen urinario, el 27% nasofaríngeo y 6% de origen vaginal. Resultados similares fueron reportados por Schoevaerdt *et al.* (2010), en el que describió a las infecciones del tracto urinario (56%) como el diagnóstico principal, seguido de infecciones del tracto respiratorio (26,5%) y de sepsis (9%). En Perú, Hidalgo *et al.* (2011), reportó que la infección hospitalaria del tracto urinario representa el 24,4% y 61,3% de los pacientes con infección del tracto urinario hospitalario cuentan con catéter urinario. Sin embargo Manzur *et al.* (2013), reportó en su investigación que la principal causa de infecciones a nivel hospitalario fue la relacionada a catéteres venosos, además fue la segunda causa en sala general, incluyendo aquí las asociadas a catéteres venosos periféricos. Como se puede apreciar la infección urinaria sigue siendo uno de los procesos infecciosos más frecuentes, tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad y las infecciones por catéteres las sitúan como segunda causa de infección nosocomial (Guevara, *et al.* 2011), lo que corrobora que en la presente investigación se encontró un mayor porcentaje de muestras de orina seguidos por catéter.

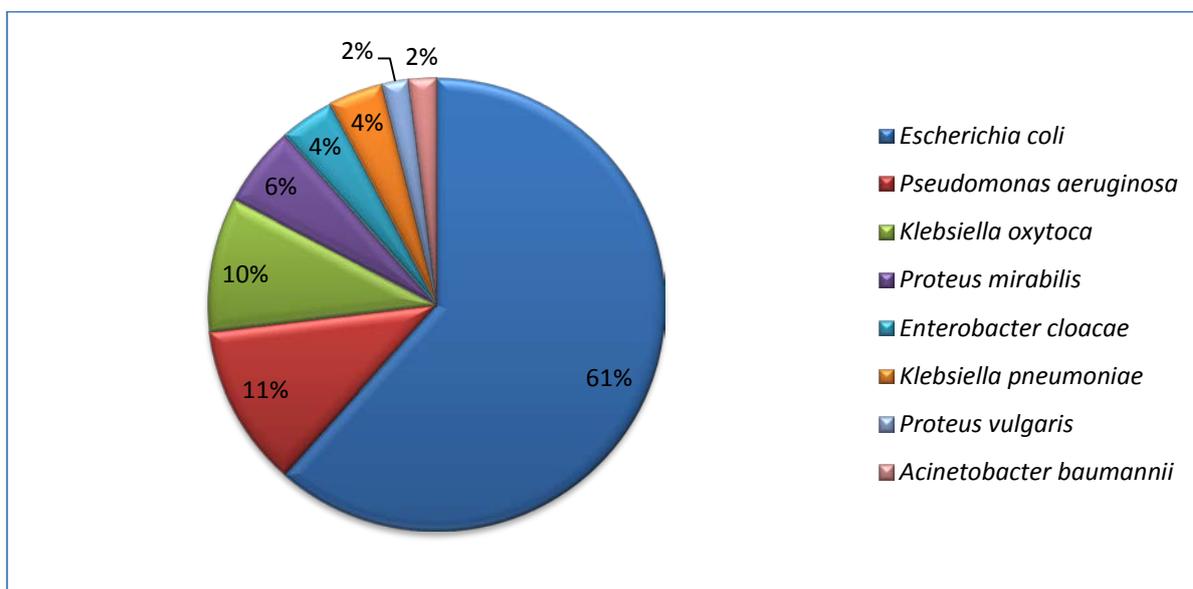
Debido a que el Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” es una unidad de referencia regional que presta atención de salud en diversas áreas, se incluyó en la presente investigación hospitalización y UCI, de las cuales las cepas aisladas de las muestras clínicas en pacientes hospitalizados fueron las siguientes:

Tabla 2. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CEPAS	f	%
<i>Escherichia coli</i>	32	61,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	11,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	9,6
<i>Proteus mirabilis</i>	3	5,8
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	3,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3,9
<i>Proetus vulgaris</i>	1	1,9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1,9
TOTAL	52	100

Elaborado por: Rita Rivera

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



Elaborado por: Rita Rivera

De las 72 cepas aisladas, 52 corresponden al área de hospitalización, siendo la cepa aislada con mayor frecuencia *Escherichia coli* que constituye el 61,5%, seguido por *Pseudomonas aeruginosa* que corresponde al 11,5%, *Klebsiella oxytoca* 9,6%, *Proteus mirabilis* 5,8%, *Enterobacter cloacae* 3,9%, *Klebsiella pneumoniae* 3,9%, *Proteus vulgaris* 1,9% y *Acinetobacter baumannii* 1,9% (Tabla 2 y Gráfica 2).

En un estudio realizado en Loja por Guadalima (2012), reportó que existe predominio de *Escherichia Coli* (81,3%); seguido de *Staphylococcus epidermidis* (7,7%); posteriormente *Klebsiella spp.* (4,4%), luego *Enterobacter aerogenes* (3,3%). En México Navarro *et al.* (2011), describió aislamientos para *Escherichia coli* de 44,7% a nivel hospitalario. Así mismo en Perú, Escalante *et al.* (2013), reportó que las cepas aisladas con mayor frecuencia a nivel hospitalario corresponden a *Escherichia coli* (61%) y *Klebsiella pneumoniae* (39%). En Colombia, Villalobos *et al.* (2011), indicó que la cepa aislada con mayor frecuencia del área de hospitalización corresponde a *Escherichia coli*. Sin embargo, en Cuba, Frómata *et al.* (2008), reportó que las cepas más frecuentemente implicadas en las infecciones nosocomiales fueron *Pseudomonas aeruginosa* (19%), *Acinetobacter* (13%), *Citrobacter* y *Escherichia coli* con 10,7% respectivamente.

Según Pavón *et al.* (2011), durante las dos últimas décadas las bacterias Gram negativas como *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.* y *Pseudomonas aeruginosa* se encuentran entre las causas principales de infecciones nosocomiales.

Sin embargo, el alto porcentaje de *Escherichia coli* como patógeno se ilustra por el hecho de que estas bacterias son: 1) los bacilos Gram negativos que con más frecuencia se aíslan de pacientes con sepsis; 2) responsables del más del 80% de las infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad y del mismo número de las infecciones hospitalarias, pues en la presente investigación también existe un alto porcentaje de muestras de orina (56,9%).

La mayor parte de las infecciones (salvo la meningitis y la gastroenteritis neonatales) son endógenas, de forma que *Escherichia coli* de la propia flora microbiana normal del paciente consigue ocasionar infección cuando sus defensas se alteran (Murray, *et al.* 2009). Un factor de riesgo para adquirir infección del tracto urinario es la utilización de sondaje vesical o presencia de material inerte en el tracto urinario, puesto que esta bacteria puede adherirse a la superficie del dispositivo y crecer asociada a biopelículas lo que puede originar infecciones refractarias a la terapia antimicrobiana (Faleiro, 2010). Además, los bacilos Gram negativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* son recuperados con más frecuencia de muestras clínicas debido a su amplia distribución en la naturaleza, suelo, agua, plantas y el tracto intestinal, tanto del hombre como de animales (Pavón, *et al.* 2011).

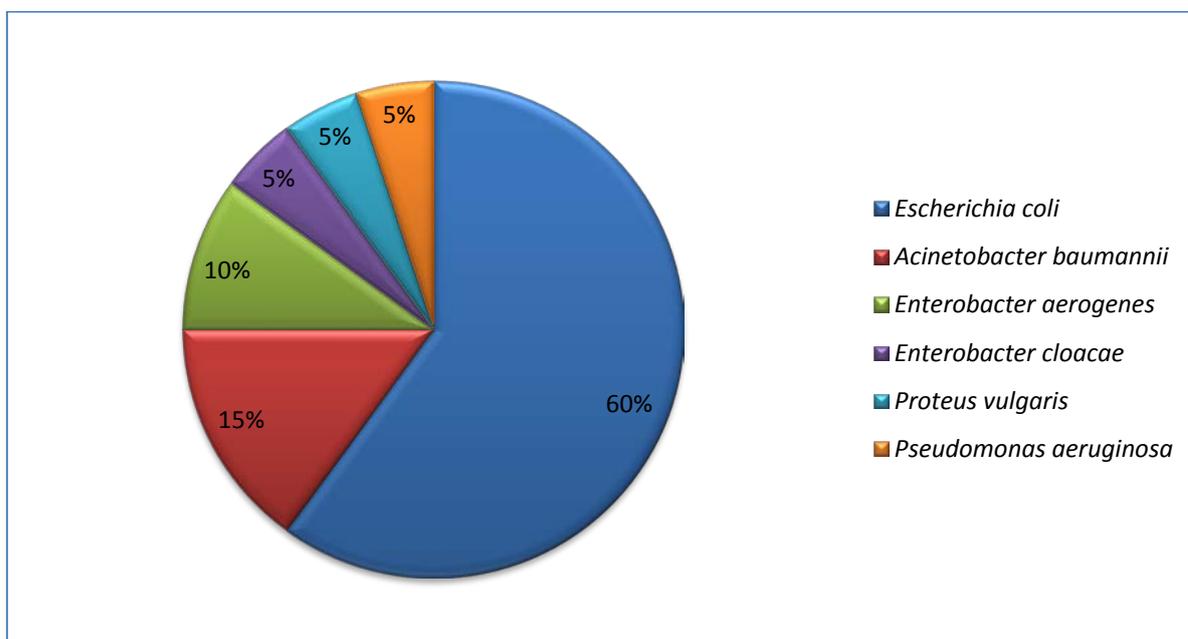
Así mismo, como es habitual en UCI, se llevan a cabo procedimientos invasivos que resultan salvadores en algunos casos pero que predisponen o se relacionan con la presencia de infecciones nosocomiales, de la misma manera las bacterias Gram negativas de la familia *Enterobacteriaceae* son una causa importante de infecciones en UCI (González & Cortés, 2013).

Al determinar el porcentaje de cepas aisladas de las muestras analizadas de UCI en la presente investigación, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 3. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CEPAS	f	%
<i>Escherichia coli</i>	12	60
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	15
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	10
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	5
<i>Proteus vulgaris</i>	1	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5
TOTAL	20	100

Gráfica 3. Porcentaje de cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.



Elaborado por: Rita Rivera

Del total de cepas aisladas, 20 corresponden al área de UCI, encontrándose con mayor frecuencia *Escherichia coli* que corresponde al 60%, seguido por *Acinetobacter baumannii* 15%, *Enterobacter aerogenes* 10%, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomonas aeruginosa* 5%, respectivamente (Tabla 3 y Gráfica 3).

En Loja, en un estudio realizado por Jiménez (2012), reportó que la cepa aislada con mayor frecuencia del área de hospitalización fue *Escherichia coli* con un porcentaje del 72% en sexo masculino y del 92% en sexo femenino. En Colombia, Villalobos *et al.* (2011), indicó que la cepa aislada con mayor frecuencia de UCI corresponde a *Escherichia coli*. Sin embargo, en Perú investigaciones publicadas por Chinchá *et al.* (2013), reportó a *Pseudomonas aeruginosa* como la cepa más frecuente con el 32,3% en los casos de neumonía asociada a ventilador mecánico en UCI, de igual manera otra cepa aislada de importancia médica fue *Acinetobacter spp.* con el 29,3%, mientras que en los casos de infección del tracto urinario asociado a catéter permanente en UCI se encontró *Klebsiella spp.* y *Acinetobacter spp.* ambos con 7,7%. Sin embargo, en Cuba, Basulto *et al.* (2009) reportó que las cepas aisladas con mayor frecuencia en UCI fueron *Klebsiella pneumoniae* (27,2 %), *Enterobacter spp.* (17,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (12,3 %), *Escherichia coli* (9,8%), *Proteus spp.* (9,8%) y *Citrobacter freundii* (7,8 %).

Como se puede apreciar *Escherichia coli* es la cepa aislada con mayor frecuencia en UCI, seguidos de los bacilos Gram negativos no fermentadores, debido a que los pacientes de UCI son altamente susceptibles a las infecciones por enterobacterias adquiridas en los hospitales, a partir del ambiente y como consecuencia de procedimientos invasivos, como cateterización, respiradores artificiales, biopsias quirúrgicas (Pavón, *et al.* 2011).

Los resultados de infecciones intrahospitalarias en UCI varían entre países en vías de desarrollo y países desarrollados, así tenemos que la incidencia es de 47,9 por 1000 pacientes/día y 13,6 por 1000 pacientes/día respectivamente. En Europa, el 10% de la población es hospitalizada cada año y al menos el 5% de este grupo adquiere una infección intrahospitalaria, con pérdidas humanas y gastos económicos innecesarios. Las tasas de infecciones asociadas a dispositivos son mucho más altas en las UCI de países Latinoamericanos comparada con las de hospitales de los EE. UU., debido a la falta de programas del control de infecciones y de acreditación hospitalaria, además de recursos limitados para la ejecución de políticas en países de Latinoamérica (Chincha *et al.* 2013).

Se sabe, por ejemplo, que en los EE.UU., cada caso de bacteriemia relacionada a catéter central en UCI cuesta \$25.000. Como se observa, este problema es más grave en los países pobres y en aquellos en vía de desarrollo, que representan la mayor población del mundo y no cuentan con recursos para dedicarlos a programas de vigilancia y control de infecciones. Las UCI en estos países tiene un bajo cumplimiento de medidas tales como la higienización de manos por no disponer de insumos y recursos humanos suficientes (Villabón, *et al.* 2013).

No obstante, la resistencia de las bacterias Gram negativas de importancia clínica a los antibacterianos se presenta fundamentalmente en la familia *Enterobacteriaceae* y en bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF) (Casellas, 2011). De hecho, uno de los grupos de antibióticos mayormente utilizados en la actualidad y con gran significancia clínica es el llamado grupo de los β -lactámicos, los cuales incluyen las penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenems y monobactámicos, entre otros, los cuales son ampliamente utilizados para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas, debido a su baja toxicidad y su amplio espectro de acción (Sandrea, *et al.* 2007). Por lo tanto para analizar el porcentaje de resistencia a antibióticos se utilizaron aquellos recomendados por el CLSI, y posteriormente se analizó a través del programa WHONET, obteniendo los siguientes resultados:

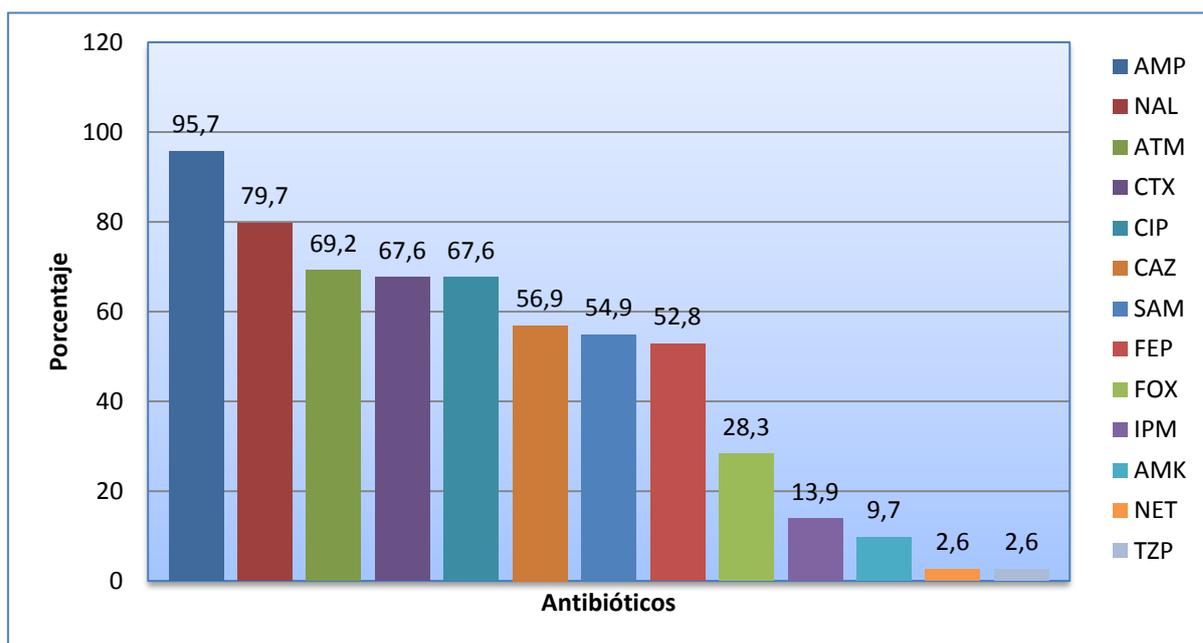
Tabla 4. Porcentaje de resistencia a antibióticos en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CÓDIGO	NOMBRE DEL ANTIBIÓTICO	PUNTOS DE CORTE	NÚMERO DE CEPAS	%R*
AMP	Ampicilina	14-16	69	95,7
NAL	Ácido nalidíxico	14-18	57	79,7
ATM	Aztreonam	18-20	50	69,2
CTX	Cefotaxima	23-25	49	67,6
CIP	Ciprofloxacina	16-20	49	67,6
CAZ	Ceftazidima	18-20	41	56,9
SAM	Ampicilina/Sulbactam	12-14	40	54,9
FEP	Cefepima	15-17	38	52,8
FOX	Cefoxitina	15-17	20	28,3
IPM	Imipenem	20-22	10	13,9
AMK	Amikacina	15-16	7	9,7
NET	Netilmecina	13-14	2	2,6
TZP	Piperacilina/Tazobactam	18-20	2	2,6

*R: resistencia

Fuente: WHONET 5.6

Gráfica 4. Porcentaje de resistencia a antibióticos en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.



Fuente: WHONET 5.6

Se observó elevados niveles de resistencia a la mayoría de los antibióticos probados, los máximos niveles de resistencia se encontraron en los siguientes antibióticos: ampicilina (AMP) 95,7%, ácido nalidíxico (NAL) 79,7%, aztreonam (ATM) 69,2%, cefotaxime (CTX) 67,6%, ciprofloxacino (CIP) 67,6%, ceftazidime (CAZ) 56,9%, ampicilina/sulbactam (SAM) 54,9%, cefepime (FEP) 52,8%; sin embargo, cefoxitina (FOX) presentó un nivel de resistencia de 28,3%, imipenem (IMI) 13,9%, amikacina (AMK) 9,7%, netilmicina (NET) 2,6% y piperacilina/tazobactam (TPZ) 2,6%. La relación entre las cepas aisladas y los antibióticos es estadísticamente significativa ($p = 0,04$) (Tabla 4 y Gráfica 4).

En Colombia, Cardona *et al.* (2011), indicó que el antibiótico con mayor porcentaje de resistencia fue la ampicilina (58,9%), mientras que el antibiótico con menor porcentaje de resistencia entre las cepas aisladas, fue imipenem (0,9%), lo cual difiere de los resultados en nuestro estudio ya que el imipenem presentó una resistencia de 13,9%. Marcano *et al.* (2011), reportó que del total de cepas seleccionadas en su estudio, el 100% fue resistente a ampicilina, 95,7% a cefpodoxima y 24,6% a cefoxitina. Con respecto a las cefalosporinas de amplio espectro, se observó 82,1% de resistencia a ceftazidima, 91,8% a cefotaxima y 26,6% a cefepima. Asimismo, el 71% de las cepas aisladas presentaron resistencia al aztreonam. Con relación a los carbapenems, se encontró 14% de resistencia a ertapenem, 3,8% a meropenem y 0,5% a imipenem. En cuanto a las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, 20,8% de las cepas fueron resistentes a piperacilina/tazobactam y 67,0% a amoxicilina/ácido clavulánico. Useche *et al.* (2012), documentó en su estudio que la susceptibilidad a aminoglucósidos fue 28%. Para la ciprofloxacina la sensibilidad fue 56,2%. Con respecto al cefepime y cefalosporinas de tercera generación, la sensibilidad fue 50%. En cuanto al meropenem, fue 54,4% sensible. Para piperacilina-tazobactam, *Escherichia coli*, *Klebsiella* y no fermentadores fueron sensibles en 45,4%, 40,6 % y 50%, respectivamente.

Sánchez *et al.* (2008), mencionó que en Latinoamérica el 50% de las infecciones hospitalarias son tratadas con antibióticos betalactámicos y cerca del 70% de las infecciones de los pacientes extrahospitalarios son tratadas con cefalosporinas, lo cual sugiere la existencia de una fuerte presión selectiva en América Latina. De hecho, las penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenems y monobactámicos, entre otros, son ampliamente utilizados para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas, debido a su baja toxicidad y su amplio espectro de acción (Sandrea, *et al.* 2007). Asimismo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) refiere que, el uso abusivo de los antibióticos, la prescripción no adecuada en casos que no corresponden como son las enfermedades virales o micóticas, donde las antibióticos no tendrán ningún efecto, la falta de adherencia al tratamiento, la

aplicación de dosis no óptimas y, la irregularidad en la toma de los fármacos, son los principales factores que han llevado a que hoy la tasa de resistencia antimicrobiana sea tan elevada (Cardona, *et al.* 2011). Por todo ello se debe el alto porcentaje de resistencia a los antibióticos betalactámicos encontrados en la presente investigación.

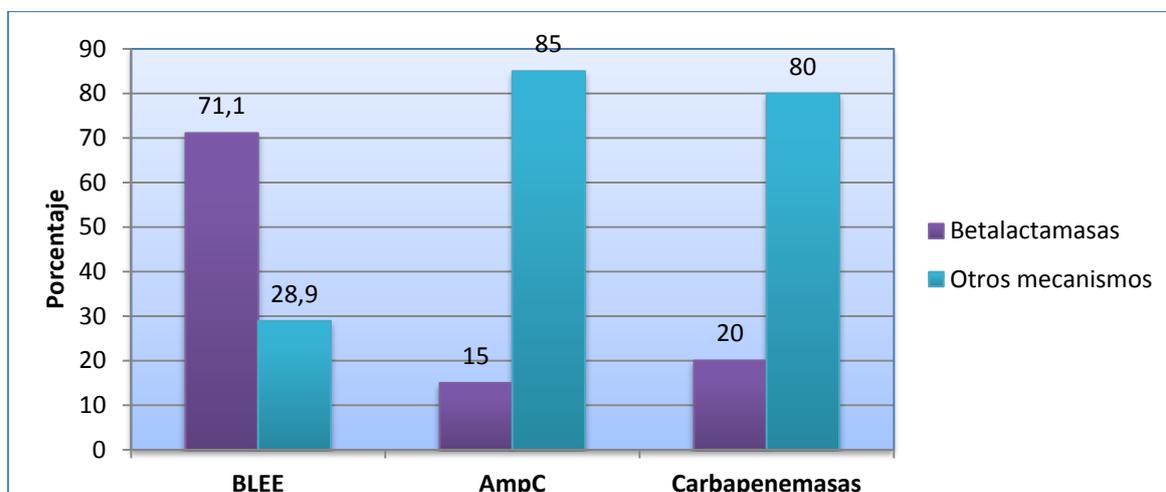
Sin embargo, las bacterias han logrado adaptarse desarrollando mecanismos de resistencia a los antibióticos (Navarro, *et al.* 2011). Para determinar los mecanismos de resistencia implicados en los bacilos Gram negativos se evaluó resistencia principalmente a cefalosporinas de tercera generación, cefoxitina e imipenem, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 5. Mecanismos de resistencia bacteriana presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto septiembre 2013.

MECANISMOS DE RESISTENCIA	CEPAS RESISTENTES A CEFALOSPORINAS DE 3RA G.		CEPAS RESISTENTES A CEFOXITINA		CEPAS RESISTENTES A IMIPENEM	
	BLEE		AmpC		Carbapenemasas	
	f	%	f	%	f	%
β -lactamasas	32	71,1	3	15	2	20
Otros mecanismos	13	28,9	17	85	8	80
TOTAL	45	100	20	100	10	100

Elaborado por: Rita Rivera

Gráfica 5. Mecanismos de resistencia bacteriana presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto septiembre 2013.



Elaborado por: Rita Rivera

Se identificó y determinó que la producción de betalactamasas es el principal mecanismo de resistencia que presentan los bacilos Gram negativos en nuestro estudio, encontrándose distribuido de la siguiente manera: de las 45 cepas resistentes a las cefalosporinas de tercera generación, se confirmó la producción de BLEE en el 71,1%, mientras que el 28,9 % se debe a la presencia de otros mecanismos de resistencia; de las 20 cepas resistentes a cefoxitina el 15% presentó producción de betalactamasas tipo AmpC y el 85% se debe a otros mecanismos de resistencia; de las 10 cepas resistentes a imipenem el 20% presentó producción de carbapenemasas y el 80% corresponden a otros mecanismos de resistencia (Tabla 5 y Gráfica 5).

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

De igual manera en nuestra investigación como se observa en la Gráfica 5 es alta la frecuencia de betalactamasas que presentan los bacilos Gram negativos como mecanismo de resistencia, dentro de las betalactamasas se encuentran las enzimas que amplían su espectro a las cefalosporinas, las denominadas betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las betalactamasas tipo AmpC y las carbapenemasas, sin embargo la resistencia a los antibióticos betalactámicos también puede presentarse por otros mecanismos de resistencia como bombas de expulsión, cambios en la permeabilidad de la membrana y alteraciones en el sitio de acción (Tafur, *et al.* 2008). Estos datos los podemos confirmar con lo documentado por García *et al.* (2013), quien reportó en su investigación que en las bacterias Gram negativas la resistencia a los betalactámicos está originada por varios mecanismos, pero el más importante, por su frecuencia y eficacia desde el punto de vista terapéutico, es la producción de betalactamasas. Perozo *et al.* (2009), indicó que las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se encuentran codificadas en plásmidos conjugativos, lo cual facilita su diseminación, no sólo entre distintas cepas de la misma especie, sino también entre bacterias de distintos géneros y grupos. Los genes que codifican las BLEE y los que codifican la resistencia a otros antimicrobianos, pueden residir en el mismo plásmido conjugativo y se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia antibiótica múltiple. Esto permite la amplia distribución de la resistencia a los antibióticos mediante las betalactamasas.

Considerando el impacto que tienen las infecciones intrahospitalarias en la economía de los pacientes y sus familias, sobre todo cuando son producidas por organismos que han

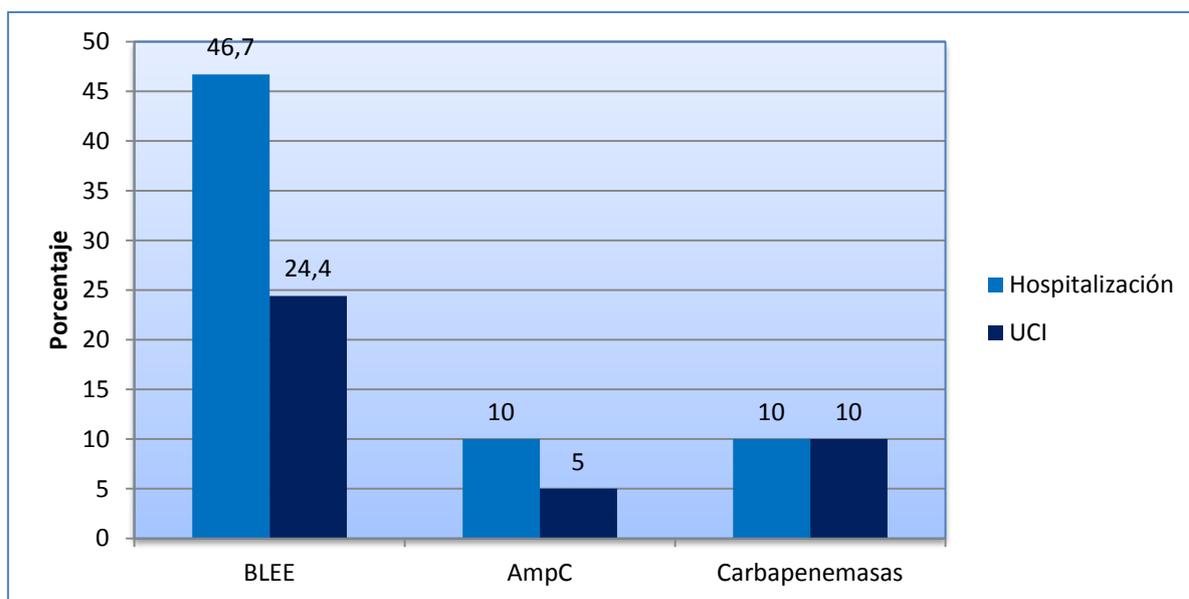
desarrollado resistencia bastante amplia frente a los antimicrobianos (Rivera, *et al.* 2011), se analizó los fenotipos resistencia bacteriana presentes en las áreas de hospitalización y UCI.

Tabla 6. Betalactamasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

ÁREAS	BLEE		AmpC		Carbapenemasas	
	f	%	f	%	f	%
Hospitalización	21	46,7	2	10	1	10
UCI	11	24,4	1	5	1	10
TOTAL	32	71,1	3	15	2	20

Elaborado por: Rita Rivera

Gráfica 6. Betalactamasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.



Elaborado por: Rita Rivera

Del 71,1% de cepas productoras de BLEE, el 46,7% corresponde al área de hospitalización, mientras que el 24,4% corresponde a UCI; del 15% de cepas productoras de betalactamasas tipo AmpC, el 10% corresponde al área de hospitalización, mientras que el 5% corresponde a UCI; el 20% restante son productoras de carbapenemasas encontrándose el 10% en hospitalización y el 10% restante en UCI (Tabla 6 y Gráfica 6).

Así mismo, en una investigación realizada en once hospitales españoles por Diestra *et al.* (2008), determinó que la infección por bacterias productoras de BLEE fue predominio de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* ocupando el 51,6% en hospitalización, el 12,8% y 20% en UCI, el 7,7% y 4% en pediatría, el 2,6% y 4% consultas externas. Igualmente, en Venezuela Albarado *et al.* (2009), reportó que el 77,14% de enterobacterias son productoras de BLEE a nivel de hospitalización.

La multirresistencia en microorganismos productores de BLEE, es en la actualidad uno de los principales problemas en los hospitales de Latinoamérica y el mundo, debido a que disminuyen las opciones de tratamiento (Pavón, *et al.* 2011). Pues las betalactamasas son enzimas capaces de inactivar a las penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, además tienen efecto sobre los monobactam (aztreonam), es decir, son resistentes a todos los antibióticos betalactámicos, con excepción de las cefamicinas y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, como el ácido clavulánico, tazobactam y el sulbactam (Escalante, *et al.* 2013). Sin embargo, Rivera *et al.* (2011) indicó que el amplio, inadecuado y muchas veces irracional uso de antimicrobianos, así como la falta de programas integrales de vigilancia y control, son causas de la selección de bacterias resistentes siendo las personas más expuestas las que están en los hospitales, lo que puede empeorar su pronóstico e incrementar los costos de atención incluyendo un mayor tiempo de estancia hospitalaria.

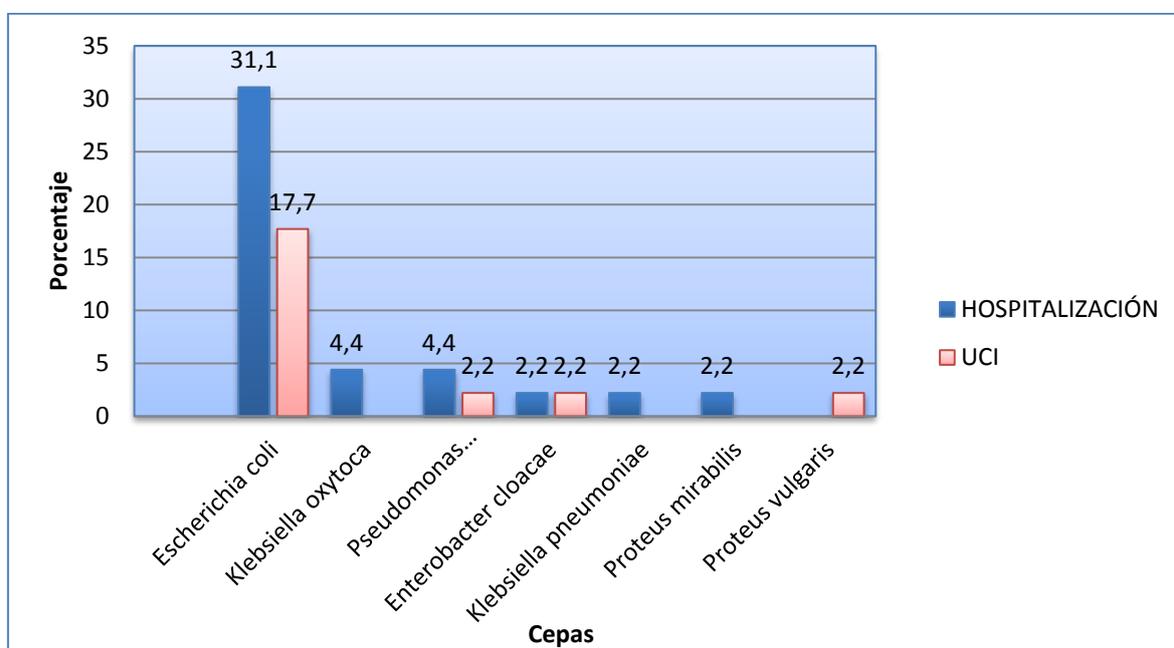
El aumento de los microorganismos resistentes a los antimicrobianos, no sólo en el hospital sino también en la comunidad, es alarmante y destacan entre ellos los productores de β -lactamasas de espectro extendido BLEE (Cantón, *et al.* 2011).

Tabla 7. Porcentaje de BLEE presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y UCI del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CEPAS	HOSPITALIZACIÓN		UCI	
	f	%	f	%
<i>Escherichia coli</i>	14	31,1	8	17,7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	4,4	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	4,4	1	2,2
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2,2	1	2,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2,2	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2,2	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	1	2,2
TOTAL	21	46,7	11	24,4

Elaborado por: Rita Rivera

Gráfica 7. Porcentaje de BLEE presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes del área de hospitalización y UCI del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.



Elaborado por: Rita Rivera

En el área de hospitalización el 46,7% de las cepas aisladas son productoras de BLEE, siendo *Escherichia coli* la cepa productora de BLEE encontrada con mayor frecuencia que corresponde al 31,1%, seguido por *Klebsiella oxytoca* y *Pseudomonas aeruginosa* con un porcentaje del 4,4% cada cepa, mientras que *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* presentaron un porcentaje del 2,2% cada una. Sin embargo, en la Unidad de Cuidados Intensivos el 24,4% de las cepas aisladas son productoras de BLEE, siendo *Escherichia coli* la cepa productora de BLEE encontrada con mayor frecuencia que corresponde al 17,6%, seguido por *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomonas aeruginosa* que corresponden al 2,2% cada una. La relación entre la presencia de BLEE y las cepas aisladas es estadística significativa ($p=0,041$), sin embargo la relación entre la presencia de BLEE con el tipo de servicio (hospitalización, UCI) no es estadísticamente significativa ($p= 0,2$) (Tabla 7 y Gráfica 7).

En Ecuador, Pacheco & León (2011), reportaron que el mayor número de cultivos con microorganismos productores de BLEE perteneció a *Escherichia coli* con un 62,5%, correspondientes en su mayor parte a infecciones del tracto urinario. En Maracaibo-Venezuela, Perozo *et al.* (2009), reportó que el 27,34% de las cepas de *Escherichia coli* pertenecientes al área de hospitalización son productoras de BLEE. En México, Navarro *et*

al. (2011), reportó una mayor prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE hospitalarios (31,8% y 35,3% respectivamente). Mientras que en Madrid-España, González *et al.* (2013), reportó que el bacilo Gram negativo productor de BLEE más frecuente fue *Escherichia coli*, identificándose en el 75,9% de todos los cultivos positivos, seguido por *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* en el 15,9% y 3,4%, respectivamente. Sin embargo en una investigación documentada por Perozo *et al.* (2009), reportó que el 38,89% de las cepas de *Escherichia coli* pertenecientes a UCI son productoras de BLEE. Adrianzén *et al.* (2013), reportó que en Latinoamérica se han informado frecuencias entre 14 y 45% de cepas productoras de BLEE en bacteriemias causadas por *Escherichia coli*, valores que se encuentran por encima de lo que se ha descrito en otras regiones, ello podría deberse al uso poco racional de las cefalosporinas y a tratamientos empíricos inadecuados. Se han señalado como factores asociados a adquirir cepas productoras de BLEE: la exposición previa a antibióticos, especialmente oximinocefalosporinas, brotes nosocomiales, procedimientos invasivos, líneas centrales, ventilación mecánica, admisión a UCI, inmunosupresión.

Las BLEE se han diseminado peligrosamente en amplias regiones geográficas y el éxito de esta diseminación se debe probablemente a que el gen de resistencia (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} entre otros) es frecuentemente transportado en plásmidos auto-transmisibles o móviles, capaces de diseminarse horizontalmente entre e intra especies (Gaitán & Espinal, 2009). Estos plásmidos se diseminan rápido en los ambientes hospitalarios entre las diferentes especies bacterianas. Las BLEE codificadas por estos elementos móviles pueden ser adquiridas por enterobacterias resistentes a múltiples antibióticos como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (González, *et al.* 2007).

La mayoría de las infecciones causadas por estos microorganismos productores de BLEE tienen manifestaciones clínicas similares a las causadas por microorganismos sensibles; sin embargo, las opciones terapéuticas en estos pacientes son limitadas, observándose resistencia concomitante a otras clases de antibióticos, incluyendo cefamicinas, quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim/sulfametoxazol, siendo los agentes de elección en infecciones graves los carbapenems, porque el uso de éstos antibióticos está asociado con alta probabilidad de éxito en el tratamiento de infecciones por microorganismos productores de BLEE. (González, *et al.* 2013).

Es relevante mencionar que hoy en día las UCI son el principal ambiente dentro del hospital, tanto de la colonización, como de los brotes epidémicos nosocomiales. Desconocer su presencia puede llevar a utilizar antibióticos de poca eficiencia sobre estos microorganismos. Por ende en la presente investigación también se identificaron aquellas

cepas productoras de β -lactamasas tipo AmpC tanto en hospitalización como en UCI, indicándose en la siguiente tabla y gráfica las frecuencias y porcentajes.

Tabla 8. Frecuencia y porcentaje de AmpC presente en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CEPAS	Hospitalización		UCI	
	f	%	f	%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	5	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	1	5
TOTAL	2	10	1	5

Elaborado por: Rita Rivera

El 15% de las cepas aisladas presentaron producción de betalactamasas tipo AmpC, encontrándose distribuidos de la siguiente manera: el 10% pertenece al área de hospitalización, que corresponde a una cepa de *Proteus vulgaris* y una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*; mientras que el 5% restante pertenece a UCI que corresponde a una cepa de *Escherichia coli*. La relación entre la presencia de AmpC y las cepas aisladas es estadísticamente significativa ($p=0,003$) (Tabla 8).

Según Martínez (2009), ciertas enterobacterias poseen de manera natural betalactamasas tipo AmpC, es decir, los niveles de producción de betalactamasas tipo AmpC dependen del grado de expresión del gen *blaAmpC*. Cuando el gen *blaAmpC* se expresa de forma constitutiva puede hacerlo a niveles basales, confiriendo un fenotipo de resistencia natural o salvaje, tal es el caso de *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens* y *Citrobacter freundii*; al igual que los bacilos Gram negativos no fermentadores de importancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa*.

Mientras que aquellas β -lactamasas de tipo AmpC que están codificadas por genes *blaAmpC* asociados a integrones, como los de clase 1, o transposones localizados en plásmidos conjugativos (AmpC plasmídicas) se encuentran principalmente en algunas especies de enterobacterias (*Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*, entre otras) con relevancia clínica y epidemiológica. Desde el punto de vista epidemiológico, las AmpC plasmídicas tienen mucha mayor relevancia o trascendencia que las AmpC cromosómicas, debido a su capacidad para movilizarse, y se pueden transferir tanto en el ambiente nosocomial, donde tienen un claro potencial epidémico, como

en la comunidad. La distribución de estas enzimas es mundial, habiéndose descrito en todos los continentes y con una prevalencia variable, dependiente del microorganismo, del tipo de AmpC plasmídica y del área geográfica (Navarro, *et al.* 2011).

La gran diversificación evolutiva que han sufrido las enzimas en un corto período y la aparición de nuevas enzimas han cambiado de forma importante la epidemiología de la resistencia a los betalactámicos en las cepas de la familia *Enterobacteriaceae*, por lo tanto, es importante examinar la frecuencia de estos tipos de betalactamasas, su distribución epidemiológica en el medio hospitalario y la difusión de los mecanismos de resistencia.

También es importante destacar que todos los fenotipos compatibles con serinocarbapenemasas han estado adquiriendo importancia a nivel hospitalario en relación con la resistencia de las enterobacterias a carbapenems (Marcano, *et al.* 2011). En consecuencia, también se evaluaron aquellas cepas resistentes al imipenem para determinar el porcentaje y frecuencia de carbapenemasas presentes en hospitalización y UCI.

Tabla 9. Frecuencia y porcentaje de carbapenemasas presentes en cepas aisladas de muestras clínicas en pacientes de las áreas de hospitalización y la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el período agosto-septiembre 2013.

CEPAS	Hospitalización		UCI	
	f	%	f	%
<i>Proteus mirabilis</i>	1	10	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	1	10
TOTAL	1	10	1	10

Elaborado por: Rita Rivera

El 20% de las cepas aisladas presentaron producción de carbapenemasas, encontrándose distribuidos de la siguiente manera: el 10% en el área de hospitalización que corresponde a una cepa de *Proteus mirabilis*; mientras que el 10% restante pertenece a UCI, que corresponde a una cepa de *Acinetobacter baumannii*. La relación entre la presencia de carbapenemasas y las cepas aisladas es estadísticamente significativa ($p= 0,046$) (Tabla 9).

En Venezuela, Ramos *et al.* (2012) reportó que el 91,8% de los aislados de *Acinetobacter baumannii* mostraron un resultado positivo en el test de Hodge y los genes que codifican para las carbapenemasas tipo OXA se detectaron en 96,6% de los aislados. Orquidea *et al.*

(2006), indicó que en Latinoamérica, *Acinetobacter spp.* causa infección intrahospitalaria con frecuencias 2 a 10 veces mayores que en Canadá o Estados Unidos y la prevalencia de la resistencia a imipenem es de 11,45%.

Según, Pacheco *et al.* (2013), para que una bacteria Gram negativa exprese un fenotipo resistente a los carbapenems, requiere de la combinación de al menos dos mecanismos de resistencia, siendo la más frecuente la producción de enzimas y el cierre de porinas. Las carbapenemasas están codificadas por el gen blaKPC, el cual generalmente se localiza en plásmidos. La localización en este elemento genético móvil le confiere a las bacterias portadoras la capacidad de compartir esta información genética con otras especies y familias de bacterias, facilitando su diseminación clonal y geográfica. Pues, en UCI se encuentran los pacientes con las condiciones clínicas más severas y mayor riesgo de adquirir infecciones por bacterias multirresistentes, siendo entonces el servicio hospitalario con el mayor uso de antibióticos de amplio espectro como los carbapenems. Sin embargo, en la presente investigación se encontró un igual porcentaje de cepas productoras de carbapenemasas tanto en hospitalización como en UCI.

En Loja, de acuerdo al presente estudio la prevalencia de BLEE a nivel hospitalario es de 44,4%. Máttar & Martínez (2007), indicaron que las BLEE son un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil, con rangos, entre 5% a 73%. Pavón *et al.* (2011), indicó que la prevalencia de BLEE se encuentra por encima del 40%. Sin embargo, en Loja la prevalencia de carbapenemasas a nivel hospitalario es de 2,7%. Así mismo, González & Cortés (2013), indicaron que la prevalencia de carbapenemasas varía entre 1 a 1,8%. Pues la prevalencia de estos patrones de resistencia, principalmente en UCI, probablemente se debe al uso elevado de carbapenems en este escenario, pues son los antibióticos más frecuentemente prescritos en UCI en Latinoamérica, seguidos de vancomicina, piperacilina tazobactam y cefalosporinas de amplio espectro, principalmente cefepime.

CONCLUSIONES

Posterior al análisis de los resultados obtenidos de los cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes hospitalizados del Hospital "Manuel Ygnacio Monteros" durante el período agosto-septiembre 2013, se puede concluir lo siguiente:

- ✓ Los bacilos Gram negativos más comunes implicados en los procesos infecciosos de pacientes hospitalizados fueron *Escherichia coli* con un porcentaje de 61,5% seguido de *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella oxytoca* con un porcentaje de 11,5% y 9,6% respectivamente. Mientras que en UCI los bacilos Gram negativos más comunes fueron *Escherichia coli* con un 60%, seguido de *Acinetobacter baumannii* con un 15% y *Enterobacter aerogenes* con un porcentaje del 10%.
- ✓ Los fenotipos presentes fueron las β -lactamasas, dentro de las cuales se encuentran las β -lactamasas de espectro extendido BLEE (71,1%), carbapenemasas (20%) y β -lactamasas tipo AmpC (15%).
- ✓ Se identificó y determinó a las β -lactamasas como el principal mecanismo de resistencia bacteriana que presentan los bacilos Gram negativos, encontrándose distribuidos de la siguiente manera: en hospitalización las β -lactamasas de espectro extendido BLEE con el 46,7% β -lactamasas tipo AmpC 10% y carbapenemasas 10%; mientras que en UCI las β -lactamasas de espectro extendido BLEE corresponden al 24,4% carbapenemasas 10% y las β -lactamasas tipo AmpC 5%.

RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar investigaciones acerca de los mecanismos de resistencia presentes en bacilos Gram negativos a nivel local y publicar los resultados obtenidos con la finalidad de mantener actualizado el sistema de salud y así describir la magnitud de la resistencia bacteriana en los hospitales.
- ✓ Diseñar y efectuar campañas educativas encabezadas por comités médicos, dirigidas a los pacientes para modificar conductas de automedicación antibiótica.
- ✓ Instaurar medidas de control y de vigilancia epidemiológica, con el fin de reducir índices de resistencia bacteriana emergente.
- ✓ En futuros estudios se debería incluir más centros hospitalarios de la provincia de Loja para tener una visión más general de lo que está ocurriendo en cuanto a resistencia bacteriana en hospitalización.
- ✓ Aplicar técnicas moleculares para continuar con el estudio genético sobre los genes y enzimas implicados en los mecanismos de resistencia de los bacilos Gram negativos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Albarado, L., García, J., Rodríguez, E., Carpio, C., Salazar, E., Flores, E., Betancourt, J., Araque, Y., & Guzmán, M., (2009, 27 de Mayo). Frecuencia de enterobacterias nosocomiales productoras de β -lactamasas de espectro extendido, Cumaná, Venezuela. *Revista de Ciencias Biomédicas, Volumen 7 (11)*, pp. 51-59.

Álvarez, D. (2010, noviembre). Identificación de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias. *Revista Habanera de Ciencias Médicas, Volumen 9 (4)*, pp. 516-524.

Álvarez, C., Cortes, J., Arango, A., Correa, C., & Leal, A., (2006, 15 de abril). Resistencia Antimicrobiana en Unidades de Cuidado Intensivo de Bogotá, Colombia, 2001-2003. *Revista Salud Pública, Volumen (1)*: pp. 86-101.

Basulto, M., Galdos, M., Sánchez, M., Carr, J., & Diaz, H., (2009). Infección nosocomial respiratoria en la Unidad de Cuidados Intensivos. *Revista Archivo Médico de Camaguey, Volumen 13 (2)*, pp. 10-20.

Benavides, L., Aldama, A., & Vásquez, H., (2005, 11 de abril). Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Revista de Salud Pública de México, 47 (3)*: pp. 219-226.

Briones, E., (2006, junio). La resistencia bacteriana y el mal uso de antibióticos en hospitales. Una historia sin fin. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría, Volumen 19 (76)*: pp. 112-120.

Brooks G., Carroll K., Butel J., & Morse, S. (2008). *Microbiología médica*. (19ª Ed). México: El Manual Moderno.

Brunton, L., Lazo, J., & Parker, K. (2007). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. (11ª Ed). España: MxGraw-Hill Interamericana.

Cabrera, C., & Mejía, C., (2008, 18 de junio). Los mecanismos de resistencias a antibióticos: ¿Podremos lograr un equilibrio entre el uso-abuso de los antibióticos y así lograr la

disminución de la resistencia bacteriana a estos medicamentos?. *Revista Colombiana Salud Libre, Volumen 3 (1)*: pp. 83-104.

Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F., Mirelis, B., & Navarro, F., (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Descargado el 12 de septiembre de 2013, de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiología/seimc-procedimientomicrobiología38.pdf>

Cantón, R., Loza, E., Aznar, J., Calvo, J., Cercenado, E., Cisterna, R., González, F., López, J., Rubio, C., Suárez, A., Tabau, F., Weber, I., Yuste, P., & Cavanillas, R. (2011). Sensibilidad de microorganismos gramnegativos de infecciones intraabdominales y evolución de los aislados con β -lactamasas de espectro extendido en el estudio SMART en España (2002-2010). *Revista Española Quimioter, Volumen 24(4)*: pp. 223-232.

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

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

Castells, S., & Hernández, M. (2007). *Farmacología en enfermería*. (2^{da} Ed). España: Elsevier.

Chincha, O., Cornelio, E., Valverde, V., & Acevedo, M., (2013, 2 de octubre). Infecciones intrahospitalarias asociadas a dispositivos invasivos en unidades de cuidados intensivos de un hospital nacional de lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, Volumen 30 (4)*, pp. 616-620.

CLSI.2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. Datos publicados en enero del 2012. <http://www.clsi.org/standards/micro>.

Cruz, E., & Díaz, G., (2010, 8 de febrero). Modelación molecular de antibióticos betalactámicos. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos, Volumen (8)*, pp. 13-19.

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

Díaz, F., Estrada, S., Franco, L., Jaramillo, J., Maestre, A., Ospina, S., Robledo, C., & Robledo, J. (2007). *Microbiología de las infecciones humanas*. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas.

Diestra, K., Coque, T., Miró, E., Oteo, J., Nicolau, C., Campos, J., Moyá, B., Curiao, T., Pérez, M., Cantón, R., Oliver, A., & Navarro, F., (2008). Caracterización y epidemiología molecular de betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en once hospitales españoles (2004). *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Volumen 26 (7)*, pp. 404-410.

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

Espino, M., Álavrez, E., Zayas, A., & Contreras, R., (2010, 7 de septiembre). Detección de cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido por el sistema DIRAMIC: Comparación con los métodos doble difusión con discos y E-test. *Revista Chilena de Infectología, Volumen 27 (6)*, pp. 544-550.

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

Fariñas, M., & Martínez, L., (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Volumen (31)*, pp. 402-409.

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

Frómata, I., Izquierdo, F., & López, M., (2008). Infecciones nosocomiales en un hospital del tercer nivel: Experiencia de 5 años. *Revista Cubana de Medicina, Volumen 47(3)*, pp. 10-20.

Gaitán, S., & Espinal, P., (2009, 14 de enero). Caracterización molecular de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales

de la Región Caribe, Colombia. *Revista Chilena de Infectología, Volumen 26(3)*, pp. 239-246.

García, T., Castillo, A., & Salazar, D., (2013, 16 de septiembre). Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. *Revista Cubana de Salud Pública, Volumen 40 (1)*, pp. 1-3.

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

González, L., & Cortés, J., (2013, 27 de noviembre). Revisión sistemática de la resistencia antimicrobiana en enterobacterias en aislamientos intrahospitalarios en Colombia. *Revista del Instituto Nacional de Salud, Volumen 34 (2)*, pp. 1-44.

González, E., Valenzuela, E., Mantilla, J., Leal, A., Saavedra, C., Eslava, J., & Sierra, P., (2006, 15 de abril). Resistencia a Cefepime en aislamientos de *Enterobacter cloacae* provenientes de hospitales de Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública, Volumen 8 (2)*, pp. 191-199.

González, L., Ramos, A., Nadal, L., Morffi, J., Hernández, E., Álvarez, A., Marchena, J., González, M., & Vallin, C., (2007, 18 de noviembre). Identificación fenotípica y molecular de β -lactamasas de espectro extendido TEM y SHV producidas por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. aislados clínicos de hospitales. *Revista Cubana de Medicina Tropical, Volumen 59(1)*, pp. 1-9.

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

Guevara, P., Machado, S., & Manrique, E., (2011, 27 de julio). Infecciones urinarias adquiridas en la comunidad: epidemiología, resistencia a los antimicrobianos y opciones terapéuticas. *Revista Kasma, Volumen 39 (2)*, pp. 87-97.

Hidalgo, L., Marroquin, J., Antigoni, J., & Samalvides, F., (2011). Prevalencia de infecciones hospitalarias en un hospital peruano de nivel IV, en el año 2008. *Revista Médica Herediana, Volumen 22 (2)*, pp. 76-81.

Jiménez, Y. (2012). Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el Hospital Clínica “San Agustín” de la ciudad de Loja en los meses de junio – noviembre de 2010. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.

Katzung, B., Masters, S., & Trevor, A. (2010). *Farmacología básica y clínica*. (11^a Ed). China: Mc Graw-Hill.

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

Lorenzo, P., Moreno, A., Leza, J., Lizasoain I., Moro, M., & Portolés, A. (2013). *Manual de farmacología básica y clínica*. Madrid: Medica Panamericana.

Manzur, A., Ruiz, M., Fernández, J., Bustos, A., Amuchastegui, R., Fonseca, G., Padilla, M., Ferrari, S., & Salanitro, B., (2013, 18 de mayo). Bacteriemia nosocomial en servicios de Cuidados Críticos y en Sala General. *Revista de actualizaciones en Sida e Infectología, Volumen 21 (80)*, pp. 42-47.

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

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

Martínez, D., (2009, 21 de octubre). Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, Volumen 29*, pp. 78-83.

Máttar, S., & Martínez, P. (2007). Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. *Revista de la Asociación Colombiana de Infectología, Volumen 11(1)*, pp. 23-34.

Mendoza, N. (2008). *Farmacología médica*. México: Medica Panamericana.

Morejón, M., (2013). Betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Medicina, Volumen 52 (4)*, pp. 272-280.

Murray P., Rosenthal K., & Pfaller M. (2009). *Microbiología Médica*. (6^a Ed). España: Elsevier.

Navarro F., Calvo J., Cantón R., Fernández F., & Mirelis, B., (2011, 31 de marzo). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Volumen (29)*, pp. 524-534.

Orquídea, J., Mantilla, J., Valenzuela, E., Fernández, F., Álvarez, C., & Osorio, E., (2006, 25 de abril). Caracterización molecular de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* provenientes de la unidad de quemados de un hospital de tercer nivel de Bogotá. *Revista de la Asociación Colombiana de Infectología, Volumen 10 (2)*, pp. 71-78.

Padgett, D., Luque, M., Rivera, D., Galindo, C., Cepeda, L., & Hernández, A. (2011, julio). Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas en el Instituto Hondureño de Seguridad Social. *Revista Médica Hondureña, Volumen 79 (3)*, pp. 117-1121.

Pacheco, r., Osorio, L., Correa, A., & Villegas, M. (2013, 22 de octubre). Prevalencia de bacterias Gram negativas portadoras del gen blaKPC en hospitales de Colombia. *Revista Biomédica. Volumen 34(1)*, pp. 1-30.

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

Pavón, S., Zalazar, M., Morales, M., & Rojas, M., (2011, 13 de mayo). Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. *Revista Ciencia Ergo Sum, Volumen 18 (2)*, pp. 164-170.

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

Prats, G. (2013). *Microbiología y parasitología médicas*. España: Medica panamericana.

Ramos, N., Delgado, Y., Anzola, Y., Marcano, D., & Torres, L., (2012, 10 de mayo). Detección de carbapenemasas tipo OXA en aislados de *Acinetobacter baumannii* de diferentes centros hospitalarios de Caracas, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, Volumen 32*, pp. 95-100.

Rivera, M., Rodríguez, C., Huayán, G., & Mercado, P., (2011). Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en

Enterobacteriaceae aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú. *Revista Médica Herediana, Volumen 22 (2)*, pp. 69-75.

Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana*. (3^a. Ed). México: Editorial Medica Panamericana.

Ryan, K., & Ray, C. (2005). *Microbiología Médica: Una introducción a las enfermedades infecciosas*. (4^a Ed). México: McGraw-Hill.

Sánchez, L., Ríos, R., & Máttar, S., (2008, 1 de julio). Detección de beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aislados en una clínica de Villavicencio, Colombia. *Revista Asociación Colombiana de Infectología, Volumen 12 (3)*, pp. 192-200.

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

Schoevaerds, D., Bogaerts, P., Grimmelprez, A., Hubert, M., Delaere, B., Jamart, J., Swine, C., & Glupczynski, Y., (2011). Clinical profiles of patients colonized or infected with extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* isolates: a 20 month retrospective study at a Belgian University Hospital. *Magazine BioMed Central, Volumen 11 (12)*, pp. 1-10.

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

Tortora, G., Funke, B. & Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. (9^a Ed). Argentina: Médica Panamericana.

Useche, J., Núñez, E., & Torres, H., (2012). Agentes implicados en infección neonatal nosocomial y patrones de sensibilidad antimicrobiana. *Revista Salus, Volumen 16 (3)*, pp. 33-39.

Villabón, M., Medina, R., Plazas, M., & Rachid, R., (2013, 15 de enero). Bacteriemia relacionada a catéter venoso central en paciente crítico. La importancia de aplicar "Bundles" para la solución de problemas en unidades de cuidados intensivos. *Revista Colombiana de Cuidado Intensivo, Volumen 13 (1)*, pp. 18-23.

Villalobos, A., Díaz, M., Barrero, L., Rivera, S., Henríquez, D., Villegas, M., Robledo, C., & Leal, A., (2011). Tendencias de los fenotipos de resistencia bacteriana en hospitales públicos y privados de alta complejidad de Colombia. *Revista Panamericana de Salud Pública, Volumen 30(6)*, pp. 627–33.

Yassin, G. (2011). *Lo esencial en farmacología*. España: Elsevier.