



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 del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González durante el periodo agosto-noviembre 2013.

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR: Alvarado Pullaguari, Cecilia Yajaira

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 del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González durante el periodo agosto-noviembre 2013, realizado por Alvarado Pullaguari Cecilia Yajaira, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por lo que se aprueba la presentación del mismo.

Loja, marzo de 2014

f).....

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Alvarado Pullaguari Cecilia Yajaira, 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 del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González durante el periodo agosto-noviembre 2013, de la Titulación de Bioquímico Farmacéutico, siendo Zorayda Patricia Toledo Barrigas director (a) del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

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: Alvarado Pullaguari Cecilia Yajaira

Cédula: 110475289-2

DEDICATORIA

A

Dios y a la Virgen del Cisne, por todas sus bendiciones y por darme la fortaleza para superar las dificultades y permitirme cumplir todas mis metas.

Mis padres Marcelo y María quienes incondicionalmente dan lo mejor de sí, con mucho esfuerzo, sacrificio y constante apoyo en todos los aspectos de mi vida, los quiero con toda mi alma.

Mis hermanos/as Marcelo, Guillermo, Ma. Fernanda, Katherine y Salvador quienes con su alegría siempre están presentes en todo momento brindándome su apoyo y comprensión.

Mis primas y amigas que siempre están brindándome su apoyo y ánimos en todo momento.

AGRADECIMIENTO

A

Dios y a la Virgen del Cisne que me han conservado con vida, salud, y me han guiado y cuidado, sin su protección nada de esto podría cumplirse.

La Titulación de Bioquímica y Farmacia, docentes por todos los conocimientos impartidos durante mi formación como Profesional.

Mi Directora de tesis la Bq. F. Zorayda Toledo, por todos sus conocimientos y su constante apoyo brindado para la realización de esta tesis. Por la profesionalidad y dedicación con la que ha dirigido este trabajo.

Y en especial al grupo de trabajo tan maravilloso con el que he tenido la suerte de trabajar formado por Jhomar Rivera, Yomaira Malla, Vanessa Cuenca, Lucía Chalan, Abigail Torres y Bq. Sofía Ochoa.

Al personal del Laboratorio Clínico del Hospital de Día (IESS) y la Clínica Maternidad Julia Esther Gonzales, quienes me ayudaron con las muestras para efectuar la presente investigación.

A mis padres y hermanos por la ilusión y apoyo que manifiestan frente a todo lo que hago.

A todos, gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
DECLARATORIA DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	viii
ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPITULO I.....	5
1.1. Bacterias Gram negativas.....	6
1.1.1 Enterobacterias.....	6
1.1.2 Bacilos Gram negativos no fermentadores.....	8
1.2. Resistencia bacteriana.....	10
1.2.1 Tipos de resistencia.....	10
1.2.2 Mecanismos bioquímicos de resistencia a antimicrobianos.....	11
1.3. Antibióticos.....	13
1.3.1 Antibióticos β -lactámicos.....	14
1.3.1.1 Penicilinas.....	14
1.3.1.2 Inhibidores β -lactámicos.....	15
1.3.1.3 Cefalosporinas.....	15
1.3.1.4 Carbapenems.....	18
1.3.1.5 Monobactams.....	19
1.4. β -lactamasas.....	19
1.4.1 Producción de β -lactamasas.....	21
1.4.2 β -lactamasas AmpC.....	21
1.4.3 β -lactamasas de amplio Espectro.....	21
1.4.4 β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).....	22
1.4.4.1 Epidemiología de las BLEE.....	23
1.4.4 Carbapenemasas.....	24
CAPITULO II.....	26
2.1. Metodología.....	27
CAPITULO III.....	30
3.1 Resultados y Discusión.....	31
CONCLUSIONES.....	41
RECOMENDACIONES.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXOS.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de Cefalosporinas	16
Tabla 2. Clasificación de β -lactamasas	20
Tabla 3. Frecuencia de cepas aisladas en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día, durante el período agosto-noviembre de 2013.	32
Tabla 4. Frecuencia de cepas aisladas en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico de la Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.	32
Tabla 5. Frecuencia de β -lactamasas en cepas aisladas de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.....	35
Tabla 6. Frecuencia de cepas productoras de BLEE en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.....	38
Tabla 7. Frecuencia de cepas productores de AmpC en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día, durante el período agosto-noviembre de 2013.	39

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Tipos de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día, durante el período agosto-noviembre de 2013..... 31

Gráfica 2. Tipos de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico de la Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013..... 31

Gráfica 3. Porcentaje de resistencia antimicrobiana en cepas aisladas de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013. 33

ABREVIATURAS

AMC: Amoxicilina – ácido clavulánico.

AMK: Amikacina.

AMP: Ampicilina.

AmpC: β -lactamasas de tipo AmpC.

AN: Ácido nalidíxico.

ATB: Antibiótico.

ATM: Aztreonam.

BGNMF: Bacilos Gram negativos no fermentadores.

BLEA: β -lactamasas de amplio espectro.

BLEE: β -lactamasas de espectro extendido.

C: Carbono.

CAZ: Ceftazidima.

CIP: Ciprofloxacina.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CTX: Cefotaxima

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético.

ESBL (Inglés): β -lactamasas de espectro extendido.

FEP: Cefepima.

FOX: Cefoxitina.

IBLs: Inhibidores de β -lactamasas.

IESS: Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social.

IPM: Imipenem.

ITU: Infección del tracto urinario.

LCR: Líquido cefalo raquídeo.

LPS: Lipopolisacárido.

MBLs: Metalo β -lactamasas.

NAVMI: Neumonías asociadas a ventilación mecánica invasiva.

NET: Netilmicina.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

pH: Potencial de Hidrogeno.

REDNARBEC: Red Nacional de Resistencia Bacteriana.

SAM: Ampicilina – sulbactam.

SM: Stenotrophomonas maltophilia.

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences.

TZP: Piperacilina - tazobactam

UCI: Unidad de cuidados intensivo.

WHONET: World Health Organization.

RESUMEN

El presente trabajo está basado en identificar y determinar los mecanismos de Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas de pacientes del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Ester González, durante el período agosto-noviembre 2013.

Para identificar estas cepas se realizaron pruebas bioquímicas y la susceptibilidad bacteriana se determinó por el método de disco difusión en agar Mueller Hinton mediante la técnica de Bauer y Kirby, considerando la resistencia a cefalosporinas de tercera generación, cefamicinas y carbapenems. Las cepas resistentes fueron sometidas a pruebas confirmatorias siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI).

En las Instituciones en estudio se aislaron 239 y 20 cepas respectivamente, el 95% y 90% de muestras provienen de urocultivos, aislándose con mayor frecuencia *Escherichia coli* (87% y 95%), *Klebsiella pneumoniae* (3%) y *Proteus vulgaris* (2,5% y 5%), de las cuales se identificaron 22 y 3 cepas productoras de BLEE siendo *Escherichia coli* con un 49% y 75% la más frecuente; y un 27% son productoras de β -lactamasas de tipo AmpC.

Determinando que la presencia de BLEE a nivel comunitario es un factor de preocupación por la progresiva resistencia a los antimicrobianos.

Palabras Clave: Bacilos Gram negativos, antimicrobianos, susceptibilidad bacteriana, β -lactamasas, BLEE, AmpC, Carbapenems.

ABSTRACT

The objective of this investigation is to identify and determinate the bacterial resistance mechanism in Gram-negative bacillus of isolated cultures of clinical samples in the Hospital del Día and Clínica Maternidad Julia Ester González, during the period August-November, 2013.

To identify these strains were made biochemical tests and bacterial susceptibility was determined by the disc diffusion method using Muller Hinton agar and Kirby Bauer technique, taking into consideration resistance to third generation cephalosporins, cephamycins and carbapenems. The resistances strains were subjected to confirmatory testing as recommended by the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI).

In the institutions under study were isolated respectively 239 and 20 strains, the 95% and 90% of samples come from urine cultures, most often isolating *Escherichia coli* (87% and 95%), *Klebsiella pneumoniae* (3%) and *Proteus vulgaris* (2.5% and 5%), of which are identified 22 and 3 strains producing of ESBL being *Escherichia coli* 49% and 75% the most common, and 27% is producing β -lactamase AmpC.

With these results, we determined that the presence of ESBL in the community is a factor of concern by the progressive resistance to antimicrobial.

Key words: Gram-negative bacillus, antimicrobial drugs, bacterial susceptibility, beta-Lactamases, ESBL, AmpC, Carbapenems.

INTRODUCCIÓN

Los bacilos Gram negativos son las bacterias que se recuperan con mayor frecuencia en muestras clínicas humanas. En las últimas décadas, estos bacilos han adquirido mayor importancia como agentes causantes de infecciones intra y extrahospitalarias, debido a que han desarrollado fenotipos de resistencia bastante amplios frente a los antibióticos β -lactámicos; situación que ha sido reportada prácticamente en todo el mundo (Rivera, *et al.* 2011).

Existen numerosos mecanismos de resistencia a este tipo de antibióticos, por ejemplo a través de modificaciones de las proteínas fijadoras de penicilina, la inactivación enzimática del antibiótico por producción de β -lactamasas, la alteración de la permeabilidad por reducción de las porinas de la pared bacteriana o la eliminación del antimicrobiano una vez que ha penetrado en las bacterias gracias a bombas de expulsión presentes en sus envolturas.

De los distintos mecanismos, las β -lactamasas, son la principal causa de resistencia a estos antibióticos. Estas enzimas hidrolizan el enlace amida del anillo β -lactámico, de manera que pueden inactivar penicilinas, cefalosporinas, monobactams, carbapenems o distintas combinaciones de estos antibióticos (Carrillo & García, 2007).

Inicialmente la detección de β -lactamasas de espectro extendido, estaba limitada a cepas aisladas de pacientes hospitalarios, sin embargo, la situación se ha complicado, debido a que el mecanismo se está detectando en bacterias causantes de infecciones a nivel comunitario. Se han descrito fundamentalmente en cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.*, aunque también en microorganismos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* (García, *et al.* 2011).

Estos microorganismos productores de β -lactamasas de espectro extendido son resistentes a penicilinas, cefalosporinas de tercera generación y aztreonam, pero no a las cefamicinas ni carbapenems y son inhibidas por el ácido clavulánico, lo que trae como consecuencia una complicación terapéutica agravando el problema de salud pública, de ahí la gran importancia de una adecuada y oportuna identificación (Rivera, *et al.* 2011).

Las AmpC constituyen otro tipo de β -lactamasas que a diferencia de las β -lactamasas de espectro extendido, hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas y en menor medida las de tercera generación, son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación y los carbapenems, y son inhibidas por el ácido borónico (Espinoza, 2007).

Durante los últimos años con el extenso uso de cefalosporinas de amplio espectro, las bacterias productoras de β -lactamasas se han convertido en un problema alarmante que va en aumento.

Los carbapenems, por otra parte, son los antibióticos de primera línea recomendados para infecciones graves hospitalarias o de la comunidad, causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes productores de β -lactamasas de espectro extendido y de β -lactamasas AmpC, frecuentemente son la única opción terapéutica disponible, por lo que es inquietante que la susceptibilidad a carbapenems en enterobacterias ya no esté garantizada (Lastra, *et al.* 2010).

Múltiples estudios indican que el amplio, inadecuado y muchas veces irracional uso de antimicrobianos, así como falta de programas integrales de vigilancia y control, son causas de la identificación 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 (Rivera, *et al.* 2011).

El *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) recomienda, para la detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido se realice mediante la prueba de sinergia de doble disco y la prueba de discos combinados con inhibidor; y la identificación de cepas productoras de β -lactamasas de tipo AmpC, se realice la prueba de sinergia de doble disco (AmpC constitutivas) y prueba de aproximación de discos (AmpC plasmídicas); para la detección de carbapenemasas, se realice el test de Hodge y para identificar las cepas productoras de carbapenemasas de tipo A se realice mediante la prueba de sinergia de doble disco, utilizando un disco de ácido borónico y el disco de EDTA para las carbapenemasas tipo B.

El propósito de esta investigación fue identificar y determinar los mecanismos de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínica del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Ester González, durante el periodo de agosto-noviembre del 2013.

CAPITULO I

1.1 Bacilos Gram Negativos

El gran grupo de bacilos Gram negativos incluyen diferentes familias y géneros muchos de ellos muy frecuentes en patologías médicas. Comparten algunas características tales como poseer en su pared externa un lipopolisacárido (LPS), que otorga características patogénicas particulares y tóxicas, como la llamada endotoxinas de las bacterias Gram negativas (Algorta, 2009).

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 pueden llevar a la falla terapéutica (Tafur, *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 Enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* esta formada por bacilos Gram negativos, son móviles, presentan flagelos peritricos, no forman esporas, se desarrollan en presencia o en ausencia de oxígeno (aerobios-anaerobios facultativos), mientras otros requieren el agregado de vitaminas y/o minerales en el medio de cultivo. Son quimioorganotrofos, poseen metabolismo fermentativo y respiratorio. Son catalasa positivos y oxidasa negativos; reducen los nitratos a nitritos (Algorta, 2009).

Están muy diseminadas en la naturaleza, las encontramos en el agua, en la tierra, en los animales etc. En el hombre se localizan en las vías aéreas superiores (en pequeña proporción), en la piel (región perianal), en la uretra anterior y sobre todo en el intestino. Desde el estómago al intestino grueso, la concentración va aumentando a lo largo del tubo digestivo (Merino & Losch, 2013).

En esta familia, las especies *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* son las más frecuentes como causas de infecciones urinarias, tanto en la comunidad como en el hospital. Las cepas de *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.* son agentes etiológicos importantes en casos de neumonía, y todas las enterobacterias están implicadas en infecciones intraabdominales y bacteriemias. Las bacterias de los géneros *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Escherichia coli* puede producir gastroenteritis (Casellas, 2011).

Las enterobacterias constituyen el 50% de las bacterias con importancia clínica aisladas en los laboratorios de microbiología clínica. Son responsables del 50% de los

casos de sepsis, de más del 70% de las infecciones del tracto urinario y de un significativo porcentaje de infecciones del tracto digestivo (Fernández, 2012).

1.1.1.1 Epidemiología.

En los individuos hospitalizados o inmunodeprimidos (incluyendo los pacientes alcohólicos y diabéticos), en especial en los que reciben tratamiento antibiótico, hay colonización por *Enterobacteriaceae*, en el tubo digestivo, orofaringe, aparato genitourinario y piel. La infección por estas bacterias es frecuente en estos contextos. La proporción de aislados resistentes a múltiples antimicrobianos, incluidos aquellos que producen β -lactamasas de espectro extendido, ha aumentado de forma ininterrumpida, de modo que casi todos los aislados nosocomiales, y muchos de los aislados adquiridos en la comunidad, son ahora resistentes a varias clases importantes de antimicrobianos (García & Rodríguez, 2010).

Según los datos disponibles del año 2008, la Red Nacional de Resistencia Bacteriana de Ecuador (REDNARBEC), reportan que a nivel comunitario la resistencia de *Shigella spp.* a tetraciclina fue del 96% y a ampicilina 93%. *Escherichia coli* era resistente a ampicilina y tetraciclina en un 71%, *Staphylococcus aureus* era resistente a eritromicina en un 30% y oxacilina en un 25%. A nivel hospitalario, *Escherichia coli* presento hasta un 77% de resistencia a ampicilina, *Klebsiella pneumoniae* era resistente en un 65% a cefotaxima; *Enterobacter ssp.* presento un 67% de resistencia a ampicilina sulbactam. *Staphylococcus aureus* fue resistente en un 41% a oxacilina. *Acinetobacter baumannii* era resistente a trimetoprima + sulfametoxazol en un 68% y a ciprofloxacina en un 64%. *Pseudomonas aeruginosa* fue resistente a gentamicina en un 55% y a ciprofloxacina en un 54% (Quizhpe, et al. 2011)

Diferentes factores han contribuido al incremento de las infecciones por enterobacterias en nuestros hospitales: el uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas (catéteres intravenosos, endoscopias, intervenciones), el empleo de potentes inmunosupresores y las estancias hospitalarias prolongadas (García & Rodríguez, 2010).

1.1.1.2 Estructura.

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son microorganismos con forma de bastón, por lo general de 1-3 μm de largo y 0,5 μm de diámetro.

Como en otras bacterias Gram negativas, su envoltura celular se caracteriza por una estructura multilaminar. La membrana interna (o citoplasmática) consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas.

La capa siguiente, o capa externa, consiste en un peptidoglucano delgado junto con un espacio periplásmico que contiene una elevada concentración de proteínas. La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS) (en la parte más externa, son un importante factor de virulencia de estas bacterias), lipoproteínas (que están fijadas al peptidoglucano), proteínas porinas multimétricas (que facilitan el paso de diversas sustancias, incluidos los antibióticos β -lactámicos) y otras proteínas de la membrana externa.

Entre estas proteínas hay algunas organelas complejas que irradian hacia el exterior: los flagelos, estructuras que se utilizan para la locomoción y que provienen de una estructura basal localizada en la membrana, las fimbrias (o pili comunes), con importante función como adhesinas y los pili sexuales, estructuras presentes en las bacterias utilizan para mediar la transferencia conjugativa de DNA del plásmido (García & Rodríguez, 2010).

1.1.1.3 Variación Genotípica.

Los bacilos Gram negativos que integran esta familia pueden identificarse por medio de la expresión fenotípica de algunos caracteres genéticos.

Los métodos utilizados tienen como principio:

- La investigación de la fermentación de azúcares o alcoholes en un medio peptonado con el agregado de un indicador de pH para detectar la producción de metabolitos ácidos.
- La investigación de la utilización de un substrato como única fuente de C.
- La investigación de la producción de un metabolito, como producto final
- La investigación de la aptitud de desarrollar en presencia de un inhibidor (Algorta, 2009).

1.1.1.4 Acción Patógena.

Se ha asociado a las cepas de *Enterobacteriaceae* con abscesos, neumonías, meningitis, septicemia, infecciones de heridas, infecciones urinarias e intestinales.

Son el componente mayor de la flora intestinal, pero son relativamente poco frecuente en otros sitios del organismo. Algunas especies son importantes como causa de infecciones nosocomiales (Algorta, 2009).

1.1.2 Bacilos Gram negativos no fermentadores.

Los bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF) constituye un grupo heterogéneo de microorganismos que se consideran generalmente patógenos

oportunistas y que en la actualidad han cobrado relevancia por su incidencia en las infecciones hospitalarias. Son bacterias no esporuladas, aerobias estrictas que, o bien no utilizan los carbohidratos como fuente de energía, o los degradan a través de vías metabólicas diferentes a la fermentación.

Las tres especies de BGNNF más frecuentes son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia*, las mismas representan cerca del 70% de todos los BGNNF (Malbrán, 2010).

a) *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo aerobio, considerado un patógeno oportunista. Es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C. Puede causar neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias, así como una alta morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística, debido a las infecciones crónicas que eventualmente conducen a un daño a nivel pulmonar e insuficiencia respiratoria. Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca, además de su capacidad para adquirir resistencia a diversos antibióticos.

Los carbapenems (imipenem y meropenem) son antibióticos de amplio espectro empleados para el tratamiento de infecciones nosocomiales producidas por *Pseudomonas aeruginosa*. La resistencia específica a carbapenems es atribuida a la falta de permeabilidad en la porina (OprD), a un incremento en la expresión de las bombas de expulsión activa (MexAB-OprD) y a la producción de metaloenzimas (Ochoa, *et al.* 2013).

b) *Acinetobacter spp.*

El *Acinetobacter spp.* 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*.

El amplio espectro de las infecciones nosocomiales causadas por *Acinetobacter spp.* incluye: bacteriemias, neumonías, meningitis, infecciones urinarias, infecciones relacionadas con catéteres intravasculares, abscesos abdominales e infecciones de herida quirúrgica, entre las más importantes. Algunos estudios sugieren que tanto las bacteriemias como las neumonías asociadas a ventilación mecánica invasiva (NAVMI), tienen una mortalidad significativa (Larrondo, 2010).

c) *Stenotrophomonas maltophilia*.

La *Stenotrophomonas maltophilia*, antiguamente conocida como *Pseudomonas maltophilia* o *Xantomona maltophilia* es un aerobio obligado, no crece a una temperatura < 5°C y >40°C, siendo la temperatura óptima para su crecimiento 35°C. Aunque por años fue considerada como una bacteria de patogenicidad limitada, en años recientes nuevos reportes indican que las infecciones asociadas a esta bacteria se relacionan con aumento en la morbi-mortalidad, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, con estancia prolongada en el hospital y que han recibido antimicrobianos de amplio espectro (Gutiérrez, *et al.* 2007).

1.2. Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es el mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antimicrobianos (ER. 2013). La resistencia microbiana se ha reportado casi en todos los países y demuestra que los microorganismos han desarrollado, en su proceso evolutivo, formas cada vez más eficaces para evadir los puntos de acción del antibiótico (Algorta, 2009).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre los factores considerados como causantes de la resistencia antimicrobiana, están el uso inapropiado de antibióticos, la falta de sistemas de vigilancia efectivos en cada país y región, la ausencia de legislación que permita el control en el mercado de la venta de medicamentos en las farmacias y el uso extendido de antibióticos en animales destinados para el consumo humano (Briceño, *et al.* 2010).

1.2.1 Tipos de Resistencias.

La resistencia bacteriana tiene una base genética intrínseca y una adquirida:

1.2.1.1 Resistencia natural o intrínseca.

Se habla de resistencia natural, cuando se tienen bacterias de una misma especie que poseen en su antibiograma una concentración mínima inhibitoria frente a un antibiótico superior a la que inhiben normalmente a otras bacterias de características similares. Esto puede deberse a las características del antibiótico o de la bacteria que impiden el acceso normal del fármaco al lugar específico de acción, a modificaciones naturales de la diana de acción o cuando toda una población bacteriana produce de modo natural un mecanismo de resistencia (Espinoza, 2007).

1.2.1.2 Resistencia adquirida.

Es una característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antibiótico pero que ha sido modificado genéticamente ya sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones) (Pérez & Robles, 2013).

a) Resistencia cromosómica

Esta resistencia se origina por la mutación de material genético, debido a la velocidad de multiplicación de las bacterias la cual las hace propensas a producir mutaciones y hace que por selección natural tenga resistencia cromosómica propia cuando estas están sometida frente a un antibiótico (Espinoza, 2007).

b) Resistencia extracromosómica

Este tipo de resistencia se debe a la incorporación de material genético distinto al que posee la bacteria y se sitúa por fuera del cromosoma, la cual le da características especiales. También se puede llamar resistencia transferida o resistencia mediada por plásmidos (Espinoza, 2007).

1.2.2 Mecanismos bioquímicos de resistencia a antimicrobianos.

La resistencia bacteriana tanto natural como adquirida se puede abordar desde el punto de vista molecular y bioquímico de tal forma que se pueden clasificar en tres mecanismos básicos, por medio de los cuales las cepas bacterianas pueden adquirir resistencia a los antibióticos de acuerdo al mecanismo expresado y al mecanismo de acción del antibiótico.

Los mecanismos de resistencia son: inactivación de los antibióticos por destrucción o modificación de la estructura química, alteración del sitio blanco del antibiótico y alteración de barreras de permeabilidad. Cabe resaltar que los tres mecanismos pueden ocurrir simultáneamente (Pérez & Robles, 2013).

1.2.2.1 Inactivación del antibiótico por destrucción o modificación de la estructura química.

El fenotipo de resistencia antibiótico por destrucción o modificación de la estructura química es un proceso molecular caracterizado por la producción de enzimas que van a llevar a cabo esta función. Las enzimas que destruyen la estructura química, más conocidas, son las β -lactamasas que se caracterizan por hidrolizar el núcleo β -lactámico rompiendo el enlace amida, otra es la eritromicina esterasa que cataliza la hidrólisis del anillo de lactona del antibiótico. Entre las enzimas que se encargan de la modificación de la estructura podemos mencionar a la cloranfenicol acetiltransferasa y

también a las enzimas que modifican a los aminoglucósidos, lincosamidas y estreptograminas (acetilasas, adenilasas y fosfatasa) (Pérez & Robles, 2013).

1.2.2.2 Alteración del sitio blanco del antibiótico.

La resistencia bacteriana conferida por la alteración del sitio en donde actúa el antibiótico consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras.

Por ejemplo, la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasa II y IV respectivamente, ofrecen resistencia bacteriana a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* frente a las quinolonas (Pérez & Robles, 2013).

1.2.2.3 Alteración en las barreras de permeabilidad.

Este mecanismo se debe a los cambios que se dan en los receptores bacterianos específicos para los antimicrobianos o por alteraciones estructurales en los componentes de envoltura de la célula bacteriana (membrana o pared celular) que influyen en la permeabilidad, así como a la pérdida de la capacidad de transporte activo a través de la membrana celular o la expresión de bombas de eflujo las cuales se activan en el momento en que el antibiótico se introduce a la célula bacteriana.

La internalización de compuestos hidrófilicos se lleva a cabo por canales denominados porinas, que se encuentran en la membrana externa, estos canales están llenos de agua por lo que la penetración de los antibacterianos en este caso dependerá del tamaño de la molécula, hidrofobicidad y carga eléctrica (Pérez & Robles, 2013).

1.2.2.3.1 Bombas de eflujo.

En la membrana celular se encuentran las llamadas bombas de eflujo que llevan a cabo la internalización y expulsión de los antimicrobianos. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas transmembranales. En el caso de las bacterias Gram negativas involucran también componentes en la membrana externa y citoplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entran. Este mecanismo confiere resistencia a antibióticos como tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, β -lactámicos (Pérez & Robles, 2013).

1.3 Antibióticos

Los antibióticos son sustancias naturales, sintéticas o semisintéticas, que inhiben a concentraciones bajas el crecimiento de bacterias, hongos o virus. Su utilización a lo largo de los años ha reducido la mortalidad debida a las enfermedades infecciosas, tanto su uso como su abuso han hecho que los microorganismos hayan evolucionado desarrollando mecanismos de resistencia, que impiden que estos fármacos tengan efectos sobre ellos, y que en la mayoría de los casos conducen a fallos terapéuticos.

Uno de los factores que limitan la utilización de los antimicrobianos es la presencia de mecanismos de resistencia. Un microorganismo es sensible a la acción de un antibiótico cuando se inhibe su crecimiento o se produce la muerte celular. Por el contrario, la resistencia implica la ausencia del efecto inhibitorio o letal (Espinoza, 2007).

1.3.1 Consumo de Antibióticos.

Los antibióticos (ATB) se encuentran entre las drogas más frecuente utilizadas en la comunidad, representando alrededor del 12% de todas las prescripciones ambulatorias a nivel mundial. El serio problema global del aumento de resistencia bacteriana es una consecuencia de uso y abuso de los ATB tanto a nivel hospitalario como de comunidad (Serrano, 2007).

1.3.2 Clasificación de los antibióticos.

1.3.2.1 Clasificación según el efecto de su acción sobre las bacterias:

- a) Bacteriostáticos: a las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana sin llegar a destruir las células.
- b) Bactericidas: su acción es letal, llevando a la lisis bacteriana (Seija & Vignoli 2008).

1.3.2.2 Clasificación según el mecanismo de acción sobre la bacteria:

- a) Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular, afectando la formación del polímero peptidoglicano que conforma la estructura de la pared bacteriana.
- b) Antibióticos que ejercen su acción a través de la membrana celular y afectan su permeabilidad.
- c) Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal.
- d) Antibióticos que inhiben la síntesis de los ácidos nucleicos.
- e) Antibióticos antimetabolitos: Antagonizan los pasos metabólicos en la síntesis del ácido fólico (Sánchez, *et al.* 2004).

1.3.3 Antibióticos β -lactámicos.

Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, constituyendo la familia más numerosa de antimicrobianos de amplio espectro y la más utilizada en la práctica clínica. Son compuestos de acción bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, que presentan escasa toxicidad para el ser humano y poseen un amplio margen (espectro) terapéutico. La gran familia de antibióticos β -lactámicos está constituida por:

- a. Penicilinas
- b. Cefalosporinas
- c. Carbapenems
- d. Monobáctams
- e. Inhibidores de β -lactamasas (IBLs) (Chiriboga & Araujo, 2012).

1.3.3.1 Penicilinas.

Todas las penicilinas son bactericidas debido a su capacidad de inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana. Su principal inconveniente son las reacciones alérgicas que originan, las cuales se producen entre el 5 – 10% de las personas sanas normales. No obstante, éstas se encuentran entre los antibióticos más útiles y que con más frecuencia se prescriben. En la actualidad se dispone de los siguientes tipos de penicilinas.

- a) **Penicilina G:** Es el antibiótico de primera elección en las infecciones causadas por estreptococos y en la sífilis.
- b) **Penicilinas resistentes a la penicilinasas (tipo cloxacilina):** Destruyen algunas bacterias Gram positivas que producen penicilinasas naturales, como estafilococos y neumococos. Las más utilizadas son: oxacilina (por vía intravenosa) y dicloxacilina (por vía oral).
- c) **Aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina):** Tienen más actividad frente a las bacterias Gram negativas productoras de penicilinasas naturales, y al asociarse con inhibidores de β -lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam) también son efectivas contra bacterias que producen β -lactamasas de espectro amplio, como *Haemophilus influenzae*.
- d) **Penicilinas anti-*Pseudomonas* (carbenicilina, mezlocilina y piperacilina):** Actúan contra *Pseudomonas spp.* (Género de bacilo Gram negativo no fermentador, oxidasa positiva, que causa infecciones graves y multi-resistentes) (Chiriboga & Araujo, 2012).

1.3.3.2 Inhibidores de β -lactamasas.

Los inhibidores de las β -lactamasas son el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, al combinarse con las penicilinas se amplía su espectro de actividad antimicrobiano (Sánchez, *et al.* 2004).

El ácido clavulánico es producido naturalmente por el *Streptomyces clavulgerus*, mientras que el sulbactam y tazobactam son sulfonas sintéticas derivadas del ácido penicilánico, es decir que están estructuralmente relacionadas con la penicilina.

El mecanismo por el cual los inhibidores ejercen su acción es similar en los tres tipos: se unen en forma irreversible a las β -lactamasas formando un complejo acil-enzima y actuando como inhibidores “suicidas”, ya que en el proceso de unión a la enzima se autodestruyen. El primer paso de la reacción entre la enzima y el inhibidor suicida es el posicionamiento de la molécula del inhibidor β -lactámico en el centro de la primera. De este modo, protegen al antibiótico acompañante permitiendo que ejerza su actividad antibacteriana, bactericida, tiempo dependiente, la cual es habitualmente ejercida sobre las proteínas ligadoras de penicilinas 1 y 3.

Los inhibidores β -lactámicos actúan en forma sinérgica con varios β -lactámicos frente a microorganismos productores de β -lactamasas plasmídicas y cromosómicas, con distinto grado de efectividad. Tanto el ácido clavulánico, el sulbactam como el tazobactam son activos frente a microorganismos como *Staphylococcus spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, miembros del grupo *Bacteroides fragilis*, *Prebotalla spp.* y *Porphyromonas spp.* El tazobactam al igual que el ácido clavulánico y el sulbactam, no es activo frente a *Enterobacter spp.* y *Pseudomonas spp.*

De todas las combinaciones, las que se encuentran disponibles en la mayoría de los países de América Latina son: amoxicilina-clavulánico (AMC), ampicilina-sulbactam (SAM) y piperacilina-tazobactam (TZP) (Barcelona, *et al.* 2008).

Estos antibióticos son ideales para el tratamiento de infecciones de la piel y tejidos blandos con organismos polimicrobianos. Cuando se emplean en bacterias se vuelven efectivos frente a algunas bacterias productoras de β -lactamasas que de otra manera serían resistentes (Sánchez, *et al.* 2004).

1.3.3.3 Cefalosporinas

Las cefalosporinas o cefems son antibióticos semisintéticos derivados de la cefalosporina C, un antibiótico natural producido del hongo *Cephalosporium acremonium*. El núcleo activo, ácido 7-aminocefalosporánico, está muy estrechamente relacionado con el ácido β -aminopenicilánico, por poseer ambos un anillo β -lactámico. Son bactericidas que inhiben la síntesis de la pared bacteriana al igual que las

penicilinas y se clasifican por generaciones (Tabla 1), en base a la similitud de sus actividades antibacterianas y de cuando fueron introducidos en el mercado. Las más moderadas han incrementado su actividad contra las bacterias Gram negativas. Se distribuyen ampliamente en la mayoría de los líquidos y los tejidos corporales y las concentraciones que se alcanzan son suficientes para el tratamiento de la infección, especialmente si hay inflamación, la cual facilita su difusión. Aunque las de tercera generación pueden alcanzar niveles bastantes altos en el líquido céfalo raquídeo (LCR) para el tratamiento de la meningitis (Sánchez, *et al.* 2004).

Tabla 1. Clasificación de Cefalosporinas

Generación	Parenterales	Orales
Primera	Cefalotina, <u>Cefazolina</u> Cefradina, Cefapirina	<u>Cefalexina</u> , Cefadroxilo Cefradina
Segunda	<u>Cefamandol</u> , Cefonicid Cefoxitina, <u>Cefuroxime</u> Cefotetan, Cefmetazole Ceforanide, Ceforinida	Loracarbef <u>Cefaclor</u> Cefuroxime axetil Cefprofil
Tercera	<u>Ceftazidime</u> , <u>Cefotaxime</u> <u>Ceftriaxone</u> , Cefoperazone Moxalactam, Cefmenoxime	<u>Cefixime</u> , <u>Ceftibuten</u> Cefdinir Cefpodoxima proxetil
Cuarta	<u>Cefepime</u> , <u>Cefpirone</u> Cefpiramide, Cefozopran E 1100, FK 037 DQ-2556	

Rivas K., Rivas M., Dávila E. y Rodríguez M. 2002. **Cefalosporinas de la primera a la cuarta generación. Instructor por concurso de la Cátedra de Farmacología Escuela "Luis Razetti"**, Facultad de Medicina, U.C.V. Venezuela. RFM V:25 N:2

1.3.3.3.1 Cefalosporina de primera generación.

Todas tienen un mismo espectro, y sus diferencias principales son farmacológicas. Poseen una importante actividad frente a los cocos Gram positivos (excepto enterococos y estafilococos resistentes a la meticilina), así como contra la mayoría de las cepas de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*. La cefroxadina (derivado oximetilo de la cefradina), el cefadroxilo, la cefatrizina, la cefalexina y su éster pivaloiloximetilo, la pivcefalexina, se administran todas oralmente y se utilizan en el tratamiento de infecciones comunitarias leves o moderadas de la piel o urinarias.

1.3.3.3.2 Cefalosporina de segunda generación.

Las cefalosporinas de segunda generación tienen un espectro algo más amplio frente a bacilos Gram negativos, aunque difieren en su espectro antibacteriano. El cefamandol fue la primera cefalosporina disponible de segunda generación. Su actividad es ligeramente menor que la de la cefalotina contra las bacterias Gram positivas, pero su estabilidad a la hidrólisis por las β -lactamasas, producidas por las bacterias Gram negativas es superior, al igual que su actividad contra mucha de las *enterobacterias* y *Haemophilus influenzae*. La cefuroxima tiene un espectro de acción similar al del cefamandol, pero es más resistente a la hidrólisis por las β -lactamasas. Es la única cefalosporina de segunda generación que penetra en cantidades suficientes en el LCR, por lo que es eficaz en el tratamiento de la meningitis, en las infecciones del tracto respiratorio inferior por microorganismo productores de β -lactamasas, como *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catharralis* y en la profilaxis de la cirugía del tórax. Otras cefalosporinas de esta generación, como la cefonicida, la ceforamida y el cefotiam, son administradas parenteralmente y todas tienen un espectro de actividad comparable al del cefamandol.

1.3.3.3.3 Cefalosporina de tercera generación.

Su espectro de acción es más amplio y son más estables a la hidrólisis por las β -lactamasas que el cefamandol y la cefuroxima. Tienen una mayor potencia contra los organismos Gram negativos, incluyendo las enterobacterias más importantes, desde el punto de vista clínico. Su actividad contra los Gram positivos es menor que la de las cefalosporinas de primera generación, pero son muy activas contra los estreptococos. La cefotaxima, que fue la primera cefalosporina obtenida de este grupo, tiene una modesta actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, pero es eficaz frente a muchos cocos Gram positivos, aunque no tanto como las cefalosporinas de primera generación. Se utiliza como tratamiento empírico de infecciones adquiridas en la comunidad de microorganismos aerobios, entre ellas, neumonía, urosepsis, meningitis e intraabdominales.

Uno de las cefalosporinas de tercera generación más utilizadas es la ceftriaxona, indicada en: sepsis, meningitis, infecciones abdominales, infecciones de huesos, articulaciones, tejidos blandos, piel y heridas; infecciones en pacientes con defensas inmunitarias disminuidas; infecciones del tracto urinario; infecciones del tracto respiratorio e infecciones genitales, incluida gonorrea.

1.3.3.3.4 Cefalosporina de cuarta generación.

Las nuevas cefalosporinas cefepima y cefpiroma se han clasificado como de cuarta generación. La estructura química que poseen las hace tener una buena penetración a través de la membrana celular más externa de las bacterias y poca afinidad por las β -lactamasas tipo 1, lo que reduce su degradación enzimática en comparación con otras cefalosporinas. In vitro tienen un espectro de actividad más amplio, que incluyen a cepas de *Enterobacteriaceae* resistentes a la ceftazidima, microorganismos patógenos Gram positivos importantes, como el *Staphylococcus aureus*, y Gram negativos, como la *Pseudomonas aeruginosa*. Se pueden usar en neumonías por *Streptococcus pneumoniae* penicilino resistentes, infecciones nosocomiales y comunitarias, complicadas y no complicadas, del tracto respiratorio inferior, urinarias asociadas o no con bacteriemia, así como de la piel, tejidos blandos, quirúrgicas, del sistema reproductor femenino y en estados febriles de pacientes neutropénicos y pacientes críticos (Falkowski, 2005).

1.3.3.4 Carbapenems.

Los carbapenems son antibióticos que surgen tras la necesidad de buscar inhibidores de la síntesis de peptidoglucano. Se destacan el imipenem y meropenem, ambos con espectro antibacteriano similar, reservados para el tratamiento empírico de infecciones nosocomiales. No se absorben por vía oral.

1.3.3.4.1 Imipenem.

Es el primero de una nueva clase de antibióticos β -lactámicos, las tienamicinas, se caracteriza por un potente espectro de actividad bactericida y actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular. Posee una excelente actividad contra la mayoría de patógenos Gram positivos, Gram negativos, aerobios y anaerobios. Tiene gran actividad frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y contra cepas de Gram negativos multiresistentes. Tiene buena actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacteroides fragilis*. Su utilidad estaría en el tratamiento de infecciones de piel y tejidos blandos con flora mixta tales como úlcera de decúbito, úlcera del pie diabético.

1.3.3.4.2 Meropenem.

El segundo fármaco del grupo posee un amplio espectro, es bactericida y ligeramente menos activo contra estafilococos y enterococos que el imipenem; posee mayor actividad frente a las enterobacterias, *Haemophilus influenzae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Carece de acción contra los estafilococos meticilino resistente. Se ha usado con éxito en el tratamiento de la meningitis (Sánchez, et al. 2004).

1.3.3.5 Monobactams

Fueron los primeros antibióticos β -lactámicos monocíclicos obtenidos de bacterias, aunque en la actualidad son producidos sintéticamente. El aztreonam fue el primero disponible comercialmente. Es también bactericida y actúa sobre la síntesis de la pared celular. Sin embargo, su actividad difiere de las nuevas cefalosporinas y del imipenem en que se restringe a microorganismos aerobios Gram negativos, es muy efectivo contra *Pseudomonas aeruginosa* (Falkowski, 2005).

1.4 β -lactamasas

Son enzimas producidas principalmente por bacilos Gram negativos, sobre todo *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli*, aunque también son frecuentes en *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y otros. Estas enzimas permanecen dentro de la célula e inactivan a los β -lactámicos en el espacio periplásmico; esto es, en el espacio entre la membrana externa y la membrana citoplásmica. La actividad de las β -lactamasas constituye el principal mecanismo de resistencia de las bacterias a los antibióticos β -lactámicos. Sus genes de producción pueden encontrarse en el cromosoma o en elementos genéticos extracromosomales (plásmidos, transposones e integrones). Estas enzimas son de codificación plasmídica derivadas de las β -lactamasas clásicas, que con frecuencia se derivan de una enzima relacionada, ya sea TEM o SHV.

Tanto las β -lactamasas de tipo TEM como SHV son enzimas primigenias que confieren resistencia a la ampicilina. Las β -lactamasas de espectro extendido derivadas como mutantes de ellas, típicamente codifican mutaciones puntuales que resultan en cambios de 1 a 4 aminoácidos. Estas substituciones inducen alteraciones en el sitio activo de la enzima, que reducen la actividad de un grupo amplio de antibióticos que incluyen cefalosporinas de espectro extendido (de segunda, tercera y cuarta generación).

Se han descrito tres grupos de bacterias productoras de β -lactamasas. Un primer grupo son productoras de β -lactamasas "clásicas" o de amplio espectro, las cuales infringen resistencia bacteriana contra aminopenicilinas y carboxipenicilinas; pero mantienen la sensibilidad a las cefalosporinas, monobactams y carbapenems. Un segundo grupo son las β -lactamasas de espectro extendido (en inglés ESBL). Su acción está dirigida contra todas las cefalosporinas, incluyendo las de cuarta generación. Presentan sensibilidad contra los inhibidores de β -lactamasas y carbapenems. Las bacterias que producen β -lactamasas de espectro extendido van a presentar resistencia también a los aminoglucósidos, limitan mucho la eficacia de los

β -lactámicos en general y se asocian con una elevada morbi-mortalidad. El tercer grupo está caracterizado por producir β -lactamasas resistentes a los inhibidores de las mismas, es decir: tazobactam, ácido clavulánico y sulbactam. Son resistentes también a las amino, ureido y carboxipenicilinas. Son sensibles en cambio a las cefalosporinas de cuarta generación, carbapenems y monobactams.

Las β -lactamasas se clasifican más comúnmente según dos esquemas generales: El esquema de clasificación molecular de Ambler y el sistema de clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros (Tabla2) (Chiriboga & Araujo, 2012). La clasificación molecular según Ambler, basada en la secuencia de los aminoácidos y divide en 4 grupos de enzimas clases A, C y D las cuales poseen serina en su sitio activo para hidrólisis de los β -lactámicos y clase B o metaloenzimas las cuales requieren iones divalentes de zinc para su hidrólisis. Y la clasificación funcional esquema de Bush-Jacoby-Medeiros, basado en los perfiles de sustratos e inhibición de las β -lactamasas. Este esquema es el más utilizado en el laboratorio clínico debido a que se puede correlacionar con las características fenotípicas de los aislamientos (Puerto, 2004).

Tabla 2. Clasificación de β -lactamasas

Grupo	Características	Clase Molecular (Ambler)	Inh AC	Inh EDTA	Enzimas Representativas
1	Cefalosporinasas	C	-	-	AmpC; MIR-1
2 a	Penicilasas	A	+	-	PCI (<i>S aureus</i>)
2b	Enzimas de amplio espectro	A	+	-	TEM1,2; SHV1
2be	Enzimas de espectro extendido (BLEE)	A	+	-	TEM3-28; SHV2-6
2br	Enzimas de amplio espectro resistente a inhibidores	A	+/-	-	TEM30-36; TRC-1
2c	Carbenicilinasas	A	+	-	PSE-1; CARB3
2d	Cloxacilinasas	D	+/-	-	OXA1-11; PSE-2
2e	Cefalosporinasas	A	+	-	<i>P. vulgaris</i>
2f	Carbapenemasas	A	+	-	IMI1, NMCA, Sme1
3	Metallo-betalactamasas	B	-	+	L1 (<i>S maltophilia</i>)
4	Penicilinasas	ND	-	?	<i>B. cepacia</i>

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

1.4.1 Producción de β -lactamasas.

Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosomas de las bacteria o en segmentos de DNA extracromosómico, denominados plásmidos los cuales son los responsables de la diseminación de la mayor parte de las β -lactamasas. Los genes que codifican algunas β -lactamasas son transportados por transposones y muchos genes son encontrados en integrones, los cuales a menudo incluyen genes que confieren resistencia a otros antibióticos. Las principales β -lactamasas responsables de la resistencia en los bacilos Gram negativos son las β -lactamasas inducibles AmpC (Clase C) y las β -lactamasas plasmídicas de amplio espectro y de espectro extendido (BLEE – clase A) (Hernández, 2010).

1.4.2 β -lactamasas tipo AmpC inducibles.

Las β -lactamasas AmpC pertenecen al grupo 1 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros y a la clase C de la clasificación estructural de Ambler. Se caracterizan por ser activas frente a penicilinas y cefalosporinas, pudiendo hidrolizar cefamicinas (Cefoxitina y cefotetan), oximinocefalosporinas (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona) y monobactams (aztreonam) con la excepción de cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) y carbapenems; y que no se inhiben con ácido clavulánico (Seral, *et al.* 2012)

Ciertas enterobacterias poseen de manera natural β -lactamasas tipo AmpC tal es el caso de *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* y *Hafnia alvei*; al igual de bacilos Gram negativos no fermentadores de importancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa*. *Escherichia coli*, *shigella spp.* y *Acinetobacter baumannii*, también poseen β -lactamasas AmpC cromosómicas pero constitutivas (no inducibles).

Una característica de las enzimas AmpC es que no tienen efecto, sobre cefalosporinas de cuarta generación, sin la presencia de otro mecanismo de resistencia, ni sobre carbapenems, siendo estos últimos los β -lactámicos de elección en cepas productoras de AmpC. Por otra parte, las AmpC no son inhibidas por los clásicos inhibidores de β -lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam) (Martínez, 2009).

1.4.3 β -lactamasas de amplio espectro.

Dentro de este grupo están incluidas TEM-1, TEM-2, SHV-1 y las de tipo OXA.

Las β -lactamasas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 pertenecen a la clase molecular A y son inhibidas por el ácido clavulánico. Presentan actividad frente a bencilpenicilinas, amino-, carboxi y ureido-penicilinas y cefalosporinas de espectro reducido (cefazolina,

cefalotina, cefuroxima, cefamandol). Ninguna de estas β -lactamasas hidroliza cefalosporinas de tercera generación, cefamicinas, monobactams o carbapenems (Puerto, 2004).

1.4.4 β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Las BLEE pertenecen al grupo 2be y a la clase molecular A, deben su nombre a que confieren resistencia a un amplio espectro de antibióticos β -lactámicos como las amino-,carboxi- y ureidopenicilinas (ampicilina, ticarcilina y piperacilina respectivamente), cefalosporinas de tercera y cuarta generación (excepto cefamicinas) y monobactams (aztreonam) pero no carbapenems (imipenem, meropenem). Esta acción hidrolítica es inhibida por ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (inhibidores de β -lactamasas) (Carrillo & García, 2007).

Las cepas que producen β -lactamasas de espectro extendido, es su mayoría enterobacterias, y en particular *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, son resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos con la excepción de las carbapenems, las cefamicinas y las combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas (Oliver & Cantón, 2007).

Por lo general se presentan en bacilos Gram negativos como *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Morganella morganni*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus mirabilis* (Lezameta, et al. 2010).

Hasta los años 90 la mayoría de las BLEE descritas eran del tipo TEM o SHV. A finales de los 80 se describe una nueva β -lactamasas, la cefotaximasas o CTX-M que confiere resistencia a cefuroxima, cefotaxima y cefepima, constituyendo actualmente en una de las más frecuentes. Como podemos observar, estas enzimas han evolucionado en muy poco tiempo, ocasionando incremento de la resistencia a antibióticos, estancias prolongadas, mayores costos en hospitalización y aumento de la mortalidad (Villabón, et al. 2011).

Las β -lactamasas de espectro extendido se encuentran codificadas en plásmidos lo que permiten su amplia y fácil diseminación no solo entre cepas de la misma especie sino también entre cepas de distintas especies. Su aparición es especialmente importante por el amplio patrón de resistencia que provocan y son las responsables de infecciones nosocomiales graves pero también de infecciones de menor gravedad aunque más frecuentes como las infecciones urinarias (Carrillo & García, 2007).

Desde el punto de vista epidemiológico, el principal reservorio de bacterias productoras de BLEE resulta ser el tracto digestivo y su transmisión es fácil a partir de las manos de las personas. Se han extendido por todo el mundo y muchas veces generan brotes epidémicos, constituyendo una amenaza para la evolución favorable de las infecciones, sobre todo hospitalarias. En Latinoamérica y Ecuador la forma de BLEE más frecuente corresponde a los tipos TEM, SHV y CTX (esta última inducida por cefotaxima) (Chiriboga & Araujo, 2012).

1.4.4.1 Epidemiología de las β -lactamasas de espectro extendido.

La aparición de los primeros productores de β -lactamasas de espectro extendido fue en Europa, en Alemania y en Inglaterra, aunque fue en Francia donde se produjo el primer brote epidémico. Desde entonces se han publicado brotes epidémicos de organismos con este tipo de enzimas, por los cinco continentes desde América hasta Asia pasando por África y Australia. En España se describió la primera β -lactamasas de espectro extendido en 1988 y la primera epidemia documentada entre 1988 y 1990.

En las primeras décadas tras el descubrimiento de las β -lactamasas de espectro extendido, la mayoría pertenecían a los tipos TEM o SHV. Sin embargo, actualmente las más frecuentes en la mayoría de países, son las de tipo CTX-M. El resto de tipos de β -lactamasas de espectro extendido presenta menor importancia desde el punto de vista epidemiológico, al menos por el momento.

La especie más frecuente involucrada en estos brotes epidémicos es *Klebsiella pneumoniae* en más del 75% de los casos, sobre todo en unidades de cuidados intensivos (UCI), aunque con menor carácter epidémico aparece cada vez más frecuentemente *Escherichia coli* principalmente fuera del ámbito hospitalario (Carrillo & García, 2007).

Escherichia coli causa enfermedades comunes y frecuentes a nivel comunitario como la infección del tracto urinario y la diarrea aguda. *Klebsiella pneumoniae* es una de las principales causas de sepsis neonatal pero se reconoce que se presentan con mayores tasas de incidencia y mayor porcentaje de mortalidad en las unidades de cuidados neonatales de países en vías de desarrollo. Pero no solo la distribución de las bacterias es diferente en los países con menos recursos, también los niveles de resistencia (y sus respectivos mecanismos) son más altos en los países latinoamericanos. Por ejemplo, un estudio multicéntrico encontró que entre los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* de infecciones intra-abdominales la producción de β -lactamasas de espectro extendido fue de 34% en Latinoamérica comparado con 20% en Europa y 10% en norte América. Más recientemente, a través

de una vigilancia en la que recolectaron aislamientos obtenidos de los hemocultivos en nueve hospitales de Lima y Callao entre 2008-2009, pudimos reportar que casi el 20% de los aislamientos fueron *Klebsiella pneumoniae* y que el 75% de éstos eran productores de β -lactamasas de espectro extendido (García, 2013).

Los factores de riesgo para la infección por organismo con β -lactamasas de espectro extendido son similares a aquellos para las enfermedades nosocomiales: estancia en la unidad de cuidado intensivo (UCI), uso de catéteres venoso central, ventilación mecánica, antibióticos previos, abdomen abierto, inestabilidad hemodinámica y elección inadecuada de antibioticoterapia empírica. Por lo que todo paciente que ingrese a la UCI, se convierte en el candidato para disminuir infecciones por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (Villabón, *et al.* 2011).

1.4.5 Carbapenemasas.

Son enzimas presentes en bacterias Gram negativas que inactivan los carbapenems y en general, a todos los antibióticos β -lactámicos. La resistencia a los carbapenems no solo es debida a la producción de carbapenemasas, ya que existen otros mecanismos que pueden afectar a su actividad, como son: pérdida de porinas específicas, bombeo o expulsión del antibiótico y modificaciones en las proteínas fijadoras de penicilina (PBP) (Puerto, 2004).

La producción y diseminación de carbapenemasas se produce por medio de plásmidos, por lo que el riesgo de diseminación entre especies es muy alto. Las consecuencias para el tratamiento de las infecciones causadas por estas bacterias son relevantes, dado que prácticamente no hay arsenal terapéutico para las infecciones causadas por los patógenos productores de carbapenemasas (Urquiza, 2010).

Principalmente, estas enzimas han sido detectadas en aislados de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, sin embargo la diseminación ha llegado hasta diversas especies de las enterobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, etc.) (Torres, 2005).

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

1.4.5.1 Carbapenemasas clase A.

Pertenecen al grupo 2f de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros, poseen serina en su sitio activo y son inhibidas débilmente por el ácido clavulánico pero no por el EDTA (Torres, 2005).

Puede ser de producción cromosómica (NMC-C, Sme-1, Sme-3 y IMI-1) en *Enterobacter cloacae* y *Serratia marcescens*, o codificadas por plásmidos, como KPC-1 en *Klebsiella pneumoniae* y GES-2 en *Pseudomonas aeruginosa*.

Los primeros aislamientos se produjeron en Japón en 1990 tanto en especies de *enterobacterias* como en *Pseudomonas spp.* y *Acinetobacter spp.* Más tarde han sido informados aislamientos en otras partes del mundo como Europa, Canadá y Brasil (Puerto, 2004).

1.4.5.2 Carbapenemasas clase B.

Pertenecen al grupo 3 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros, se denominan metalo- β -lactamasas (MBLs), requieren zinc para su actuación y son generalmente de naturaleza cromosómica, aunque recientemente se han asociados a plásmidos conjugativos e integrones. Son inhibidas por EDTA, pero no por ácido clavulánico. Estas enzimas hidrolizan a las penicilinas, cefalosporinas y cefamicinas pero no al aztreonam.

Son las carbapenemasas más significativas desde el punto de vista clínico epidemiológica, a nivel mundial, debido al alto nivel de resistencia que presentan para los β -lactámicos (excepto aztreonam), la alta tasa de mortalidad asociada y a la persistencia en el ambiente hospitalario (Puerto, 2004).

1.4.5.3 Carbapenemasas clase D.

A este grupo pertenecen algunas β -lactamasas tipo OXA que presentan una débil actividad carbapenemasas.

Han sido descritas en *Acinetobacter baumannii* disminuyendo la sensibilidad a imipenem y meropenem (Puerto, 2004).

CATITULO II

2.1 METODOLOGÍA

Aislados clínicos

En el Laboratorio Clínico del Hospital del Día (IESS) y en el de la Clínica Maternidad Julia Esther González de la ciudad de Loja se obtuvieron un total de 239 y 20 muestras clínicas con bacilos Gram negativos respectivamente, recolectadas durante el período agosto-noviembre 2013.

Para su estudio se realizó una siembra en placas de agar MacConkey, posteriormente fueron identificadas mediante pruebas bioquímica.

Análisis de las cepas

La susceptibilidad bacteriana se determinó aplicando el método de disco difusión en agar Muller-Hinton, mediante la técnica de Bauer y Kirby con una turbidez equivalente 0,5 de la escala de McFarland a una temperatura $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, siguiendo las recomendaciones del CLSI.

Los antibióticos analizados fueron: amoxicilina-ácido clavulánico (20-10 μg), aztreonam (30 μg), cefepima (30 μg), ceftazidima (30 μg), ciprofloxacino (5 μg), imipenem (10 μg), netilmicina (30 μg), ácido nalidíxico (30 μg), piperacilina/tazobactam (100/10 μg), ampicacina (30 μg), cefoxitina (30 μg), ampicilina (10 μg), cefotaxima (30 μg) y ampicilina-sulbactam (10-10 μg).

Selección de cepas

El criterio de selección fueron cepas con halos $< 21\text{mm}$ en cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima y ceftazidima), en caso de la cefoxitina $< 15\text{mm}$ y en carbapenems (imipenem) $< 20\text{mm}$, a las mismas que se les realizó las siguientes pruebas.

Detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

Prueba de Sinergia de Doble Disco.

Consistió en situar un disco de amoxicilina-ácido clavulánico (20 μg /10 μg) sobre el centro de la placa de agar Mueller-Hinton, luego se colocaron a una distancia de 20-25 mm (centro-centro), un disco de ceftazidima (30 μg), cefotaxima (30 μg), cefepima (30 μg) y aztreonam (30 μg). Se consideró sinergia positiva y, por tanto, presencia presuntiva de BLEE al observar una ampliación o distorsión el halo de inhibición

adyacente al disco de amoxicilina-ácido clavulánico de alguna de las cefalosporinas o del aztreonam (Anexo 1).

Prueba de discos combinados con inhibidor (Prueba de confirmación)

Se sitúa en una placa de agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión de la cepa en estudio, un disco de ceftazidima (30µg) frente a un disco de ceftazidima-ácido clavulánico (30/10 µg), y de la misma forma un disco de cefotaxima (30µg) y cefotaxima-ácido clavulánico (30/10µg), el incremento del diámetro de inhibición de la cefalosporina de tercera generación en presencia de ácido clavulánico ≥ 5 mm respecto al de la cefalosporina correspondiente sin inhibidor, se interpreta como una BLEE positiva (Anexo 2).

Detección de β -lactamasas de tipo AmpC.

Prueba de aproximación de Disco

En una placa de agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión de la cepa en estudio, colocamos un disco de ceftazidima (30µg), a una distancia de 25 mm centro-centro de un disco de imipenem (10µg). Un achatamiento del halo de inhibición (forma de D) del disco de ceftazidima (30µg) en la zona próxima al disco de imipenem (10µg), se interpretara como prueba positiva para la producción de AmpC (Anexo 3).

Detección de Carbapenemasas.

Prueba de sinergia de Doble Disco.

Se colocó en una placa de agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión de la cepa en estudio, un disco de imipenem (10µg) y meropenem (10µg) a una distancia de 15 mm de un disco con ácido borónico para las carbapenemasas tipo A y de un disco de EDTA para las carbapenemasas tipo B. Una ampliación del halo de inhibición del carbapenémico en la zona cercana al disco de inhibición (sinergia) o presencia de una “zona fantasma” (inhibición del crecimiento) entre carbapenémicos y el inhibidor, se interpretó como prueba positiva para la producción de carbapenemasas

Análisis Estadístico

Para la determinación de los porcentajes de resistencia y sensibilidad; así como los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana, se utilizó el programa WHONET (World Health Organization. Net. Versión 5.4). Para el análisis estadístico de los resultados se realizaron pruebas de independencia, utilizando para ello como estadístico la prueba

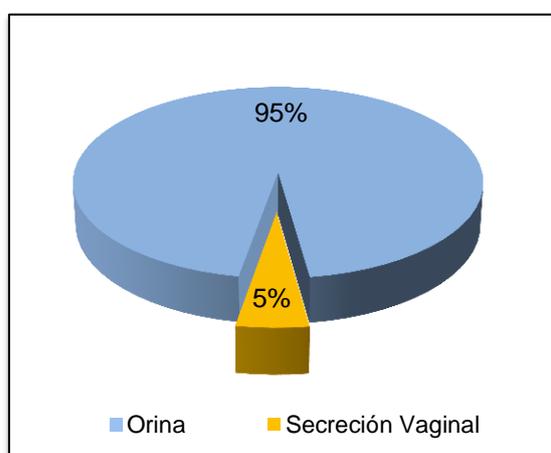
del Chi-Cuadrado (χ^2) de Pearson, con un nivel de significancia de 95% ($\alpha = 0,05$), utilizando el programa SPSS® para Windows (versión 11.0) (Perozo, et al.2009).

CAPITULO III

3.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

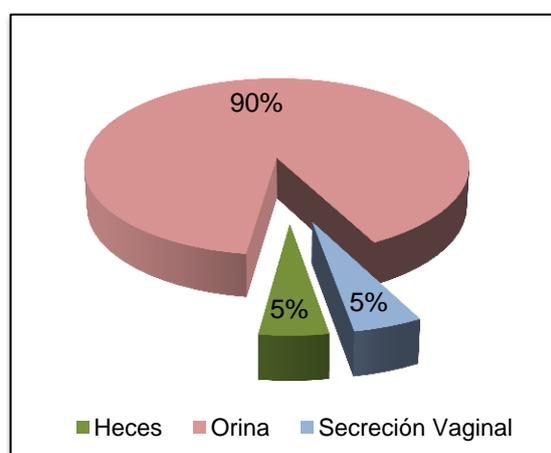
En el presente estudio se determinó la presencia de los mecanismos de resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas provenientes del Laboratorio clínico del Hospital del Día (HDD) y Clínica Maternidad Julia Esther González (MJEG), durante el periodo agosto-noviembre 2013. Obteniendo un total de 239 y 20 cepas respectivamente, entre los tipos de muestras analizadas fueron:

Gráfica 2. Tipos de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día, durante el período agosto-noviembre de 2013.



Elaborado: Cecilia Alvarado

Gráfica 1. Tipos de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico de la Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.



Elaborado: Cecilia Alvarado

En el HDD, el 95% corresponden a orina, 5% a secreción vaginal, de la misma manera en la MJEG, el 90% son de orina y el 5% son secreción vaginal y heces, coincidiendo con los resultados de la investigación realizada en Loja por Malla (2014), donde el tipo de muestra analizada con mayor porcentaje fue de orina (79,78%), seguido por secreción vaginal (6,83%); estudios similares realizados en Colombia por Morales *et al.* (2012), quien reporto que el 72,4% de muestras fueron urocultivos positivos con bacilos Gram negativos a nivel de pacientes ambulatorios, así como en España por García (2013), encontró un 67,65% de cepas provenientes de muestras de urocultivos; según la asociación española de Urología del 2013, coinciden en que las especies bacterianas aisladas con mayor frecuencia provienen en un 95% de muestras de urocultivos en pacientes extrahospitalarios con infección urinaria, lo cual concuerdan con los datos obtenidos ya que las instituciones en estudio prestan servicios de consulta externa.

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son junto con las infecciones respiratorias, los procesos infecciosos de mayor incidencia en patologías humana según la literatura. La mayor parte de urocultivos positivos con bacilos Gram negativos provienen de consulta externa; debido a la alta demanda de consultas ambulatorias por infecciones de vías urinarias (IVU) indebidamente tratadas con tratamientos empíricos (Morales, *et al* 2012).

Entre los bacilos Gram negativos aislados en muestras clínicas de pacientes de consulta externa encontramos:

Tabla 3. Frecuencia de cepas aisladas en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día, durante el período agosto-noviembre de 2013.

Cepas	HDD	
	Nº de cepas	%
<i>Escherichia coli</i>	207	87
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	3
<i>Proteus vulgaris</i>	6	2,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	2
<i>Citrobacter freundii</i>	5	2
<i>Proteus mirabilis</i>	3	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,4
TOTAL	239	100

Elaborado: Cecilia Alvarado

Tabla 4. Frecuencia de cepas aisladas en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico de la Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.

Cepas	MJEG	
	Nº de cepas	%
<i>Escherichia coli</i>	19	95
<i>Proteus vulgaris</i>	1	5
TOTAL	20	100

Elaborado: Cecilia Alvarado

Con mayor frecuencia en el HDD fueron: *Escherichia coli* n=207 (87%), seguido por, *Klebsiella pneumoniae* n=8 (3%), *Proteus vulgaris* n=6 (2,5%), en menor porcentaje, *Klebsiella oxytoca* y *Citrobacter freundii* n=5 (2%), *Proteus mirabilis* n=3 (1%), *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* n=2 (1%) y *Pseudomonas aeruginosa* n=1 (0,3%); de la misma manera en la MJEG: *Escherichia coli* n=19 (95%) y *Proteus vulgaris* n=1 (5%). En la ciudad de Loja, en un estudio realizado por Malla (2014), indica que *Escherichia coli* (72,64%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (5,12%) son las cepas aisladas con mayor frecuencia; así como un estudio similar realizado en Quito por Pacheco & León (2009), indica que *Escherichia coli* (89,5%) y *Klebsiella pneumoniae* (75%), son los microorganismos más frecuentemente aislados; también la investigación realizada en Latinoamérica (Guatemala) por Morales (2012), coincide

con *Escherichia coli* (88,23%), *Proteus spp.* (8,82%) y *Klebsiella spp.* (2,94%), son las enterobacterias que con mayor frecuencia causan infecciones a nivel comunitario.

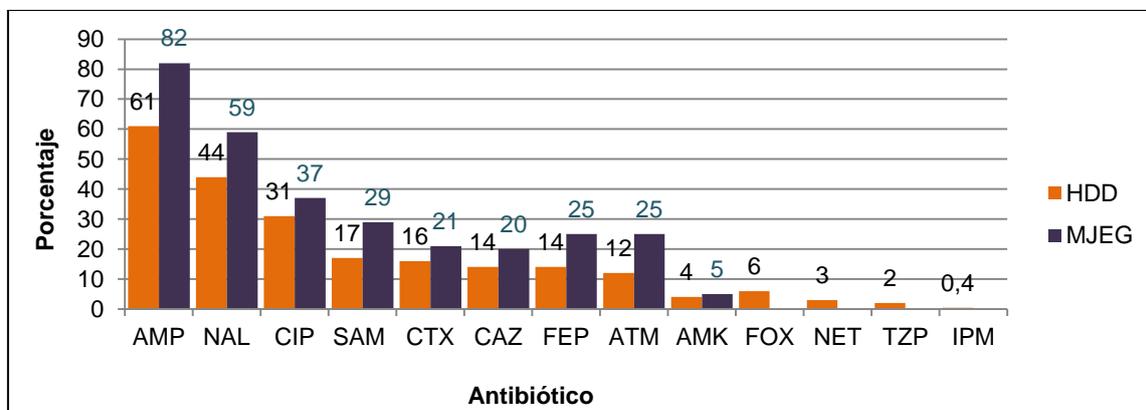
También se observa similitud con otros estudios realizados en otros países (España, Rumania y Polonia), donde se mantiene la prevalencia de *Escherichia coli* como la principal enterobacteria causante de ITU en pacientes ambulatorios (Morales, 2012).

Según la Asociación Española de Urología (2013), *Escherichia coli*, es el microorganismo ampliamente estudiado por su importancia científica, económica y médica. Debido a que presenta factores de virulencia como: la presencia de adhesinas, la capacidad de estructurarse en biopelículas, la liberación de toxinas (hemolisinas, factor citotóxico necrotizante), las invasivas u otros elementos como las islas de patogenicidad (genes responsables de los factores de virulencia que se encuentran agrupados en fragmentos de DNA muy particulares denominados “islas de patogenicidad”). Una cepa de *Escherichia coli* es tanto más virulenta cuantos más factores de virulencia concurren en ella.

En cambio, *Klebsiella pneumoniae* se asocia más con infecciones de servicios de salud, como sepsis y neumonía intrahospitalaria, siendo particularmente más vulnerable el grupo de los recién nacidos (García, 2013).

En nuestro país actualmente existen bacterias habituales tanto en el medio extrahospitalario como hospitalario que, por haber desarrollado mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos, pueden ser muy difíciles de tratar, provocando frecuentes fracasos terapéuticos.

Gráfica 3. Porcentaje de resistencia antimicrobiana en cepas aisladas de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.



Fuente: Whonet 5.4

Entre los porcentajes de resistencia antimicrobiana encontrados en las diferentes bacterias aisladas en el HDD, se presentó una alta resistencia en ampicilina (61%), ácido nalidíxico (44%), ciprofloxacina (31%). En orden decreciente encontramos el grupo de las cefalosporinas de tercera generación (15%), cefepima (14%), cefoxitina (6%) y imipenem (0,4%), que son indicadores importantes de presencia de betalactamasas y la ampicilina-sulbactam (17%); de la misma manera en la MJEG entre los antibióticos que presentaron mayor resistencia tenemos: la ampicilina (82%), ácido nalidíxico (59%), ciprofloxacina (37%). Seguidas de las cefalosporinas de tercera generación (21%), cefepima (25%); Sin embargo, antimicrobianos como piperazilina/tazobactam, amikacina y netilmicina, fueron los que presentaron mejores porcentaje de sensibilidad, de igual forma que la investigación realizada en Loja por Malla (2014), revela que los bacilos Gram negativos aislados fueron resistentes a ampicilina (73,9%), ampicilina-sulbactam (40,4%), ciprofloxacina (36,2%), ácido nalidíxico (30%), cefotaxima (28%), aztreonam (27%), cefepima (26,1%), ceftazidima (24,3%), cefoxitina (15,9%) y imipenem (3,7%).

Estudios similares realizados en España por García (2013), indica que la resistencia de las cepas aisladas frente a las cefalosporinas de 2a y 3a generación junto con el aztreonam y ampicilina fue del 100%; piperazilina /tazobactam el 20,6%, amoxicilina/clavulánico el 38,25%; ciprofloxacina 65%, amikacina (14,7%); y en Colombia por Morales (2012), la resistencia fue en: ampicilina (76,2%), ampicilina/sulbactam (61%), ceftazidima (42,9%) y cefotaxima (41%), mostraron porcentajes importantes de resistencia; cuyos resultados concuerdan con los obtenidos en nuestra investigación.

La mayoría de los pacientes estudiados presentan al menos un episodio de infecciones urinarias, coincidiendo con este y otros estudios realizados. La mayoría de las ITU fueron tratadas con diferentes antibióticos por vía oral, siendo la ampicilina y ciprofloxacina los más usados. Por lo que en nuestro estudio el grupo de las penicilinas fue el más afectado, mostrando un elevado porcentaje de resistencia. Este resultado pone de manifiesto el amplio uso de las fluoroquinolonas y de los β -lactámicos como antibioticoterapia empírica de las ITU. El uso intensivo de estos y otros antimicrobianos, ejerce una presión selectiva sobre microorganismos, lo cual podría explicar los patrones de resistencia a los antimicrobianos encontrados en esta investigación (Guevara, *et al.* 2011).

Las cefalosporinas de tercera generación parenterales (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) son antibióticos para infecciones moderadas a graves. Las dos primeras son importantes en el manejo de la meningitis purulenta aguda y la ceftazidima, en las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* (sepsis, quemados). Lamentablemente, los dos primeros se han usado en diversas infecciones comunitarias y nosocomiales (neumonía, infecciones respiratorias, ITU, sepsis) lo que ha generado una alta resistencia de muchos gérmenes Gram negativos (Vargas, *et al.* 2006).

El aztreonam (monobactams) mostro un porcentaje de efectividad 88,5% por lo que se recomienda como opción terapéutica contra aquellas cepas que presentan resistencia baja, antes de recurrir a antibióticos de mayor espectro. De la familia de los carbapenems, el imipenem fue el antibiótico más efectivo con 99,6% de sensibilidad de todos los β -lactámicos, probando su efectividad tanto para cepas productoras de BLEE y AmpC, por lo que se sigue tomando como opción terapéutica más contundente.

Tabla 5. Frecuencia de β -lactamasas en cepas aisladas de muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.

N° Cepas	Mecanismo de resistencia	Institución	Cepas			
			Positivas	Porcentaje	Negativas	Porcentaje
35	BLEE	HDD	22	63	13	37
4		MJEG	3	75	1	25
15	AmpC	HDD	7	47	8	53
		MJEG	-	-	-	-

HDD ($p < 0,07$ y $p < 0,001$) y MJEG ($p < 0,6$)

Elaborado: Cecilia Alvarado

De acuerdo a los resultados obtenidos de la prueba de tamizaje de las cepas aisladas del HDD (ver gráfica 3): se obtuvo que $n=35$ (15%), cepas son sospechosas para la producción de BLEE, $n=15$ (6%) cepas son posibles AmpC y $n=1$ (0,4%) cepas es posible productora de carbapenemasas; en cambio en la MJEG, se obtuvo $n=4$ (21%) posibles cepas productoras de BLEE, según la resistencia a los diferentes antibióticos (cefalosporinas de tercera generación, cefoxitina y imipenem).

Al evaluar las cepas resistentes a los antibióticos mediante las pruebas de confirmación, se identificó en el HDD un 63% ($n=22$) de cepas productoras de BLEE, un 47% ($n=7$) de cepas productoras de AmpC, y en la MJEG se encontró un 75%

(n=3) de cepas productoras de BLEE; y al analizar la cepa que presentaba resistencia al imipenem se observó que dicha resistencia no se debía a la presencia de carbapenemasas sino que podrían estar involucrados otros mecanismos de resistencia, los cuales también pueden estar presentes en las cepas que presentaron resistencia sin la producción de β -lactamasas.

La presencia de bacterias productoras BLEE, es una fuente de preocupación a nivel mundial dado que cada vez es más frecuente su presencia fuera del ámbito hospitalario. De acuerdo con la investigación realizado en Loja por Malla (2014), donde encontró que un 64% (n=20) cepas eran productoras de BLEE; estudios similares como el realizado en Colombia por Morales *et al.* (2011), donde 18 enterobacterias (12,3%), producían BLEE en pacientes de consulta externa; en Venezuela por Guevara *et al.* (2011), encontraron que del 51,52% de enterobacterias que presentaron resistencia a antibióticos el 16,67% de las cepa (n=11) producían BLEE; y en España por García (2013), durante los años 2009, 2010 y 2011, identificaron un 64,70% (n=22) de cepas productoras de BLEE de origen extrahospitalario, dichos resultados concuerdan con la literatura donde los organismos productores de BLEE son una causa creciente de infecciones adquiridas en la comunidad, no obstante, la mayoría de estudios muestran que la mayor parte de patógenos productores de BLEE son de origen nosocomial, y aquellos de origen comunitario constituyen una pequeña proporción (Adrianzén, 2013).

Las cepas productoras de BLEE confieren resistencia a los β -lactámicos excepto a las cefamicinas y a los carbapenems; pero además los plásmidos que codifican las BLEE portan genes de resistencia (transposones) a otros antimicrobianos como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol, es por lo que el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente y el tratamiento de las infecciones producidas por estas cepas tiene una mayor dificultad.

La presencia de genes que codifican resistencia a antibióticos en transposones y la presencia de plásmidos autotransferibles son factores fundamentales que han condicionado la diseminación de genes de resistencia a antibióticos entre las bacterias en escala mundial, bajo el poder selector que representa el uso masivo de antibióticos (González, *et al.* 2007). Además, las cepas productoras de BLEE son más resistentes a fluorquinolonas que las que no lo son. Debido quizás al uso excesivo de antibióticos y muchas veces inadecuado. Las infecciones causadas por bacilos Gram negativos productores de BLEE pueden ser graves e incluso mortales. (Miranda, 2013).

La primera referencia de AmpC en América se dio en New York en *Klebsiella pneumoniae* en 1994 y 2001, observándose una expansión territorial al ser detectadas posteriormente en hospitales de todo el país. En nuestro estudio se identificaron un 47% (n=7) de cepas productoras de β -lactamasas de tipo AmpC, que al comparar con el estudio realizado en Loja por Malla (2014), nos indica que el 10,5% de cepas son productoras de β -lactamasas de tipo AmpC, asimismo al comparar con el estudio realizado en Canadá, durante 2005, por Pitout *et al.*, en el que indicaron que *Escherichia coli* era la cepas con mayor resistencia a cefoxitina que alcanzaban ya el 30,5%, detectándose principalmente en muestras urinarias procedentes de la comunidad; al comparar estos datos obtenidos, la prevalencia de cepas productoras de AmpC en nuestra comunidad son bajos pero no menos importantes, considerándolos como un signo de alarma.

La resistencia de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* a las cefalosporinas de tercera generación constituye un serio problema clínico. Esta resistencia se da por la sobreexpresión constitutiva del gen ampC cromosomal, que originalmente, en estas cepas, es de bajo nivel y no es inducible (Rojas, 2005).

Los mutantes parcialmente derreprimidos expresan un incremento moderado de los niveles de AmpC; mientras que los mutantes totalmente derreprimidos, expresan altos niveles; por lo tanto, cepas con AmpC natural cromosómica inducible pierden el fenotipo de inducción y pasan a producirla constitutivamente. Las cepas derreprimidas o hiperproductoras, presentan resistencia a todas las penicilinas, combinaciones con inhibidores de β -lactamasas, cefalosporinas de 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} generación, cefamicinas y monobactams. Únicamente no se ven afectadas las cefalosporinas de 4^{ta} generación y carbapenems, a menos que los microorganismos posean, de forma concomitante, otros mecanismos de resistencia como: pérdida de porinas, BLEE, carbapenemasas entre otros (Martínez, 2009).

Estos mecanismos de resistencia pueden actuar independientemente uno de otro, pero en la mayoría de los casos se unen con lo que se potencian y dan lugar al surgimiento de cepas multidrogorresistentes. Los plásmidos que codifican resistencia a β -lactámicos también portan genes que codifican resistencia a otros antimicrobianos como aminoglucósidos, los cuales, al encontrarse codificados en plásmidos conjugativos posibilitan la diseminación a otras bacterias de la misma especie o de otras diferentes (Suárez, 2009).

La producción de estas enzimas constituye el principal mecanismo de resistencia a los β -lactámicos en bacilos Gram negativas de las cuales en nuestro estudio encontramos a:

Tabla 6. Frecuencia de cepas productoras de BLEE en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día y Clínica Maternidad Julia Esther González, durante el período agosto-noviembre de 2013.

Cepas	HDD		MJEG	
	Nº Cepas	Porcentaje	Nº Cepas	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	17	49	3	75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	9	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	1	3	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	3	-	-
TOTAL	22	63	3	75

Elaborado: Cecilia Alvarado

Las cepas productoras BLEE encontradas con mayor incidencia tenemos: en el HDD: *Escherichia coli* 49% (n=17), seguida por, *Klebsiella pneumoniae* 9% (n=3) y *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* con un 3% (n=1), de la misma manera en MJEG: *Escherichia coli* 75 % (n=3); estudios similares como el realizada en Loja por Malla (2014), indica que las cepas de *Escherichia coli* 70% (n=14) seguida por *Klebsiella oxytoca* 15% (n=3), *Proteus mirabilis* 10% (n=2) y *Klebsiella pneumoniae* 5% (n=1), son productoras de BLEE; asimismo el estudio realizado en Guatemala por Morales, et al. (2011), coinciden que el 41% de *Escherichia coli* eran productoras de BLEE a nivel comunitario. En América del Norte, la prevalencia de BLEE entre los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* se encuentran en un rango de 5 – 10% (*Escherichia coli* 7,5% y *Klebsiella pneumoniae* 12,3%), a nivel comunitario los cuales corroboran con el resultado de esta investigación.

Se consideraba que los microorganismos productores de BLEE, causantes de infecciones eran un problema casi exclusivamente nosocomial, sin embargo es bien sabido que la *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en menor porcentaje, son productora de estas β -lactamasas, que se encuentra en la comunidad adquiriendo una alta prevalencia.

Escherichia coli puede producir enzimas β -lactamasas cromosómicas o extracromosómicas (mediadas por plásmidos). Según diferentes estudios, la

resistencia se ha asociado al uso masivo de cefalosporinas de amplio espectro y quinolonas, constituyendo con ello la aparición microorganismos productores de BLEE. Pero no siempre el personal médico ha tenido en cuenta este hecho y el papel que tiene la aplicación de un correcto uso de antibióticos (Miranda, 2013).

Este estudio destaca el hecho de que muchas cepas de *Escherichia coli* con BLEE son de origen extrahospitalario. Estos resultados se deben en gran parte a que la mayoría de las muestras que se procesan en estos laboratorio son de pacientes de consulta externa, y que dichas cepas productoras de BLEE se aislaron de muestras de orina, teniendo en cuenta que estos Hospitales de nuestras localidad son muy frecuentados, el porcentaje de cepas encontradas es elevado, por lo que con estos resultados, se ha de tener en cuenta que se podría estar reflejando toda la población de riesgo; los resultados obtenidos si reflejan el comportamiento de los microorganismos de la localidad y su evolución, permitiendo conocer los patrones de sensibilidad y resistencia; siendo éstos una información necesaria para el médico de atención primaria a la hora de instaurar un tratamiento con antimicrobianos, seleccionando la terapia apropiada en pacientes con sospecha de infecciones causadas por gérmenes productores de BLEE.

Tabla 7. Frecuencia de cepas productoras de AmpC en muestras clínicas analizadas del Laboratorio Clínico del Hospital del Día, durante el período agosto-noviembre de 2013.

Cepas	HDD	
	Nº Cepas	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	4	26
<i>Citrobacter freundii</i>	1	7
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	7
<i>Proteus vulgaris</i>	1	7
TOTAL	7	47

Elaborado: Cecilia Alvarado

Entre las cepas productoras de β -lactamasas de tipo AmpC tenemos: *Escherichia coli* con 26,9% (n=4) seguido por *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* y *Proteus vulgaris* con un 6,7% (n=1); un estudio similar realizado en Loja por Malla (2014), identifico que un 33,3% *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii* y *Pseudomonas aeruginosa* son las enterobacterias productoras de este tipo de β -lactamasas; que al comparar con un estudio realizado en Colombia por Hoyos, *et al.* (2011), evaluaron los patrones de resistencia en los aislamientos adquiridos en la comunidad que resaltaron la presencia de bacterias productoras de β -lactamasas de tipo AmpC

(11,3%), entre estas tenemos: *Citrobacter freundii* y *Enterobacter cloacae* fueron las bacterias productoras de betalactamasas de tipo AmpC (presuntivo), enzimas producidas de forma inducible. Sin embargo, se encontró que en cuatro aislamientos para *Escherichia coli* y en cuatro para *Klebsiella pneumoniae* también tuvieron un patrón de resistencia sugestivo de β -lactamasas de tipo AmpC. Se ha hallado en plásmidos el gen ampC que, por ser naturalmente transferibles, facilita la diseminación de la resistencia mediada por este gen.

Es indiscutible la relevancia clínica de las β -lactamasas de tipo AmpC, más aún, cuando se han encontrado mecanismos de resistencia asociados. Ejemplo: AmpC y pérdida de porinas, que amplían al rango de acción hidrolítica hasta los carbapenems; o las no menos preocupantes AmpC de espectro extendido que confieren resistencia a cefalosporinas de 4ta generación. Muchos laboratorios no determinan la presencia de AmpC debido especialmente, a que se requieren reactivos no disponibles de manera rutinaria en el laboratorio clínico; no obstante, los métodos acá recopilados son accesibles y sencillos. Es importante recalcar que las enzimas AmpC (principalmente las plasmídicas), se asocian a fracasos terapéuticos, por lo que es importante su investigación empleando métodos para detección fenotípica y haciendo lectura interpretada del antibiograma. La detección también es importante para el monitoreo de bacterias con AmpC natural que durante el tratamiento con cefalosporinas se tornan resistentes, o en casos de cepas productoras de BLEE conjuntamente con AmpC. En cualquier caso, es esencial que los laboratorios clínicos microbiológicos incluyan como ensayo de rutina la detección fenotípica de β -lactamasas tipo AmpC (Martínez, 2009).

En la ciudad de Loja, la prevalencia de cepas productoras de BLEE a nivel comunitario es de 9,2% en el HDD y en un 15% en la MJEG; así como en un 15% en el Hospital Manuel Ygnacio Montero; estudios similares realizados en Ecuador por Pacheco y León (2011), indican una prevalencia del 3%; en países europeos se muestran prevalencias de BLEE en pacientes ambulatorios de 0,2 a 3,5 %, y en Latinoamérica un estudio en Colombia detectó una prevalencia de 2,6 %, al comparar los resultados de las diferentes investigaciones. Es claro que la prevalencia de BLEE en nuestra localidad se encuentra dentro de estos rangos, lo que podría explicarse por ser precisamente una población ambulatoria, esta menos expuesta a la presión de selección de los antimicrobianos y a la transmisión de resistencia entre las bacterias (Keller & Calderón, 2013).

CONCLUSIONES

Durante el período agosto-noviembre del 2013 se analizaron 239 muestras clínicas en el Hospital del Día y 20 en la Maternidad Julia Esther González de las cuales se concluyó:

1. Las cepas aisladas con mayor frecuencia fueron: *Escherichia coli* (87% - 95%), *Klebsiella pneumoniae* 3% y *Proteus vulgaris* (2,5% - 5%), respectivamente.
2. Los mecanismos de resistencia encontrados fenotípicamente tenemos: producción de BLEE (63% - 75%), respectivamente y de β -lactamasas de tipo AmpC con un 47% en el HDD.
3. *Escherichia coli* fue el bacilo Gram negativo productor de ambos mecanismos de resistencia con mayor frecuencia con un 49% y 75% de BLEE, respectivamente y en un 26% de AmpC en el HDD.

RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio más extenso, cubriendo hospitales privados y públicos de referencia nacional para determinar la resistencia antimicrobiana de Gram negativos, donde se haga uso de parámetros establecidos previamente como ficha médica o acceso al historial médico del paciente y de esta forma actualizar normas de atención al paciente, y así iniciar un tratamiento adecuado.
- Continuar el estudio mediante la aplicación de técnicas moleculares, que permitan caracterizar genéticamente el origen de las betalactamasas y nos brinden información de los tipos predominantes en nuestra localidad para compararlas con los resultados obtenidos con estudios realizados en diferentes países, integrando información sobre la dinámica de la diseminación de estos genes a nivel local y nacional, con el objetivo de desarrollar estrategias para prevenir y controlar la propagación de cepas multi-resistentes a los antimicrobianos a nivel hospitalario y en la comunidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adrianzén, D., Arbizu, A., Ortiz, J. & Samalvides, F. (2013). Mortalidad por bacteriemia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* Productoras de β -lactamasas de espectro extendido: cohorte retrospectivo en un hospital de Lima. Revista peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. ISSN 1726-4634. Vol.30. Perú.
- Algorta, G. (2009). Bacilos Gram negativos no exigentes *Enterobacteriaceae* y *Vibrionaceae*, *Pseudomonas spp.* Uruguay.
- Barcelona, L., Marín, M. & Stamboulian, D. (2008). β -lactamasas con inhibidores de β -lactamasas amoxicilina-sulbactam. Fundación Centro de Estudios infectológicos (FUNCEI). Volumen 68- N°1. Argentina.
- Briceño, D., Correa, A., Valencia, C., Torres, J., Pacheco, R., Montealegre, M., Ospina, D., & Villegas, M. (2010). Actualización de la resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de nivel III de Colombia: año 2006, 2007 y 2008. Centro Internacional de Entrenamiento e Investigación médicos. CIDEIM. Colombia.
- Carrillo, A. & García, A. (2007). Betalactamasas de espectro extendido - Importancia Clínica Médica. Taller de Laboratorio Clínico. Asociación Española de Biopatología Médica. España.
- Casellas. J. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev Panam Salud Pública. 2011; 30(6):519–28
- Chiriboga, M. & Araujo, C. (2012). Nuevo Método alternativo para la detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Médicas. Ecuador.
- ER. EcuRed. Resistencia Bacteriana. Datos publicados en noviembre del 2013. http://www.ecured.cu/index.php/Resistencia_bacteriana. Ecuador.
- Espinoza, L. (2007). Determinación de mecanismo de resistencia Amp-C dereprimido en cepas de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia*, obtenidas del laboratorio de Microbiología del Hospital General san Juan de Dios. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Falkowski, J. (2005). Quimioterápicos inhibidores del ciclo del ácido fólico. Catedra de Química Medicinal. Fac. Cs. Exts. Qcas y Nat- UnaM. Guías de Estudio

Fernández, A. (2012). “ β -lactamasas en *Enterobacteriaceae*: Aspectos genéticos, epidemiológicos, clínicos y biológicos”. Servicios de Microbiología-Instituto de Investigación Biomédica Coruña. España.

García, A. & Rodríguez, M. (2010). Enterobacterias. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. 10(51); 3426-31. España.

García, A., García E., Hernández, A., Ruíz, J., Yague, G., Herrero, J. & Gómez J. (2011). Bacteriemias por *Escherichia coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. Rev Esp Quimioter. 24 (2):57-66. España.

García, C. (2013). Infecciones por Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro Extendido. Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Departamento de enfermedades Infecciosas. Rev Med Hered 2013; 24:99-100. Perú.

García, M. (2013). *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido. Resistencia. Sanidad Militar. Vol. 69. Nº4. España.

González, M., Mendoza, A., Pavón, S., Becerril, R. & Vilchis, A. (2007). Resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en enterobacterias y caracterización preliminar de los plásmidos involucrados. Universidad Autónoma de Estado de México. México.

Guevara, A., Machado, S. & Manrique, E. (2011). Infecciones urinarias adquiridas en la comunidad: epidemiología, resistencia a los antimicrobianos y opciones terapéuticas. Kasmera. ISSN 0075-5222. Venezuela.

Gutiérrez, C., Reyes, E. & Federico, F. (2007). *Stenotrophomona maltophilia* una bacteria multirresistente. Revista de la Asociación Mexicana de Medicina crítica y Terapia Intensiva. Vol. XXI. México.

Hernández, E. (2010). “*Escherichia coli*” productores de BLEE aislados de urocultivo: implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. ISBN: 978-84-693-2390-8. Universidad Complutense de Madrid. España.

Hoyos, A., Serna, L., Ortiz, G., & Aguirre, J. (2011). Infección urinaria adquirida en la comunidad en pacientes pediátricos: clínica, factores de riesgo, etiología, resistencia a los antibióticos y respuesta a la terapia empírica. Asociación colombiana de Infectología. Colombia.

Keller, L & Calderón, C. (2013). Prevalencia de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en enterobacterias provenientes de urocultivos de pacientes ambulatorios. Fares Taie Instituto de Análisis. ISO 9001- iso 14001. Argentina.

Larrondo, H. (2010). Infección por bacilos Gram negativos no fermentadores: Problemática en las unidades de cuidados intensivos. Rev haban cienc méd [online]. 2010, vol.9, suppl.5, pp. 680-687. ISSN 1729-519X. Cuba.

Lastra V., Ulloa T., Pinto E., Vidal M., Silva F. 2010. Serinocarbapenemasas de clase A en enterobacterias. Programa de Formación de Especialistas en Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Rev Hosp Clín Univ Chile 2010; 21: 232 – 7. Chile.

Lezameta, L., Gonzáles, E., & Tamariz, J. (2010). Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de Betalactamasas de espectro extendido. Facultad de medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia. 27(3):345-51. Perú.

Malbrán, C. (2010). Identificación de Bacilos Gram Negativos no Fermentadores. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Argentina.

Malla, Y. (2014). Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos de cultivos aislados de muestras clínicas en pacientes ambulatorios del Hospital “Manuel Ygnacio Monteros” durante el periodo octubre – noviembre 2013. Tesis de grado obtenido no publicada. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.

Martínez, D. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípicas. Laboratorio de bacteriología. Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcala”. Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología 29:78-83. Venezuela.

Merino, L. & Losch, L. (2013, 07 de octubre). Familia *Enterobacteriaceae*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Microbiología e Inmunología. Argentina.

Miranda, M. (2013). *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido. Resistencia. Hospital General Básico de la Defensa San Carlos. ISSN 1887-8571. España.

Morales, E. (2012). Estudio descriptivo transversal realizado en 130 urocultivos de pacientes de ambos sexo atendidos en la consulta externa del Hospital privado de la Ciudad de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala.

Morales, G., Bermúdez, C. & Bracho, R. (2012). Perfil fenotípico de susceptibilidad en cepas de *Escherichia coli* aislados de urocultivos del hospital Rosario Pumarejo de López en la ciudad de Valledupar 2011. Departamento de Microbiología y Parasitología, Enfermedades Infecciosas, Nefrología, Medicina Interna, Urología. Colombia.

Morales, G., Bolaños, C. & Larrazabal, T. (2011). Enterobacterias aisladas en un centro hospitalario de la ciudad de Valledupar y frecuencia de Betalactamasas de espectro extendido y betalactamasas inducibles. Biociencias. Universidad libre de Seccional Barranquilla. Colombia

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

Pérez, H. & Robles, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Centro de Investigación Biomédica, Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz. 4(3): 186-191 pp. España.

Perozo, A. & Castellano, M. (2009). Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*. Universidad de Zulia. ISSN 00755222. Venezuela.

Puerto, A. (2004). Betalactamasas de espectro extendido en nuestro medio. Aportaciones científicas. Universidad de Granada. Facultad de Medicina. Departamento de Microbiología. España.

Quizpe, A., Murray, M., Muñoz, G., Peralta, J., & Calle, K. (2011). Recuperar la salud integral y la armonía de los ecosistemas para contener la resistencia bacteriana a los antibióticos (REACT). Universidad de Cuenca. Ecuador.

Rivera, M., Rodríguez, C., Huayán, G., & Mercado, P. (2011). Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacteriaceae* de un Hospital general en Cajamarca, Perú. Rev Med Hered. Vol.22. Perú.

Rojas, C. (2005). Revisión de la bibliografía sobre AmpC: Una importante Betalactamasas. Revisión Médica del Hospital Nacional de niños. Revista-Hnn-40-2.indd.

Sánchez, L., Sáenz, E., Pancorbo, J., Lanchipa, P., & Zegarra, R. (2004). Antibióticos Sistémicos en Dermatología. Dermatología Peruana vol 14, Nº1. Perú.

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

Seral, C. Gude, M., & Castillo, F. (2012). Emergencia de Betalactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas. Servicio de microbiología, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Zaragoza 25(2);89-99. Guatemala.

Serrano, C. (2007). Estudio de consumo de Antibióticos en Paraguay: Resultados de encuestas en hogares y establecimientos de venta. Facultad de Ciencias Químicas Universidad Nacional de Asunción. Paraguay.

Suárez, B., Hart M., Espinosa, F. & Salazar, D. (2009). Detección de mecanismos de resistencia en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* multidrogosresistentes. Hospital Clínico quirúrgico "Hermanos Ameijeiras". Cuba.

Tafur, J., Torres, J. & Villegas, M. (2008). Mecanismo de resistencia a los antibióticos en bacterias gram negativas. Centro Internacional de Entrenamiento e Investigación Médicas. CIDEIM. Volumen 12 Nº3. Colombia.

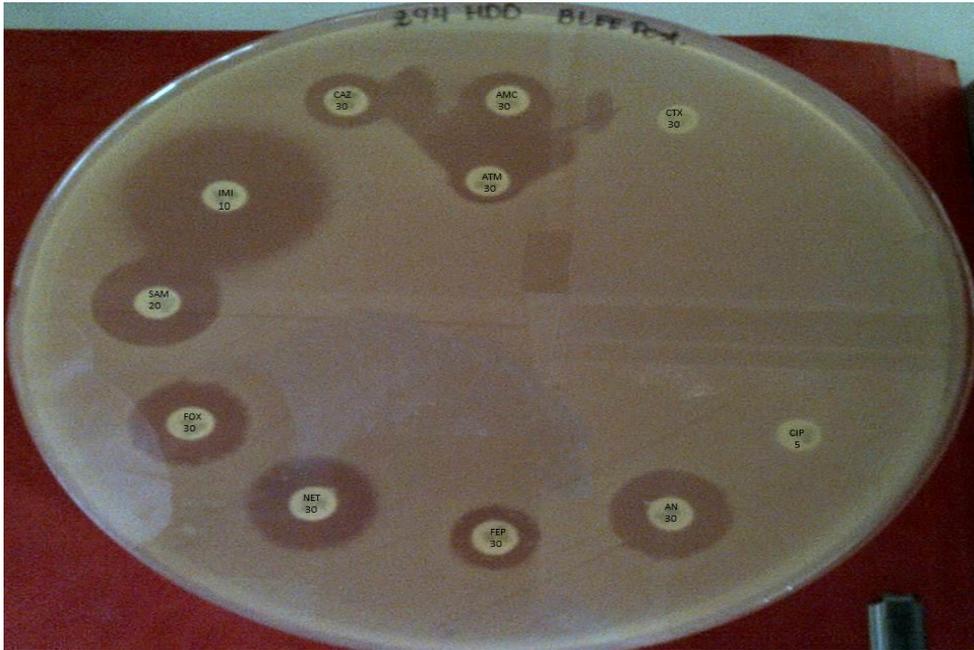
Torres, L. (2005). La era de las Carbapenemasas. Sociedad Venezolana de microbiología. Capítulo sucre XXIX Jornadas Venezolanas de microbiología. Cumaná-Venezuela.

Urquiza, W. (2010). Primer hallazgo de Carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica. Organización Panamericana de Salud.

Vargas, C. Ugarte, C. & Montiel, M. (2006). Uso adecuado y racional de los antibióticos. Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt (UPCH). Acta Med Per. 23. Perú.

Villabón, M., Vélez, C., Vega, S., Muñoz, L., Salcedo, O., Plazas, M & Fajardo, C. (2011). Genotipificación de betalactamasas de espectro extendido en un hospital universitario de Bogotá. Departamento de medicina Critica y Cuidados Intensivos, Hospital de San José-Fundación universitaria de ciencias de la salud (FUCSALUD), Grupo CIMCA. Volumen II, Número 3. Colombia.

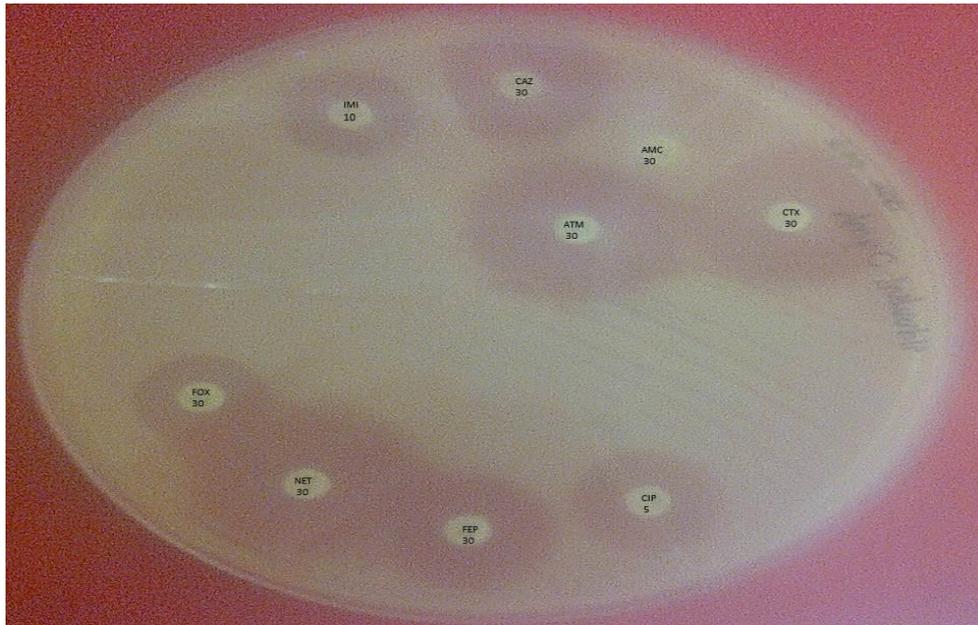
ANEXOS



Anexo 1. Prueba de sinergia de doble para la detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)
CAZ: ceftazidima (30 μ g), AMC: amoxicilina – ácido clavulánico (20 μ g/10 μ g),
CTX: cefotaxima (30 μ g), ATM: aztreonam (30 μ g).



Anexo 2. Prueba de discos combinados con inhibidor (Prueba de confirmación), para la identificación de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
CAZ: ceftazidima (30 μ g), CTX: cefotaxima (30 μ g), CAZ-CLA: ceftazidima - ácido clavulánico (30/10 μ g), CTX-CLA: cefotaxima - ácido clavulánico (30/10 μ g).



Anexo 3. Prueba de Aproximación de disco para la detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC Inducibles.
IMI: Imipenem (10 μ g), CAZ: ceftazidima (30 μ g).