



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA FRENTE
 β -LACTÁMICOS, EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS Y *Pseudomonas*
aeruginosa AISLADAS DE PACIENTES CON INFECCIONES
NOSOCOMIALES HOSPITALIZADOS EN EL SAHUAPA
(Modalidad: Investigación)

SULAMY DAYANA SALAZAR GÓMEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2008

DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA FRENTE A
 β -LACTÁMICOS, EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS Y *Pseudomonas*
aeruginosa AISLADAS DE PACIENTES CON INFECCIONES
NOSOCOMIALES HOSPITALIZADOS EN EL SAHUAPA

APROBADO POR:

Prof. Elvia Michelli
Asesora Académica

Prof. Evis Parra
Asesora Asistencial

INDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	9
Muestra.....	9
Transporte y conservación de las cepas	9
Siembra	9
Susceptibilidad antimicrobiana	10
Detección fenotípica de BLEE y AmpC	11
Detección fenotípica de Metalo β -lactamasas	11
Control de calidad	12
Análisis de los datos.....	13
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	37
RECOMENDACIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	48

DEDICATORIA

A:

Ti mi Jesús de la Misericordia por cuidarme siempre y ser mi seguridad cuando he sentido temor. Este logro es para ti. Si la confianza es prueba de ternura esta prueba de amor darte yo ansío, y siempre repetiré constantemente “Jesús misericordioso en ti confío”.

Mis padres Sulamy y Horacio, a ustedes les debo mi vida y todo lo que soy, el mejor apoyo, siempre fiel y desinteresado, sólo en busca de cumplir una meta, esta que hoy se ve consumada gracias a ustedes, “Gracias por ser mis padres”. Los quiero mucho.

Mis hermanas, Subany y Horamy, les dedico este triunfo, corran intensamente, sean siempre constantes en alcanzar lo que quieren, y sean siempre ustedes, siempre mis hermanas.

Lismary un hombro en quien siempre apoyar la mano y un Sí constante cada vez que lo necesité, inseparable siempre en este camino y a Greisly por siempre poder contar contigo, y soportar mis momentos difíciles, no hay palabras para agradecerles solo decirles que las quiero mucho. “Somos hoy, las páginas donde escribir las fábulas, mensajes dentro de botellas viajando a las estrellas, las notas de la música, la vida que no acabará”.^{LP}

Mi abuela Rosita, eres eso una Rosa, a tía Tibisay, que a pesar de las dificultades y diferencias, gracias siempre por el apoyo brindado en el comienzo de mi carrera, y a mis tías Nancy, Luisa “Guicha” y Mary por todo su cariño.

A mi Tía María quien me brindó cobijo y apoyo cuando más lo necesité, gracias tía por hacer de su casa mi casa, lugar maravilloso que jamás olvidaré.

A mi prima Marianny y a sus hijas Victoria y Verónica, rayitos de alegría. Las quiero mucho.

Y a todas aquellas personas que quiero y que no nombré pero están dentro de mí, que me hicieron crecer y así formar la persona que soy.

Cada logro en la vida es importante, aunque las cosas parecen fáciles cuando las hemos logrado ya, nada se improvisa, todo cuesta, por tanto el empeño y la dedicación son dos compañeros inseparables para obtenerlo, pero lo mejor de todo es sentir que éste fructifica y te da impulsos para seguir el camino.

A todos mil Gracias

AGRADECIMIENTOS

A:

La profesora Elvia Michelli por su dedicación, brindarme confianza y ser mi guía.

La profesora Evis Parra, por impartirme sus conocimientos, su dedicación constante en ayudarme, y por su apoyo incondicional siempre que la necesité. Gracias profesora fue usted un ángel para mí!

El Profesor Sael Romero, una mano siempre extendida desde mis comienzos y luego al final de todo. Gracias por todo Sael!

Mis compañeras de estudio: Leidys, Rosa, Luisana, Mónica y Elimar por los gratos y difíciles momentos compartidos, que serán inolvidables.

El laboratorio de bacteriología del Departamento de Bioanálisis UDO Sucre, por brindarme sus instalaciones para el procesamiento.

La Lic. Verónica Marcano por su amistad y ayuda.

La Lic. Noralis Maneiro, gracias de corazón, en mí no existen palabras para agradecerle todo lo que ha hecho en mí para ser una buena profesional. Se le quiere mucho.

Todo el personal del Centro Médico “Dr Hernández Cisneros” por toda la confianza brindada y por abrirme las puertas a este difícil pero maravilloso mundo.

A las profesoras Luzmila Alvarado, Dina Antón, Elsa Salazar y Militza Guzmán por hacer más sólido este trabajo.

A todos muchas gracias.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución porcentual de las especies bacterianas identificadas según el tipo de muestra, aisladas a partir de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.	16
Tabla 2. Distribución porcentual de las especies de enterobacterias y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , aisladas de pacientes con infección nosocomial, según el área de servicio, del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.	17
Tabla 3. Perfil fenotípico expresado en las cepas aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.....	25
Tabla 4. Distribución porcentual de las cepas de enterobacterias productoras de BLEE, según el servicio hospitalario, aisladas a partir de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las especies bacterianas aisladas de pacientes con infección nosocomial, recolectadas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.....	14
Figura 2. Susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.	18
Figura 3. Susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.	19
Figura 4. Susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de Enterobacter aerogenes aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.....	20
Figura 5. Susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.....	21
Figura 6. Susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de <i>Proteus mirabilis</i> aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006	22
Figura 7. Susceptibilidad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aisladas de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.....	23

RESUMEN

Las infecciones intrahospitalarias, comúnmente, son causadas por bacterias Gram negativas, dentro de éstas, las especies de la familia *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonaceae* representan una amenaza para pacientes hospitalizados; debido, principalmente a la adquisición de multirresistencia a los antibióticos de rutina. Para determinar fenotípicamente los mecanismos resistencia bacteriana frente a antibióticos β -lactámicos, en cepas aisladas de pacientes con infección nosocomial, se realizó el presente estudio, durante los meses junio-octubre de 2006, en este periodo se recolectaron 46 cepas de enterobacterias y 9 de *P. aeruginosa* aisladas de muestras de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), Cumaná, estado Sucre. Se identificó fenotípicamente la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y β -lactamasas AmpC en las enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*, además de metalo- β -lactamasas sólo en esta última. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión en agar, según el CLSI 2005. Los discos de antibióticos probados fueron cefotaxima (CTX, 30 μ g), ceftazidima (CAZ, 30 μ g), cefoxitina (FOX, 30 μ g), imipenen (IMP, 10 μ g), meropenem (MER, 10 μ g), piperacilina/tazobactam (TZP, 100/10 μ g), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC, 20/10 μ g), y cefepima (FEP, 30 μ g). La determinación de (BLEE) y β -lactamasas AmpC se realizó según el método de difusión de doble disco modificado descrito por Pitout *et al.*, (2003) y siguiendo los lineamientos establecidos por el CLSI, la detección de metalo- β -lactamasas se llevó a cabo con la prueba de rastreo con ácido etilendiamino tetra acético (EDTA), según Lee *et al.*, (2001). El mayor número de cepas se obtuvo de pacientes provenientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI); y el 54,55% del total de cepas se aislaron de muestras de secreciones. Se identificaron diez especies bacterianas dentro de la familia *Enterobacteriaceae*; siendo *E. coli* y *E. aerogenes* las aisladas con mayor frecuencia (29,09% y 18,18%, respectivamente), *P. aeruginosa* ocupó un 16,36%. Las cepas se mostraron 100% sensibles a imipenem y la mayor resistencia en las enterobacterias fue a AMC (47,35%), y en *P. aeruginosa* fue a meropenem (22,22%), fue a AMC (47,35%), el perfil fenotípico frecuentemente expresado fue designado como XIV, con resistencia a AMC, CTX, CAZ y expresión fenotípica de BLEE; 27 de las enterobacterias resultaron productoras de BLEE (58,70%), encontrándose en *E. aerogenes* el mayor porcentaje (29,63%). Se observó fenotipo sugestivo de la producción de AmpC inducido en 2/46 cepas de enterobacterias y en todas las de *P. aeruginosa*, además en esta no hubo evidencia fenotípica de BLEE ni de metalo- β -lactamasas. De acuerdo a los resultados obtenidos y, debido al incremento observado a nivel mundial de bacterias Gram negativas productoras de BLEE, hiperproducción de AmpC y metalo- β -lactamasas, es importante la determinación rutinaria de estos fenotipos en los

laboratorios de bacteriología clínica, ya que los genes que expresan estos mecanismos son los responsables de la resistencia a diferentes antibióticos especialmente β -lactámicos, limitando así las opciones terapéuticas en los pacientes hospitalizados, generalmente, los que se encuentran en la UCI.

INTRODUCCIÓN

Los antibióticos son sustancias naturales, sintéticas o semisintéticas que, a bajas concentraciones, inhiben el crecimiento de microorganismos. Su utilización a lo largo de los años ha reducido la mortalidad por enfermedades infecciosas, pero no la prevalencia de las mismas, ya que tanto su uso como su abuso han hecho que los microorganismos hayan evolucionado, desarrollando mecanismos de resistencia que impiden la actuación de estos fármacos y que en consecuencia conducen a fallas terapéuticas (Koneman *et al.*, 1999). Los antibióticos pueden presentar un espectro natural de actividad antibacteriana, según el cual, las especies que sufren una inhibición natural del crecimiento frente a bajas concentraciones del mismo, son denominadas sensibles, mientras que, las no incluidas dentro de este espectro, se designan naturalmente resistentes (Sánchez, 1992). En la actualidad, una bacteria se considera resistente cuando las concentraciones de un antibiótico, necesarias para inhibir su crecimiento *in vitro*, concentración inhibitoria mínima (CIM), es mayor que las concentraciones alcanzadas en suero o en tejidos (De la Parte *et al.*, 2001).

La creciente emergencia de resistencia bacteriana frente a antibióticos tiene un impacto negativo en la lucha contra las enfermedades infecciosas, las cuales constituyen la causa de muerte anual de más de 10 millones de personas en el mundo (OPS, 2006). Así mismo, se ha demostrado que el incremento en los patrones de resistencia bacteriana condiciona fallas en los esquemas terapéuticos y aumenta la morbilidad y mortalidad en la estancia hospitalaria (Acar y Goldstein, 1998; Levy, 1998; Hunter y Reeves, 2002).

Debido a que la resistencia bacteriana natural es de carácter constante en todas las cepas de una misma especie, ocasionalmente, constituye una ayuda para su

identificación (Crespo, 2002). La resistencia bacteriana adquirida se presenta en ciertas cepas, dentro de una especie naturalmente sensible, cuya información genética ha sido modificada por mutación o adquisición de genes y, en la mayoría de los casos, depende de la utilización de los antibióticos (Murray *et al.*, 1999). Los primeros reportes de resistencia a los antibióticos fueron publicados en 1940 y, para 1947, un alto porcentaje de las cepas de estafilococos, aisladas en los hospitales de Estados Unidos y varios países europeos, eran resistentes a penicilina G. Luego, este fenómeno se detectó en los casos de infecciones adquiridas en la comunidad (Davies, 1996; Ronald, 2001). En el presente, la resistencia bacteriana representa un problema a nivel mundial, además es el principal obstáculo para la aplicación eficaz de antibióticos, debido a que anula su acción y, a la vez, provoca la disminución y eventual desaparición de las cepas sensibles con la consecuente propagación de las resistentes (Rodríguez *et al.*, 1998; Crespo, 2002).

Los principales antibióticos empleados para el tratamiento de infecciones, incluyen a los β -lactámicos, específicamente, cefalosporinas de segunda y tercera generación, que en algunos casos en combinación con otros antibióticos, generalmente aminoglucósidos, logran obtener una mayor actividad contra las bacterias multirresistentes (Barrier, 2002).

Los antibióticos β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenemes) son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e induce además un efecto autolítico, la destrucción de la pared celular se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de síntesis del peptidoglucano. Los principales mecanismos de resistencia bacteriana frente a éstos son: cambios en las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs), que impiden la unión del antibiótico a su sitio de acción; alteraciones en las porinas de la membrana externa, disminuyendo su permeabilidad al antibiótico y producción de β -lactamasas, que

inactivan al antibiótico por inhibición enzimática; estos mecanismos son independientes entre sí pero pueden actuar sinérgicamente (Gold y Moellering, 1996; Martín, 2002; Marín y Gudiol, 2003).

La producción de β -lactamasas es considerada el principal mecanismo de resistencia bacteriana frente a β -lactámicos. Estas enzimas hidrolizan el anillo lactámico de estos agentes, generando compuestos inactivos. Dependiendo de la localización del gen que codifica las β -lactamasas éstas pueden ser cromosómicas o plasmídicas; las β -lactamasas cromosómicas forman parte del genoma bacteriano y se mantienen presentes entre bacterias de una misma especie, y las plasmídicas van a estar codificadas en ADN extracromosomal transferibles entre distintas especies bacterianas. Una gran variedad de β -lactamasas han sido clasificadas por sus secuencias de aminoácidos y la especificidad del sustrato sobre el cual actúan, siendo frecuentemente reportadas a partir de bacilos Gram negativos del género *Pseudomonas* y miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (Ronald, 2001; Rice, 2001).

Existen dos sistemas principales de clasificación de las β -lactamasas, la de Ambler iniciada en 1980, basado en la estructura molecular y su secuencia de aminoácidos, ésta reconoce cuatro tipos moleculares designados de la A hasta la D, los tipos A, C y D incluyen grupos de enzimas relacionados por su evolución que poseen serina en su zona activa, además tienen secuencias de aminoácidos similares, sobre todo las proteínas peptidasas encargadas de unir penicilinas, que son los blancos de acción de los antibióticos β -lactámicos. Las β -lactamasas del tipo B tienen una o dos moléculas de zinc en su zona activa y son inhibidas por EDTA (Kobayashi y Takahashi, 1982; Bush, 1996; Fierer y Guiney, 1999).

La clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros es la más utilizada para la nomenclatura de estas familias de enzimas, basada en sus características funcionales y su correlación con la clasificación molecular de Ambler. La mayoría de las β -lactamasas de espectro extendido pertenecen a la clase A de Ambler, serino enzimas, y unas pocas a la clase D y se clasifican en el subgrupo 2e de Bush. Las BLEE presentan de 1 a 3 sustituciones de aminoácidos comparados con las enzimas originales, estas sustituciones cambian el sitio activo de la enzima permitiéndole reconocer e hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación. Las β -lactamasas AmpC varían en función del microorganismo, algunos producen enzimas de clase A, pero en su mayoría producen β -lactamasas clase C de Ambler, (grupo 1 de Bush). Las carbapenemasas, según la clasificación de Ambler, se pueden estructurar en tres grupos; la clase A, subgrupo 2f de Bush, dependientes de serina e inhibidas parcialmente por ácido clavulánico; clase B, grupo 3 de Bush, dependientes de zinc, inhibidas por EDTA, y clase D, subgrupo 2d de Bush, enzimas que hidrolizan la oxacilina (Ambler, 1980; Bush., 1995; Bradford., 2001; Paterson y Bonomo, 2005).

Las β -lactamasas de espectro expandido (BLEE) le confiere a la bacteria resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, excepto a los carbapenemes. Estas enzimas, por lo general, están codificadas en plásmidos, permitiendo una mayor diseminación entre distintas cepas y en períodos de tiempo corto; en algunos casos, éstos plásmidos codifican para otros genes de resistencia a antibióticos, por lo tanto, una bacteria que exprese una BLEE, es común que presente co-resistencia a aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol y fluoroquinolonas (Bush *et al.*, 1995; Millar *et al.*, 1997; Girlich *et al.*, 2001; Winokur *et al.*, 2001; Coque *et al.*, 2002; Hunter y Reeves, 2002).

Las β -lactamasas AmpC son codificadas por genes que se encuentran típicamente en los cromosomas, pero también pueden estar codificadas en plásmidos

(Black *et al.*, 2004). Se les ha asociado con resistencia *in vitro* a todos los antibióticos β -lactámicos, excepto carbapenemes y cefepima; no son afectadas por los inhibidores de β -lactamasas y en asociación con la pérdida de porinas de la membrana externa (OMP), pueden producir resistencia a carbapenemes. Las metalo β -lactamasas son un grupo de enzimas generalmente codificadas por genes contenidos en integrones, e hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes (Bradford *et al.*, 1997; Poirel y Nordmann, 2002; Nasim *et al.*, 2004; Pitout *et al.*, 2005).

La resistencia en los bacilos Gram negativos aeróbicos es de gran relevancia dentro de los hospitales, ya que estas bacterias son frecuentemente aisladas como causantes de infecciones nosocomiales, tanto en Estados Unidos de América como en el resto del mundo (Medeiros, 1997; Turner, 2000; Martín, 2002). En los últimos años, los bacilos Gram negativos han aumentado su resistencia, no sólo a β -lactámicos, sino también a los aminoglicósidos y quinolonas que constituyen otras opciones de tratamiento (Davies, 1994; Levy, 1998). Esta situación ha llevado a elaborar programas de vigilancia de la resistencia bacteriana regionales y locales. En países de la Comunidad Europea y Americana, uno de estos programas involucra a la Organización Mundial de la Salud y se le denominó Programa de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana (WHONET). En Venezuela, existe un programa nacional de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana (GVRB) que funciona desde 1988 (Carmona *et al.*, 1992; Stelling y O` Brian, 1997; Turner, 2000; Martín, 2002).

Las infecciones intrahospitalarias o nosocomiales se definen como aquellas patologías que se presentan 72 horas después que el paciente ha ingresado al centro hospitalario y que no hayan sido reportadas ni observadas antes de ese periodo de tiempo (Alonso *et al.*, 2001). Entre los microorganismos responsables de estas infecciones se encuentran acterias, virus y hongos, siendo las bacterias el grupo más comúnmente involucrado (Madigan *et al.*, 2000). Estos agentes infecciosos pueden

provenir del medio ambiente, de la flora corporal normal o adquirirse por contacto con otros pacientes o trabajadores de la salud (Luna *et al.*, 2001). Las infecciones nosocomiales debidas a bacterias multirresistentes se encuentran entre las infecciones emergentes y representan uno de los problemas de salud más importantes a resolver en los próximos años (Cordero *et al.*, 2002), de tal forma que si las infecciones intrahospitalarias fueran consideradas en los reportes de mortalidad representarían la cuarta causa de muerte a nivel mundial (Rangel, 2002).

Dentro de los factores que favorecen las infecciones nosocomiales se encuentran, la hospitalización durante largos períodos, considerado el más importante, el deficiente lavado de manos por parte del personal médico y paramédico y el uso indiscriminado de antibióticos, los cuales propician las infecciones por bacterias propias de la flora hospitalaria (Gold y Moellering, 1996; León, 1996; Ortiz, 2005).

Las infecciones por bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos son una amenaza creciente para los pacientes hospitalizados, principalmente, los que se encuentran en las unidades de cuidados intensivos (Itokazu *et al.*, 1996; Flournoy *et al.*, 2000). Al respecto, Toltzis *et al.* (2001), realizaron un estudio en 38 unidades pediátricas de cuidados intensivos, encontrando un total de 101 niños, de los cuales el 8,60% de éstos, fueron colonizados por, al menos, una especie de bacilos Gram negativos resistentes a los antibióticos gentamicina, piperacilina/tazobactan o ceftazidima; además el rango de bacterias identificadas fue amplio, compuesto predominantemente por los géneros *Cedecea* spp., *Burkholderia* spp., *Providencia* spp., *Shigella* spp. y *Yersinia* spp. Estudios realizados en América Latina, describen la elevada frecuencia de bacterias Gram negativas como causantes de infecciones nosocomiales. Al respecto Cornejo *et al.* (2005), reportaron un 59,70% de aislados Gram negativos en hemocultivos de pacientes de un hospital oncológico de tercer nivel en México, de los cuales las especies *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. fueron

identificadas con mayor frecuencia; así mismo, durante el periodo de estudio, la sensibilidad frente a antimicrobianos se mantuvo estable y superior al 88,00%, excepto para *Pseudomonas aeruginosa*.

En Venezuela, Fajardo *et al.* (2004), desarrollaron un estudio a fin de conocer la frecuencia de microorganismos que infectan a pacientes bajo cuidados intensivos y la resistencia a los antibióticos, en el Hospital Universitario Angel Larralde de la ciudad de Valencia, encontrándose que de 288 cultivos, el 75,70% correspondió a bacterias Gram negativas, siendo los géneros más frecuentes *Enterobacter* (40,80%), *Pseudomonas* (19,20%) y *Acinetobacter* (11,90%); reportándose en estos microorganismos una resistencia superior al 50,00% a los β -lactámicos.

Según Cortesía *et al.* (2000), entre el 25,00 y 40,00% de los pacientes hospitalizados reciben antibióticos, aumentando este porcentaje hasta en un 80,00% en los pacientes ingresados en áreas críticas, este irracional uso de antibióticos ha generado un problema creciente a nivel mundial y nacional. Guzmán *et al.* (2004) en un estudio fenotípico realizado en cepas de *K. pneumoniae*, aisladas en diferentes áreas del Servicio Autónomo del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre, reportaron un elevado porcentaje de cepas resistentes productoras de BLEE 76,46%. De igual forma, García (2007), en una investigación fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido producidas por enterobacterias, realizado en el mismo hospital, reportó un 68,57% respectivamente.

La alta resistencia bacteriana es una de las razones que contribuye a incrementar el número de muertes en los casos de infección nosocomial; en relación a ello se hace notoria la necesidad de mantener la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos a nivel hospitalario, monitorear el comportamiento de los distintos aislamientos de bacterias frente a los mismos e interpretar los resultados adecuadamente; así mismo, la identificación fenotípica de los mecanismos de

resistencia bacteriana frente a los β -lactámicos es de gran importancia, debido a que la emergencia de la resistencia bacteriana a diferentes antibióticos, en especial a este grupo, constituye un problema alarmante en el medio nosocomial. De acuerdo al impacto clínico y epidemiológico que generan estos mecanismos de resistencia y al alto porcentaje de cepas resistentes reportadas en estudios realizados en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, en el presente trabajo se determinó fenotípicamente los mecanismos de resistencia frente a antibióticos β -lactámicos en cepas de enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales.

METODOLOGÍA

Muestra

Durante el período comprendido entre junio y octubre de 2006, se recolectó un total de 55 cepas bacterianas, 46 fueron identificadas dentro de la familia *Enterobacteriaceae* y 9 correspondieron a *P. aeruginosa*, dentro de las enterobacterias se encontraron cepas de *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella oxytoca* *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris* y *Proteus penneri*, éstas fueron aisladas e identificadas en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, a partir de diferentes tipos de muestras: secreciones, heces, sangre, orina, catéter y sonda, provenientes de pacientes con diagnóstico de infección nosocomial, reclusos en diferentes servicios; unidad de cuidados intensivos, retén, medicina A y C, pediatría A y B, y cirugía. Se excluyeron aquellas cepas aisladas de pacientes que en el momento de su ingreso al centro hospitalario presentaron la infección o que la misma se manifestara en un lapso menor a las 72 horas de haber sido internado.

Transporte y conservación de las cepas

Las cepas fueron preservadas en agar conservación, para luego ser transportadas al Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, para su procesamiento.

Siembra

A partir del medio de conservación, se procedió a inocular las cepas bacterianas en caldo nutritivo (HIMEDIA) y se incubó en aerobiosis a 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación y crecimiento bacteriano, se sembró en agar MacConkey (BBL™) y se incubó atendiendo a las condiciones anteriores (Koneman *et al.*, 2002).

Susceptibilidad antimicrobiana

Se determinó la susceptibilidad frente a antimicrobianos β -lactámicos, utilizando el método de difusión en disco (Bauer *et al.*, 1966), siguiendo las especificaciones del Instituto para Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, 2005). Para ello, se inoculó 4,5 ml de solución salina fisiológica al 0,85% estéril, con 5 colonias de la cepa bacteriana y se incubó a 35°C, hasta observar una turbidez ajustada al patrón 0,5 en la escala de Macfarland (corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml), luego se humedeció un hisopo estéril en la suspensión bacteriana, eliminando el exceso de líquido absorbido girándolo contra las paredes del tubo, se diseminó uniformemente tres veces, sobre la superficie del agar Mueller Hinton (BBL™), en tres direcciones diferentes, rotando la placa aproximadamente 60°, se dejó secar durante 5 minutos, luego se colocaron los discos de antibióticos de la casa comercial OXOID: cefotaxima (CTX) 30 μ g, ceftazidima (CAZ) 30 μ g, imipenem (IMP) 10 μ g, meropenem (MER) 10 μ g, piperacilina/tazobactan (TZP) 100/10 μ g, amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) 20/10 μ g, cefepima (FEP) 30 μ g y cefoxitina (FOX) 30 μ g, a una distancia de 15 a 20 mm entre los discos, para ello se utilizó una pinza estéril. Las placas se incubaron en aerobiosis, durante 24 horas a 37°C, luego se realizó la lectura de los halos de inhibición midiendo los diámetros alrededor de los discos de antibióticos, con una regla milimetrada. Las medidas obtenidas se correlacionaron con las tablas de referencia del CLSI, las cuales permitieron interpretar el comportamiento de las cepas frente a los antibióticos probados, según

los halos de inhibición, para ser reportado como sensible (S), intermedio (I) y resistente (R). Se evaluaron los antibióticos tomando en cuenta la resistencia natural en cada especie bacteriana, para ello se siguieron especificaciones del CLSI, (2005).

Detección fenotípica de BLEE y AmpC

La detección de BLEE y β -lactamasas AmpC en las enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*, se realizó utilizando el método de sinergia del doble disco modificado (Pitout *et al.*, 2003; Pitout *et al.*, 2004) y siguiendo los lineamientos establecidos por el CLSI, (2005), el cual recomienda los siguientes puntos de corte para la detección de BLEE en las enterobacterias, para cefotaxima y ceftazidima; en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* ≤ 27 y ≤ 22 , respectivamente; *Enterobacter* spp. *Citrobacter freundii* y *Morganella morganii* ≤ 22 y ≤ 17 , respectivamente.

Detección fenotípica de Metallo β -lactamasas

La detección fenotípica de bacterias productoras de metallo- β -lactamasas se evaluó sólo en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem, meropenem, o a ambos. La presencia de metalo enzimas se determinó utilizando la prueba de rastreo con ácido etilendiamino tetra acético (EDTA), el método se basa en la habilidad de este quelante de inhibir la actividad de las metallo- β -lactamasas; para ello se evaluó la acción sinérgica entre los discos de imipenem, meropenem y el EDTA (Lee *et al.*, 2001; Pitout *et al.*, 2005).

La detección fenotípica de éstos mecanismos de resistencia se desarrolló a partir de una suspensión bacteriana en solución salina fisiológica, ajustada al patrón 0,5 en la escala de MacFarland, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana. Los discos de antibióticos fueron

distribuidos siguiendo una ubicación estratégica (Ver anexos). Para la detección de BLEE, en las enterobacterias, se colocó un disco de amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg en la placa de agar Muller Hinton, previamente inoculada y a ambos lados, a una distancia aproximada de 20 mm, se colocaron discos de cefotaxima y ceftazidima 30 µg; en *P. aeruginosa* se colocó un disco de piperacilina/tazobactan 100/10 µg y a 20 mm de este, un disco de cefepima 30 µg, seguidamente para detectar β-lactamasas AmpC de tipo inducido, se dispuso un disco de un antibiótico inductor, como el imipenem 10 µg, a una distancia de 20 mm del disco de ceftazidima 30 µg (antibiótico testigo); para evaluar la presencia de metalo β-lactamasas en *P. aeruginosa* se colocó un disco de imipenem 10 µg, a 20 mm de separación uno de meropenem 10 µg, adicionalmente en el espacio entre estos dos a una distancia de 15 mm un disco impregnado en EDTA 0,5 mol.l⁻¹, una vez dispuestos los discos de antibióticos, las placas se incubaron en aerobiosis, durante 24 horas a 37°C. Después de la incubación, se evaluaron las placas; la presencia de una BLEE en las enterobacterias, se evidenció por el efecto sinérgico del inhibidor amoxicilina/ácido clavulánico, bajo la forma de ampliación del halo entre cualquiera de las proximidades de los discos de antibióticos de cefotaxima/ceftazidima o de ambos, en *P. aeruginosa* este mecanismos se observó por la ampliación del halo entre el disco de piperacilina/tazobactan y cefepime (Pitout *et al.*, 2003; Pitout *et al.*, 2004). La presencia de β-lactamasas AmpC de tipo inducida se detectó por un halo de inhibición truncado del antibiótico testigo (ceftazidima) en la zona adyacente del disco del antibiótico inductor (imipenem) (Pitout *et al.*, 2003; Black *et al* 2005). El incremento en la zona de inhibición alrededor del disco de imipenem, o meropenem hacia el disco de EDTA se tomó como evidencia de la presencia de cepas productoras de metalo-β-lactamasas (Lee *et al.*, 2001)

Control de calidad

Para el control de calidad de las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos se

utilizaron las cepas certificadas *Escherichia coli* ATCC[®] 25922; CVCM: 765, *Escherichia coli* ATCC[®] 35218; CVCM: 766, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 27853; CVCM: 938 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 10145; CVCM: 625, provenientes del Centro Venezolano de Colecciones Microbiológicas (CVCM, 2000), además se utilizó una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalo β -lactamasa N° 77301, identificada por el Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana.

Análisis de los datos

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la aplicación de estadística descriptiva y representados en tablas y figuras (Jiménez, 2000).

RESULTADOS

La Figura 1 muestra la distribución de los aislamientos por especie bacteriana, de los cuales 10 pertenecían a la familia *Enterobacteriaceae*; *E. coli* fue la especie más frecuente (29,09%), seguida por *E. aerogenes* y *K. pneumoniae* (18,18% y 14,55%, respectivamente). *P. aeruginosa* se aisló en un 16,36%.

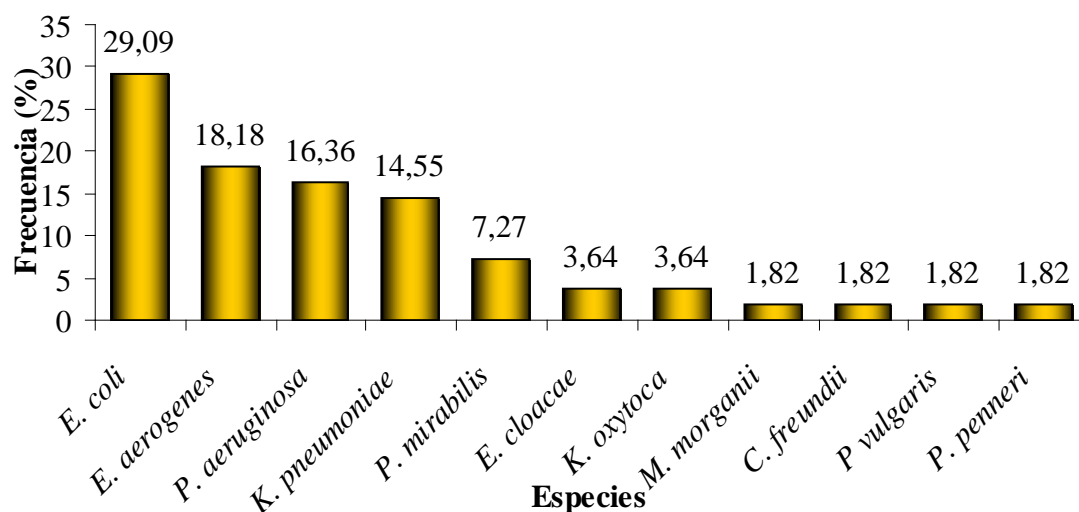


Figura 1. Distribución de las especies bacterianas aisladas de pacientes con infección nosocomial, recolectadas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

La distribución de las especies bacterianas identificadas en función de las muestras clínicas de procedencia, se presenta en la tabla 1. El mayor porcentaje de cepas se aisló de las secreciones (54,55%) y las heces (18,18%), siendo *E. aerogenes* y *P. aeruginosa* las especies más recuperadas en los cultivos de secreciones, representando el 10,91% del total de aislamiento. *E. coli* fue el agente bacteriano más frecuente en los cultivos de heces (12,73%), seguido de *K. pneumoniae* (5,45%).

En la tabla 2 se observa la distribución de las especies bacterianas identificadas según el servicio hospitalario, el mayor porcentaje de aislamientos se obtuvo en la Unidad de Cuidados Intensivos (38,18%), siendo *E. aerogenes* y *P. aeruginosa* las especies más frecuentes (9,09%), seguido del área de Retén, donde *E. coli* fue la especie mayormente aislada (14,54%).

Tabla 1. Distribución porcentual de las especies bacterianas identificadas según el tipo de muestra, aisladas a partir de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

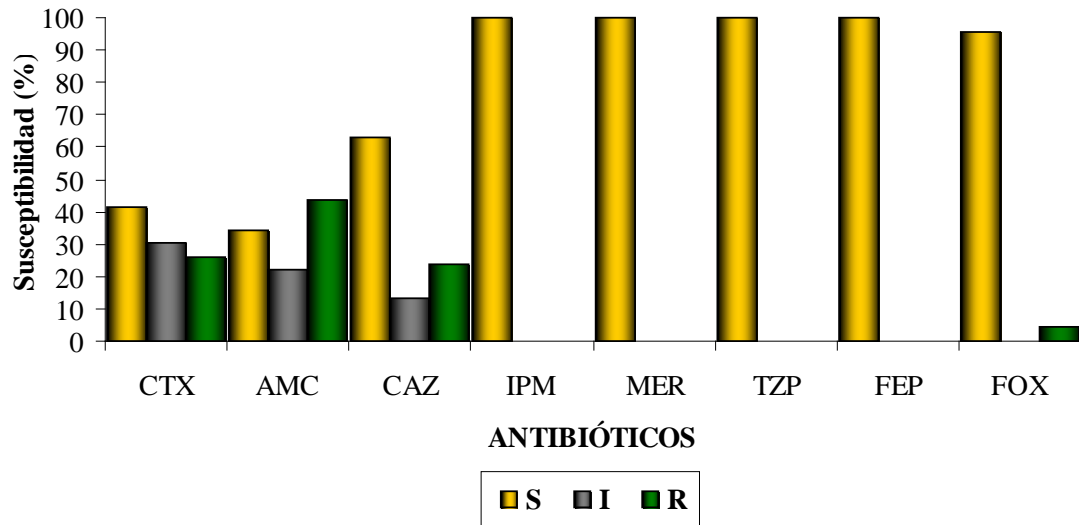
Especies	Secreción		Heces		Muestra de Catéter		Sangre		Orina		Muestra de Sonda		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	5	9,09	7	12,73	-	-	1	1,82	3	5,45	-	-	16	29,09
<i>E. aerogenes</i>	6	10,91	-	-	3	5,45	1	1,82	-	-	-	-	10	18,18
<i>P. aeruginosa</i>	6	10,91	-	-	1	1,82	2	3,64	-	-	-	-	9	16,36
<i>K. pneumoniae</i>	4	7,27	3	5,45	1	1,82	-	-	-	-	-	-	8	14,54
<i>P. mirabilis</i>	3	5,45	-	-	-	-	-	-	1	1,82	-	-	4	7,27
<i>E. cloacae</i>	2	3,64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3,64
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	1	1,82	-	-	-	-	1	1,82	2	3,64
<i>M. morgani</i>	1	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,82
<i>C. freundii</i>	1	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,82
<i>P. vulgaris</i>	1	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,82
<i>P. penneri</i>	1	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,82
Total	30	54,55	10	18,18	6	10,91	4	7,27	4	7,27	1	1,82	55	100,00

Tabla 2. Distribución porcentual de las especies de enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas de pacientes con infección nosocomial, según el área de servicio, del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

Especies	UCI		RETÉN		MED A		MED C		PED A		PED B		CIRUGÍA		TOTAL	
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	4	7,27	8	14,54	2	3,64	1	1,82	1	1,82	-	-	-	-	16	29,09
<i>E. aerogenes</i>	5	9,09	1	1,82	-	-	1	1,82	2	3,64	1	1,82	-	-	10	18,18
<i>P. aeruginosa</i>	5	9,09	2	3,64	2	3,64	-	-	-	-	-	-	-	-	9	16,36
<i>K. pneumoniae</i>	2	3,64	2	3,64	2	3,64	1	1,82	-	-	-	-	1	1,82	8	14,54
<i>P. mirabilis</i>	2	3,64	-	-	2	3,64	-	-	-	-	-	-	-	-	4	7,27
<i>E. cloacae</i>	1	1,82	-	-	1	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3,64
<i>K. oxytoca</i>	1	1,82	-	-	-	-	1	1,82	-	-	-	-	-	-	2	3,64
<i>M. morgani</i>	1	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,82
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-	-	1	1,82	-	-	-	-	-	-	1	1,82
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	1	1,82	-	-	-	-	-	-	1	1,82
<i>P. penneri</i>	-	-	-	-	-	-	1	1,82	-	-	-	-	-	-	1	1,82
Total	21	38,18	13	23,64	9	16,36	7	12,73	3	5,45	1	1,82	1	1,82	55	100,00

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos; MED A: Medicina A; MED C: Medicina C; PED A: Pediatría A; PED B: Pediatría B

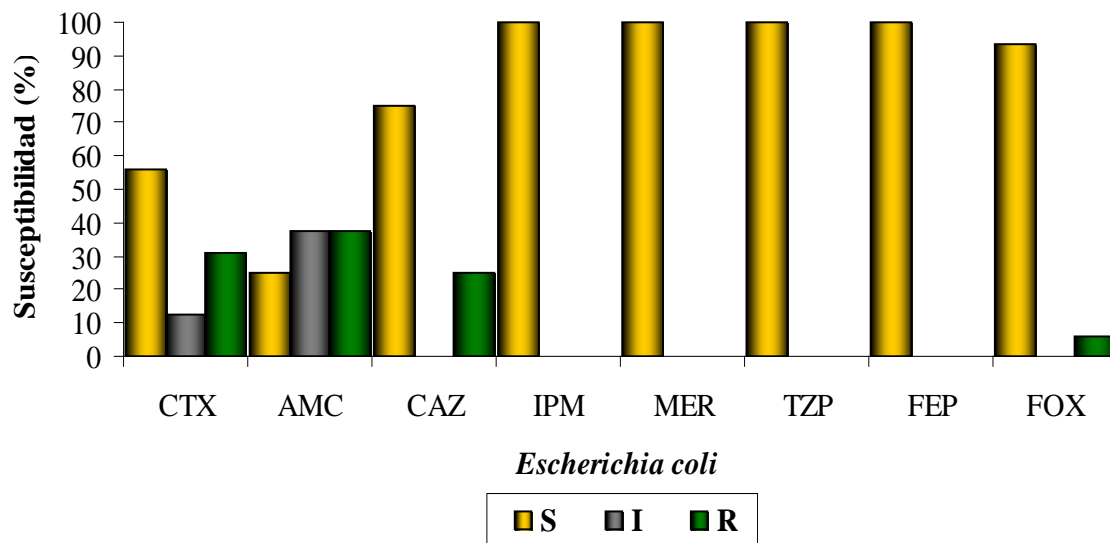
En relación a las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, las enterobacterias mostraron un 100,00% de sensibilidad a imipenem, meropenem, piperacilina/tazobactam, cefepime, y un 95,65% a ceftazidima, el mayor porcentaje de resistencia se observó para amoxicilina/ácido clavulánico (43,75%) (Figura 2).



CTX: Cefotaxima; AMC: Amoxicilina/ácido clavulánico; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem; MER: Meropenem; TZP: Piperacilina/tazobactam; FEP: Cefepima; FOX: Cefoxitina.

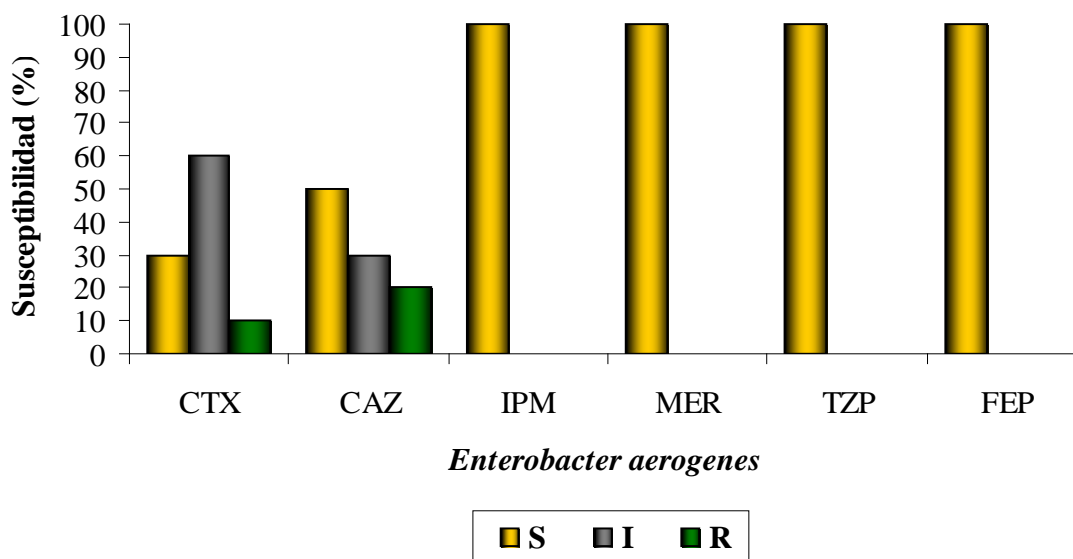
Figura 2. Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de las cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

Las cepas de *E. coli* mostraron resistencia a cefotaxima, ceftazidima, ceftazidima y amoxicilina/ácido clavulánico, presentando el mayor porcentaje de resistencia frente a este último (37,50%) (Figura 3). En los aislados de *E. aerogenes* se observó el mayor porcentaje de resistencia a ceftazidima (20,00%) (Figura 4). *K. pneumoniae*, se presentó como la bacteria con mayor porcentaje de resistencia, se observó resistencias a cefotaxima (37,50%), ceftazidima (50,00%), y a amoxicilina/ácido clavulánico (62,50%) (Figura 5), de igual manera en *P. mirabilis* el mayor porcentaje de resistencia fue a este último (50,00%) (Figura 6).



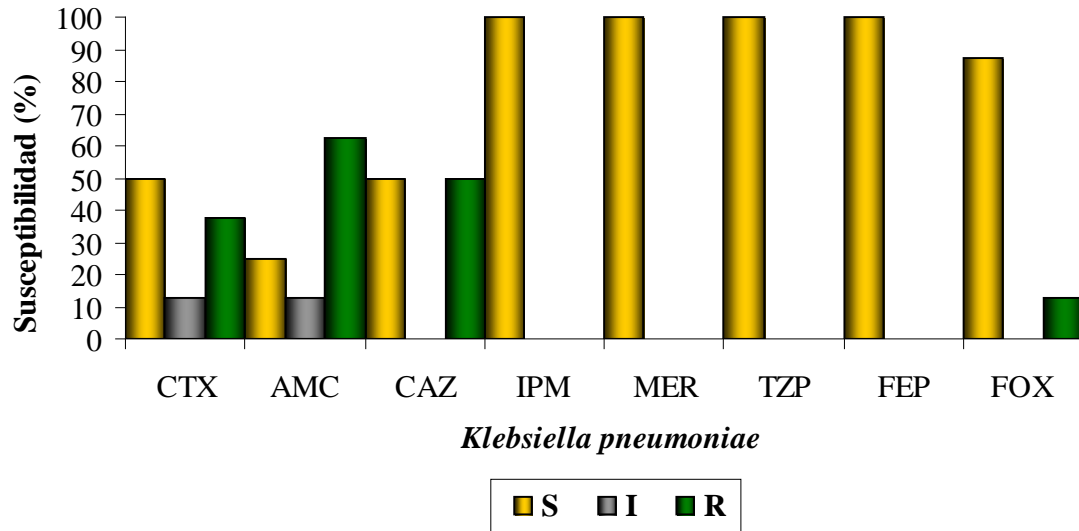
CTX: Cefotaxima; AMC: Amoxicilina/ácido clavulánico; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem;
 MER: Meropenem; TZP: Piperacilina/tazobactam; FEP: Cefepima; FOX: Cefoxitina.

Figura 3. Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.



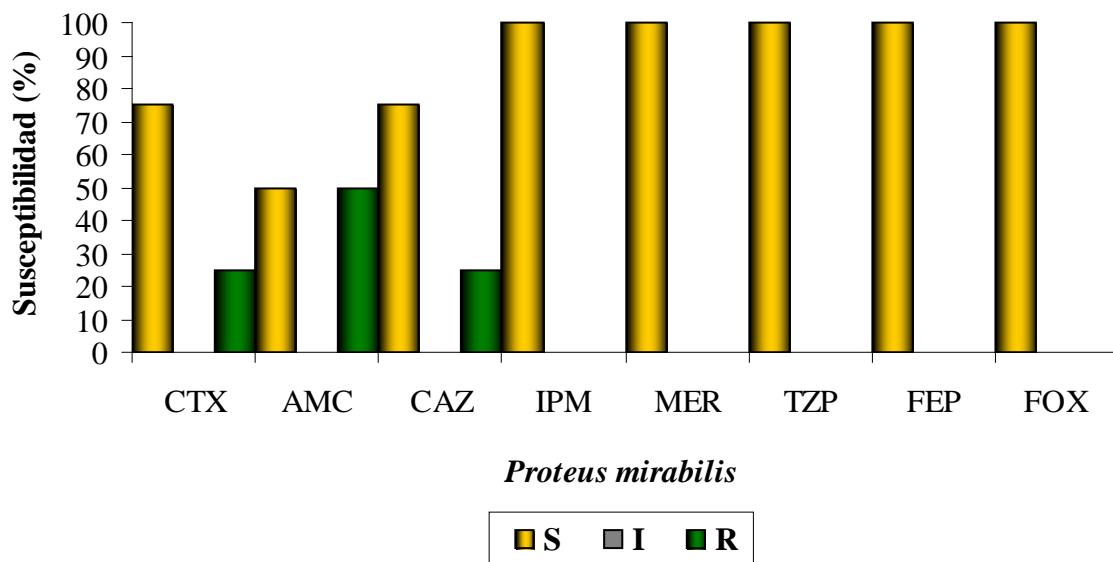
CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem; MER: Meropenem; TZP: Piperacilina/tazobactam; FEP: Cefepima.

Figura 4. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de las cepas de *Enterobacter aerogenes* aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.



CTX: Cefotaxima; AMC: Amoxicilina/ácido clavulánico; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem;
 MER: Meropenem; TZP: Piperacilina/tazobactam; FEP: Cefepima; FOX: Cefoxitín.

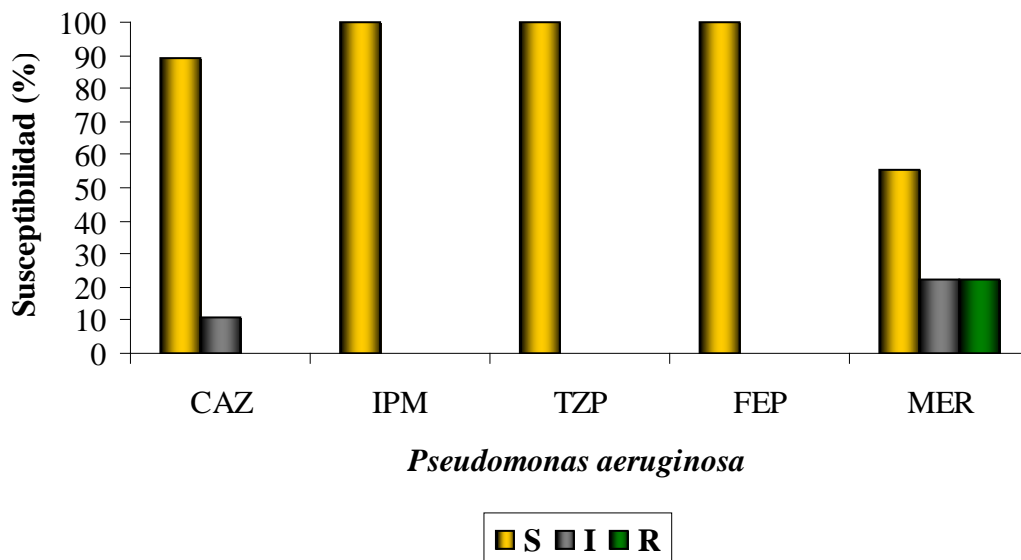
Figura 5. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.



CTX: Cefotaxima; AMC: Amoxicilina/ácido clavulánico; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem; MER: Meropenem; TZP: Piperacilina/tazobactam; FEP: Cefepima, FOX: Cefoxitina

Figura 6. Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de las cepas de *Proteus mirabilis* aisladas de pacientes con infección nosocomial, recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006

En la figura 7, se observa la susceptibilidad a los antibióticos *in vitro* en las cepas de *P. aeruginosa*, éstas mostraron 100,00% de sensibilidad a imipenem, piperacilina/tazobactam y cefepima, se observó sólo resistencia a meropenem (22,22%).



CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; IPM: Imipenem; TZP: Piperacilina/tazobactam; FEP: Cefepima; MER: Meropenem.

Figura 7. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

En la tabla 3, se presenta el perfil fenotípico expresado en las enterobacterias y *P. aeruginosa* de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, éstos revelaron la existencia de dieciocho (XVIII) patrones fenotípicos diferentes, para clasificar las cepas bacterianas dentro de un mismo fenotipo, se tomó en consideración los patrones de susceptibilidad expresados por cada una de ellas, de esta forma se ubicaron las cepas dentro de un fenotipo común y se designó para su clasificación un número romano; el expresado con mayor frecuencia entre las cepas fue el fenotipo XIV, el cual se caracterizó por la resistencia a CTX, CAZ, AMC y expresión fenotípica de BLEE, la producción de AmpC

inducido se observó sólo en dos de las cepas de enterobacterias con fenotipo V y en *P. aeruginosa* estuvo asociado a los fenotipos XVI, XVII y XIII. No se evidenció la producción fenotípica de BLEE ni de metalo- β -lactamasas en estas cepas.

En la tabla 4, se presenta la distribución de las especies de enterobacterias productoras de BLEE, según el servicio hospitalario, la UCI fue el área donde se encontró el mayor número de cepas con producción fenotípica de BLEE, (40,74%); seguido de Retén y Medicina C. *E. aerogenes* (29,63%), *E. coli* (25,93%) y *K. pneumoniae* (22,22%) fueron las especies en las que se evidenció mayor expresión de esta enzima.

Tabla 3. Perfil fenotípico expresado en las cepas aisladas de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

Especies	n	F	AMC	CTX	CAZ	IMP	TZP	FEP	FOX	MEM	BLEE	AmpC	Mβ
<i>E. coli</i>	3	I	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	3	I	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>K. oxytoca</i>	1	I	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	1	I	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>M. morgani</i>	1	I	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	1	I	S	S	S	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>E. aerogenes</i>	2	II	R	S	S	S	S	S	R	S	-	-	-
<i>E. coli</i>	4	III	I	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>E. coli</i>	1	IV	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>E. coli</i>	1	V	R	S	S	S	S	S	R	S	-	1	-
<i>K. pneumoniae</i>	1	V	R	S	S	S	S	S	R	S	-	1	-
<i>E. coli</i>	1	VI	R	I	S	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>P. vulgaris</i>	1	VI	R	I	S	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>C. freundii</i>	1	VI	R	I	S	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>E. aerogenes</i>	3	VII	R	I	S	S	S	S	R	S	3	-	-
<i>E. cloacae</i>	1	VII	R	I	S	S	S	S	R	S	1	-	-
<i>E. aerogenes</i>	4	VIII	R	I	I	S	S	S	R	S	4	-	-
<i>E. coli</i>	1	IX	I	I	R	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	2	IX	I	I	R	S	S	S	S	S	2	-	-
<i>P. penneri</i>	1	X	R	I	R	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>E. coli</i>	1	XI	I	R	I	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>E. aerogenes</i>	1	XII	R	R	I	S	S	S	R	S	1	-	-
<i>E. coli</i>	1	XIII	R	R	S	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	1	XIII	R	R	S	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>K. oxytoca</i>	1	XIII	R	R	S	S	S	S	S	S	-	-	-
<i>E. coli</i>	3	XIV	R	R	R	S	S	S	S	S	3	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	2	XIV	R	R	R	S	S	S	S	S	2	-	-
<i>P. mirabilis</i>	1	XIV	R	R	R	S	S	S	S	S	1	-	-
<i>E. cloacae</i>	1	XV	R	R	R	S	S	S	R	S	1	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	4	XVI	R	R	S	S	S	S	R	I	-	4	-
<i>P. aeruginosa</i>	3	XVII	R	R	S	S	S	S	R	S	-	3	-
<i>P. aeruginosa</i>	2	XVIII	R	R	S	S	S	S	R	R	-	2	-

CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; AMC: Amoxicilina/ácido clavulánico; IMP: Imipenem; TZP: Piperacilina/tazobactan; FEP: Cefepima; FOX: Cefoxitina; MEM: Meropenem; BLEE: β-lactamasas de espectro extendido; AmpC: β-lactamasas clase C inducido; Mβ: metalo-β-lactamasas; S: Sensible; I: Intermedio; R: Resistente; n: Número de cepas; F: fenotipo

Tabla 4. Distribución porcentual de las cepas de enterobacterias productoras de BLEE, según el servicio hospitalario, aisladas a partir de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio – octubre de 2006.

Especies	UCI (n=21)		RETÉN (n=13)		MED C (n= 7)		MED A (n=9)		PED A (n=3)		PED B (n=1)		CIRUGÍA (n=1)		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>E. aerogenes</i> (n=10)	5	18,53	1	3,70	-	-	-	-	1	3,70	1	3,70	-	-	8	29,63
<i>E. coli</i> (n=16)	3	11,11	3	11,11	1	3,70	-	-	-	-	-	-	-	-	7	25,93
<i>K. pneumoniae</i> (n=8)	2	7,41	1	3,70	1	3,70	1	3,70	-	-	-	-	1	3,70	6	22,22
<i>E. cloacae</i> (n=2)	1	3,70	-	-	-	-	1	3,70	-	-	-	-	-	-	2	7,41
<i>P. mirabilis</i> (n=4)	-	-	-	-	-	-	1	3,70	-	-	-	-	-	-	1	3,70
<i>C. freundii</i> (n=1)	-	-	-	-	1	3,70	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,70
<i>P. vulgaris</i> (n=1)	-	-	-	-	1	3,70	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,70
<i>P. penneri</i> (n=1)	-	-	-	-	1	3,70	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,70
Total	11	40,74	5	18,53	5	18,53	3	11,11	1	3,70	1	3,70	1	3,70	27	100,00

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos; MED A: Medicina A; MED C: Medicina C; PED A: Pediatría A; PED B: Pediatría B

DISCUSIÓN

Las infecciones nosocomiales son consecuencia directa del tiempo prolongado de hospitalización, empleo de técnicas invasivas diagnósticas y terapéuticas, uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, factores inherentes al huésped y el medio ambiente, son entre otros, causas de aparición de infección nosocomial (Díaz, 2006).

En el ambiente hospitalario existen bacterias potencialmente infecciosas, provenientes del personal, la flora del huésped y del ambiente inanimado, aislándose con mayor frecuencia enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa (BGNNFG). La presencia de estas bacterias, asociadas a nuevas tecnologías utilizadas para prolongar la vida de los pacientes graves, trae también como consecuencia la aparición de infecciones nosocomiales, que en muchos casos tienen un desenlace fatal (Llop, 2001).

En el presente estudio, la mayor cantidad de cepas (54,55%) fueron aisladas a partir de muestras de secreciones. Resultados similares fueron publicados por Salazar *et al.* (2006) en un estudio llevado a cabo en el Hospital Dr “Luís Díaz Soto”, Cuba, donde encontraron en muestras de secreciones un 70,98% de cultivos positivos, a diferencia de los reportados por Muzachiodi y Ferrero (2005) en una investigación realizada en el Hospital escuela José F. De San Martín, Argentina, y por Garzón *et al.* (2004) en un estudio sobre prevalencia de betalactamasas de espectro extendido realizado en el Hospital Occidente de Kennedy, Bogotá, quienes encontraron el mayor porcentaje de cultivos positivos en muestras de orina con (41,80% y 34,40%, respectivamente).

E. coli fue la especie bacteriana mayormente aislada en esta investigación (29,09%), hecho que pudo estar relacionado, a que éste es un importante patógeno oportunista y agente etiológico de diversas infecciones nosocomiales, especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Mandell *et al.*, 2000). Resultados similares fueron publicados por Izquierdo *et al.* (2006), en un estudio sobre prevalencia de infecciones nosocomiales en el sistema de hospitales cubanos, encontraron como patógeno más frecuente a *E. coli* con un 21,00%; igualmente, Ballesteros *et al.* (2006), en un estudio sobre infección nosocomial en el Hospital Universitario “Marqués de Valdecilla”, España, reportaron una prevalencia de *E. coli* de 43,60%. Resultados que difieren de los reportados por Fernández *et al.* (2003), quienes en un

estudio realizado en el Hospital Militar Central “Dr. Luís Díaz Soto” de Cuba, encontraron que el 39,80% de los casos de infección nosocomial eran ocasionados por *Proteus* spp.

En este estudio el mayor porcentaje de cepas nosocomiales se localizaron en el servicio de UCI (38,18%), esto, probablemente, se debe a que los pacientes reclusos en esta área, por sus condiciones biológicas o estados patológicos, tienen disminuidos sus mecanismos de defensa y están bajo constante amenaza de contraer infecciones (Spencer, 1999). Resultados similares fueron publicados por Pedroza (1999), en un estudio epidemiológico sobre infecciones nosocomiales realizado en el Hospital Universitario de Caracas, donde UCI fue el área en la que se localizó el mayor número de casos de infecciones nosocomiales (30,00%), a diferencia de los reportados por Pérez *et al.* (2003), quienes, en un estudio realizado en el Hospital San Jerónimo de Montería, Córdoba, encontraron la mayor tasa de infección nosocomial en el servicio de cirugía (21,05%).

Las principales especies bacterianas aisladas en el servicio de UCI fueron *E. aerogenes* y *P. aeruginosa*, resultados similares fueron publicados por Fajardo *et al.* (2004), quienes, en un estudio sobre bacterias aerobias y su resistencia antimicrobiana en la UCI del Hospital Universitario “Ángel Larralde” de Valencia, Venezuela, encontraron con mayor frecuencia a los géneros *Enterobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. (40,80% y 19,20%, respectivamente). Sin embargo, Rosenthal *et al.* (2003), en un estudio de vigilancia de la resistencia antimicrobiana en bacilos aeróbios Gram negativos en la UCI de Hospitales de Argentina, encontraron a *K. pneumoniae* como la bacteria más frecuente (24,00%).

En el presente estudio, los resultados de la prueba de susceptibilidad a los antibióticos en las enterobacterias mostró porcentajes de resistencia variables para las cefalosporinas de tercera generación (C3G), el 26,09% fue resistente a CTX y el 23,92% a CAZ, resultados similares a los obtenidos fueron publicados por Pérez *et al.* (2003), quienes reportaron 38,00% de resistencia a CTX y 40,00% a CAZ. Sin embargo, Fajardo *et al.* (2004), obtuvieron tasas de resistencia a C3G mayor al 50,00%, para CTX (81,90%) y CAZ (81,30%), además Torres *et al.* (2006), en un estudio de β -lactamasas de espectro expandido en enterobacterias aisladas en diferentes centros de salud de Caracas, Venezuela, obtuvieron un porcentaje de resistencia a C3G de un 91,10%. A pesar de que la resistencia antibiótica a las C3G en esta investigación fue similar a la reportada por otros autores, es importante señalar que hubo un 30,43% de susceptibilidad intermedia a CTX, lo cual podría llevar a un porcentaje de resistencia más elevado (Gail, 1996; Fajardo *et al.*, 2000; Pérez, *et al.* 2003). La emergencia de enterobacterias resistentes a C3G

se ha convertido en un problema de salud pública mundial, es por ello importante la detección de BLEE, sobre todo en bacterias Gram negativas de pacientes hospitalizados, especialmente los que se encuentran en UCI (Bradford, 2001; Villegas *et al.*, 2004).

En este estudio no hubo resistencia a imipenem en las enterobacterias y *P. aeruginosa*, resultados relacionados fueron publicados por Martínez *et al.* (2001), en un estudio realizado en un hospital de infectología, México, donde reportaron porcentajes de resistencia a imipenem del 1,00%, sin embargo difieren de los reportados por Rodríguez *et al.* (2003), quienes, en un estudio sobre resistencia a antibióticos en bacilos Gram negativos realizado en el Hospital José de San Martín, Buenos Aires, Argentina reportaron una resistencia del 68,00%. El imipenem es considerado el antibiótico de elección para las infecciones causadas por cepas productoras de BLEE, ya que es altamente resistente a la hidrólisis de éstas y la penetración a través de la membrana es excelente, debido a su compacto tamaño molecular; este debe ser considerado un antibiótico de reserva, principalmente, por su amplio espectro antimicrobiano, por otro lado, el tratamiento con éste no está exento de sus propias complicaciones ya que su uso indiscriminado puede conllevar a cambios en los patrones de sensibilidad de la población bacteriana, seleccionando así bacterias resistentes en pacientes que reciben carbapenemos como tratamiento antibiótico empírico. Se deben utilizar otras alternativas terapéuticas para el manejo de infecciones severas causadas por bacilos Gram negativos como el uso de cefepima o piperacilina tazobactam, más un aminoglucósido, en el paciente convencional y reservar carbapenemos para el individuo que se sabe tiene una cepa productora de BLEE o que ha recibido cefalosporinas previas y que, por lo tanto, el riesgo de tener un bacilo Gram negativo resistente es especialmente alto (Goldman *et al.*, 1996; Carmeli *et al.*, 1999).

Las cepas de *E. coli*, en el estudio de susceptibilidad, mostraron resistencias menor del 40,00% a las C3G, al respecto Briceño y Suárez (2006), encontraron resistencias en el orden de 17,40% a las C3G en *E. coli*, en un estudio sobre resistencia bacteriana realizado en el Hospital Universitario de los Andes, Mérida, Venezuela. Pero difieren de los reportados por Salazar *et al.* (2001), en una investigación sobre infección nosocomial realizada en un hospital de segundo nivel, México, donde encontraron que los aislados de *E. coli* presentaron elevados porcentajes de resistencia 95,39% frente a C3G.

Las cepas de *E. aerogenes* mostraron porcentajes de resistencia menor al 20,00% a las C3G, en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, datos que coinciden con los reportados por Martínez *et al.* (2001), quienes, en un estudio sobre infecciones nosocomiales en un hospital de tercer nivel, México, encontraron porcentajes de resistencia en aislados de *E. aerogenes* a las C3G correspondiente al 14,00%, sin embargo, difieren de los publicados por Bertona *et al.* (2005), en una investigación de caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia enzimática a las C3G en cepas de *Enterobacter* spp., realizado en el Hospital de Clínicas “José de San Martín”, Argentina, encontraron 55,56% de resistencia a estos antibióticos.

Las cepas pertenecientes a la especie *K. pneumoniae* mostraron mayor resistencia a las C3G, sin embargo esta no fue mayor del 50,00%. Resultados similares fueron reportados por Briceño y Suárez (2006), en un estudio sobre resistencia realizado en el Hospital Universitario de los Andes, Mérida, quienes encontraron resistencias por debajo del 50,00% a las C3G en *K. pneumoniae*. Álvarez *et al.* (2006), en un estudio sobre resistencia antimicrobiana realizado en Colombia, reportaron en aislados de *K. pneumoniae* resistencias a C3G de un 26,00%, sin embargo, difieren de los publicados por Garzón *et al.* (2004), en una investigación sobre BLEE, en el Hospital occidente de Kennedy, Bogotá, obtuvieron entre un 70,10% y 85,50% de resistencia bacteriana en *K. pneumoniae* a las C3G.

Los aislados de *P. mirabilis* en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos mostraron resistencia a C3G por debajo del 25,00%, resultados similares fueron publicados por Fajardo *et al.* (2000), en un estudio sobre resistencia en bacterias Gram negativas en la UCI del Hospital “Ángel Larralde”, Valencia, Venezuela, encontrando un 16,60% de resistencia a las C3G en cepas de *P. mirabilis*.

En este estudio, *P. aeruginosa*, presentó sólo resistencia a meropenem (22,22%) en la prueba de susceptibilidad a los antibióticos, resultados similares fueron publicados por Álvarez *et al.* (2006), quienes encontraron 23,90% de resistencia en *P. aeruginosa* a meropenem en una investigación sobre resistencia antimicrobiana realizado en la UCI de hospitales de tercer nivel en Bogotá, Colombia. Sin embargo difieren de los reportados por Ferrero *et al.* (2005) quienes encontraron una resistencia a meropenem del 75,00% en un estudio de incidencia y resistencia en BGNNF, realizado en el Hospital Escuela José F. de San Martín, Argentina.

Los resultados de la prueba de susceptibilidad a los antibióticos permitieron agrupar a los aislamientos en XVIII fenotipos, el expresado con mayor frecuencia por las cepas productoras de BLEE fue el XIV, este se caracterizó por presentar resistencia a las C3G, además hubo cepas con fenotipos clasificados como I, VI, VII y VIII con susceptibilidad intermedia y sensibilidad a las C3G y producción fenotípica de BLEE, esto pudo deberse a que existen diferencias en la actividad hidrolítica de determinadas BLEE sobre los sustratos, haciendo que algunas cepas productoras de éste mecanismo puedan parecer sensibles a estos antibióticos siendo en realidad resistentes, conduciendo así a fracasos terapéuticos en pacientes con microorganismos portadores de BLEE, aunque con un patrón *in vitro* de susceptibilidad intermedia, e incluso otros completamente sensibles a dichos antibióticos. De esta manera es importante acatar recomendaciones del CLSI sobre la investigación sistemática de la producción de BLEE, utilizando los puntos de corte específicos establecidos para ello (Quintialini *et al.*, 1999).

En este estudio, la resistencia a CTX en las cepas productoras de BLEE fue más alta en relación a CAZ, además es importante señalar que hubo un porcentaje considerable de cepas con susceptibilidad intermedia a CTX, por lo tanto la resistencia a esta cefalosporina pudiera estar más elevada, al respecto Alcatar *et al.* (2003), en un estudio sobre la alta frecuencia de *K. pneumoniae* nosocomial productora de β -lactamasa de espectro extendido en hospitales de México, encontraron que la mayoría de los aislamientos produjeron fuerte actividad sobre CTX; la mayor capacidad de hidrólisis a CTX por parte de las cepas productoras de BLEE, evidencia, que probablemente pudiera haber mayor cantidad de cepas con enzimas de tipo CTX-M, también se puede presumir de la presencia de enzimas de tipo SHV, para ello es importante realizar estudios moleculares que permitan demostrar la existencia del tipo de enzima que se encuentra en este centro hospitalario. Por otra parte, se evidenciaron cepas que mostraron actividad hidrolítica para ambos sustratos, pudiéndose tratar de cepas que de manera concomitante expresen diversos tipos de BLEE. La presencia de cepas con actividad de hidrólisis a CTX y CAZ desde el punto de vista epidemiológico, podría deberse a que, probablemente, en este centro hospitalario circulan y se transfieren este tipo de plásmidos, además, pudiera estar involucrado el hecho de que los pacientes hubieran recibido tratamiento antibiótico excesivo e indiscriminado con estas C3G y como consecuencia una presión selectiva alta de resistencia bacteriana a éstos antibióticos (Sirof, 1995; Rebuck *et al.*, 2000; Kollef y Fraser, 2001).

Se debe tomar en cuenta que aunque *in vitro* una cepa BLEE positiva, muestre sensibilidad hacia alguna C3G se debe reportar resistencia; esto se debe a las diferencias en la afinidad a los distintos sustratos que presentan las BLEE y a la diferente penetración de cada una de las C3G a través de la membrana externa bacteriana. La existencia de un fenotipo particular en una cepa productora de BLEE es de gran interés en la búsqueda o investigación de un tipo de BLEE, sin embargo, hay que tener siempre presente que, como alternativa terapéutica, al encontrarse una BLEE en una enterobacteria, se deben considerar como resistentes todos los antibióticos β -lactámicos excepto los carbapemos (Quintialini *et al.*, 1999; Swenson *et al.*, 1999; Tofteland, 2007).

En este estudio, se encontró una cepa resistente a CTX sin producción fenotípica de BLEE. Al respecto González *et al.* (2007), en un estudio de identificación fenotípica y molecular de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales de la ciudad de la Habana, Cuba, obtuvieron 109 aislados de *E. coli* y 15 de *K. pneumoniae* resistentes a C3G, pero no expresaron el fenotipo de BLEE. La resistencia a esta cefalosporina sin expresión fenotípica de BLEE en este estudio, pudo deberse a fallos en la técnica y no detectó la presencia de BLEE, o también, podría ser que esté presente junto a otras β -lactamasas que enmascaran el efecto del ácido clavulánico, como las β -lactamasas de Bush tipo I (AmpC, no inhibidas por ácido clavulánico) o éstos aislados presentan otros mecanismos de resistencia como la disminución de la permeabilidad de la membrana (Sánchez, 2004).

Los aislados de *P. aeruginosa* en este estudio no expresaron fenotípicamente BLEE, este resultado pudiera estar asociado a que en estos aislados, la resistencia a los antibióticos probados fue baja, o probablemente la técnica aplicada no permitió evidenciar este mecanismo ya que la detección de esta enzima en *P. aeruginosa* es difícil, sin embargo Martínez *et al.* (2003), en un estudio realizado en el Hospital San Jerónimo de Montería, Colombia, sobre determinación de β -lactamasas de espectro extendido en bacterias nosocomiales, obtuvieron 58 aislados de *P. aeruginosa* y 22 de ellos, representado el 38,00%, expresaron fenotípicamente BLEE.

En el presente trabajo se encontró que todos los aislados de *P. aeruginosa* designados con fenotipos XVI, XVII y XVIII, además 2 de las enterobacterias con fenotipo V expresaron AmpC inducido, resultados similares fueron publicados por Gómez *et al.* (2007), quienes en un estudio sobre

mecanismos de resistencia realizado en el Hospital Universitario Miguel Orea, Portuguesa, Venezuela, encontraron que el 100,00% de los aislados de *P. aeruginosa* expresaron fenotipo de AmpC inducido, al igual que 22,20% de las cepas de enterobacterias. *P. aeruginosa* y algunas enterobacterias presentan β -lactamasa de tipo AmpC de manera constitutiva que se expresan a niveles basales o reducidos, la síntesis de esta enzima puede inducirse por ciertos β -lactámicos como cefoxitina e imipenem y la cantidad de enzima se relaciona con la cantidad de antibiótico al medio, o puede estar elevada e hiperproducida en forma permanente debido a modificaciones genéticas. De acuerdo a estudios realizados aparecen mutantes desreprimidas o hiperproducidas en un 7,00% mientras que un 40,00% expresan AmpC inducibles (Lindberg y Normark, 1986; Livermore, 1987; Harris *et al.*, 1999; Hanson, 2003; Juan *et al.*, 2005).

Los aislados de *P. aeruginosa* que presentaron resistencia al meropenem en el estudio de susceptibilidad a los antibióticos, no expresaron fenotípicamente la producción de metalo β -lactamasas. Según Livermore (2001), la resistencia sólo a meropenem está frecuentemente asociada a la hiperproducción del sistema de eflujo constitutivo MexA-MexB-OprM. El estudio de los mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* es importante para una buena aproximación terapéutica, ya que no siempre se expresan fenotípicamente, existiendo la posibilidad de que, *in vivo*, el tratamiento con betalactámicos o carbapenemos suponga un fracaso terapéutico (Sánchez *et al.*, 2004). Estudios realizados en hospitales europeos reportan porcentajes de metalo β -lactamasas en *P. aeruginosa* del 1,00% al 20,00% (Lagatolla y Tonin, 2004; Luzarro *et al.*, 2004). De igual forma, Torres *et al.* (2007), en un estudio sobre detección fenotípica de metalo β -lactamasas en bacilos Gram negativos provenientes de centros hospitalarios de Caracas, Venezuela, encontraron un 37,80% de cepas portadoras de estas enzimas. La expresión de metalo- β -lactamasas en aislamientos clínicos hasta el momento se ha mantenido en niveles no comparables con la expresión de BLEE. Es probable que la limitada diseminación de las metalo- β -lactamasas expresadas en diferentes especies bacterianas se deba a que los genes que codifican para estas enzimas se encuentran en elementos genéticos que carecen de la maquinaria necesaria para promover la transferencia horizontal de estos genes a la mayor parte de los patógenos bacterianos (Hirakata *et al.*, 2006)

El porcentaje de enterobacterias productoras de BLEE, en este estudio, fue del 58,70%. Al respecto Hernández *et al.* (2003), en un estudio sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras

de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles, reportaron un 68,00%, sin embargo Sandrea *et al.* (2007), reportaron un 39,48% de enterobacterias productoras de BLEE, en un estudio realizado en el Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela.

E. aerogenes fue el microorganismo con mayor producción de BLEE (29,63%), Pai *et al.*, (2004), en una investigación realizada, informaron un aumento en la producción de BLEE en *Enterobacter* spp. Al respecto, Martínez *et al.* (2003), en un estudio sobre determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo de Montería, Colombia, el mayor porcentaje de producción de BLEE se presentó en *Enterobacter* spp. (18,61%), de igual manera, Senmache *et al.* (2007), en un estudio sobre enterobacterias productoras de BLEE realizado en el Hospital Universitario Ruiz y Páez, estado Bolívar, Venezuela, encontraron a *E. aerogenes* ocupando el segundo lugar (15,80%) del total de aislamientos de enterobacterias que expresaron esta enzima, además, Gómez *et al.* (2007), en una investigación realizada sobre mecanismos de resistencia, en el estado Portuguesa, Venezuela, encontraron a esta bacteria en el tercer lugar como productor de BLEE (2,10%).

El género *Enterobacter* expresa β -lactamasa cromosomal AmpC confiriéndole resistencia natural a antibióticos β -lactámicos como la ampicilina, amoxicilina y a las cefalosporinas de primera generación (Livermore, 1995), la detección de BLEE en este género puede verse afectada por la interferencia que genera la hiperproducción de AmpC y por este motivo, las BLEE pueden pasar desapercibidas, este fenómeno causa inconvenientes desde la perspectiva de la elección de la terapia y también desde el punto de vista epidemiológico, puesto que este microorganismo puede funcionar como reservorio de BLEE para otras especies (Gottlieb y Wolfson, 2000; Naumiuk *et al.*, 2001; Cantón *et al.*, 2002).

La detección de BLEE en *Enterobacter* spp. hiperproductor de AmpC es importante porque permitiría controlar o descartar el uso de cefepima como antibiótico de elección, ya que estas enzimas (BLEE), generalmente, están codificadas en plásmidos, lo cual implicaría la posible transferencia horizontal de la resistencia, entre cepas o entre diferentes especies a β -lactámicos de amplio espectro y la co-resistencia a otros antibióticos codificados en estos plásmidos. Generalmente, la co-resistencia en aislados productores de BLEE se da en aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Weuwirth *et al.*, 1996; Gottlieb y Wolfson, 2000; Aibinu *et al.*, 2003).

E. coli fue la bacteria que ocupó el segundo lugar en la producción fenotípica de BLEE (25,93%). Resultados similares fueron publicados por Muzachiodi y Ferrero (2005), en un estudio sobre enterobacterias productoras de BLEE en el Hospital “José Francisco de San Martín” Argentina, encontraron en su investigación a *E. coli* como el segundo microorganismo productor de BLEE (19,40%), sin embargo, Mattar y Martínez (2003), en un estudio sobre determinación de β -lactamasa de espectro extendido en bacterias nosocomiales en el Hospital San Jerónimo de Montería, Colombia, encontró a *E. coli* ocupando el cuarto lugar entre las enterobacterias productoras de BLEE con un 20,50%.

K. pneumoniae se ubicó en tercer lugar como productor de BLEE (22,22%), este resultado coincidió con los reportados en Argentina por Muzachiodi y Ferrero (2005), quienes encontraron a *K. pneumoniae* como tercer productor de BLEE (17,30%), a diferencia de los reportados por Torres *et al.* (2005), en un estudio sobre detección de BLEE en cepas de enterobacterias en diferentes centros hospitalarios del área metropolitana de Caracas, Venezuela, quienes hallaron a *K. pneumoniae* como principal productor de BLEE encontrándose en un 62,20%. También, García (2007), en un estudio sobre detección fenotípica de β -lactamasas producidas por bacterias nosocomiales en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Venezuela, encontró a *K. pneumoniae* como principal enterobacteria productora de BLEE representando un 54,28%.

La UCI además de haber sido el servicio donde se encontró la mayor cantidad de cepas productoras de infecciones nosocomiales, representó, además, el área de mayor prevalencia de cepas productoras de BLEE (40,74%), de igual manera, Navarro *et al.* (2005), en un estudio sobre detección de cepas productoras de BLEE en el Hospital Infantil del estado de Sonora, México, reportaron que el mayor porcentaje de cepas productoras de BLEE fueron aisladas de UCI (38,00%), lo cual es igualmente comparable a datos reportados por otros autores (Sifuentes, 2000; Villegas *et al.*, 2004), sin embargo, difieren de los resultados publicados por Muzachiodi y Ferrero (2005), encontraron el mayor porcentaje de BLEE en el servicio de medicina clínica (50,00%). El hecho de que la UCI constituyera el área donde se aislaron la mayor cantidad de cepas productoras de BLEE, indica que el problema de resistencia bacteriana se localiza en áreas críticas, esto se asocia al tiempo prolongado de hospitalización, el uso de múltiples antibióticos particularmente la C3G (Sifuentes, 2000; Menashe *et al.*, 2001).

Las C3G son una buena opción terapéutica en ciertas circunstancias clínicas, pero su uso indiscriminado es capaz de seleccionar cepas productoras de BLEE, en este caso los carbapenemos son considerados los antibióticos de elección, ya que su uso ha producido un descenso en la frecuencia de estas cepas, esto obedece al hecho de que dichas enzimas no afectan la estructura química de estos antibióticos (Sanders y Sanders 1992; Prada, 2002; Cunha, 2002; Wong *et al.*, 2002).

Es importante la detección continua en este recinto hospitalario de mecanismos de resistencia, especialmente de enzimas β -lactamasas, ya que los genes que codifican a estas enzimas son los responsables de la resistencia a diversos antibióticos principalmente β -lactámicos, además es importante la buena administración de estos, especialmente, carbapenemos, ya que su abuso genera la selección de microorganismos multirresistentes, limitando así la elección de esquemas terapéuticos para el tratamiento de infecciones agudas, amenazando la vida del paciente. Debido a esto, conocer la epidemiología y realizar el monitoreo de cepas productoras de β -lactamasas en este hospital es primordial, ya que, ayudará a la predicción de fenotipos de resistencia relacionados con estos mecanismos y contribuir así al conocimiento sobre la evolución de estas enzimas.

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran un porcentaje significativo (58,70%), de la presencia de BLEE en este centro hospitalario, principalmente en la UCI, indicando así que el problema de resistencia bacteriana se localiza en áreas críticas, probablemente esto se debe, al uso excesivo de β -lactámicos de amplio espectro, que ocasionan un riesgo alto para la selección de microorganismos productores de BLEE.

Hubo expresión de AmpC de tipo inducido en dos de las enterobacterias, y en todas las cepas de *P. aeruginosa*, es importante la detección de este tipo de enzima, principalmente, cuando hay hiperproducción, de esta manera si se tratara del único mecanismo de resistencia en los aislamientos, el cefepima podría ser la alternativa terapéutica para el tratamiento de estas infecciones.

No hubo expresión fenotípica de BLEE ni de metalo- β -lactamasas en *P. aeruginosa*, sin embargo la detección continua de mecanismos de resistencia en esta especie bacteriana es importante, debido, a que presenta una elevada capacidad para adquirir nuevas formas de resistencia, ya sea por mutaciones o adquisición de genes de resistencia.

RECOMENDACIONES

Promover y mantener un control epidemiológico de las infecciones nosocomiales por parte del personal de salud, resaltar las precauciones de asepsia y antisepsia, implementando medidas de esterilización de materiales quirúrgicos, uso de desinfectantes, lavado de manos antes y después del contacto con los pacientes, además de un correcto aislamiento de los mismos, descontaminación de las habitaciones y del equipamiento contenido en ellas después del cambio de un paciente son actividades periódicas de gran utilidad para la eliminación de reservorios.

Mantener estudios de vigilancia de susceptibilidad en las áreas críticas del hospital, además de realizar políticas adecuadas que regulen el uso indiscriminado de antibióticos β -lactámicos de amplio espectro para el tratamiento de enterobacterias, ya que se puede evitar la diseminación de microorganismos con producción de mecanismos de resistencia en el ambiente hospitalario. Este proceso de vigilancia se debe hacer extensivo al programa de uso racionado de antibióticos, ya que la epidemiología de la resistencia bacteriana intrahospitalaria está regida por esta medida.

La identificación de fenotipos de resistencia bacteriana es fundamental en el laboratorio, ya que el tipo de reporte y la conducta a seguir ante la presencia de cada una de las bacterias es diferente en cada caso, es por ello, que el laboratorio juega un papel muy importante, al reportar casos de resistencia bacteriana que se presentan contra los antibióticos, permitiendo así la detección precoz de cepas resistentes, que puedan controlarse con el uso oportuno del antibiótico apropiado..

Realizar estudios moleculares que permitan la detección del tipo de β -lactamasa presente en el centro hospitalario.

BIBLIOGRAFÍA

Acar, J. y Goldstein, F. 1998. Consequences of increasing resistance to antimicrobial agents. *Clin. Infect. Dis.*, 27(S): 125-130.

Aibinu, I.; Ohaegbulam, V.; Adenipekun, E.; Ogunsola, F. y Odugbemi, T. 2003. Extended spectrum β -lactamase enzymes in clinical isolates of *Enterobacter* species from Lagos, Nigeris. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 2197:2200.

Alonso, G.; Narváez, P.; Gomes, C.; Pedroza, R. y Rodríguez, V. 2001. Caracterización de plásmidos de bacterias procedentes de diferentes ambientes de Venezuela. *Memor. Biol. Expe.*, 3: 93-94.

Alcatar, M.; Daza, C.; Tinoco, J.; Rodríguez, E. y Miranda, G. 2003. Alta frecuencia de *Klebsiella pneumoniae* nosocomiales productores de β -lactamasas de espectro extendido en instituciones mexicanas asociada a diseminación clonal y horizontal de plásmidos conjugativos. Resumen IX Congreso Panamericano de Infectología. Córdoba, Argentina.

Álvarez, C.; Cortés, J.; Arango, A.; Correa, C. y Leal, A. 2006. Resistencia antimicrobiana en Unidades de Cuidados Intensivos de Bogotá, Colombia. *Rev. Salud. Pub.*, 8(1): 86-101.

Ambler, R. 1980. Structure of betalactamases. *Phil Trans. Rev. Soc. Lond. Biol. Sci.*, 289: 321-331.

Ballesteros, D.; Rebollo, R.; Gutiérrez, R.; Aguilera, T.; Zubillaga, G. y Martín, B. 2006. Infección nosocomial y del sitio quirúrgico en un hospital de tercer nivel (2002-2005). *Actas. Urol. Esp.*, 30(9): 905-912.

Barrier, S. 2000. Bacterial resistance to betalactams, and its prevention with combination antimicrobial therapy. *Pharmac.*, 12(5): 397-402.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Pathol.*, 45: 493-496.

Bertona, E.; Radice, M.; Rodriguez, H.; Barberis, C.; Vay, C.; Famiglietti, A. y Gutking, G. 2005. Caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia enzimática a las cefalosporinas de tercera generación en *Enterobacter* spp. *Rev. Arg. Microbiol.*, 37: 203-208.

Black, J.; Thomson, K. y Pitout, J. 2004. Use of Beta Lactamase inhibitors in disk tests to detect plasmid-mediated AmpC Beta lactamases. *Jour. Of. Clinic. Microbiol.*, 42(5): 2203-2206.

Black, J.; Moland, E. y Thomson, K. 2005. AmpC disk test for detection of plasmid – mediated AmpC β -lactamases in *Enterobacteriaceae* lacking chromosomal AmpC β -lactamases. *Jour. Of. Clinic. Microbiol.*, 43(7): 3110-3113.

Bradford, P.; Urban, C.; Mariano, N.; Projan, S.; Rahal, J. y Bush, K. 1997. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 41: 563-569.

Bradford, P. 2001. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Rev. Clinic. Microbiol.*, 14: 935-51.

Briceño, I. y Suárez, M. 2006. Resistencia bacteriana en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario de los Andes, Mérida, Venezuela. *Medicrit.*, 3(2): 30-42.

Bush, K.; Jacoby, G. y Medeiros, A. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 39: 1211-1233

Bush, K. 1996. Is it important to identify extended – spectrum betalactamases – producing insulates?. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 15: 361-364.

Cantón, R.; Oliver, A.; Coque, T.; Varela, M. y Pérez, J. 2002. Epidemiology of extended spectrum betalactamase-producing *Enterobacter* isolates in a spanish hospital during a 12 – year period. *J. Clin. Microbiol.*, 40: 1232-43.

Carmeli, Y.; Troillet, N.; Eliopoulos, G. y Samore, M. 1999. Emergence of antibiotic – resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 43: 1379-1382.

Carmona, O.; Guzmán, M.; Silva, H.; Pulido, S. y GVRB. 1992. Vigilancia de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela. Cuarto Informe. *Bol. Soc. Ven. Microbio.*, 12: 11-22.

Centro Venezolano de colecciones de Microorganismos (CVCVM). 2000. Laboratorio nacional de apoyo al investigador. CONICIT. Catálogo CVCVM 2000. 4ª edición. Ediciones CVCVM®. Caracas, Venezuela.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Antimicrobial susceptibility testing. 25(1): 1-67.

Coque, T.; Oliver, A.; Pérez, J.; Baquero, F. y Cantón, R. 2002. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum β -lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46: 500-510.

Cordero, D.; García, A.; Barreal, R.; Jiménez, J. y Rojas, N. 2002. Comportamiento de la infección nosocomial en las unidades de terapia en un periodo de 5 años. *Rev. Cub. Hig. Epidemiol.*, 40: 79.

Cornejo, P.; Velásquez, C.; Díaz, A. y Volkow, P. 2005. Trend of antimicrobial drug-susceptibility of blood isolates at an oncological center (1998-2003). *Salud. Pú. Méx.*, 47(4): 288-293.

Cortesía, M.; Cáceres, A. y Pineda, M. 2000. *Sociedad Venezolana de Infectología. Consenso de expertos: estrategias de control del uso de antimicrobianos en los hospitales*. Barquisimeto. Venezuela.

Crespo, M. 2002. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colomb. Méd.*, 33: 179-180.

Cunha, B. 2002. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapy. *Respir. Infect.*, 17(3): 231-239

Davies, J. 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science.*, 264: 375-382.

Davies, J. 1996. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol.*, 12: 9-16.

De la Parte, M.; Brito, A.; Guzmán, M.; Carmona, O. y Grupo venezolano de vigilancia de la resistencia bacteriana. 2001. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. Análisis de una década. *Rev. Soc. Ven. Microb.*, 21: 15-21.

Díaz, R. 2006. Principales microorganismos causantes de infecciones nosocomiales. *Rev Lab de Micro.*, 48(2): 105-112.

Fajardo, A.; Colombet, M.; Herrera, J. y Miranda, Z. 2000. Resistencia antimicrobiana de bacterias gram-negativas en la UCI. *Med. Crit. Ven.*, 16: 22-25.

Fajardo, A.; Núñez, A.; Medina, M. y Miranda, M. 2004. Prevalencia de bacterias aerobias y su resistencia antimicrobiana en la Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Universitario “Ángel Larralde”, Valencia, Venezuela. *Salus online.*, 8(2): 6-13.

Fernández, F.; López, J. y Ponce, L. 2003. Resistencia bacteriana. *Rev. Cub. Med. Mili.*, 32: 6548-6557.

Ferrero, S. 2005. Incidencia y resistencia de bacilos Gram negativos no fermentadores. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioquímica, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

Fierer, J. y Guiney, D. 1999. Extended – spectrum – lactamases “A plague of plasmids”. *Jam.*, 281: 563.

Flournoy, D.; Reinert, R.; Bell-Dixon, C. y Gentry, C. 2000. Increasing antimicrobial resistance in gram-negative bacilli isolated from patients in intensive care units. *Am. J. Infect. Control.*, 288: 244-250.

Gail, I. 1996. Antimicrobial resistance among aerobic gram negative recovered from patients in intensive care units. *Infec. Dis.*, 23: 779-784.

García, J. 2007. Detección Fenotípica de β -lactamasas de espectro expandido tipo 2be producidas por enterobacterias nosocomiales aisladas en el servicio autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Girlich, D.; Poirel, L.; Leelaporn, A., Karin, A.; Tribuddharat, C. y Fennewald, M. 2001. Molecular epidemiology of the integron – located VEB – 1 extended spectrum β – lactamases in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. *Clin. Microbiol.*, 39: 175-182.

Gold, H. y Moellering, R. 1996. Antimicrobial drug resistance. *N. Engl. J. Med.*, 335: 1445-1453.

Goldman, D.; Weintin, R.; Wenzel, R.; Tublan, O.; Duma, R. y Gaynes, R. 1996. Strategies to prevent and control the emergente and spread of antimicrobial resistant microorganisms in hospitals. A challenge to hospital leadership. *Clin. Infect. Dis.*, 275: 234-240.

Gómez, A.; Maurera, T. y Rosales, D. 2007. Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos en el Hospital Universitario Dr Miguel Oraá de Guanare, Estado Portuguesa, Venezuela. *Rev. Med. Extens. Portugu.*, 1(3): 107-115.

González, L.; Ramos, A.; Nadal, L.; Morffi, J.; Robledo, E.; Álvarez, Berta.; Marchena, Juan.; González. y Vallín, C. 2007. Identificación fenotípica y molecular de β -lactamasas de espectro extendido TEM y SHV producidas por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. aislados clínicos de hospitales. *Rev. Cub. Méd. Trop.*, 59(1).

Gottlieb, T. y Wolfson, C. 2000. Comparison of the MICs of cefepime for extended - spectrum β -lactamase - producing and non - extended spectrum β -lactamase producing strains of *Enterobacter cloacae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 46: 330-331.

Guzmán, M.; Alonso, G. y Rodríguez, V. 2004. Resistencia antimicrobiana en cepas nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae*. En: <http://congresomicrobiología.ucv.ve>. (14/03/2005).

Hanson, N. 2003. AmpC β -lactamasas: What do we need to know for the future. *Journal. of Antimicrob. Chemother.*, 52(1): 2-4.

Harris, A. y Torres C. 1999. Epidemiology and clinical outcomes of patients with multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Infect. Dis.*, 28: 1128-1133.

Hernández, J.; Pascual, A.; Cantón, R. y Martínez, L. 2003. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles. *Enfer. Infecc. Microbiol. Clin.*, 21: 77-82.

Hirakata, Y.; Izumikawa, K.; Yamaguchi, T.; Takemura, H.; Tanaka, H. y Yoshida, R. 2006. Rapid detection and evaluation of clinical characteristics of emerging multiple-drug-resistant gram-negative rods carrying the metallo- β -lactamase gene blaIMP. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 42: 2006-2011.

Hunter, P. y Reeves, D. 2002. The current status of surveillance of resistance to antimicrobial agents: *J. Antimicrob. Chemother.*, 49: 17-23.

Itokazu, G.; Quinn, J.; Bell, C.; Kahan, F. y Weintwin, R. 1996. Antimicrobial resistance rates among aerobic gram-negative bacilli recovered from patients in intensive care units: evaluation of a national postmarketing surveillance program. *Clin. Infect. Dis.*, 23: 779-784.

Izquierdo, F.; Zambrano, A.; Bastazuri M. y Malpica, J. 2006. Prevalencia nacional de infecciones nosocomiales, Cuba. *Rev. Panam. Infecc.*, 8(1): 39-44.

Jiménez, R. 2000. *Bioestadística. Métodos Estadísticos Descriptivos*. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.

Juan, C.; Maciá, M. y Gutiérrez, O. 2005. Molecular mechanisms of β -lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 49: 4733-4738.

Kobayashi y Takahashi. 1982. Difusión of - lactam antibiotics through liposome membranas containing purified porins. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 22: 775.

Kollef, M. y Fraser, V. 2001. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann. Intern. Med.*, 134: 298-314.

Koneman, E.; Allen, S; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 1999. Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas a color. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Lagatolla, C. y Tonin, E. 2004. Endemic carbapenem resistance *P. aeruginosa* acquired metallo-beta lactamase determinants in European Hospital. *Emerg. Infect. Dis.*, 10: 535-538.

Lee, K.; Chong Y.; Shin H.; Kim Y.; Yong D. y Yum J. 2001. Modified Hodge and EDTA-disk synergy test to screen metallo β -lactamase producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinic. Microbiol. Infect.*, 7: 88-91.

León, E. 1996. Resistencia bacteriana a los antibióticos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital de Caldas, 1992-1994. *Colomb. Méd.*, 27: 68.

Levy, S. 1998. Multidrug resistance – a sign of the times. *N. Engl. J. Med.*, 338: 1376-1378.

Lindberg, F. y Normark, S. 1986. Contribution of chromosomal betalactamases to betalactam resistance in enterobacteria. *Rev Infec. Dis.*, 8(3): 292-304.

Livermore, D. 1987. Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in Gram negative rods. *Jour. Clinic. Microbiol.*, 6: 439-445.

Livermore, D. 1995. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Rev. Clin. Microbiol.*, 8: 557-584.

Livermore, D. 2001. Of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. *J. Antimicrob. Chemother.*, 47: 247-50.

Luna, C.; Gherardi, C.; Famiglietti, A y Vay, C. 2001. Resistencia bacteriana y antibioticoterapia en medicina y terapia intensiva. *Med.*, 61: 605.

Luzarro, F.; Endiamiani, A. y Doquier, J. 2004. Prevalence and characterization of metallo - β -lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, 48: 131-135.

Llop, H. 2001. *Microbiología y parasitología médica*. Tercera edición. Ecimed. Habana. Cuba.

Madigan, M.; Martinko, J. y Parker, J. 2000. *Brock Biology of microorganisms*. Novena edición. Prentice Hall. USA.

Mandell, D. 2000. *Principles and Practice of infectious Diseases*. Quinta edición. Churchill. Livingstone.

Mattar, S. y Martínez, P. 2003. Investigación de enfermedades tropicales y resistencia bacteriana. *Rev. Colomb. Med.*, 34(4): 130-139.

Marín, M. y Gudiol, F. 2003. Antibióticos betalactámicos. *Enf. Infec. Microb. Clin.*, 21(1): 42-55.

Martín, G. 2002. Resistencia bacteriana a β -lactámicos: Evolución y mecanismos. *AVFT.*, 21(1): 107-116.

Martínez, H.; Anaya, V. y Gorbea, M. 2001. Infecciones nosocomiales en un servicio de pediatría de un hospital de tercer nivel. *Rev. Méx. De Ped.*, 68(2): 56-65.

Martínez, P.; Máximo, M. y Salim, M. 2003. Determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. *Colomb. Med.*, 34: 196-205.

Medeiros, A. 1997. Recent increases in resistance: mechanisms and organisms: Evolution and dissemination of b-lactamases accelerated by generations of b-lactam *Antibiot. Clin. Infect. Dis.*, 24(S): 19-45.

Menashe, G.; Bour, A.; Yaposky, P.; Peled, N.; Gilad, J. y Fraser, D. 2001. Clinical significance and impact on mortality of extended-spectrum beta lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in nosocomial bacteremia. *Scand. J. Infect. Dis.*, 33(3): 188-93.

Millar, G.; Sabatelli, F.; Hare, R.; Glupezynski, N.; Mackey, P. y Sales, D. 1997. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms – changes with time and geographic area: A reflection of aminoglycoside usage patterns. *Clin infect. Dis.*, 24(1): 46-62.

Murray, P.; Kobayashi, G.; Pfalle, M. y Rosenthal, K. 1999. *Microbiología Médica*. Segunda Edición. Harcourt Brace. USA.

Muzachiodi, M. y Ferrero, S. 2005. Incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en el Hospital escuela José F. de San Martín. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioquímica. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

Nasim, K.; Elsayed, S.; Pitout, J.; Conly, J.; Church, D. y Gregson, D. 2004. New method for laboratory detection of AmpC beta lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal. Clinic. Microbiol.*, 42(10): 4799-4802.

Naumiuk L.; Famet, A. y Dziemaszkieniez, E. 2001. Cefepime *in vitro* activity against derepressed extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing and non ESBL-producing *Enterobacter cloacae* by a disc diffusion method. *J. Antimicrob. Chemother.*, 48: 321-322.

Navarro, M.; Moreno, B.; López, B.; Frago, M. y Sánchez, J. 2005. Detección de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLLE) en el Hospital infantil del Estado de Sonora, México. *Bol. Clin. Hosp. Infant.*, 22(2): 64-70.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2006. Promoviendo la salud en las Américas. Farmacorresistencia a los antimicrobianos: Panorama regional, datos por microorganismos y país. <http://www.paho.org/HCP/HCT/EER/antimicrob-htm#enteropatógenos>. (10/02/2006).

Ortiz, V. 2005. "El hospital como núcleo de las infecciones". "Academia Biomédica Digital". <<http://caibco.ucv.ve>> (10/02/2006).

Pai, H.; Hong, J.; Vellón, J.; Kim, Y. y Lee, H. 2004. High prevalence of extended spectrum β -lactamase – producing strains among blood isolates of *Enterobacter* spp. Collected in a tertiary hospital during an 8 year period and their antimicrobial susceptibility patterns. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 48: 3159-61.

Paterson, D. y Bonomo, R. 2005. Extended – spectrum betalactamases: a clinical update. *Rev. Clin. Microb.*, 18: 657-686.

Pedroza, R. 1999. Epidemiología de la resistencia plasmídica a amikacina y otros aminoglucósidos en enterobacterias en el Hospital Universitario de Caracas. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Pérez, D.; Mattar, S. y Mercado, M. 2003. Alta resistencia de los microorganismos nosocomiales en el Hospital San Jerónimo de Montería. *Univ. Med.*, 44(3): 131-137.

Pitout, J.; Reisbig, M.; Venter, E.; Church, D. y Hanson, N. 2003. Modification of the double-disk test for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum and AmpC β -lactamases. *Journal. Clinic. Microbiol.*, 41(8): 3933-3935.

Pitout, J.; Hossain, A. y Hanson, N. 2004. Phenotypic and molecular detection of CTX-M β -lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Journal. Clinic. Microbiol.*, 42(12): 5715-5721.

Pitout, J.; Gregson, D.; Poirel, L.; McClure, J.; Le, P. y Church, D. 2005. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo beta lactamases in a large centralized laboratory. *Journal. Clinic. Microbiol.*, 43(7): 3129-3135.

Poirel, L. y Nordmann, P. 2002. Acquired carbapenem-hydrolyzing beta lactamases and their genetic support. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 33: 117-127.

Prada, G. 2002. β -lactamasas de espectro extendido: Perspectivas y tratamiento. *Rev. Panam. Infect.*, 5: 41-46.

Quintalini, R.; Sahn, D. y Courvalin, P. 1999. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. *Manual. of Clin. Microbiol.*, 7: 1505-1525.

Rangel, 2002. La epidemiología cambiante de las infecciones en el hospital. *Rev. Enf. Infecc. Micro.*, 22: 51-54.

Rebuck, J.; Keith, M. y Paul, D. 2000. Characterization of an outbreak due to extended – spectrum β -lactamase – producing *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric intensive care unit transplant population. *Clin. Infect. Dis.*, 31: 1368-1372.

Rodríguez, V.; Pedroza R.; y Alonso, G. 1998. Multirresistencia a agentes antimicrobianos mediada por plásmidos del complejo de incompatibilidad H. *Mem. Inst. Biol. Exp.*, 1: 70.

Rodríguez, C.; Juárez, J.; De Mier, C.; Pugliese, L.; Blanco, G.; Vay, C. y Famiglietti, A. 2003. Resistencia a antibióticos de bacilos Gram negativos aislados en Unidades de Cuidados Intensivos. Análisis comparativo en dos periodos (1998-2001). *Med.*, 63: 21-27.

Ronald, J. 2001. Resistance patterns among nosocomial pathogens: Trends over the past few years. *Chest.*, 119(2): 397-404.

Rosenthal, V.; Guzmán, S.; Dainese, N.; Matera, J.; Fernández, N.; Salinas, A.; De Souza. y Saldar N. 2003. Comparison of antimicrobial resistance among aerobic Gram negative bacilli in Intensive Care Units and now Intensive care Units in Argentina. 2003. *Rev. Research.*, 17.

Salazar, H.; Mireles, M.; Díaz, M. y Bustamante, L. 2001. Infecciones nosocomiales en un hospital de segundo nivel. México. IMSS. *Rev. Med.*, 40(1): 43-51.

Salazar, T.; Morejor, D.; Díaz, T.; Ayala, J.; López, M. y Castillo, B. 2006. Gérmenes nosocomiales más frecuentes en la Unidad de Terapia Intensiva. *Rev. Cub. Med.*, 5(1).

Sánchez, M. 1992. *Manual de procedimientos en bacteriología clínica*. Editorial Presencia. Colombia.

Sánchez, A. 2004. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). *Rev. Elec. Med. Intens.*, 4(8): 1-16.

Sanders, C. y Sanders, W. 1992. β -lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clin. Infect. Dis.*, 15: 824-839.

Sandrea, L.; Paz, A.; Piña, E. y Perozo, A. 2007. Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario de Venezuela. *Rev. Kasmera.*, 35: (1).

Senmache, L.; Guevara, A.; Salomon, M.; Díaz, R.; Pinto, J.; Ápice, M. y Pérez, J. 2007. Resistencia a los antimicrobianos en enterobacterias productoras de BLEE aisladas de hemocultivos, en el complejo Hospital Universitario Ruiz y Páez ciudad Bolívar, Estado Bolívar. Enero-Diciembre 2006. "XIV Congreso de la Sociedad Venezolana de Medicina Intena". <<http://www.svmicongreso.org>> (25/05/2008).

Sifuentes, J. 2000. ESBL in Latin America: Their clinical repercussion. *Infec. Dis. in Clinic Pract.*, 10-2.

Siro, D. 1995. Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. *Journal. of Antimicrobial. Chemother.*, 36: 19-34.

Stelling, J. y O' Brian, T. 1997. Surveillance of Antimicrobial Resistance: The WHO Net Program. *Clin. Infect. Dis.*, 24: 157-168.

Spencer, R. 1999. Nosocomial infections in the intensive care unit. A question of surveillance. *Int. Care. Med.*, 10: 173-175.

Swenson, J.; Hindler, A. y Paterson, L. 1999. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. *Manual. for Clinic. Microbiol.*, 7: 1563-1577.

Toltzis, P.; Dul, M.; Hoyen, C.; Salvator, A.; Walsh, M.; Zetts, L. y Toltzis, H. 2001. Molecular epidemiology of antibiotic-resistant gram-negative bacilli in a neonatal intensive care unit during a nonoutbreak period. *Pediatrics.*, 108(5): 1143-1118.

Torres, L.; Benítez, M.; Domínguez, M.; Torres, O.; Gagliotta, V.; Calvo, A.; Rodríguez, N.; Ardila, J. y Pedroza, R. 2005. Detección de integrones clase I en cepas de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro expandido tipo SHV y CTX-M grupo-2. *Vitae. Acad. Biom. Dig.*, 25.

Torres, L.; Gagliotta, V.; Torres, O.; Benítez, M.; Domínguez, M. y Pedroza, R. 2006. β - lactamasas de espectro expandido en enterobacterias aisladas en centros de salud de Caracas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 26(2): 190-205.

Torres, L.; González, A.; Sanoja, Y.; Calvo, A.; Rodríguez, N.; Chalbaud, V.; Carias, C.; Aguilar, F.; Peña, C.; Bolívar, A.; Pedroza, R. y Castillo, N. 2007. "Detección fenotípica de metalo - B - lactamasas en bacilos Gram negativos resistentes a carbapenemes". "Academia Biomédica Digital". <<http://caibco.ucv.ve>> (16/02/2008).

Turner, P. 2000. Meropenem uearly susceptibility test información colletion: a global overview. *J. Antimicrob. Chemother.*, 46: 9-23.

Villegas, M.; Correa, A.; Pérez, F.; Miranda, M.; Zuluaga, T. y Quinn, J. 2004. CTX-M-12 β -lactamase, in Colombia. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 48(3): 629-31.

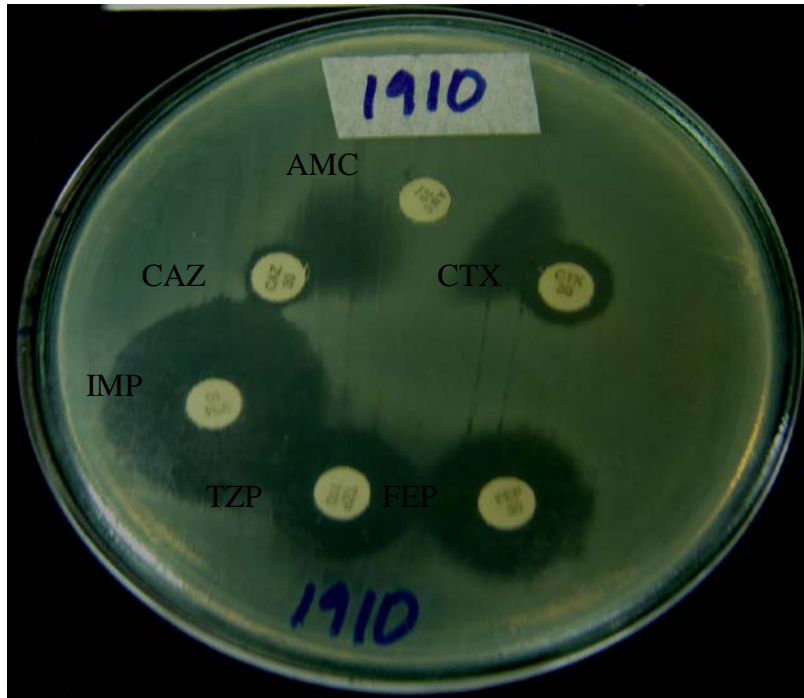
Weinstein, R.; Wense, R.; Tunblan, O.; Duma, R. y Gaynes, R. 1996. Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial resistant microorganisms in hospitals a challenge to hospital leadership. *Jama.*, 275: 234-240.

Weuwirth, C.; Siebor, E.; López, J.; Pechinot, A. y Kazmierzak, A. 1996. Outbreak of TEM-24-producing *Enterobacter aerogenes* in ha intensive care init and dissemination of the extended-spectrum- β -lactamase to other members of the family *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.*, 34: 76-79.

Winokur, P.; Canton, R.; Casella, I. y Legakis, N. 2001. Variations in the prevalence of strains expressing and extended - spectrum β - lactamasas phenotype of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific Region. *Clin. Infec. Dis.*, 32: 94-103.

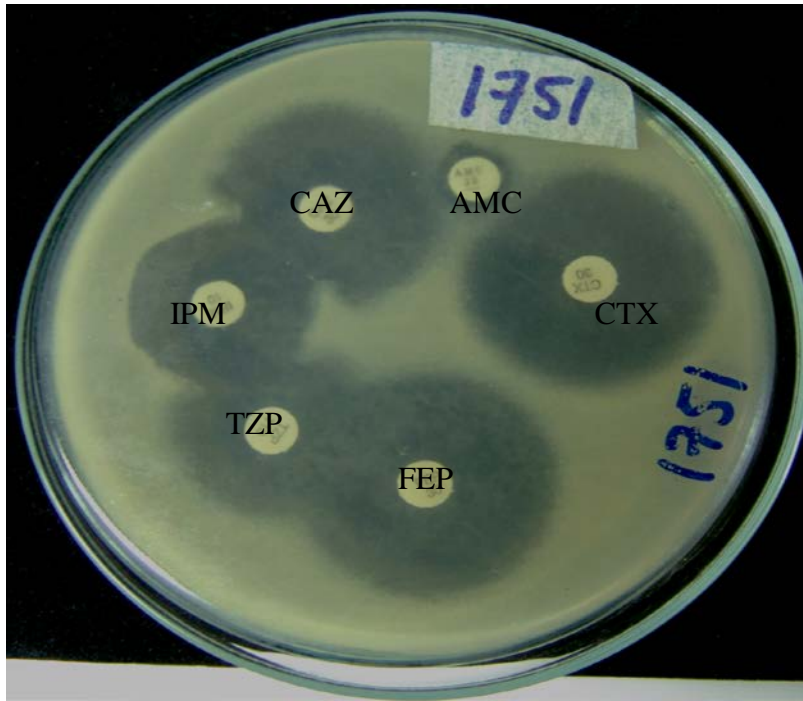
Wong, A.; Hindler, J.; Loeloff, M.; Queenan, A.; Lee, N. y Pegues, D. 2002. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *Clin. Infect. Dis.*, 34(2): 135:46.

ANEXOS



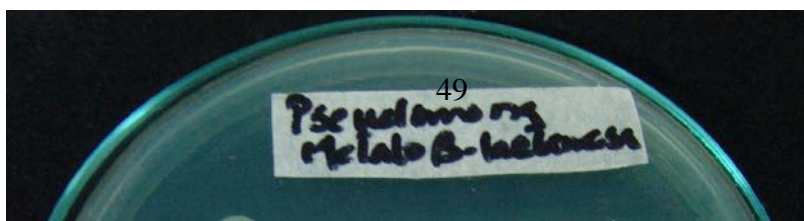
Placa de Muller Hinton, donde se evidencia el sinergismo entre las cefalosporinas de tercera generación y la amoxicilina/ácido clavulánico contenido en el disco central, indicativo desde el punto de vista fenotípico de la presencia de BLEE.

ANEXO 2



Placa de Muller Hinton, donde se evidencia un halo de inhibición truncado del antibiótico testigo (ceftazidima) en la zona adyacente del disco del antibiótico inductor (imipenem), indicativo desde el punto de vista fenotípico de AmpC inducido.

ANEXO 3



CTX
FEP
AMC
TZP
CAZ
IMP MEM
EDTA

Placa de Muller Hinton donde se evidencia la sinergia entre el EDTA/IMP-MER, indicativo desde el punto de vista fenotípico de la producción de metalo β -lactamasa. Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalo β -lactamasa N° 77301, identificada por el Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana.

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Detección fenotípica de mecanismos de resistencia frente a β -lactámicos en cepas de enterobacterias y <i>pseudomonas aeruginosa</i> aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales hospitalizados en el sahuapa.
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	SALAZAR GÓMEZ, SULAMY DAYANA	CVLAC
e-mail		sulamy_1@hotmail.com
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

B-lactamasas de espectro extendido (BLEE),
B-lactamasas AmpC.
metalo- β -lactamasas
Infecciones Nosocomiales

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Las infecciones intrahospitalarias, comúnmente, son causadas por bacterias Gram negativas, dentro de éstas, las especies de la familia *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonaceae* representan una amenaza para pacientes hospitalizados; debido, principalmente a la adquisición de multirresistencia a los antibióticos de rutina. Para determinar fenotípicamente los mecanismos resistencia bacteriana frente a antibióticos β -lactámicos, en cepas aisladas de pacientes con infección nosocomial, se realizó el presente estudio, durante los meses junio-octubre de 2006, en este periodo se recolectaron 46 cepas de enterobacterias y 9 de *P. aeruginosa* aisladas de muestras de pacientes con infección nosocomial recluidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), Cumaná, estado Sucre. Se identificó fenotípicamente la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y β -lactamasas AmpC en las enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*, además de metalo- β -lactamasas sólo en esta última. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana frente a β -lactámicos por el método de difusión en agar, según el CLSI 2005. La determinación de (BLEE) y β -lactamasas AmpC se realizó según el método de difusión de doble disco modificado descrito por Pitout *et al.*, (2003) y siguiendo los lineamientos establecidos por el CLSI, la detección de metalo- β -lactamasas se llevó a cabo con la prueba de rastreo con ácido etilendiamino tetra acético (EDTA), según Lee *et al.*, (2001). El mayor número de cepas se obtuvo de pacientes provenientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI); y el 54,55% del total de cepas se aislaron de muestras de secreciones. Se identificaron diez especies bacterianas dentro de la familia *Enterobacteriaceae*; siendo *E. coli* y *E. aerogenes* las aisladas con mayor frecuencia (29,09% y 18,18%, respectivamente), *P. aeruginosa* ocupó un 16,36%. Las cepas se mostraron 100% sensibles a imipenem, la mayor resistencia en las enterobacterias fue a AMC (47,35%) y en *P. aeruginosa*, fue a meropenem (22,22%), el perfil fenotípico expresado con mayor frecuencia fue designado como XIV, con resistencia a AMC, CTX, CAZ y expresión fenotípica de BLEE; 27 de las enterobacterias resultaron productoras de BLEE (58,70%), encontrándose en *E. aerogenes* el mayor porcentaje (29,63%). Se observó fenotipo sugestivo de la producción de AmpC inducido en 2/46 cepas de enterobacterias y en todas las de *P. aeruginosa*, además en esta no hubo evidencia fenotípica de BLEE ni de metalo- β -lactamasas.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Prof: MICHELLI, ELVIA	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8.644.673
	e-mail	elviamichelli@yahoo.com
	e-mail	
Prof: PARRA, EVIS	ROL	CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	10.947.421
	e-mail	eviespin@hotmail.com
	e-mail	
Prof: ALBARADO, LUZMILA	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	9.278.774
	e-mail	luzalb@hotmail.com
	e-mail	
Prof: ANTÓN, DINA	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.647.499
	e-mail	danton@cantv.net
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	10	23

Lenguaje: Español

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_SDSG.doc	Aplication/word

Alcance:

Espacial : Universal (Opcional)

Temporal: Intemporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

BIOANÁLISIS

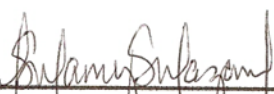
Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente (UDO)

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

Yo Sulamy Dayana Salazar Gómez autorizo a la Universidad de Oriente a la publicación del resumen del trabajo de grado titulado: **DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA FRENTE A β -LACTÁMICOS EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS Y *Pseudomonas aeruginosa*, AISLADAS DE PACIENTES CON INFECCIONES NOSOCOMIALES HOSPITALIZADOS EN EL SAHUAPA**, solo estrictamente con fines educativos y científicos.



Salazar G, Sulamy D
AUTOR



Prof Elvia Michelli
TUTOR



Prof Evis Parra
COASESORA

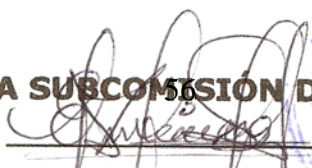


Prof Dina Antón
JURADO 1



Prof Luzmila Albarado
JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:



PROF. Elsa Salazar

