



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

FRECUENCIA Y RESISTENCIA DE BACILOS GRAM NEGATIVOS
AISLADOS EN MUESTRAS AMBIENTALES DE ORIGEN
INTRAHOSPITALARIO EN CUMANÁ,
ESTADO SUCRE
(Modalidad: Investigación)

CARLOS JAVIER BETANCOURT MAGO

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

CUMANÁ, 2008

FRECUENCIA Y RESISTENCIA DE BACILOS GRAM NEGATIVOS
AISLADOS EN MUESTRAS AMBIENTALES DE ORIGEN
INTRAHOSPITALARIO EN CUMANÁ,
ESTADO SUCRE
(Modalidad: Investigación)

APROBADO POR:

Araque Yasmina

Maribel Morillo

Rosa Martínez

INDICE

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Recolección de las muestras	8
Procesamiento.....	8
Aislamientos	8
Reconocimiento Microscópico	9
Identificación	9
Prueba de la oxidasa	9
Fermentación de azúcares.....	9
Utilización de citrato	10
Hidrólisis de la úrea.....	10
Rojo de metilo	10
Motilidad, producción de indol y descarboxilación de la ornitina (Medio MIO).....	11
Pruebas de descarboxilación de lisina y arginina	11
Fermentación de sorbitol e inositol	11
Oxidación – fermentación según Hugh y Leifson	12
Crecimiento a 42°C.....	12
Pruebas de susceptibilidad <i>in vitro</i>	13
Detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).....	14
Control de calidad.....	14
Análisis estadístico	15
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN	22

CONCLUSIONES	35
RECOMENDACIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

DEDICATORIA

A

Mi Dios y la Virgen del Valle, quienes me han guiado, permitiéndome alcanzar el logro de esta gran meta.

Mi mamá, es usted la que verdaderamente es dueña de este título, sin su apoyo no lo habría logrado, mil gracias por ser mi guía, y por ser para mí un ejemplo de trabajo, esfuerzo y dedicación. A usted le dedico el esfuerzo de esta meta, porque como siempre me lo dices: “la educación es la única herencia que me dejarás”, mil gracias porque por fin cobraré mi fortuna en sabiduría y lucharé por un futuro mucho mejor.

Mi papá, a su manera de ser, se que estuvo ahí apoyándome; permitiéndome alcanzar esta meta. Usted también es dueño de este título.

Mis hermanos Luis A., Luis D., María F., Simón J. y Jairo, que estos les sirva de inspiración para luchar por alcanzar lo que se propongan.

Mis tías Gladys, Zaira y Leonor, les agradezco fielmente por todas las atenciones, detalles y ayudas cuando más las necesitaba, gracias por su apoyo en todo momento.

Mis primas, Franlis, Adriana y María Lourdes, valores importante en mi vida. Gracias por estar conmigo y de una u otra manera formar parte de esta meta alcanzada.

Los Sr(es). José Centeno y Omarys Jiménez; por tenderme su mano cuando más lo necesité y por brindarme el calor de hogar durante todo este tiempo. Ustedes fueron incentivo que me ayudaron a seguir adelante.

Mis amigos, Mauricio, Francisco, María A., por brindarme su apoyo incondicional cuando pensaba que no había solución para algún problema. A ustedes este esfuerzo personal les dedico.

Mis compañeros de estudio: María L., Patricia, Jannabeth, Yaniret y Maribel, juntos recorrimos el duro camino universitario, que a pesar de las adversidades, siempre mantuvimos la esperanza y la fuerte convicción de llegar al final.

AGRADECIMIENTOS

A

La Prof. Rosa Martínez, mi asesora, por su espíritu investigativo, su tiempo y disponibilidad que me ha brindado para la realización de esta investigación, nuestra investigación.

La Prof. Militza Guzmán, por brindarme sus conocimientos y apoyo, en el desarrollo de esta investigación.

Todo el personal de enfermeras y médicos que laboran en cada uno de los centros hospitalarios escogidos para dicho estudio.

Angela Gómez, por su cariño y comprensión en momentos cuando más lo necesite.

La Sra. Darcila, por su ayuda incondicional en el desarrollo de esta investigación.

Licda(s). : Yosmar Caraballo y Claudia Lara por ser grandes maestros y grandes personas incondicionales que con sus conocimientos y paciencia han contribuido grandemente a mi formación profesional.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

Mil gracias.

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Frecuencia de grupos de bacterias aisladas en muestras ambientales del área de retén de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.....	16
Tabla II. Frecuencia de las especies bacterianas aisladas en muestras ambientales del área de retén de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.....	17
Tabla III. Porcentajes de cepas bacterianas productoras de β -lactamasas de espectro expandido (BLEE), aisladas en muestras ambientales del área de retén de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.....	21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de resistencia antimicrobiana <i>in vitro</i> para <i>Escherichia coli</i> aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.....	18
Figura 2. Porcentaje de resistencia antimicrobiana <i>in vitro</i> para <i>Citrobacter</i> sp. aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.....	18
Figura 3. Porcentaje de resistencia antimicrobiana <i>in vitro</i> para <i>Klebsiella pneumoniae</i> aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.	19
Figura 4. Porcentaje de resistencia antimicrobiana <i>in vitro</i> para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre - noviembre 2006.....	20

RESUMEN

Las infecciones nosocomiales (IN) constituyen un problema médico, social y económico, representando una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el paciente, siendo las áreas de atención a pacientes en estado crítico y recién nacidos las más afectadas por dichas infecciones. El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la frecuencia de bacilos Gram negativos (posibles agentes etiológicos de IN) en muestras ambientales procedentes de la Unidad de Neonatología de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná – estado Sucre. Se tomaron muestras ambientales de la Unidad de Neonatología del Servicio Autónomo del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (Centro I) y de tres Centros hospitalarios privados (Centro II, III, IV), según el método de análisis por sedimentación en placas. Se aislaron 53 cepas de ambiente, las cuales se identificaron mediante métodos bioquímicos convencionales, encontrándose una mayor proporción de bacilos Gram negativos (52,83%), en relación a los Gram positivos (47,17%); la mayoría de estos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, destacándose la *Escherichia coli* con una frecuencia de aislamiento del 35,70%, seguida de *Citrobacter* sp. (28,57%); *Klebsiella pneumoniae* (21,43%) y *Pseudomonas aeruginosa* (14,29%). El Centro I presentó el mayor porcentaje de bacilos Gram negativos, probablemente debido a que representa un centro hospitalario público, donde normalmente existe poco control de los sistemas de vigilancia epidemiológica. En cuanto a los patrones de susceptibilidad expresados por las especies aisladas en los Centros hospitalarios escogidos para el presente estudio, éstas mostraron altos porcentajes de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos probados. Todas las especies bacterianas aisladas en el Centro I expresaron fenotipo de BLEE (β -lactamasas de espectro extendido), siendo *Escherichia coli* y *Citrobacter* sp. las más frecuentes (100,00%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (50,00%). En vista de los resultados obtenidos, se sugiere tomar medidas que disminuyan, en cada servicio médico, la frecuencia tanto de bacterias circulantes como de IN. Esto, mediante la adopción de programas de vigilancia y control de las mismas.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las infecciones nosocomiales (IN) es un tema de gran relevancia mundial, su importancia se manifiesta desde siglos atrás. Su incidencia se incrementa como consecuencia de los avances tecnológicos de la medicina y la extrema versatilidad y adaptabilidad de los microorganismos involucrados en dichas infecciones. Esto ha impedido que la victoria humana sobre las bacterias patógenas haya sido total, encontrándose tasas variables por hospitales y servicios (Romero, 2004).

Se entiende por IN, a las infecciones que se desarrollan durante la estancia hospitalaria de un paciente, y es producida por microorganismos adquiridos en el hospital o relacionada con un procedimiento hospitalario. De forma arbitraria, se establece un plazo de 48 a 72 horas, como mínimo, para considerar la infección como adquirida en el hospital, incluyendo las que aparecen durante los primeros 14 días después del alta de los pacientes. Estas infecciones no se encuentran en incubación al momento del ingreso del paciente del centro razón, por lo cual constituyen un problema médico, social, económico, representando una de las principales causas de morbimortalidad en el paciente (Sarriá, 1994; Centurión *et al.*, 1998; Lossa, 1999).

De acuerdo a la naturaleza, frecuencia, morbilidad y mortalidad, las IN son consideradas una de las complicaciones más graves que pueden encontrarse en los pacientes internados en las unidades de atención médica. Para que se produzcan, debe existir la interrelación entre un microorganismo capaz de producirla, un vector de transmisión hacia un huésped susceptible de sufrirla y un medio ambiente propicio para el desarrollo de la misma. Este medio ambiente, fundamentalmente, hace referencia a ciertos factores propios del huésped que lo predisponen a la aparición de la infección.

En el caso de los pacientes hospitalizados, particularmente los recién nacidos, por sus condiciones biológicas o estados patológicos, tienen disminuidos sus mecanismos de defensa y están bajo constante amenaza de contraer infecciones de este tipo (Sarria *et al.*, 1994; Klein *et al.*, 1999).

Las tasas de IN demuestran que las áreas más afectadas son las de atención a pacientes en estado crítico y recién nacidos, como consecuencia de la adquisición de bacterias patógenas en el hospital, y son una de las principales causa de morbilidad y mortalidad en el período neonatal. En una investigación realizada en un hospital de Nicaragua se demostró que el servicio que presentó mayor número de casos de IN fue la unidad de Neonatología, concluyendo que de 5 a 10 muertes de niños recién nacidos son causadas por este tipo de infección (Mendivil, 2001).

Las IN son un problema relevante de salud pública de gran trascendencia económica y social, constituyendo hoy en día un desafío para las instituciones de salud y el personal médico responsable de su atención en la unidad de Neonatología. Son de importancia clínica y epidemiológica, debido que condicionan altas tasas de morbilidad y mortalidad e inciden en los años de vida potencialmente perdidos de la población infantil, a lo cual se suma el incremento en los días de hospitalización y los costos de atención (Topia, 1999).

Los agentes infecciosos responsables de las IN surgen a partir de distintas fuentes, la exógena, representado por el ambiente hospitalario: el aire, las paredes, los suelos y las ropas de cama que no son estériles y, por tanto; pueden servir como fuentes de microorganismos que provoquen dicha infección. La otra fuente puede ser endógena y se origina de la flora normal del paciente. No obstante, las infecciones producidas en el hospital por bacterias resistentes, van a depender de diferentes poblaciones, presiones de selección, reservorios y otros factores que son importantes en la aparición, persistencia y transmisión de organismos resistentes a

antimicrobianos; donde los bacilos Gram negativos tienen especial relevancia (Pedroza, 2001; Martín *et al.*, 2003).

Antes de 1970 cultivos de aire y superficies tales como paredes y mobiliarios eran realizados de manera rutinaria en los Estados Unidos. En 1970, la American Hospital Association propusieron la eliminación de dicha rutina, debido a que los índices de IN no se habían relacionado a los niveles de contaminación microbiana general del aire o superficies ambientales, además de no contar con una estandarización significativa para niveles permisibles de contaminación microbiana. Sin embargo, estudios realizados a nivel mundial demuestran la existencia de una correlación significativa entre los agentes productores de IN de cada centro y los agentes propios del mismo, por tanto se podría pensar que en estos lugares, el ambiente sí juega un rol importante (Centurión *et al.*, 1999).

En Cuba se han reportado tasas de IN a nivel nacional del 3-8%; donde hospitales especializados presentaron una mayor frecuencia de dichas infecciones, en comparación con los hospitales clínicos quirúrgicos, la flora detectada, principalmente, fue bacilos Gram negativos: *E. coli* 17,40%, *Pseudomonas aeruginosa* el 10% y *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* el 9,30% (Bove *et al.*, 2000; Ortiz, 2000).

En investigaciones realizadas en diferentes hospitales de segundo nivel en México, se encontró que el 66% de los casos de IN eran causados por enterobacterias, predominando *E. coli* 47%, *Klebsiella* spp. (29%), *Proteus* spp. (10%), *Enterobacter aerogenes* (9%) y *Pantoea agglomerans* (5%). En España se reporta una frecuencia de 70% de bacterias productoras de IN, donde *E. coli* y *K. pneumoniae* son las especies mayormente aisladas (Tinoco *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2005).

En los países en vía de desarrollo, los patógenos dominantes en la sepsis neonatal están constituidos principalmente por bacilos Gram negativos, de las

especies anteriormente citadas. Sin embargo, es importante hacer notar que, los agentes bacterianos que provocan infección en el período neonatal, varían de un país a otro, de una institución a otra y de un servicio a otro, ya que, dependiendo de la ubicación geográfica, de las condiciones propias de los pacientes y del medio ambiente hospitalario, pueden desarrollarse y diseminarse infecciones bacterianas diferentes (Klein *et al.*, 1999).

En Latino América, los estudios de IN han permitido deducir que se trata de un fenómeno endémico y que, ocasionalmente, se detectan brotes epidémicos, limitados en el tiempo y relativamente circunscrito en el espacio. Estudios de investigación epidemiológica en los Estados Unidos actualmente demuestran una incidencia de IN del 5-7% (Haley, 1998).

Las vías urinarias, heridas quirúrgicas y sistema respiratorio se relacionan con técnicas y procedimientos que son susceptibles de supervisión y mejoramiento, por tanto, constituyen la causa más frecuente de IN en la mayoría de los hospitales generales. Bove *et al.*(2000) encontró una tasa de IN del 3,40% en Nicaragua, donde los sitios de infección por sistemas afectados fueron: cardiovascular, muco cutánea, respiratorio, genitourinario y gastrointestinal.

En Venezuela, Quisber (1995), señala a los Gram negativos como agentes productores de sepsis en los recién nacidos, principalmente; especies de *Klebsiella* spp, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* y *Enterobacter aerogenes*.

Según estudios realizados en la Maternidad Concepción palacios y en el hospital Universitario de Caracas-Venezuela, los agentes aislados con más frecuencia en los servicios de neonatología, se encontraron bacilos Gram negativos, especialmente especies de *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* y *Enterobacter aerogenes*, seguidos por especies de *Pseudomonas* y *Proteus* (Klein,

1994; Navarro *et al.*, 1999).

Estudios bacteriológicos, realizados en el “Hospital Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná-Edo. Sucre, reportaron, para la unidad de retén, tasas de 7,89% para bacilos Gram negativos, entre los que se destacan: *Enterobacter aerogenes*; *Acinetobacter sp.*; *Pseudomonas sp.*; *Klebsiella pneumoniae*; *Escherichia coli*; *Serratia sp.* y *Proteus sp.* Otro estudio efectuado en la unidad de neonatología del hospital anteriormente referido, demostró que los gérmenes bacterianos aislados en muestras de sangre de recién nacidos con cuadros clínicos de sepsis fueron: *Kebsiella pneumoniae* (38,70%), *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* (22,60%) (Martínez, 2001; Ponce, 2003).

Una de las tendencias más alarmantes en las enfermedades infecciosas, ha sido la frecuencia en el aumento de la resistencia antimicrobiana entre los patógenos que causan IN adquiridas, por lo que es un problema que enfrenta el médico en la práctica diaria en las unidades de atención médica (Tinoco *et al.*, 1997).

La resistencia a los agentes antimicrobianos, pueden ser una característica intrínseca, o puede resultar de la presión selectiva que surge en un ambiente alterado por el uso de los mismos, como se observa frecuentemente en situaciones clínicas. Los mecanismos básicos, mediante los cuales las bacterias se hacen resistentes a estos agentes se deben a la inactivación de los mismos, disminución de su transporte al interior de la célula, y a la alteración del sitio blanco (Fuchs *et al.*, 1994).

Las bacterias adquiridas en el ambiente intrahospitalario consisten en gérmenes multirresistentes que se han seleccionado por diversos factores ecológicos, entre los que se destacan, el uso correcto o no de múltiples antibióticos con fines terapéuticos o profilácticos. Esto ha traído como consecuencia la selección de una amplia variedad de cepas resistentes a los agentes antimicrobianos, lo que ha disminuido su eficacia,

provocando serios problemas de salud pública (Alonso *et al.*, 2005).

El 50% de los pacientes que adquieren Infecciones Intrahospitalarias son tratados con uno o más antibióticos, en el cual, el 70% de las bacterias responsables de dichas infecciones son resistentes al menos a uno de los antibióticos más comúnmente utilizados para tratarlas, por lo que, el alto grado de resistencia por parte de estos microorganismos es una de las razones relevantes que ha contribuido a incrementar el número de muertes en los casos de IN (Mullet *et al.*, 1998; Martín *et al.*, 2003).

El problema de la resistencia bacteriana existe en todo el mundo, y está relacionado con las infecciones comunitarias y nosocomiales en los países en desarrollo, donde el problema reviste dimensiones preocupantes. Desde 1998, el grupo venezolano de Vigilancia de la Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos, que agrupa a 29 instituciones de salud de siete estados, está a cargo de analizar y publicar resultados de resistencia bacteriana a los antimicrobianos (entre los que se encuentran betalactámicos, aminoglucósidos y quinolonas), en bacterias aisladas de pacientes con infecciones hospitalarias y de la comunidad (Martín *et al.*, 2003).

Es una preocupación compartida con el resto del mundo, la gran capacidad de resistencia por parte de los microorganismos, siendo de gran importancia conocer en nuestro medio la capacidad de resistencia de estos. Actualmente, existen factores de riesgo global que contribuyen al aumento de la resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos en la comunidad; entre los factores que han contribuido, se encuentran: la concentración de poblaciones en los centros urbanos, el inadecuado control de las infecciones en los hospitales, la migración masiva, y el uso inadecuado de los antibióticos entre otros (Kummerer, 2003; Martín *et al.*, 2003; Kummerer, 2004).

En las últimas dos décadas se han incrementado las investigaciones para explorar las causas y las formas de controlar o prevenir la resistencia a los agentes antimicrobianos, sin embargo, algunas de ellas se han encontrado con problemas que se relacionan con los métodos para su investigación (Benavides *et al.*, 2005).

Dado que las IN, causadas por bacilos Gram negativos, son complicaciones en las que se conjugan diversos factores de riesgo, es necesario realizar evaluaciones bacteriológicas, que permitan determinar la frecuencia de éstos gérmenes y su respuesta a los antibióticos, con la finalidad de mejorar el uso de tratamientos con antimicrobianos, en términos de eficacia, eficiencia, con el mínimo de efectos adversos.

En Venezuela, y más aún en el estado Sucre, se dispone de escasos estudios sobre los patrones de resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos aislados del medio ambiente hospitalario, debido a la poca disponibilidad de recursos económicos para llevar a cabo los procedimientos operativos que se requieren, así como la falta de coordinación de las instituciones del área de salud que tienen a su cargo la responsabilidad de realizar periódicamente diagnóstico y monitoreo microbiológico. Ante ello, en el presente trabajo se evaluó la frecuencia y resistencia a los agentes antimicrobianos, de aislados bacterianos, en muestras ambientales procedentes de la Unidad de Neonatología de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, Edo. Sucre, con la finalidad de establecer mecanismos eficientes de intervención que permitan la aplicación de medidas preventivas y correctivas encaminadas a la disminución de los factores de riesgos que inciden en la distribución y la frecuencia de dichas bacterias.

METODOLOGÍA

Recolección de las muestras

Se tomaron muestras ambientales de la Unidad de Neonatología del Servicio Autónomo del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” y de tres centros hospitalarios privados de la ciudad de Cumaná, estado Sucre durante el período comprendido entre septiembre y noviembre del 2006. La recolección de las muestras se realizó por exposición, según el método de análisis por sedimentación, que consistió en colocar placas destapadas durante 5 horas: 2 placas de agar tripticasa de soya y 1 placa de agar Mac Conkey, para el aislamiento primario de bacilos Gram negativos. Luego se trasladaron hasta el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente para su procesamiento (Alonso *et al.*, 1999).

El muestreo se realizó durante 3 meses consecutivos, obteniéndose 3 replicas 2 veces por cada mes.

Procesamiento

Las muestras se incubaron a temperatura ambiente (temperatura de la sala), durante 24 horas en aerobiosis.

Aislamientos

A los aislamientos obtenidos de los distintos medios de cultivo, se les hizo reconocimiento morfológico, características de crecimiento, color, forma, borde y elevación. Se separaron las colonias con características distintas, se colocaron en

caldo tripticasa de soya y se incubaron a temperatura ambiente, por 24 horas, en aerobiosis. Posteriormente se sembraron por diseminación en placas en agar tripticasa de soya para verificar su pureza.

Reconocimiento Microscópico

A cada una de las colonias aisladas se les realizó la coloración de Gram según la describe McClelland (2001). Esto, para verificar morfología, tipo de agrupación y reacción a dicha coloración. De las cuales, fueron seleccionadas las colonias de morfología bacilar y reacción negativa frente a la coloración Gram (Bacilos Gram negativos), para su posterior identificación.

Identificación

Tomando en consideración los resultados del Gram y de acuerdo a las características de las colonias, los aislados fueron identificados mediante pruebas bioquímicas convencionales descritas para bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores (Koneman *et al.*, 2002; Ryan y Ray, 2004).

Prueba de la oxidasa

Las bacterias productoras de la enzima citocromooxidasa, en presencia de oxígeno, producen un compuesto de color intenso denominado azul de indofenol, debido a la oxidación del tetrametil parafenilendiamina. Las enterobacterias se distinguen por una reacción negativa al realizar esta prueba (Mac faddin, 2003).

Fermentación de azúcares

Se utilizó el medio Kligler solidificado en bisel, el cual se inoculó por punción

y estrías de la colonia sospechosa. Se dejó incubar a 37°C durante 24 horas. La fermentación de la glucosa y lactosa producen una disminución en el pH del medio, lo que provoca un cambio en el color del indicador rojo de fenol con la producción de gas y la formación de ácido sulfhídrico por parte de algunas bacterias a partir de las sales de hierro presentes en el medio (Mac faddin, 2003).

Utilización de citrato

Se empleó el medio citrato de Simmons (DIFCO), el cual se inoculó por estrías permitiendo la utilización del citrato como única fuente de carbono y las sales de amonio como única fuente de nitrógeno, por parte de la bacteria; siendo indicativo de una reacción positiva el observar un color azul del medio y/o crecimiento bacteriano en la superficie del mismo (Koneman *et al.*, 2002).

Hidrólisis de la úrea

Se empleó agua peptonada, la cual se inoculó con algunas colonias aisladas del agar ATS y se le agregaron dos gotas del reactivo de urea, con esta prueba se verificó la síntesis de la enzima ureasa con producción de amoníaco y carbonato de amonio, observándose un cambio del indicador hasta rosado intenso (Koneman *et al.*, 2002).

Rojo de metilo

Se procedió a realizar la inoculación de la colonia sospechosa en tubos que contenían caldo rojo de metilo Voges Prokauer (RMVP) y que luego fueron incubados a 37°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se le agregó a cada tubo tres gotas del reactivo de rojo de metilo, considerándose la prueba positiva cuando se mantenía un anillo de color rojo en la superficie del medio y por el contrario la prueba era negativa si había un viraje del indicador de rojo a amarillo. Con esta prueba se pudo determinar si la bacteria utilizó la vía de los ácidos mixtos o vía del

butilenglicol para degradar la glucosa presente en el medio (Mac faddin, 2003).

Motilidad, producción de indol y descarboxilación de la ornitina (Medio MIO)

Para esta prueba se utilizó el medio MIO (DIFCO), el cual se inoculó por punción. La motilidad fue interpretada por la observación de turbidez en el medio; la producción de indol se determinó por la producción de un anillo rojo fucsia en la superficie del medio, al agregar el reactivo de Kovacs; la descarboxilación de la ornitina, se evidenció por un viraje de color del indicador púrpura de bromocresol a purpura intenso, considerándose la prueba positiva (Koneman *et al.*, 2002).

Pruebas de descarboxilación de lisina y arginina

Se procedió a incubar las colonias sospechosas en tubos separados que contenían base descarboxilasa de Moeller y al que previamente se le había añadido por separado lisina y arginina respectivamente. Posteriormente, se agregó una capa de parafina estéril a cada tubo para crear un ambiente de anaerobiosis y se incubaron a 37°C durante 24 horas. En el caso de *P. aeruginosa* el tiempo de incubación fue de 24 a 48 horas a 37°C. Esta prueba se utilizó con la finalidad de determinar la capacidad de las bacterias de producir enzimas descarboxilasas específicas capaces de atacar aminoácidos hasta aminas que elevan el pH del medio y hacen virar el indicador purpura de bromocresol a purpura intenso, considerándose la prueba positiva.

Fermentación de sorbitol e inositol

En tubos que contenían el medio de cultivo, se procedió a inocular la colonia sospechosa y posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 horas. Esta prueba se utilizó para determinar la capacidad de las bacterias de utilizar el carbohidrato presente en el medio, sorbitol o inositol, con la consecuente producción de ácido y

por lo tanto viraje de color del indicador rojo de fenol de rojo a amarillo (prueba positiva). La fermentación del sorbitol o inositol constituyen pruebas útiles para la diferenciación entre géneros y especies de la familia de las enterobacterias y otros Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos.

Oxidación – fermentación según Hugh y Leifson

Se utilizaron dos tubos para cada microorganismos citocromo oxidasa positiva, los cuales contenían el medio de cultivo solidificado en forma de taco, y se procedió a inocular por punción la colonia sospechosa. Posteriormente, se le agregó a uno de los tubos unas gotas de parafina líquida para crear un ambiente de anaerobiosis, incubándose luego a 37°C durante 24 horas. En *P. aeruginosa* el período de incubación fue de 24 a 96 horas. Esta prueba se utilizó con la finalidad de determinar la vía de utilización de la glucosa, maltosa, lactosa, fructosa; vía fermentativa, oxidativa o ambas; empleándose principalmente para diferenciar microorganismos aerobios estrictos de los anaerobios y anaerobios facultativos. Dichos carbohidratos se utilizaron en proporción de 1%. La interpretación de la prueba se realizó de la siguiente manera: tubo con parafina (sin cambio de color en el indicador) y tubo sin parafina (con viraje del indicador a amarillo): oxidación. Tubo con parafina (con viraje del indicador a amarillo) y tubo sin parafina (sin cambio de color del indicador): fermentación. Tubo con y sin parafina (con viraje de color en el indicador a amarillo): fermentación y oxidación. Tubos con y sin parafina (sin cambio de color del indicador): no hubo fermentación ni oxidación.

Crecimiento a 42°C

En tubos que contenían caldo infusión cerebro corazón se procedió a inocular la colonia sospechosa. Posteriormente, se incubó a 42°C durante 48 horas. Esta prueba se utilizó con la finalidad de determinar la capacidad que tienen algunas bacterias

Gram negativas citocromo oxidasa positiva de crecer a 42°C (*Pseudomonas aeruginosa*) y diferenciarlas de otras que no presentan crecimiento cuando son incubadas a esta temperatura.

Pruebas de susceptibilidad *in vitro*

A todos los bacilos Gram negativos aislados de las muestras ambientales, se les realizó las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco (antibiograma), descrito por Kirby y Bauer (1966) y siguiendo los lineamientos propuestos para enterobacterias y *P. aeruginosa* por el CLSI (2005). Se preparó una suspensión bacteriana de la cepa en 4,5 ml de solución salina fisiológica estéril al 0,85%, a partir de un crecimiento de 18 horas sembrado en ATS, ajustado al patrón de 0,5 en la escala de MacFarland correspondiente a $1,5 \times 10^8$ ufc/ml. Se impregnó un hisopo estéril en la suspensión rotándolo varias veces y ejerciendo presión sobre las paredes interiores del tubo con el fin de eliminar el exceso de líquido. La suspensión bacteriana se diseminó uniformemente sobre la superficie del agar Müller Hinton (DIFCO) contenido en placas de Petri, dejando secar y luego se procedió a colocar los discos de los antibióticos seleccionados para enterobacterias: cefuroxima 30 µg, meropenem 30 µg, imipenem 10 µg, amoxicilina-ácido clavulánico 2:1 (20 µg/10 µg), cefotaxima 30 µg, ceftazidima 30 µg, ceftriazona 30 µg, cefepime 30 µg, aztreonam 30 µg, piperacilina-tazobactan 2:1 (100 µg/10 µg), cefoxitin 30 µg, ciprofloxacina 5 µg, tetraciclina 30 µg, trimetoprim/sulfametoxazol, cloranfenicol 30 µg, piperacilina/tazobactan 2:1 (100 µg/10 µg); y para *P. aeruginosa*: cefuroxima 30 µg, meropenem 30 µg, imipenem 10 µg, amoxicilina-ácido clavulánico 2:1 (20 µg/10 µg), cefotaxima 30 µg, ceftazidima 30 µg, ceftriazona 30 µg, cefepime 30 µg, aztreonam 30 µg, piperacilina-tazobactan 2:1 (100 µg/10 µg), tetraciclina 30 µg y trobamicina, todos ellos de la marca comercial OXOID. Las placas se incubaron a 35°C durante 18 horas en aerobiosis y luego, se realizó la lectura de los halos de inhibición empleando una regla milimetrada.

Las bacterias probadas frente a los diferentes agentes antimicrobianos fueron caracterizadas en las categorías sensible, intermedio y resistente, de acuerdo a los criterios establecidos por el Instituto de Estándares Clínico y de Laboratorio (CLSI, 2005), y dichas categorías se reportaron de acuerdo a los resultados obtenidos *in vitro*, esto debido a que ciertos perfiles de resistencia están asociados con un mecanismo de resistencia en particular, específicamente, en el caso de las β -lactamasas donde se puede predecir el tipo de enzima a partir del antibiograma (Crespo, 2003).

Detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

La detección de BLEE se realizó mediante la técnica de sinergismo de doble disco propuesta por Jarlier *et al.* (1998) y siguiendo los lineamientos establecidos por CLSI (2005), M100-S15 (M2); se procedió a inocular una placa de agar Müller Hinton con una suspensión bacteriana preparada en 4,5 ml de solución salina fisiológica estéril 0,85% y ajustada al patrón 0,5 de MacFarland. Luego, se colocó en el centro de la placa un disco de amoxicilina-ácido clavulánico 2:1 (20 μ g/10 μ g) posteriormente, se colocaron los discos de ceftazidima y cefotaxima, a una distancia lineal de 20 mm del disco central y en un ángulo de 90° a 20 mm del mismo se ubicaron los discos de imipenem y meropenem. La formación de un óvalo en la zona de conversión del halo de inhibición de los agentes antimicrobianos empleados y el disco central de amoxicilina-ácido clavulánico, es indicativo, desde el punto de vista fenotípico, de la presencia de BLEE.

Control de calidad

La verificación del proceso de preparación y esterilización de los medios de cultivo y pruebas bioquímicas, se realizó incubando algunas placas y tubos escogidos al azar de los lotes preparados e incubándolos, con la finalidad de observar algún tipo

de crecimiento microbiológico en los mismos (Balowws *et al.*, 1991).

El control de calidad aplicado para evaluar la caracterización bioquímica y la susceptibilidad antimicrobiana, se realizó utilizando las siguientes cepas, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y de la colección de cultivos del Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), Nodo Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR).

Análisis estadístico

Para establecer la frecuencia de microorganismos productores de IN en las unidades de Neonatología de los diferentes centros clínicos escogidos para el presente estudio, se empleó un análisis porcentual y estadística descriptiva, expresando los resultados en tablas y figuras (Dawsen y Robert, 1997).

RESULTADOS

En los resultados obtenidos del estudio bacteriológico realizado en los cuatro centros hospitalarios estudiados se observó que el mayor número de aislamientos correspondió a bacilos Gram negativos (52,84%) en relación a los cocos Gram positivos (47,17%). La distribución porcentual de bacilos Gram negativos por centro hospitalario fue mayor para el Centro I (Tabla I).

Tabla I. Frecuencia de grupos de bacterias aisladas en muestras ambientales del área de retén de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.

GRUPOS DE BACTERIAS	CENTRO I		CENTRO II		CENTRO III		CENTRO IV		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
BACILOS GRAM										
NEGATIVOS	13	46,43	5	17,86	6	21,43	4	14,28	28	52,63
COCOS GRAM										
POSITIVOS	8	32,00	7	28,00	4	16,00	6	24,00	25	47,17

I: Centro hospitalario público

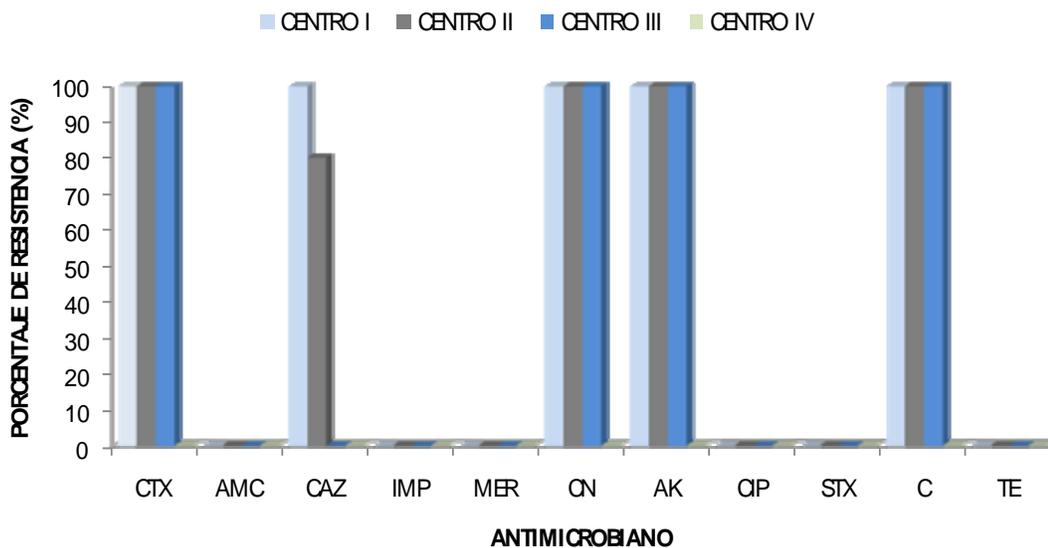
II, III, IV: Centros hospitalarios privados

La frecuencia de las especies aisladas se presentan en la Tabla II, la cual indica que *E. coli* fue el agente bacteriano mayormente aislado, representando el 35,70% del total, seguido de *Citrobacter* sp. 28,57%, *K. pneumoniae* 21,43% y *P. aeruginosa* 14,24%.

Tabla II. Frecuencia de las especies bacterianas aisladas en muestras ambientales del área de retén de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.

BACTERIAS	CENTRO I		CENTRO II		CENTRO III		CENTRO IV		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	<i>E. coli</i>	5	50,00	2	20,00	3	30,00	-	-	10
<i>K. pneumoniae</i>	4	66,67	-	-	2	33,33	-	-	6	21,43
<i>P. aeruginosa</i>	2	50,00	1	25,00	-	-	1	25,00	4	14,24
<i>Citrobacter sp</i>	2	25,00	2	25,0	1	12,50	3	37,50	8	28,57

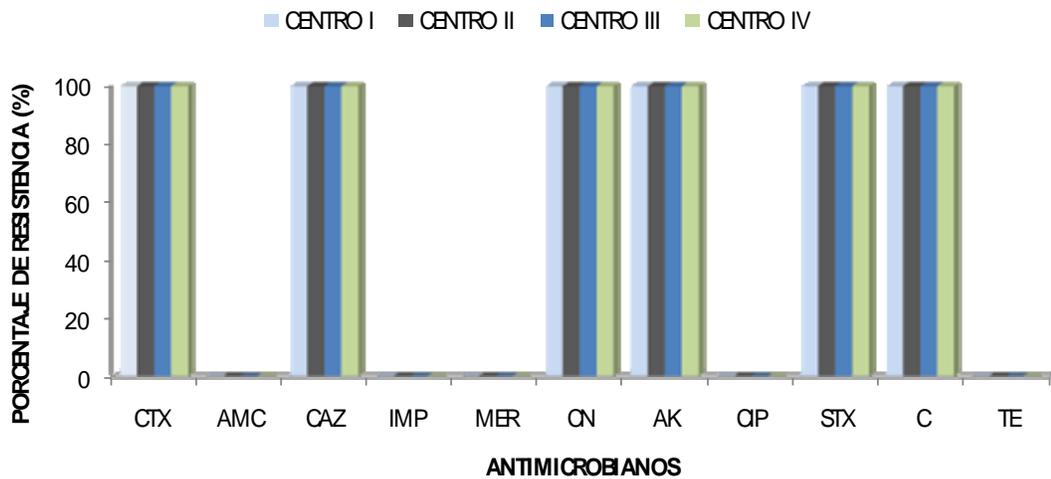
En cuanto a las pruebas de susceptibilidad *in vitro* a los antimicrobianos, los resultados muestran que de las bacterias aisladas *E. coli* mostró patrones de susceptibilidad variable de acuerdo al Centro hospitalario de procedencia, encontrándose 100% de resistencia a ceftaxidima, cefotaxima, gentamicina, amikacina y cloranfenicol; y una sensibilidad de 100% para imipenem, meropenem, ciprofloxacina y tetraciclina. Dichas cepas provenientes del Centro hospitalario II (figura 1).



(CTX: cefotaxima, AMC: amoxicilina/ácido clavulanico, CAZ: ceftazidima, IPM: imipenem, MER: meropenem, CN: gentamicina, AK: amikacina, CIP: ciprofloxacina, C: cloranfenicol, STX: Trimetoprin/Sulfametoxasol, TE: tetraciclina)

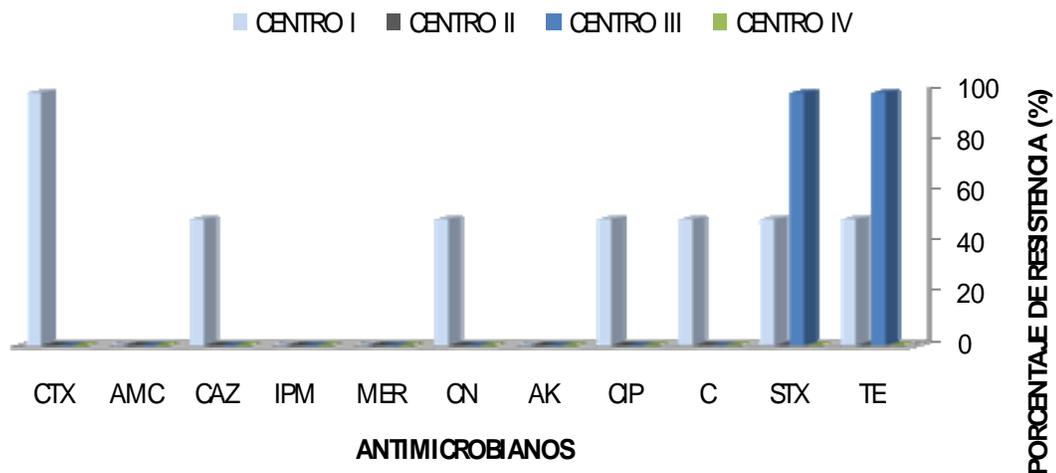
Figura 1. Porcentaje de resistencia antimicrobiana *in vitro* para *Escherichia coli* aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.

Las cepas de *Citrobacter* sp. mostraron 100% de resistencia a todos los antimicrobianos probados, y patrones de resistencia similares para cada uno de los centros escogidos para el presente estudio (figura 2).



(CTX: cefotaxima, AMC: amoxicilina/ácido clavulanico, CAZ: ceftazidima, IPM: imipenem, MER: meropenem, CN: gentamicina, AK: amikacina, CIP: ciprofloxacina, C: cloranfenicol, STX: Trimetoprin/Sulfametoxasol, TE: tetraciclina)

Figura 2. Porcentaje de resistencia antimicrobiana *in vitro* para *Citrobacter* sp. aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.

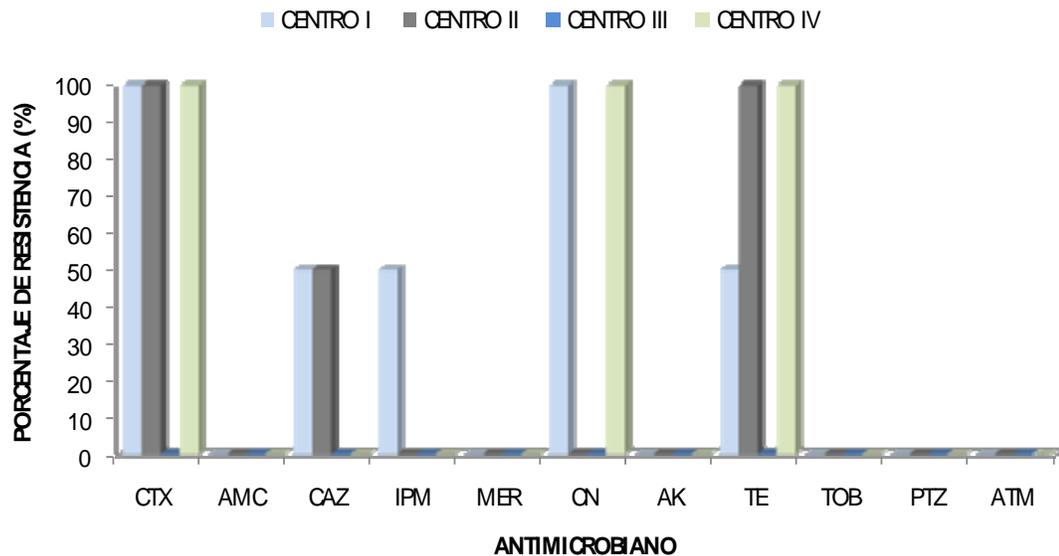


(CTX: cefotaxima, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico, CAZ: ceftazidima, IPM: imipenem, MER: meropenem, CN: gentamicina, AK: amikacina, CIP: ciprofloxacina, C: cloranfenicol, STX: Trimetoprim/Sulfametoxazol, TE: tetraciclina)

Figura 3. Porcentaje de resistencia antimicrobiana *in vitro* para *Klebsiella pneumoniae* aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.

Las cepas de *K. pneumoniae* provenientes del Centro hospitalario I presentaron 100% de resistencia frente a cefotaxima, y sólo el 50% de resistencia frente a ceftazidima, gentamicina, ciprofloxacina, cloranfenicol, trimetoprim/sulfametoxazol y tetraciclina. Sin embargo, las cepas de dicha bacteria provenientes del Centro hospitalario III, sólo presentaron 100% de resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol y tetraciclina (figura 3).

P. aeruginosa mostró 100% de resistencia para cefotaxima (Centros I, II y IV), gentamicina (Centros I y IV), tetraciclina (Centros II y IV); y sólo el 50% de las cepas presentó resistencia frente a ceftazidima (Centros I y II), imipenem y tetraciclina (Centro I) (figura 4).



(CTX: cefotaxima, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico, CAZ: ceftazidima, IPM: imipenem, MER: meropenem, CN: gentamicina, AK: amikacina, TE: tetraciclina, TOB: trobamicina, PTZ: piperacilina/tazobactam, ATM: aztreonam)

Figura 4. Porcentaje de resistencia antimicrobiana *in vitro* para *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en muestras ambientales de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre - noviembre 2006.

Los resultados obtenidos por el método de sinergismo del doble disco para evidenciar fenotípicamente la presencia de BLEE, indicaron que el 100% de las cepas de *E. coli* fueron productoras de BLEE, seguido de *Citrobacter* sp. y *K. pneumoniae*; ambas cepas provenientes del Centro hospitalario I. Solo el 50,00% de las cepas de *E. coli* provenientes del Centro hospitalario II fueron productoras de BLEE (Tabla III).

Tabla III. Porcentajes de cepas bacterianas productoras de β -lactamasas de espectro expandido (BLEE), aisladas en muestras ambientales del área de retén de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, septiembre – noviembre 2006.

BACTERIAS	CENTRO I		CENTRO II		CENTRO III		CENTRO IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	4	100,00	1	50,00	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	2	50,00	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	1	50,00	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter</i> sp	2	100,00	-	-	-	-	-	-

DISCUSIÓN

Según la OMS (2002), la etiología de las IN ha presentado variaciones a través del tiempo, inicialmente se consideraban los patógenos predominantes a las bacterias Gram positivas, con la introducción de los antibióticos, se llevó a cabo una disminución de las IN causadas por estas bacterias, pasando a ser las bacterias Gram negativas las responsables de dichas infecciones. Las observaciones descritas en la sección de resultados del presente trabajo, muestran que al evaluar los porcentajes de frecuencia por grupos de bacterias aisladas en las Unidades de Neonatología, los bacilos Gram negativos presentaron mayor porcentaje (52,83%) en relación a los cocos Gram positivos (47,17%). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Miranda *et al.* (2006), quienes realizaron una investigación para establecer la frecuencia de bacterias nosocomiales resistente a los antimicrobianos en hospitales de Colombia, y encontraron que el 57,40% de las infecciones intrahospitalarias eran producidas por bacilos Gram negativos. Sin embargo, difieren de Márquez (2003) quién realizó un estudio bacteriológico del ambiente y del personal de la UCI neonatal del hospital “Dr. Luis Ortega” de Porlamar, Estado Nueva Esparta-Venezuela; observando una alta frecuencia de cocos Gram positivos en comparación con los bacilos Gram negativos.

Al comparar los porcentajes de frecuencia por grupos de bacterias aisladas en el presente trabajo, se hace evidente las diferencias porcentuales entre los centros hospitalarios privados y el centro hospitalario público, siendo este último el que obtuvo un mayor porcentaje de aislados (46,43%). Dichos resultados coinciden con los descritos por Martín *et al.* (2000), los cuales obtuvieron el mayor número de aislamientos de bacterias intrahospitalarias, en los centros médicos públicos (55,13%) en comparación con los centros médicos privados (44,87%). Esto indica que el ambiente juega un rol importante, lo cual está representado por el alto porcentaje de

bacilos Gram negativos aislados en el centro hospitalario público debido a la existencia de sistemas de vigilancia epidemiológica poco eficientes y en el incumplimiento de los protocolos de prevención de las IN por parte del personal de salud.

E. coli fue la especie bacteriana mayormente aislada en esta investigación (35,70%), seguida de *K. pneumoniae* (21,43%). Estas bacterias suelen encontrarse en el aire, el agua y tracto intestinal de los seres humanos donde habitan como gérmenes comensales, que en determinadas circunstancias pueden emigrar y actuar como patógenos oportunistas colonizadores de piel y mucosas en pacientes hospitalizados, asociándolas a cualquier tipo de enfermedad infecciosa como bacteriemias o septicemias (González *et al.*, 2001; Ostroff *et al.*, 2002).

Es importante hacer resaltar que en los últimos años, el mal uso de antibióticos y el empleo de procedimientos diagnósticos más agresivos, han permitido que el papel de *K. pneumoniae*, como agente etiológico responsable de patologías inespecíficas, ha aumentado sobre todo en el ámbito nosocomial (Bergogne *et al.*, 1993).

La frecuencia de los gérmenes bacterianos aislados en este trabajo, concuerdan con lo referido por otros autores tomando en cuenta que la etiología de las IN varía ampliamente dependiendo del tiempo y el lugar donde se realice el estudio. Al respecto, Trucco *et al.* (2002), señalan a *E. coli* como principal agente causal de IN en 11 centros hospitalarios de diferentes regiones de Chile. Sin embargo, Fernández *et al.* (2003) hallaron que el 39,80% de los casos de IN que se diagnostican en el hospital Militar Central “Dr. Luis Díaz Soto” de Cuba, eran ocasionados por *Proteus* spp. Por su parte, Martínez *et al.* (2003) reportó una prevalencia de 50% para *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli*, como principales agentes etiológicos relacionados con brotes de IN. Por otro lado, Carranza *et al.* (2003) en una investigación realizada

en pacientes hospitalizados en el centro médico naval de Perú, reportaron como uropatógeno nosocomial predominante a *E. coli* con 63,70%.

Lo anteriormente descrito indica que los bacilos Gram negativos hoy en día representan un desafío creciente ya que se encuentran entre los principales agentes etiológicos de IN a nivel mundial.

Es de particular importancia hacer notar que la interacción entre los factores de riesgo del paciente y los relativos al ambiente hospitalario es especialmente compleja en el neonato, debido a que la colonización por bacterias nosocomiales del recién nacido se ve ayudada por el escaso contacto materno que impide que la inmunidad materna sea transmitida al bebe, la alimentación demorada, el tratamiento con antimicrobianos y la exposición a diferentes factores ambientales (Informe OMS, 2007).

Por otra parte, hoy en día ha sido evidente que la presión selectiva mediante el uso de antimicrobianos de amplio espectro, particularmente de su uso indiscriminado e inadecuado, a provocado la aparición y diseminación de mecanismos de resistencia bacteriana, lo cual es más evidente en poblaciones cerradas que reciben estos tipos de tratamientos como ocurre en el ambiente hospitalario (Rodríguez *et al.*, 2003).

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad obtenidas en este estudio, ponen en evidencia lo anteriormente descrito, al observar altos porcentajes de cepas resistentes.

En lo que respecta a los aminoglucósidos, cuyo mecanismo de acción está caracterizado por ser rápidos bactericidas, podemos apreciar en el presente estudio una resistencia elevada principalmente frente a la gentamicina: 100% de resistencia para *E. coli* y *Citrobacter* sp., y solo el 50% en *K. pneumoniae*. Probablemente en

estas cepas se deba a la presencia de enzimas Aminoglucosido-acetiltransferasa (AAC), que acetilan grupos amino utilizando como cofactor la acetil-coenzima A, específicamente la enzima acetilante AAC(3)-II, que inactiva a dicho antibiótico (Mella *et al.*, 2004). Resultados similares fueron descritos por Ferrer *et al.* (2004), al evaluar la resistencia bacteriana en la Unidad de Cuidados Intensivos pediátricos de hospitales de Cuba, encontrando resistencia elevada principalmente frente a *Enterobacter sp* y *Citrobacter sp*. Díaz *et al.* (2004), en su estudio de resistencia a gentamicina, amikacina y ciprofloxacina en cepas hospitalarias de *K. pneumoniae* productoras de BLEE, determinaron la capacidad de las cepas de producir EMA (Enzimas modificadoras de aminoglucosidos) mediante la presencia de los genes que la codifican: el gen *aac (3)-IIa* (36%) que media la resistencia a gentamicina.

Sin embargo, el mecanismo de resistencia implicado para *P. aeruginosa* frente a gentamicina (100%) suele ser diferente. En este caso se trata de una mutación cromosómica del gen encargado del transporte de dicho aminoglucósido al interior de dicha bacteria (Ramos *et al.*, 2000). En España Bouza *et al.* (2003) reporta 31% de resistencia para la gentamicina en *P. aeruginosa*, siendo el mecanismo anteriormente descrito, el responsable de dicho porcentaje de resistencia.

Es importante hacer resaltar que la gentamicina, por su bajo costo, continua siendo de elección en infecciones intrahospitalarias severas causadas por enterobacterias y *P. aeruginosa*, esto hace inferir que en los centros hospitalarios incluidos en el presente estudio la gentamicina sigue siendo parte de la terapéutica empleada para dichas infecciones.

La poca vulnerabilidad de la amikacina a las enzimas inactivantes EMA, hace que su actividad sea mucho más efectiva. Esto podría explicar la alta sensibilidad encontrada en cepas de *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*. Estos resultados no coinciden con los descritos por Díaz *et al.* (2004), en el cual el 69% de las cepas de

K. pneumoniae aisladas en su estudio eran portadoras de los genes *aac (6')-Ib* y el gen *ant (3'')-Ia* que media la resistencia a amikacina. Sin embargo, los niveles de resistencia observados en los aislamientos de *E. coli* y *Citrobacter* sp. en el presente estudio, frente a dicho antibiótico, sugieren la presencia en estas cepas de enzimas AAC, específicamente la AAC(6')-I. Esta última EMA ha sido informada en Chile, con un importante incremento de cepas que la producen, posiblemente a causa del uso frecuente de este aminoglucósido (Mella *et al.* , 2004).

Parte de la resistencia antimicrobiana en bacterias Gram negativas es debido a la reducción de entrada, causada por la disminución en la cantidad de proteínas específicas porinas, especialmente (OmpF). Esto produce un amplio espectro de resistencia frente a el cloranfenicol, trimetoprin/sulfametoxazol, quinolonas y tetraciclinas. Por este medio la resistencia es usualmente baja porque lo que logra es impedir u obstruir antes que prevenir completamente y su significado clínico se ve solo cuando otro mecanismo de resistencia es activado (Lakshmi *et al.*, 2000).

La producción de la enzima cloranfenicol acetiltransferasa es el mecanismo mayormente utilizado por las bacterias Gram negativas para resistir al cloranfenicol, siendo transmitida la resistencia por plásmidos adquiridos por conjugación. Esta enzima convierte al antibiótico en monoacetato o diacetato. Estos derivados son incapaces de adherirse a la subunidad 50s ribosomal de la bacteria y por tanto no se da la función normal del cloranfenicol que es inhibir la actividad de la peptidiltransferasa (Lakshmi *et al.*, 2000). El 100% de resistencia en cepas de *E. coli* y *Citrobacter* sp., y solo el 50% de resistencia en cepas de *K. pneumoniae*, probablemente tiene que ver con la presencia de dicha enzima en éstas cepas. Dichos resultados concuerdan con los reportados por Sánchez, *et al.* (2005), en el cual el 100% de las cepas de *K. pneumoniae* aisladas en su estudio mostró resistencia a el cloranfenicol.

En la actualidad los β -lactámicos siguen constituyendo las mejores opciones terapéuticas antimicrobianas. Sin embargo, la efectividad de los mismos ha sido contrarrestada por la aparición de las β -lactamasas. Los genes que codifican estas enzimas pueden residir en el cromosoma bacteriano o en plásmidos, y son de mayor relevancia ya que pueden ser transferidas a diversos géneros bacterianos y diseminadas en el ambiente hospitalario y en la comunidad (Fréré, 1995).

En el presente estudio, es de particular interés los resultados obtenidos para cefalosporinas de tercera generación (CF3G), el fenotipo de resistencia a dichos antibióticos sugiere la producción de BLEE, encontrándose una correlación entre cepas provenientes del centro hospitalario público (100%) con centros hospitalarios privados (centro II: 50%). Esto ocurre solo en cepas de *E. coli*.

Dichos resultados coinciden con los señalados por Herrera *et al.* (2002), quienes encontraron un alto porcentaje de *E. coli* resistente a CF3G (98,80%) aisladas en pacientes con IN. Al respecto, Martínez *et al.* (2005) reportaron un elevado porcentaje de resistencia (80,50%) a las CF3G y aztreonam y una sensibilidad del 100% para imipenen y meropenen.

Es importante hacer resaltar que para el año 2001 los porcentajes de resistencia a CF3G mediadas por BLEE venían en descenso (24,40%), en comparación con años anteriores (40,30%) (Rodríguez *et al.*, 2003). Sin embargo el presente estudio hace evidente un notorio aumento de cepas resistentes a CF3G mediadas por BLEE.

Las β -lactamasas de espectro expandido (BLEE) son enzimas que presentan un espectro incrementado de actividad hidrolítica contra las cefalosporinas de 3era y 4ta generación y sobre el aztreonam. Son derivadas a partir de mutaciones puntuales de las β -lactamasas de espectro amplio (BLEA) TEM-1, TEM-2 y SHV-1, aunque existen otras familias de BLEE como las tipos CTX-M y PER que tienen orígenes

diferentes y una escasas relación estructural con las TEM y SHV. Es importante destacar que CTX-M, inactiva fuertemente a cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y aztreonam mientras que lo hace pobremente frente a ceftazidima (Medeiros, 1997). No obstante, se encuentra documentado que la presencia de BLEE se relaciona con fracaso de tratamiento cuando se utilizan cefalosporinas de 3era o 4ta generación. Ello se debe a que la presencia de un alto número de bacterias en un determinado foco infeccioso aumentaría la cantidad de enzima que inactiva a todas las cefalosporinas.

K. pneumoniae presentó un fenotipo productor de BLEE y una alta resistencia a CIP (centro I: 50%), contraria a la baja resistencia de *E. coli* a dicho antimicrobiano. Dichos resultados coinciden con los descritos en otras partes del mundo. Sin embargo, Miranda *et al.* (2006) señala en su investigación realizada en hospitales de Colombia resistencia baja de *K. pneumoniae* para CIP, contraria a la alta resistencia de *E.coli*. Esto es un buen ejemplo de cómo los mecanismos de resistencia operan en forma diferente en cada bacteria y de que manera la selección de resistencia puede ser específica para cada antibiótico y para cada sitio donde se realice el estudio.

Estudios recientes demuestran una correlación entre las tasas de resistencia en *K. pneumoniae* mediada por BLEE y ciprofloxacina. Aunque mutaciones cromosómicas son las principales responsables de la resistencia a quinolonas en enterobacterias, estas pueden también ocurrir, entre otros, a través de determinantes genéticos (*Qnr*) codificados por plásmidos (Martinez *et al.*, 1998). Corkill (2005), describe la presencia de cepas bacterianas que expresan BLEE de diferentes tipos (SHV-5, SHV-7, SHV-12, CTX-M14, CTX-M15 y VEB-1) concomitante a *Qnr*. Esta asociación de genes de resistencia a antimicrobianos podría explicar el fenómeno de resistencia asociada a ciprofloxacina y *K. pneumoniae* productora de BLEE en nuestro estudio, y por tanto la capacidad de coselección entre ambos tipos de resistencia y fármacos. Quizás en el centro hospitalario I han circulado cepas con

tales características, que conjuntamente con uso elevado de ciprofloxacina, han proporcionado el escenario adecuado para tal hallazgo.

Los resultados de informes de vigilancia de la resistencia antimicrobiana en el mundo, tales como los hallazgos de SENTRY presentados en la 37 Conferencia Internacional de Agentes Antimicrobianos y Quimioterapia (ICAAC), muestran la emergencia de la alta resistencia de *K. pneumoniae* y destaca que, especialmente en Latinoamérica, las cepas resistentes son tres veces más prevalentes que en los Estados Unidos y tienen un mayor porcentaje de resistencia (37%) a CF3G como la ceftazidima (Sader *et al.*, 2001). Un informe más reciente resalta entre los resultados importantes la resistencia que presentan la mayoría de bacterias, incluidas las Gram negativas, a las fluoroquinolonas. (Miranda *et al.*, 2006)

En el ámbito hospitalario, *K. pneumoniae* es frecuentemente relacionado con IN en UCI y salas de pediatría, donde se aíslan con frecuencia cepas resistentes a CF3G con resistencia combinada (corresistencia) a múltiples antimicrobianos. Con la proliferación de cepas multirresistente, el problema de las IN causadas por *K. pneumoniae* es aún mayor, ya que al ser más difíciles de tratar dan lugar a incrementos en las tasas de mortalidad, en las estadías hospitalarias y en los costos de atención (Silva *et al.*, 2001).

En Argentina, Rossi (2002) a través de la red WHONET, la cual está integrada por 21 laboratorios, señaló que el 71% de los aislados de *K. pneumoniae* recuperados presentaron resistencia a las CF3G y 60% a la gentamicina. Herrera (2002), encontró un 77,90% de *K. pneumoniae* productoras de BLEE en un hospital de niños en Costa Rica. En Venezuela, específicamente en el estado Sucre, García (2006), señala en su estudio de susceptibilidad antimicrobiana en *K. pneumoniae*, altos porcentajes de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos ensayados.

Pseudomonas aeruginosa presentó perfiles de resistencia más elevados a los antibióticos utilizados y especialmente es notoria la resistencia a Imipenem (Centro I). Nuevamente aparecen diferencias entre bacterias de distintas especies en su comportamiento frente a los antibióticos, así, es inusual encontrar resistencia a carbapenemos en enterobacterias, mientras que *P. aeruginosa* puede seleccionar mayor resistencia a este grupo de antimicrobianos (Livermore, 2002).

Se han descrito mecanismos de resistencia por carbapenemasas mediadas por plásmidos, metalo- β -lactamasas y proteasas de espectro extendido y aunque de momento son infrecuentes, su evolución es impredecible. El caso específico es el cierre de la porina OprD para el paso de los carbapenemos al interior de *P. aeruginosa*, que se asocia con una producción de AmpC, generando resistencia a carbapenemos y no necesariamente a otros betalactámicos. En nuestro estudio se reporta un 50% de *P. aeruginosa* con resistencia *in vitro* por lo menos a carbapenemos, lo que sugiere presencia de cepa con producción de AmpC.

La resistencia a antibióticos β -lactámicos en *P. aeruginosa* desencadenada por el mecanismo descrito anteriormente, conlleva a una depresión parcial o total de la enzima por mutación (*ampD*), con el consecuente aumento en la resistencia de ticarcilina, piperacilina, aztreonam, ceftazidima y cefepima. Algunos de estos antibióticos fueron probados en nuestro estudio para dicha bacteria, y cuyos porcentajes de resistencia obtenidos, por lo menos ponen en evidencia lo anteriormente descrito (Vila *et al.*, 2002).

No obstante, la alta sensibilidad de *P. aeruginosa* frente al aztreonam (100%) sugiere la presencia de metalo- β -lactamasas clase B (no confirmada en nuestro estudio) en el 50% de estas cepas, dicha cepa proveniente del centro hospitalario I. Este tipo de metalo- β -lactamasas tienen dos familias importantes, las VIM y la IMP, y aunque poseen baja homología en su secuencia de aminoácidos (aproximadamente

el 30%), tienen propiedades similares. Estas metalo- β -lactamasas son transferibles puesto que su gran mayoría se encuentran en genes que la codifican. Habitualmente, estas enzimas están asociadas con otros genes de resistencia, lo cual les permite ser resistente a múltiples antibióticos (Suárez *et al.*, 2006).

Takahashi *et al.* (2000), señala a las metalo- β -lactamasas como las responsables de generar resistencia a los β -lactámicos (cefalosporinas, cefamicinas, carbapenem), aminoglucósidos y quinolonas, y presenta sensibilidad variable al aztreonam. Aunque el grado a imipenem varia, la resistencia a ceftazidima es de alto grado (Arakawa *et al.*, 2000).

El uso de los carbapenemicos en la práctica clínica debe ser especialmente juicioso, primero porque constituye casi la única terapia eficaz frente a las BLEE y segundo porque su uso indiscriminado puede inducir la aparición de cepas de bacilos Gram negativos no fermentadores (*P. aeruginosa*) multirresistentes (Corbella *et al.*, 2000).

Otro mecanismo de resistencia que puede ser el responsable de la alta resistencia de *P. aeruginosa* frente a la mayoría de los antibióticos probados en la presente investigación, es la presencia en dicha bacteria, de determinantes que codifican para mecanismos como la bomba de expulsión (MexAB-OprM: proteína bomba en la membrana citoplasmática). Este mecanismo es efectivo en diferente medida a tetraciclina, el cual es transportada activamente fuera de la célula, y así no es conseguida una adecuada concentración de dicho antibiótico dentro de la célula (Gómez *et al.*, 2005).

En nuestro estudio, se reportan 100% de resistencia de *P. aeruginosa* a tetraciclina (centro II y IV), y solo el 50% en el centro I. Igualmente ocurre con cepas de *K. pneumoniae*, 100% de resistencia a tetraciclina (centro III) y 50% en el

centro I. Esto indica que, en los centro hospitalarios incluidos en el presente estudio, se encuentran cepas de *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* que operan con el mecanismo de resistencia anteriormente descrito. Sin embargo, es de hacer resaltar que tales cepas se encuentran mayormente distribuidas en centros hospitalarios privados que en el centro hospitalario público. Esto es debido al uso más frecuente de tetraciclina en los centros hospitalarios privados que en el centro hospitalario público.

Benavides *et al.* (2004), encontró en su estudio de vigilancia de la resistencia de antibióticos de bacilos Gram negativos en hospitales de tercer nivel de la ciudad de México a *P. aeruginosa* como la responsable de una amplia distribución en dichos hospitales y cuya resistencia era mayor para la mayoría de los antibióticos probados. Al respecto, Martín *et al.* (2000), demostraron un alto porcentaje de resistencia ante los diferentes antimicrobianos analizados de cepas de *P. aeruginosa* provenientes de hospitales públicos y privados de Venezuela. Standiford (2005), señala en su estudio de resistencia de Cloranfenicol y Tetraciclina en cepas provenientes de hospitales en EE.UU, a *K. pneumoniae* con patrones de resistencia elevados frente a dichos antibióticos.

Los patrones de resistencia mostrados para cada uno de los antimicrobianos probados en *Citrobacter* sp., fueron similares en todos centros hospitalarios escogidos para el presente estudio. Sin embargo, las cepas de dicha bacteria provenientes del centro hospitalario I, evidenció presencia de BLEE. Moraga *et al.* (2007), en su investigación para evaluar fenotipos de resistencia en bacilos Gram negativos en el Hospital Torres Galdames en Chile, señala a *Citrobacter* sp. como responsable de altos porcentajes de resistencia.

La alta resistencia de *Citrobacter* sp. frente a trimetoprín/sulfametoxasol en el 100% de dicha bacteria en los diferentes centros hospitalarios, se relaciona con resistencia de tipo cromosomal o mediada por plásmidos. Esto permite inhibir pasos

secuenciales de la síntesis de tetrahidrofolato desde el ácido para aminobenzoico, la cual es requerido en la síntesis bacteriana de los aminoácidos (Zolezzi, 1997). Este mecanismo de resistencia también es compatible en cepas de *K.pneumoniae*, lo que indica que los altos porcentajes de resistencia que se reportan para trimetoprin/sulfametoxazol para dicha bacteria en la presente investigación (centros I y III), se debe a tal mecanismo. En Santo Domingo- República Dominicana, Sánchez, *et al* (2005) reporta en su estudio 88,90% de *K. pneumoniae* resistente a trimetoprin/sulfametoxazol. Chumpitaz *et al* (2001) reporta 70% de resistencia a trimetoprin/sulfametoxazol en bacterias Gram negativas, siendo *Citrobacter freundii* el de mayor resistencia a dicho antibiótico (100%).

Citrobacter spp. es un germen que causa en el periodo neonatal sepsis y meningitis con necrosis cerebral extensa. Se ha demostrado al *Citrobacter* sp. como germen causante de epidemias en salas de cunas y últimamente se han realizado varios estudios a este respecto (Voges *et al.*, 1999).

Al realizar una comparación de los patrones de resistencia de cada uno de los centros hospitalarios estudiados en el presente trabajo, no se encontraron diferencias significativas, lo que sugiere una diseminación de cepas portadoras de resistencia en ambiente intrahospitalario tanto públicos como privados.

Se debe destacar que las cepas analizadas en la presente investigación, presentaron un patrón de resistencia amplio a los antimicrobianos ensayados. De continuar diseminándose mecanismos de resistencia como los hallados en el presente estudio, se podría generar una disminución en las posibilidades terapéuticas para tratar a las IN.

En los hospitales públicos es relevante la frecuencia de contactos persona a persona, lo que explicaría en parte, las diferencias que encontramos en el presente

estudio, entre cepas productoras de BLEE provenientes de hospitales públicos y cepas no productoras de BLEE provenientes de hospitales privados (Martín *et al.*, 2003). En estos últimos centros siguen siendo útiles los antimicrobianos β -lactámicos que por su alta resistencia, no todos lo son en igual medida en los centros hospitalarios públicos.

CONCLUSIONES

Se encontró una elevada frecuencia de bacilos Gram negativos en los cuatro centros hospitalarios estudiados.

El Centro I presentó mayor frecuencia de bacilos Gram negativos.

E. coli fue el germen más frecuente aislado, seguido de *Citrobacter* sp., *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*.

Todas las bacterias aisladas en este estudio mostraron resistencia a la mayoría de los antimicrobianos ensayados.

Las cepas de *E. coli* y *Citrobacter* sp. aisladas del Centro Hospitalario I, expresaron fenotipo de resistencia predominante hacia la producción de BLEE tipo TEM o SHV.

RECOMENDACIONES

Establecer y poner en práctica sistemas de vigilancia epidemiológica activo de IN que permitan prevenir brotes.

Realizar estudios sistémicos sobre IN en las salas de Neonatología y normalizar la toma de cultivos periódicamente.

Poner en práctica las normas establecidas para mantener la higiene hospitalaria evitando el hacinamiento, mejorando los sistemas de ventilación y así evitar la contaminación.

Exigir al personal de salud el estricto cumplimiento de los protocolos y medidas asepticas.

Confirmar la producción de metalo- β -lactamasas presentes en cepas de *P. aeruginosa* aisladas en el presente estudio.

Mantener la perspectiva epidemiológica reconociendo el cambio de flora en cada uno de los servicios de cada centro hospitalario y la susceptibilidad de la misma, que permitan cambios terapéuticos precoces.

Tomar en cuenta los resultados de este estudio para modificar las conductas terapéuticas utilizadas en los pacientes hospitalizados en los centros hospitalarios.

BIBLIOGRAFÍA

Alonso, B.; Aragón, V. y Bengoechea, J. 1999. *Manual práctico de Microbiología*. Segunda edición. Masson. Impreso en España.

Alonso, G.; Malaver, E.; Guzmán, M. y Rodríguez- Lemoine. 2005. Caracterización de plásmidos e integrones presentes en bacterias multiresistentes aisladas en diferentes ambientes de Venezuela. *Mem. Inst. Biol. Exp.*, 4(1): 81- 84.

Arakawa, Y.; Shibata, N. y Shibayama, K. 2000. Convenient test for screening metallo- β -lactamase producing Gram-negative bacteria by using tiliquinone compounds. *J. Clin. Microbiol.*, 38(1): 40-43.

Balows, A.; Hausler, W.; Hermann, K.; Isenberg, H. y Shadomy, H. 1991. *Manual of clinical microbiology*. Quinta edición. American Society for Microbiology. Washington, D.C.

Bauer, H.; Kirby, W.; Sherris, J. y Tench, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45(1): 493-496.

Benavides, L.; Aldama, A.; Vázquez, H. 2005. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la ciudad de México. *Sal. Públ. Mex.*, 47(1): 220.

Bergogne, B.; Decré, D.; Guillou, J. 1993. Opportunistic nosocomial multiply resistant bacterial infections - their treatment and prevention. *J. Antimicrob. Chemother.*, 34(6): 39-47.

Bouza, E. y García, F. 2003. *Pseudomonas aeruginosa*: A multicenter study in 136 hospitals in Spain. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 16(1): 41-52.

Bove Urbina, Silvia M. 2000. Prevalencia de las infecciones nosocomiales en Pediatría, Hospital Materno Infantil Dr. "Fernando Velez Paiz". Tesis monográfica para optar al título de Especialista en Pediatría. Universidad Nacional Autónoma, Managua, Nicaragua.

Carranza, A.; Rodríguez, D. y Díaz, J. 2003. Etiología y resistencia bacteriana de las infecciones urinarias en pacientes hospitalizados en el centro médico naval entre enero y diciembre del 2003. *Rev. Soc. Per. Med. Inter.*, 16(3): 35-13.

Centurión, S.; Ayala, J.; Acosta, M.; Ortellado, J. y Velásquez, G. 1999. Estudio

bacteriológico en unidades de cuidados intensivos relacionados a infecciones intrahospitalarias. *Rev. Par. Microbiol.*, 10(1): 49-53.

Chumpitaz, J.; Medina, J.; Huamán, A.; Cigüeña, S. y Palomino, S. 2001. Resistencia bacteriana en infecciones intrahospitalarias de vías urinarias. *Rev. Per. Enf. Infec. Trop.*, 1(4): 123-136.

Clinical and Laboratory Standards Intitute (CLSI). 2005. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; *Fifteenth Informational Supplement.*, 25(1): 178-180.

Corbella, X.; Montero, A.; Pujol, M.; Domínguez, M.; Ayats, J.; Argerich, M.; Garrigosa, F.; Ariza, J. y Gudiol, F. 2000. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol.*, 38(1): 4086-4095.

Corkill, J.; Anson, E. y Hart, C. 2005. High prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnrA in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* from blood cultures in Liverpool, UK. *J. Antimicrob. Chemother.*, 56(6): 1115-1117.

Crespo, M. 2003. La lectura interpretativa del antibiograma. Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colomb. Med.*, 33(4): 179-193.

Dawsen, S. y Robert, G. 1997. *Bioestadística médica*. Editorial el Manual Moderno S.A. México D.F.

Díaz, P.; Bello, H.; Domínguez, M.; Trabal, N.; Mella, S.; Zemelman, R. y González, G. 2004. Resistencia a gentamicina, amikacina y ciprofloxacina en cepas hospitalarias de *Klebsiella pneumoniae* subespecie *pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido. *Rev. Méd. Chil.*, 132(10): 1173-1178

Fernández, F.; López J. y Ponce, L. 2003. Resistencia bacteriana. *Rev. Cub. Med. Mil.*, 8(1): 138-147.

Ferrer, M.; Dueñas, L. 2004. Enfermedades infecciosas y resistencia bacteriana en una unidad de cuidados intensivos pediátricos. Trabajo de especialización para optar al título de especialista en pediatría. Hospital general Dr. Antonio Luaces Iraola, Cuba.

Fuchs, L.; Chihu, L.; Conde, C.; Gozález, M.; Noquez, T.; Calderón, E.; Avonce, N. y Ovando, C. 1994. Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. *Salud Públ. Mex.*, 36(4): 428-438.

- Fréré, J. 1995. Beta-lactamases and bacterial resistance to antibiotics. *Molec. Microb.*, 16(3): 385-395.
- García, J. 2006. 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 grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Gómez, C.; Leal, A.; Pérez, M. y Navarrete, Myriam. 2005. Mecanismos de resistencia en *Pseudomona aeruginosa*: Entendiendo a un peligroso enemigo. *Rev. Fac. Med. Univ. Nac. Colomb.*, 53 (1): 1-8.
- González, A.; Alcantar, D.; Cuahtli, M.; Gyosso, C. y Solache, G. 2001. Multiresistant extended-spectrum β -lactamase producing *K. pneumoniae* causing an outbreak of nosocomial bloodstream infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 22(3): 723-725.
- Haley, R.; Culver, D.; White, J.; Morgan, W.; Emori, T.; Munn, V. y Hooton, T. 1998. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections U. S. Hospital. *Am. J. Epidemiol.*, 121(2): 182-205.
- Hernández, J.; Martínez, L.; Canton, R.; Coque, T. y Pascual, A. 2005. And the Spanish Grup for Nosocomial Infections (GEIH): Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamasas in Spain. *Antimicrob. Agent. Chemother.*, 49(5): 2122-2125.
- Herrera, L.; Muñoz, J. y Medina, H. 2002. *Escherichia coli* fecal resistente a antibióticos en niños sanos. ¿Inducción por uso de antibióticos?. *Rev. Invest. Clin.*, 54(2): 8334-8376.
- Jarlier, V.; Nicolas, M.; Fournier, G. y Philippon, A. 1988. Extended broad-spectrum β -lactamasas conferring resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect. Dis.*, 10(7): 867-878.
- Klein, B.; Perloff, W. y Maki, D. 1999. Reduction of nosocomial infection during pediatric intensive care by protective isolation. *N. Eng. J. Med.*, 320(26): 1714-1721.
- Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Washington, W. 2002. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana.
- Kummerer, K. 2003. Significance of antibiotics in the environment. *J. Antimicrob. Chemotherap.*, 52:(1) 1-7.

Kummerer, K. 2004. Resistance in The environment. *J. Antimicrob. Chemotherap.*, 54(2): 311-320.

Lakshmi, K.; Jalal, H.; y Shahriar, M. 2000. Aminoglycosides: Perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrob. Agent. Chemotherap.*, 44(12): 3249-3256.

Livermore, D. 2002. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 8(1): 557-584.

Lossa, G. 1999. Infecciones intrahospitalarias. *Rev. Med.*, 59(1): 23-24.

Mac Faddin, J. 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Quinta edición. Editorial Panamericana.

McClelland, R. 2001. Gram stain: The key to microbiology isolate identification method. *Med. Lab. Obs.*, 16(2): 1-6.

Martin, N.; Carmona, O. y Guzmán M. 2000. Una década en la evolución de la resistencia a β -lactámicos por bacilos Gramnegativos en centros médicos de Venezuela. *Archiv. Venez. Farmacol. Terap.*, 19(2): 1050-1055.

Martín, G.; Carmona O. y Guzmán, M. 2003. Resistencia a beta lactámicos y aminoglucósidos en *Pseudomonas aeruginosa* en centros médicos de Venezuela durante el año 2000. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 23(2): 1- 14.

Martín, G.; Carmona, O.; Comegna, M; Guzmán, M. y Grupo Venezolano de vigilancia de la Resistencia bacteriana. 2003. Tendencia de la resistencia a beta lactámicos y otros antimicrobianos de *Pseudomonas aeruginosa* en Hospitales de Venezuela. Resistencia nosocomial y comunitaria. *Rev.Soc. Ven. Microbiol.*, 23(1): 21 - 29.

Martínez, L.; Pascual, A. y Jacoby, G. 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351(1): 797-799.

Martínez, R. 2001. Frecuencia a antibióticos en bacterias aisladas de muestras clínicas y de ambientes del “Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Edo. Sucre. Trabajo para ascender a la categoría de Profesor Asistente. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Martínez, P.; Espinal, P.; Bustos, A. y Mattar, S. 2005. Prevalencia de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. *Rev. Med. Colomb.*, 8(1):15-22.

Martínez, P.; Mercado, M. y Mattar, S. 2003. Determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. *Rev. Colomb. Med.*, 34(4): 196-205.

Márquez, C. 2003. Estudio bacteriológico del ambiente y del personal de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal del Hospital “ Dr. Luis Ortega” de Porlamar- Estado Nueva Esparta. Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Medeiros, A. 1997. Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clin. Infect. Dis.*, 24(suppl 1):19-45

Mella, S.; Sepúlveda, M.; Gonzáles, G.; Bello, H.; Domínguez, M.; Zemelman, R. y Ramírez, C. 2004. Aminoglucósidos-aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Rev. Chil. Infect.*, 21(4): 330-338.

Mendivil, C.; Egüés, J.; Polo, P.; Ollaquindía, P.; Nuin, M.; y Del Real, C. 2001. Nosocomial infection, surveillance and control in neonatology infection, Boston. USA. *Anal. Sist. Sanit. Nav.*, 23(1): 177-184.

Miranda, M.; Perez, F.; Zuluaga T.; Olivera, M.; Correa, A.; Reyes, S. y Villegas, M. 2006. Resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en unidades de cuidado intensivo en hospitales de Colombia, WHONET 2003, 2004 y 2005. *Biomed.*, 26(1):424-33.

Moraga, R.; Santander, E.; Arias, T. y Mendez, F. 2007. Integrones y su relación con el fenotipo de resistencia en bacilos Gram negativos aislados en el Hospital Torres Galdames de Iquique, Chile. *Rev. Chil. Infect.*, 24(5): 384-390.

Mullet, M.; Cook, E. y Gallagher, R. 1998. Nosocomial sepsis en the neonatal intensive care unit. *J. Perinatol.*, 18(2): 112-115.

Navarro, P.; Andrade, E.; Villarroel, E.; Jacobowicz, S. y González, M. 1999. Evaluación bacteriológica de los hemocultivos del Hospital Universitario de Caracas. Parte II. Bacterias gram-negativas. *Antib. Inf.*, 7(4): 29-32.

Ostroff, S.; Kobayashi, J. y Lewis, J. 2002. Infections With *E. coli* O157:H7 in Washington State. *JAMA.*, 262(1): 355-359.

Organización Mundial de la Salud. 2002. *Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos*. Publicación científica. OPS-OMS.,11-17.

Organización Mundial de la Salud. 2007. *Prevención vigilancia y control de las*

infecciones nosocomiales. Publicación científica. OPS-OMS., 15-150.

Ortiz, R. 2000. Factores de riesgo asociados al desarrollo de las infecciones nosocomiales en la unidad de terapia intensiva del Hospital Manuel Jesús Rivera, en los meses de julio 1999 a diciembre 2000. Tesis monográfica para optar al título de Especialidad en Pediatría. U.N.A. Nicaragua, Managua.

Pedroza, R.; Torres, L.; Narváez, P.; Alonso, G.; y Rodríguez, V. 2001. Multiresistencia a agentes antimicrobianos mediada por plásmidos en bacilos Gram Negativos de origen hospitalario. *Mem. Inst. Biol. Exp.*, 3(1): 97.

Ponce, Y. 2003. Patrones de susceptibilidad de bacilos Gram negativos, provenientes de pacientes con sepsis neonatal de la unidad de retén del Servicio Autónomo "Hospital Antonio Patricio de Alcalá" Cumaná, Edo. Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Cumaná.

Quisber, L. 1995. *Neonatología*. Primera Edición. Interamericana Mac Graw Hill. México DF.

Ramos, J.; Llanos, R. y Gómez, J. 2000. Los aminoglucósidos en la nueva década: su uso en la clínica práctica. *Rev. Esp. Quimio.*, 13(4).

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 de dos periodos (1998-2001). *Med. B. Aires*, 63(1): 800-807.

Romero, R. 2004. Factores asociados a infecciones nosocomiales en el servicio de neonatología del Hospital Fernando Velez Paiz. Tesis monográfica para optar al título de Especialista en Pediatría. Universidad Nacional Autónoma, Managua, Nicaragua.

Rossi, A.; Tokumoto, M.; Galas, M.; Soloaga, R. y Corso, A. 2002. Monitoring antibiotic resistance in Argentina. The WHONET program. *Rev. Panam. Salud Pública.*, 6(4): 234-241.

Ryan, K. y Ray, G. 2004. Sherris. *Microbiología Médica*. Cuarta edición. Mc.Graw Hill. Impreso en México.

Sader, H.; Jones, R.; Gales, A.; Silva, J.; Pignatari, A. y SENTRY Participants Group (Latin Americ). 2001. SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through. *Braz. J. Infect. Dis.*, 8(3): 25-79.

Sánchez, J.; Iglesias, J.; Fernández, J.; Pérez, E; Ramírez, S.; Ortega, G. y Jiménez, L.

2005. Aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productora de Beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) en recién nacidos en el Hospital Infantil Dr. Robert Reid Cabral de

Santo Domingo, República Dominicana. *Rev. Panam. Infect.*, 7(4): 15-20.

Sarría, L.; Villamizar, D.; Sánchez, F.; Iotta, A.; Guevara, C.; Jiménez, M.; y Besso, J. 1994. Infecciones nosocomiales en terapia intensiva. *Antib. Infect.*, 2(4): 41.

Silva, J.; Aguilar, C.; Ayala, G.; Estrada, M.; Garza, R.; Lara, L. y Ledezma, L. 2001. TLA-1: a new plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44(2): 997-1003.

Standiford, H. 2005. Resistencia tetracycline and cloramphenicol in cepas provenientes del hospital EE.UU. *Clin. Microbiol. Rev.*, 5(1): 387-99.

Suárez, C.; Kattán, J.; Guzmán, A. y Villegas, M. 2006. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infect.*, 10(2): 85-93.

Takahashi, A.; Yomoda, S. y Kobayashi, I. 2000. Detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Hospital. *J. Clin. Microbiol.*, 38(1): 526-529.

Tinoco, L.; Moiren, J.; Pérez, M.; Santillan, E. 1997. Epidemiología de las infecciones nosocomiales en un hospital de segundo nivel. *Salud Públ. Mex.*, 39(2): 25-31.

Tinoco, L.; Moiren, J.; Pérez, M. y Santillan, E. 2002. Epidemiología de las infecciones nosocomiales en hospitales de segundo nivel. *Salud Públ. Mex.*, 6(2): 105-125.

Topia, R. 1999. Infecciones nosocomiales. *Salud Públ. Mex.*, 41(1): 203-204.

Trucco, O.; Prado, V.; Duran, C. y grupo PRONARES. 2002. Red de vigilancia de resistencia antimicrobiana PRONARES. Informe primer semestre 2001. *Rev. Chil. Infectol.*, 19(2): 102-108.

Vila, J. y Francesc, M. 2002. Lectura interpretativa del antibiograma de bacilos Gram negativos no fermentadores. *Microbiol. Clin.*, 20(6): 304-12.

Voges, L.; Ferguson, L. y Gotoff, S. 1999. "Citrobacter infections of the central nervous system in early infancy". *J. Pediat.*, 65(6): 86-88.

Zolezzi, A. 1997. Antibióticos en gastroenterología. *Rev. Gastroenterol. Per.*, 17(1): 18-23.

Hoja de Metadatos

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Las infecciones nosocomiales (IN) constituyen un problema médico, social y económico, representando una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el paciente, siendo las áreas de atención a pacientes en estado crítico y recién nacidos las más afectadas por dichas infecciones. El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la frecuencia de bacilos Gram negativos (posibles agentes etiológicos de IN) en muestras ambientales procedentes de la Unidad de Neonatología de diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Se tomaron muestras ambientales de la Unidad de Neonatología del Servicio Autónomo del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (Centro I) y de tres Centros hospitalarios privados (Centro II, III, IV), según el método de análisis por sedimentación en placas. Se aislaron 53 cepas de ambiente, las cuales se identificaron mediante métodos bioquímicos convencionales, encontrándose una mayor proporción de bacilos Gram negativos (52,83%), en relación a los Gram positivos (47,17%); la mayoría de estos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, destacándose la *Escherichia coli* con una frecuencia de aislamiento del 35,70%, seguida de *Citrobacter* sp. (28,57%); *Klebsiella pneumoniae* (21,43%) y *Pseudomonas aeruginosa* (14,29%). El Centro I presentó el mayor porcentaje de bacilos Gram negativos, probablemente debido a que representa un centro hospitalario público, donde normalmente existe poco control de los sistemas de vigilancia epidemiológica. En cuanto a los patrones de susceptibilidad expresados por las especies aisladas en los Centros hospitalarios escogidos para el presente estudio, éstas mostraron altos porcentajes de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos probados. Todas las especies bacterianas aisladas en el Centro I expresaron fenotipo de BLEE (β -lactamasas de espectro extendido), siendo *Escherichia coli* y *Citrobacter* sp. las más frecuentes (100%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (50%). En vista de los resultados obtenidos, se sugiere tomar medidas que disminuyan, en cada servicio médico, la frecuencia tanto de bacterias circulantes como de IN. Esto, mediante la adopción de programas de vigilancia y control de las mismas.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Araque Yasmina	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Maribel Morillo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Rosa Martínez	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	10	08

Lenguaje: SPA

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_CJBM.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial: Universal (Opcional)

Temporal: Intemporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis.

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

Bioanálisis

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

Universidad de Oriente Núcleo de Sucre

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

Derechos:

Los autores nos reservamos los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales. Solo le damos el derecho de publicar el resumen de dicho trabajo.



Br. Carlos Javier Betancourt Maga.
AUTOR



Prof. Rosa Martínez.
TUTOR



Dra. Yessina Araque.
JURADO 1



Dra. Maribel Morillo.
JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:



Prof. Elba Salazar

