



**UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ**  
**ESCUELA DE PRE-GRADO**

*“Fovjando el desarrollo sostenible de la Amazonia”*

**TESIS**

**“PREVALENCIA DE  $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN  
ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN EL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA DEL  
HOSPITAL REGIONAL DE LORETO DESDE ENERO A JUNIO DEL 2017”**

**PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO  
EN TECNOLOGIA MEDICA EN LA ESPECIALIDAD  
LABORATORIO CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA**

**AUTOR**

**Bach. Sangama Fuchs Jorge Luis**

**Bach. Pereyra Reaño Rodrigo**

**ASESOR**

**Lic. T. M. José Alejandro Rios Carbajal**

**IQUITOS - PERU**

**2017**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

En la ciudad de Iquitos, a 26 día del mes de Marzo del 2018, siendo las 06:00 p.m., el Jurado de Tesis designado según **Resolución Decanal N° 018- 2018-UCP-FCS**, de fecha 05 de Enero del 2017, con cargo a dar cuenta al Consejo de Facultad integrado por los señores docentes que a continuación se indica:

FACULTAD DE  
CIENCIAS  
DE LA SALUD

- |   |                   |
|---|-------------------|
| ✚ Méd. Adolfo Vargas Villena                | <b>Presidente</b> |
| ✚ TML. Ronald Guido Núñez Ato               | <b>Miembro</b>    |
| ✚ Blgo. Mgr. Freddy Orlando Espinoza Campos | <b>Miembro</b>    |

Se constituyeron en las instalaciones de la Sala de Sesiones del Consejo Directivo de nuestra Universidad, para proceder a dar inicio al acto de sustentación pública de la Tesis Titulada: **“PREVALENCIA DE B-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN EL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL REGIONAL DE LORETO DESDE ENERO A JUNIO DEL 2017”**, de los Bachilleres: **JORGE LUIS SANGAMA FUCHS y RODRIGO PEREYRA REAÑO**, para optar el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADOS EN TECNOLOGÍA MÉDICA – LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**, que otorga la **UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ**, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto General de la UCP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición del sustentante y habiéndose formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas de forma SATISFACTORIA

El Jurado llegó a la siguiente conclusión:

INDICADOR	EXAMINADOR 1	EXAMINADOR 2	EXAMINADOR 3	PROMEDIO
A) Aplicación de la teoría a casos reales	3	3	3	3
B) Investigación Bibliográfica	3	3	3	3
C) Competencia expositiva (claridad conceptual, Segmentación, coherencia)	3	3	3	3
D) Calidad de respuestas	3	2	2	2
E) Uso de terminología especializada	3	3	3	3
<b>CALIFICACIÓN FINAL</b>	<b>15</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>

RESULTADO:

APROBADO POR: MAYORÍA

CALIFICACIÓN FINAL (EN LETRAS)... CATORCE

LEYENDA:

INDICADOR	PUNTAJE
DESAPROBADO	Menos de 13 puntos
APROBADO POR MAYORÍA	De 13 a 15 puntos
APROBADO POR UNANIMIDAD	De 16 a 17 puntos
APROBADO POR EXCELENCIA	De 18 a 20 puntos

TML. Ronald Guido Núñez Ato  
Miembro

Méd. Adolfo Vargas Villena  
Presidente

Blgo. Mgr. Freddy Orlando Espinoza Campos  
Miembro

PARA EL TITULO PROFESIONAL

“PREVALENCIA DE LA  $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN  
ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN EL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA DEL  
HOSPITAL REGIONAL DE LORETO DESDE ENERO A JUNIO DEL 2017”

MIEMBROS DEL JURADO



**TML. Ronald Guido Núñez Ato**  
**Miembro**



**Med. Adolfo Vargas Villena**  
**Presidente**



**Blgo. Mgr. Freddy Orlando Espinoza Campos**  
**Miembro**



**Lic. TM. José A. Ríos Carbajal**  
**Asesor**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. ASPECTOS GENERALES DEL PROYECTO.....	4
1.1 Título del Proyecto de Tesis.....	4
1.2 Tipo de Investigación.....	4
1.3 Área de Investigación.....	4
1.4 Localidad o institución donde se realiza la investigación.....	4
1.5 Fuente de financiamiento.....	4
1.6 Duración estimada.....	4
1.7 Nombre del tesista.....	5
1.8 Nombre del asesor.....	5
II. PLAN DE INVESTIGACIÓN.....	6
2.1 Planteamiento del problema.....	6
2.2 Formulación del problema.....	6
2.3 Justificación e importancia.....	7
2.4 Limitaciones .....	8
2.5 Objetivos.....	9
2.6 Marco teórico.....	10
2.6.1 Antecedentes.....	10
2.6.2 Marco teórico.....	14
III. METODOLOGÍA .....	31
3.1 Hipótesis .....	31
3.2 Variables, Indicadores e índices.....	31
3.3 Diseño de Estudio.....	32
3.4 Población y Muestra.....	32
3.5 Método de Investigación.....	33
3.6 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	33
3.7 Métodos de Análisis de datos.....	33

IV. PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	34
V. RESULTADOS.....	36
VI. DISCUSIÓN.....	43
VII. CONCLUSIONES.....	44
VIII. RECOMENDACIONES.....	45
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	46
X. ANEXOS.....	48

## I. ASPECTOS GENERALES DEL PROYECTO

### 1.1 Título del Proyecto de Tesis

“Prevalencia a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde enero a Junio del 2017”

### 1.2 Tipo de Investigación

Esta investigación principalmente pertenece al método NO EXPERIMENTAL.

- DESCRIPTIVO SIMPLE: Esta investigación consiste en describir los fenómenos como aparecen en dicha investigación. Es decir, buscan únicamente medir o recoger información sobre las variables.

El esquema es: M O

M: Muestra de pacientes que acuden a Servicio de Microbiología del Hospital Regional Loreto.

O: Pacientes con resultado positivo a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido.

### 1.3 Área de Investigación

Servicios Sociales y de Salud

### 1.4 Localidad o institución donde se realiza la investigación

Área de Microbiología del Hospital Regional Loreto

### 1.5 Fuente de financiamiento

Financiamientos propios

### 1.6 Duración estimada

6 meses

**1.7** Nombre del tesista

Bach. Sangama Fuchs Jorge Luis

Bach. Pereyra Reaño Rodrigo

**1.8** Nombre del asesor

Lic. T.M. José Alejandro Rios Carbajal

Lic. T.M. Briones Alejos Alexander Omero

## II. PLAN DE INVESTIGACIÓN

### 2.1 Planteamiento del problema

#### 2.1.1 Descripción del problema

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE o en inglés ESBL) han ganado en importancia dada la responsabilidad que poseen como mecanismos de resistencia a los antibióticos betalactámicos especialmente a las cefalosporinas de 3<sup>ra</sup> generación, a los monobactámicos y en menor medida, pero sin dejar de ser importante a los aminoglucósidos. En los últimos años se han dado datos sobre la prevalencia de las cepas productoras de BLEE y se han reportado diversos brotes hospitalarios, en ocasiones prolongados en el tiempo.<sup>i</sup>

La resistencia bacteriana es un problema antiguo, pero de gran actualidad, ya que en un marco de “austeridad” en cuanto al número de nuevas moléculas de antibiótico disponibles en el mercado, la presencia de microorganismos multirresistentes es cada vez más frecuente. *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuentemente implicado en bacteriemias nosocomiales y comunitarias, y el aislamiento de cepas productoras de BLEE se sitúa en torno al 10% en nuestro país. Las infecciones por *Escherichia coli* con BLEE han experimentado importantes cambios epidemiológicos en los últimos tiempos y actualmente la atención se centra en el aumento de infecciones y colonizaciones en pacientes procedentes de la comunidad, sobre todo en relación con instituciones sanitarias.<sup>ii</sup>

En el Perú, se tienen reportes locales sobre el avance de la resistencia antimicrobiana en varios hospitales y clínicas en Lima, Arequipa y Cajamarca.<sup>iii</sup>

Las BLEE, constituyen un problema terapéutico y epidemiológico de gran magnitud; la presencia de estas cepas en las infecciones, conllevan a multirresistencia ya que son portadoras de otros genes que provocan resistencia cruzada a Quinolonas, Aminoglucósidos e incluso Cotrimoxazol; de ahí la gran importancia de una adecuada y oportuna identificación.<sup>iv</sup>

### 2.2 Formulación del problema



¿Cómo se relaciona la prevalencia a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido y las Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017?

### **2.3 Justificación e importancia**

La resistencia antimicrobiana que han adquirido las enterobacterias a nivel mundial, es alarmante, y es la causa de un alto índice de mortalidad que puede avanzar a mayores consecuencias, de seguir en la misma línea respecto del abuso de los antibióticos, además del daño económico que representa para la población.<sup>v</sup>

Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes, son observadas generalmente en pacientes con hospitalizaciones prolongadas por factores que van desde permanencia en unidades críticas, intubación endotraqueal, ventilación mecánica, catéter urinario, catéter venoso o uso previo de antibióticos, entre otros. En pacientes que se encuentran exentos de un ambiente hospitalario no es común esperar que se produzcan infecciones por bacterias multirresistentes, por lo que es de suma importancia establecer el nivel de resistencia bacteriana que pueda existir en la población ambulatoria de Loreto, así como investigar los perfiles de resistencia que presentan dichas bacterias, frente a los antibióticos que generalmente se utilizan para combatir este tipo de infecciones.<sup>vi</sup>

El aporte que esta investigación brinda se basa en establecer el porcentaje de resistencia bacteriana mediada por enterobacterias productoras de  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido, en pacientes que acuden al servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto. Así como establecer el comportamiento que dichas bacterias presentan frente a los diferentes antibióticos empleados. Actualmente, la ciudad capital, son muy pocas las instituciones que incluyen metodologías, para detección de bacterias multirresistentes dentro de sus procedimientos. En el área rural, la situación es aún más precaria, ya que en los hospitales nacionales no se cuenta con la metodología y además se desconoce del tema. Es necesario sentar un precedente que ponga de manifiesto la presencia de enterobacterias multirresistentes en pacientes ambulatorios, para que se puedan tomar estrategias preventivas y correctivas con el fin de poder hacer frente a esta situación.<sup>vii</sup>

## **2.4 Limitaciones**

- La limitación principal fue la fuente de procedencia de los datos, que, al ser secundaria, en los registros de los pacientes no siempre se encontraron todos los datos necesarios para completar cada una de las variables. Sin embargo, en términos generales, el número mínimo obtenido para cada una de ellas consideramos fue suficiente para aceptar con seguridad los resultados.
- En contraposición a la limitación mencionada, el uso de las historias clínicas como fuente de información puede ser considerado como un registro más objetivo y con menor sesgo de memoria en comparación a la entrevista al paciente.
- Otra limitación que cabe mencionar es que no se estudió el uso de antibiótico.

## **2.5 Objetivos**

### **2.5.1 General**

Demostrar la relación entre la prevalencia a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido y las Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.

### **2.5.2 Específicos**

- Demostrar la relación entre el sexo y la frecuencia de la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.
- Demostrar la relación entre la especie de enterobacterias y la frecuencia de la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.
- Demostrar la relación entre tipos de muestras biológicas y la frecuencia de la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017

## 2.6 Marco teórico

### 2.6.1. Antecedentes

Moisés Morejón (Habana 2013) desarrollo un proyecto sobre la producción de betalactamasas que es uno de los principales mecanismos de resistencia bacteriana. Las betalactamasas son enzimas capaces de inactivar los antibióticos de la familia betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos). Las primeras descripciones de estas enzimas se realizaron poco tiempo después de comenzado el uso de las penicilinas. Con el surgimiento y uso repetitivo de nuevos betalactámicos, penicilinas semisintéticas y cefalosporinas fueron apareciendo nuevas variantes de betalactamasas, hasta que en 1983 se describen por primera vez las llamadas betalactamasas de espectro extendido capaces de inactivar las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) y el aztreonam. Aunque se han descrito con mayor frecuencia en cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, las betalactamasas de espectro extendido pueden ser producidas por cualquiera de las enterobacterias, incluso por los bacilos no fermentadores *P. aeruginosa* y *A. baumannii*.<sup>viii</sup>

Coralith García (Lima 2012) en su proyecto indica que los últimos años se ha observado un aumento en la tasa de aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* resistentes a cefalosporinas en el mundo. El principal mecanismo involucrado es la producción de  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido (BLEE) que confiere resistencia a las cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, así como al aztreonam (monobactámico). Si bien este es un problema global, varios estudios han demostrado que es más frecuente en los países latinoamericanos ya que *Klebsiella* y *E. coli* tienen una frecuencia más alta de producción de BLEE en esta región cuando se compara con las otras regiones del mundo. A continuación, describimos la clasificación, epidemiología con mayor énfasis en lo que ocurre en Latinoamérica (LA), métodos diagnósticos, tratamiento y medidas de control de las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE.<sup>ix</sup>

Delfín Álvarez (Habana 2010) en su proyecto las  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación. Son en su mayoría producidas por enterobacterias especialmente frecuentes en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. La identificación de este tipo de enzima es muy importante porque impone un plan de acción para el control de las infecciones que pudieran producirse.

Por lo que se hace necesario diferenciar entre la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y otros mecanismos de resistencia para evitar el tratamiento inadecuado de infecciones causadas por este tipo de cepas. Los procedimientos de laboratorio para la identificación de BLEE son muy importantes, existen varios métodos fenotípicos, de bioensayos, bioquímicos y genotípicos. No existe una metodología que aúne sensibilidad, especificidad y sencillez, dada la complejidad de la detección de las BLEE y sus variantes, por lo que se recomienda una adecuada interpretación de los perfiles de sensibilidad con los criterios habituales de lectura interpretada del antibiograma y posteriormente, se debe elegir el método de confirmación. Lo que permitirá conocer la verdadera dimensión del problema que representan, limitar su diseminación y adecuar las escasas opciones terapéuticas.<sup>x</sup>

Sergio Pavón (México 2011) en su proyecto las enterobacterias son los microorganismos etiológicos más frecuentemente asociados a las infecciones nosocomiales (IN), caracterizándose por su alta resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, mediada por la producción de  $\beta$ -Lactamasas de Espectro Extendido (B L E E). Su uso excesivo aumenta la selección de cepas multirresistentes, favoreciendo su propagación e incremento de las complicaciones de casos de IN. En algunos casos las cepas productoras de B L E E presentan resistencia adicional a aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol, reduciendo las opciones terapéuticas de las IN. Con la finalidad de conocer localmente la magnitud de este problema, se estudiaron 87 cepas de enterobacterias aisladas de casos de IN, encontrándose que el 26.43% son productoras de B L E E y en este caso fenotípicamente multirresistentes.<sup>xi</sup>

Calle Adriana (Lima 2017) en su proyecto determina los factores asociados al desarrollo de infecciones del tracto urinario causadas por *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Material y métodos: Estudio caso y control, realizado en el Hospital Cayetano Heredia. Se incluyeron 150 casos y 150 controles, definiéndose como caso al paciente con urocultivo positivo para *E. coli* BLEE y como control al paciente con urocultivo positivo para *E. coli* no BLEE. Se realizó un análisis bivariado y regresión logística binaria para aquellos factores que resultaron significativos en el análisis bivariado. Resultados: Después de la regresión logística binaria, los factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *E. coli* BLEE encontrados en el estudio fueron sexo masculino (OR 5,13 - IC 95% 2,37 – 11,07), edad mayor a 45 años (OR 2,65 - IC 95% 1,61 – 4,38) y hospitalización previa (OR 2,57 - IC 95% 1,39– 4,75). Conclusiones: Los pacientes varones, mayores de 45 años y con antecedente de

hospitalización en el último año estuvieron más propensos a presentar infecciones urinarias por *E. coli* BLEE, lo cual se debe tomar en cuenta para el manejo empírico de esta clase de pacientes<sup>xii</sup>.

Cajas Johanna (Cuenca 2015) en su proyecto se presenta un estudio donde se procesaron 144 muestras de orina positivas para infecciones del tracto urinario (ITU) de pacientes ambulatorios y hospitalizados procedentes del Hospital José Carrasco Arteaga ubicado en la Ciudad de Cuenca. El tipo de estudio fue descriptivo no experimental, de laboratorio y de corte transversal. Se procesaron 144 muestras positivas para Infecciones del Tracto Urinario (ITU); de las cuales 58 muestras trabajadas correspondieron a la familia Enterobacteriácea, estando en mayor porcentaje *Escherichia coli* (43%), este estudio se enfocó en la Producción de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), que correspondieron a 18 cepas de las 58 recuperadas de *E. coli*. Se llevaron a cabo pruebas presuntivas y confirmatorias, según el método descrito en el Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2014. Con las Enterobacterias BLEE positiva se realizaron pruebas de sensibilidad con otros antibióticos: Nitrofurantoína, Ampicilina, Gentamicina, Amoxicilina más Ácido Clavulánico, Ciprofloxacina y Norfloxacin; que sirvan como alternativa para una correcta terapia antimicrobiana y garantizar de esta manera un tratamiento efectivo in vivo para pacientes que participaron voluntariamente en la investigación.<sup>xiii</sup>

Quiñones Dianelys (Cuba 2014) en su proyecto realizó un estudio descriptivo en 448 aislamientos de *Klebsiella* spp. recibidos en el Laboratorio Nacional de Referencia de Microbiología del IPK (LRNM/IPK) procedentes de 40 hospitales de 12 provincias del país durante el período de 2010 a 2012. La identificación de las especies se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales y por la técnica de Espectrometría de masas MS MALDI-TOF. Se determinó la susceptibilidad a 15 antimicrobianos mediante el método E-test y la producción de BLEE mediante el método de discos combinados según las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Los genes *bla*<sub>ESBL</sub> se determinaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa según protocolo descrito previamente.

Resultados: la especie prevalente fue *Klebsiella pneumoniae* (95,1 %), seguida por *K. oxytoca* (4,5 %) y *K. ozaenae* (0,4 %). Los aislamientos procedieron, principalmente, de los servicios de Unidades de Cuidados Intensivos (26,3 %), cirugía (22 %) y neonatología (13 %). La mayor resistencia se observó para las cefalosporinas (48-52 %), trimetoprim-sulfametoxazol (49 %), gentamicina (43 %), ácido nalidíxico (38 %) y tetraciclina (34 %). El 52 % de los aislamientos fueron productores de BLEE y prevaleció la enzima CTX-M (82 %)

y la TEM (70 %). Conclusiones: se evidencia la repercusión clínica de *Klebsiella* spp. en hospitales cubanos con elevada resistencia a diferentes antimicrobianos. La producción de BLEE es un mecanismo de resistencia importante en esta bacteria en las que los carbapenémicos, la piperacilina-tazobactam, la colistina, y la tigeciclina juegan un rol terapéutico importante.<sup>xiv</sup>

Valdez Luis (Lima 2017) en su proyecto las infecciones por bacterias productoras de BLEE son un serio problema en nuestro país, y desde principios del año 2000 se ha dado un aumento progresivo en la frecuencia de las infecciones causadas por estas bacterias, en especial *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. En un estudio realizado en pacientes ambulatorios del Hospital Cayetano Heredia con infección del tracto urinario en el año 2015 se encontró que la frecuencia de *E. coli* productora de BLEE fue de 41% (5). Otro estudio en pacientes hospitalizados con bacteriemia en 9 diferentes hospitales públicos de Lima encontraron que, de 934 hemocultivos positivos entre abril del 2008 y marzo del 2009, 96 cultivos (77% de todas las *E. coli*) fueron positivos para *E. coli* productora de BLEE, siendo el 61% resistentes a Ciprofloxacina y gentamicina (6). Nuestro grupo de la Clínica AngloAmericana en un estudio retrospectivo de vigilancia de resistencia en *E. coli*, encontró que entre los años 2002 y 2011 los casos de infección urinaria causados por *E. coli* productoras de BLEE (770 de 6269 cultivos) se incrementaron de 1 caso en el 2002 (0,3%) a 155 casos (25,7%) (7).<sup>xv</sup>

## **2.6.2. Bases teóricas**

Las enterobacterias constituyen una amplia familia de bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos que no forman esporas, y que pueden o no tener flagelos peritricos.<sup>xvi</sup> La formación o la producción de cápsula está limitada a los géneros *Klebsiella* y *Enterobacter*. Estos microorganismos tienen pocas exigencias nutritivas y cierta resistencia a agentes externos. Son especies que pueden habitar en el intestino grueso del hombre y animales, suelos, agua, y material en descomposición. Algunas de estas especies se encuentran como saprofitos en el medio ambiente, y la gran mayoría está asociada con el hombre y animales constituyendo una gran variedad de la microbiota aerobia Gram negativo que coloniza el tubo digestivo. En ciertas ocasiones estos microorganismos pueden producir procesos patológicos intra o extra intestinal. Las enterobacterias en general pueden causar daño al huésped, cuando éste altera su condición normal brindando a la bacteria un ambiente perfecto para que produzca enfermedades tales como abscesos, neumonía, infecciones en las vías urinarias, intestinales y de heridas, meningitis y septicemia. Por lo que son responsables de muchas de las infecciones oportunistas. Junto con los bacilos Gram negativo no fermentadores constituyen la causa más importante de infecciones hospitalarias. Los principales géneros de la familia Enterobacteriaceae son: *Shigella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Salmonella*, *Arizona*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Cedecea*, *Koserella*, *Arenilla* y *Tatumella*.<sup>xvii</sup>

### **A. Características de las enterobacterias.**

#### **A.1. Características bioquímicas.**

Las enterobacterias se definen como bacilos Gram negativo aerobios y anaerobios facultativos de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de longitud por 0.4 a 0.6  $\mu\text{m}$  de ancho, con extremidades redondas. Pueden presentar movilidad gracias a que en algunos casos se cuenta con flagelación peritrica, no producen oxidasas, pero reducen los nitratos y descomponen la glucosa por fermentación. Estas características les permiten a las enterobacterias ser separadas de otras familias de bacilos Gram negativo, en especial de la familia Vibrionaceae (*Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*), bacilos curvos con flagelación polar, aerobios y anaerobios facultativos, que son oxidasa positiva y descomponen la glucosa por fermentación, y de la familia Pseudomonadaceae (*Pseudomonas*), constituida por bacilos móviles con flagelo polar, aerobio estricto, que son oxidasa positivos y atacan la glucosa por oxidación.

La mayoría de métodos empleados en el diagnóstico de enterobacterias se basan en la fisiología bacteriana; con el transcurso del tiempo se han ido desarrollado una gama de



pruebas bioquímicas para identificar la especie causante de la patología. Cada especie tiene características específicas.

## **A.2. Estructura antigénica.**

Entre las estructuras antigénicas presentes en las bacterias que producen estímulos inmunológicos en el hospedero, se pueden mencionar las siguientes:

- a) Antígeno somático o antígeno O: se refiere a la pared celular, la cual está constituida por una fina capa de peptidoglucano, recubierta por la membrana externa compuesta de lipopolisacáridos, que es común en la mayoría de bacilos Gram negativo.
- b) Antígeno capsular o antígeno K: algunas especies presentan antígenos superficiales o antígenos k, de naturaleza polisacárido, ya en forma de cápsula bien definidas (*E. coli*, *Klebsiella sp.*) o de una fina capa mucosa (antígeno M o mucoide de *Salmonella*, antígeno Vi de *S. tify*), que recubren el antígeno O. Interviene en la acción patógena por sus propiedades antifagocitarias.
- c) Antígeno flagelar o H: cepas móviles que presentan antígenos flagelados proteicos y termolábiles, de importancia en la clasificación de serotipos.
- d) Antígeno de las fimbrias o antígeno F: son antígenos proteicos relacionados con la capacidad de adherencia en las células epiteliales.

## **A.3. Variaciones genotípicas.**

Un comportamiento frecuente en enterobacterias es la aparición de variaciones genotípicas por mutación o mecanismos de transferencia genética que pueden afectar tanto la constitución antigénica como los caracteres bioquímicos. El control genético de estos mecanismos puede ser cromosómico, plasmídico o por transposones. La resistencia cromosómica aparece por mutación, mientras que los plásmidos y los transposones pueden ser auto transferibles entre bacterias.

Estos fenómenos de variación son importantes, pues permiten explicar las dificultades que existen en la clasificación de las enterobacterias, ya que los géneros son difíciles de delimitar.

## **A.4. Acción patógena.**

Las enterobacterias presentan los siguientes factores determinantes de patogenicidad:

- a) Antígenos:** Antígenos estructurales de superficie, antígenos capsulares (antígenos K) y fimbrias (antígenos F) que actúan por sus propiedades antifagocitarias, o de seroresistencia

o su capacidad de adherencia. También algunas enterobacterias pueden desarrollar glicocalix que les permiten adherirse a materiales inertes (catéteres, prótesis) y expresar su acción patógena.

**b) Bacteriocinas:** Son proteínas que presentan propiedades tóxicas frente a cepas de la misma especie o de especies relacionadas que les facilita la colonización de las mucosas al inhibir el desarrollo de especies relacionadas. Algunas cepas de enterobacterias (*E. coli*, *K pneumonie*, *S marcescens*) producen Bacteriocinas.

**c) Endotoxinas:** algunas cepas producen enterotoxinas que actúan ya sea por acción tóxica directa sobre las células del epitelio intestinal o del endotelio vascular (enterotoxinas citotóxicas) o produciendo un estímulo funcional, generalmente a través de la adenilciclase (enterotoxinas citotóxicas). Las enterotoxinas mejor conocidas son las de *E. coli*, pero también se han señalado en otras enterobacterias (*Salmonella*, *Shigella*, etc.)

## **B. Mecanismos de acción de los antibióticos.**

Los antibióticos son sustancias químicas sintetizadas por microorganismos que poseen acción antimicrobiana. Estos agentes antimicrobianos se pueden clasificar según su origen, efecto antimicrobiano, espectro de actividad y mecanismo de acción.

### **B.1 Origen:**

- Naturales: se obtienen a partir de microorganismos (hongos, bacterias, etc.).
- Sintéticos: se obtienen totalmente por síntesis química.
- Semisintéticos: se obtienen por modificaciones químicas de antimicrobianos naturales, con el fin de mejorarlos.

### **B.2 Efecto:**

- Bacteriostático: la máxima concentración no tóxica que se alcanza en suero y tejidos impide el desarrollo y multiplicación de los microorganismos, sin destruirlos, pudiendo estos multiplicarse nuevamente al desaparecer el agente antimicrobiano. Sirven para complementar los mecanismos defensivos del huésped.
- Bactericida: su acción es letal sobre los microorganismos, por lo que éstos pierden irreversiblemente su viabilidad o son lisados.

### **B.3 Espectro de actividad:**

- Amplio: actúan sobre un gran número de especies microbianas (ej. TETRACICLINA).

- Intermedio: actúan sobre un número limitado de microorganismos (ej. MACROLIDOS).
- Reducido: actúan sobre un pequeño número de especies microbianas (ej. POLIMIXINA).

#### **B.4 Mecanismo de acción:**

- Inhibición de la síntesis de la pared celular.
- Alteración de la permeabilidad celular.
- Inhibición de la síntesis proteica.
- Inhibición de la síntesis de ADN y ARN.

### **C. Principales antibióticos utilizados contra enterobacterias.**

Las penicilinas y las cefalosporinas tienen en común un anillo cíclico  $\beta$ -lactámico que a la vez es el talón de Aquiles de estos compuestos.

**C.1. Penicilinas:** Compuestas por un anillo  $\beta$ -lactámico unido a un anillo de tiazolidina con una cadena lateral que les confiere diferentes características. Al manipular la cadena, se logra modificar a los compuestos y obtener diferentes clases penicilinas. Algunas bacterias poseen enzimas llamadas  $\beta$ -lactamasas, que alteran el anillo  $\beta$ -lactámico y logran inactivar el medicamento. Estos fármacos actúan alterando la síntesis de pared bacteriana, inhibiendo enzimas que crean uniones peptídicas como: transpeptidasa, carboxipeptidasa, endopeptidasa; conocidas como proteínas unidoras de penicilinas (PBP) y activando el sistema autolítico endógeno. Tienen efecto principalmente contra bacterias Gram positivo. Existen penicilinas naturales como la benzilpenicilina (penicilina G), fenoximetil penicilina (penicilina V); semisintéticas resistentes a las penicilinasas como: meticilina, nafcilina, cloxacilina, dicloxacilina, oxacilina; y de espectro extendido como: ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina y piperacilina. Las carboxipenicilinas y ureidopenicilinas tienen incremento de actividad contra Gram negativo. (13-14).

**C.2. Cefalosporinas:** Se componen de un anillo  $\beta$ -lactámico unido a uno de dihidrotiazina. El mecanismo de acción es similar al de las penicilinas, interfiriendo con el mecanismo de síntesis de la pared bacteriana, además de su acción contra las PBP. Las modificaciones sobre los anillos determinan las diferentes generaciones que existen de cefalosporinas, dando lugar a las de primera, segunda, tercera y cuarta generación presentando cada una un diferente espectro de acción. Las cefalosporinas de primera generación tienen buena actividad contra microorganismos Gram positivo, pero baja actividad contra Gram negativo (cefalotina, cefazolina). Las de la segunda generación son estables contra ciertas  $\beta$ -

Lactamasas incrementando su actividad contra Gram negativo. Su actividad se extiende a *Enterobacter* y *Serratia*. No son activas contra *Pseudomonas*.

Las de tercera generación son menos activas que las de primera generación en relación con bacterias Gram positivo siendo más activas contra la familia *Enterobacteriaceae* y *P. aeruginosa*. Presentan más estabilidad frente a  $\beta$ -Lactamasas. Su espectro incluye algunos bacilos Gram negativo, además de *Pseudomonas*. Los de cuarta generación tienen un espectro de acción, que incluye la mayoría de bacterias Gram positivo y negativo y *Pseudomonas*. La alteración de las PBP, junto con los cambios de la pared externa de la bacteria (pérdida de canales o porinas), son los mecanismos responsables de la resistencia a este grupo farmacológico. La cefepima y la cefpiroma son cefalosporinas de la cuarta generación, su diferencia con las de tercera generación radica en ser más estables a la hidrólisis de las  $\beta$ -lactamasas e inducen débilmente las enzimas de esa índole. De este modo actúan contra muchas enterobacterias resistentes a otras cefalosporinas, pero siguen siendo sensibles a otras, que expresan  $\beta$ -lactamasas mediadas por plásmidos de espectro extendido.

**C.3. Monobactam (Aztreonam):** Es un  $\beta$ -lactámico con anillo monocíclico. Tiene actividad limitada contra aerobios Gram negativo (parecida a aminoglicósidos, sin ser nefrotóxico). Indicado en cistitis, pielonefritis y en algunos pacientes con alergia a las penicilinas.

**C.4. Carbapenemes:** Son antibióticos naturales, que se caracterizan por poseer una elevada eficacia contra microorganismos Gram positivo y estabilidad frente a las  $\beta$ -lactamasas. El imipenem es un antibiótico, que no se hidroliza por la acción de  $\beta$ -lactamasas pues poseen buena afinidad contra PBP de bacterias Gram positivo y Gram negativo, además de actividad contra una gran variedad de anaerobios. Son potentes inductores de cefalosporinas. Es el antimicrobiano con mayor espectro que se conoce, es capaz de actuar contra cocos y bacilos Gram positivo y Gram negativo, aerobios y anaerobios, de importancia clínica. Entre los microorganismos que presenta resistencia natural están: *P. maltophilia*, *Flavobacterium*, *Chlamydia*, *Mycoplasmas*, *Mycobacterium*, *Enterococo faecium* y *E. faecalis*, otros microorganismos tales como: *P. aeruginosa*, *Estafilococo Coagulasa Negativa* y *B. fragilis* pueden desarrollar resistencia adquirida e inducir la aparición de  $\beta$ -lactamasas en especies como *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomona* y otras bacterias. Se indican en infecciones del tracto urinario (ITU) complicadas, pielonefritis complicadas e infecciones severas por *Pseudomonas*. Puede

haber sensibilidad cruzada con penicilinas, elevación de enzimas hepáticas y ocasionalmente flebitis asociada con su uso.

**C.5. Inhibidores de las B-lactamasas:** son llamados inhibidores suicidas. Se unen a la enzima cambiando su estructura e inhibiéndola. Entre estos podemos mencionar al ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam acción de la permeabilidad celular.

- Inhibición de la síntesis proteica.
- Inhibición de la síntesis de ADN y ARN

## **D. Resistencia bacteriana**

**D.1. Mecanismos genéticos.** Las mutaciones constituyen la base fundamental de la variabilidad genética, estos mecanismos aumentan y aceleran de forma considerable los procesos biológicos de diversificación y de evolución. A nivel molecular, una mutación es un cambio en la secuencia de nucleótidos de ADN, con lo cual se modifica la información contenida en la molécula y da por resultado la formación de una proteína alterada. Las mutaciones bacterianas espontáneas, que ocurren durante condiciones normales de desarrollo, se presentan en la proporción de 1 en  $10^6$  ó  $10^{10}$  bacterias por generación, lo cual significa que solo una célula bacteriana de cada diez mil millones sufre comúnmente un cambio mutacional de alguna clase. Esta transferencia evolutiva puede llevarse a cabo mediante tres mecanismos distintos que son:

**a) Conjugación:** Es un tipo de recombinación genética cuyo resultado es la formación de un nuevo individuo que deriva algunos de sus genes de dos antecesores genéticamente diferentes. La conjugación es un importante mecanismo de adquisición de resistencia microbiana y consiste en el pasaje de genes (determinantes R) desde una bacteria resistente a una sensible, mediante acoplamiento directo entre las bacterias por la formación de un Pili sexual.

Para que ocurra la conjugación entre bacterias y la formación del Pili sexual, es necesaria la intervención de un grupo de genes denominado factor de transferencia de la resistencia, sin el cual no pueden realizarse los procesos,

El complejo determinante R, más el factor de transferencia de la resistencia es conocido como factor R. La aparición de resistencia por factores es muy importante entre bacterias Gram negativo, en especial entre enterobacterias.

**b) Transducción:** es la transferencia de un bacteriófago que sirve como transmisor, de una pieza de ADN de una bacteria a otra. Generalmente, sólo se transporta mediante un fago temperado, un gen de una célula bacteriana a otra por ciclo.

**c) Transformación:** Es cuando el ADN de una bacteria se incorpora a la estructura genética de otro organismo, estableciendo un genotipo nuevo.

En el proceso de transformación, las bacterias sensibles pueden incorporar ADN del medio ambiente y si este posee genes que codifican para resistencia, la bacteria se convierte en resistente para uno o más antimicrobianos. El origen del ADN del medio ambiente radicaría en el hecho de que algunas bacterias, en ciertas fases de su crecimiento, son capaces de excretar ADN. La mutación puede aparecer también por cambios en el cromosoma debidos al azar o a la influencia de agentes físicos o químicos y, de hecho, no necesariamente debidos a la exposición al antimicrobiano, como se demuestra por la observación de que muchos microorganismos aislados antes de la aparición de los antibióticos han presentado mutaciones, que los han hecho insensibles a los mismos. Aunque el antimicrobiano no es el causante de la mutación, tiene, sin embargo, un papel importante en la selección de las cepas resistentes, ya que cuando el antimicrobiano se administra a un paciente colonizado en el que existen cepas sensibles y otras con mutaciones (cepas resistentes), el antimicrobiano eliminará a los microorganismos sensibles dejando a los resistentes.

Entre los microorganismos capaces de inducir la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas, en otras bacterias que no presentan resistencia alguna, están: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella* y *Pseudomonas aeruginosa*. Por este mecanismo se produce resistencia a tetraciclinas, cloranfenicol, sulfonamidas, penicilinas y aminoglucósidos.

## **D.2. Mecanismos bioquímicos de resistencia bacteriana.**

En la naturaleza se encuentran bacterias que son, por sí mismas, resistentes a los antibióticos, y bacterias que pueden llegar a desarrollar mecanismos de resistencia que pueden deberse a mutaciones en diversos genes, o a la adquisición de material genético heterólogo.

Entre los mecanismos de resistencia que las bacterias utilizan para evadir la acción de los antibióticos están:

- Mediante el empleo de un sistema de expulsión activa del antimicrobiano. Se trata de una especie de bomba expulsora que utilizan las bacterias para la excreción de productos

residuales o tóxicos, con la que pueden eliminar además muchos de estos agentes antibacterianos.

- Provocando una disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana, con la pérdida o modificación de los canales de entrada.
- Induciendo la producción de enzimas inactivantes de los antibióticos. De esta forma la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas, inhiben a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. En años recientes la aparición de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (BLEA) que incluyen a las antibetalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam), han dificultado el uso de estos antibióticos.
- Un último mecanismo, es el que algunas bacterias ejercen contra antibióticos, cuando estos se unen a proteínas esenciales en la bacteria. La resistencia bacteriana se produce cuando el microorganismo modifica dichas proteínas, cambiando su función o produciendo enzimas distintas.

#### **E. Resistencia antimicrobiana enzimática ( $\beta$ -lactamasas)**

Se considera que la resistencia microbiana ocurre por la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo, que se transmite a sus descendientes, por lo cual, resultan también insensibles al antimicrobiano en cuestión.

Si bien cualquier microorganismo puede desarrollar resistencia a los antimicrobianos, este fenómeno ha sido estudiado más ampliamente en las bacterias, por lo que ha sido necesario el empleo de un sistema de clasificación.

En el caso de las  $\beta$ -lactamasas dicho esquema se basa en la funcionalidad de sus características. A continuación, se presentan los tres grupos mayoritarios de enzimas que se definen por sus perfiles inhibitorios y el empleo de diferentes sustratos: Grupo 1: cefalosporinasas, que no son inhibidas parcialmente por el ácido clavulánico.

Grupo 2: penicilinasas, cefalosporinasas, y  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro (BLEAs) que generalmente son inhibidas por inhibidores que operan en sitios activos directos de las  $\beta$ -lactamasas.

Grupo 3: meta-  $\beta$ -lactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenems, que son pobremente inhibidas por la mayoría de moléculas  $\beta$ -lactámicas. Las características funcionales para este grupo, han sido correlacionadas con estructuras moleculares de

secuencias de aminoácidos de  $\beta$ -lactamasas conocidas mediante electroforesis. Estas  $\beta$ -lactamasas han sido designadas por el comité internacional de bioquímica para nomenclatura como enzimas que hidrolizan amidas, aminas y otros tipos de enlaces entre carbono y nitrógeno, separadas en base al sustrato (amidas cíclicas). Estas enzimas son la causa mayoritaria de la resistencia bacteriana contra los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, y han sido tema de extensas investigaciones en microbiología, bioquímica y genética.

Hasta el momento, se han investigado y descrito, más de 190 proteínas bacterianas con la habilidad de interactuar con la variedad de moléculas  $\beta$ -lactámicas que pueden servir como sustrato o como inhibidor. Debido a la diversidad de características enzimáticas de las  $\beta$ -lactamasas, se han realizado innumerables fundamentos con el fin de categorizar estas enzimas según sus atributos bioquímicos.

#### **F. Esquema de clasificación para enzimas B-lactamasas:**

Las  $\beta$ -lactamasas fueron clasificadas cuando las cefalosporinas ( $\beta$ -lactamasas con altos rangos de hidrólisis de cefalosporinas), fueron diferenciadas de las penicilinas (enzimas con buena actividad hidrolítica de penicilinas).

El esquema de clasificación funcional, que gran cantidad de investigaciones utilizan para nombrar a las  $\beta$ -lactamasas, sigue teniendo buena aceptación hoy en día. Este se basa en algunas clasificaciones anteriores tales como:

- a. Clasificación según Sawai (1968): se basó en la respuesta que las penicilinas y cefalosporinas producían al ponerse en contacto con antisueros que emplean un discriminador adicional.
- b. Esquema según Richmond-Sykes (1973): incluyó a todas las  $\beta$ -lactamasas provenientes de bacterias Gram negativo, de esa época, clasificando a las enzimas en 5 grupos mayoritarios basados en sus perfiles de sustrato
- c. Extensión del esquema de Richmond y Sykes por Sykes y Matthew (1976): hizo énfasis en el plásmido-mediador de las  $\beta$ -lactamasas que podía diferenciarlas mediante el empleo de un campo isoeléctrico.
- d. Esquema de Mitsuhashi e Inove (1981): se añadió la categoría de  $\beta$ -lactamasa hidrolizante de cefuroxime a la clasificación de penicilinas y cefalosporinas que se venía manejando.
- e. Esquema según Bush (1989): incluyó enzimas de bacterias provenientes de todas las fuentes de aislamiento, siendo éste el primer esquema que correlacionó sustratos y propiedades inhibitorias con la estructura molecular del enzima.



Existió una clasificación basada en los rasgos genotípicos con los que cuenta la bacteria, pero enfrentó el problema de que no consideró los puntos de mutaciones en los que se puede alterar grandemente la especificidad del sustrato e inhibir la susceptibilidad, cambiando el grupo al que una enzima fue asignada. Por consiguiente, las  $\beta$ -lactamasas fueron clasificadas por la secuencia de aminoácidos. Esta clasificación fue propuesta por Ambler.

Esta clasificación es estable, como se refleja en las relaciones fundamentales y no puede distorsionarse por las mutaciones. Dicho esquema (secuencia-base) tiene la simplicidad, de reconocer sólo cuatro clases, designadas de la A a la D. Las clases A, C y D comprenden los grupos distintos evolutivamente de las  $\beta$ -lactamasas serina, y la clase B contiene el tipo Zinc. En la actualidad existe una buena relación entre las clases reconocidas fenotípicamente por Bush y las que emplean el esquema molecular. La clasificación de un modelo de  $\beta$ -lactamasa ideal, debe de incluir todos los parámetros discutidos anteriormente. Sin embargo, esto no siempre puede ser posible y no es necesario que lo sea. Entre los requerimientos mínimos deben incluirse los perfiles de los sustratos para penicilinabensatídica y cefalotidime o cefalotin, como referencia en sustratos. Las opciones de sustratos adicionales podrían variar acorde a las características de cada enzima. A menudo, los perfiles del sustrato de un enzima modelo, sugieren que la resistencia fenotípica de la producción de estos organismos indica que solo un enzima está presente. Si un miembro de la familia Enterobacteriaceae es resistente a las cefalosporinas de espectro extendido pero susceptible a inhibidores  $\beta$ -lactámicos combinados; en presencia de  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido, el perfil del sustrato debe incluir cefotaxime, ceftazidime, y aztreonam como sustrato discriminante obteniendo la secuencia enzimática, es posible que la clase molecular de una enzima pueda saberse antes de que se realice una caracterización completa. Si la clase D de las penicilinasas es identificada, dentro de los sustratos se debe incluir oxacilina, y cloxacilina. Los perfiles inhibitorios deben incluir ácido clavulánico como requerimiento mínimo. Se deben agregar otros inhibidores, para describir las características completas del enzima. Las enzimas que hidrolizan a los Carbapenemes se pueden inhibir por la acción de EDTA y pCMB.

Estudios anteriores han determinado la presencia de  $\beta$ -lactamasas plasmídicas de amplio espectro, siendo dos tipos los mayoritarios. Las de la familia SHV y TEM, de las cuales se derivan nuevas  $\beta$ -lactamasas.

## **G. $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE)**

Las  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro (BLEAs), tienen su dominio sobre penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación. Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEEs), tienen lugar cuando hay mutaciones cercanas al sitio activo.

Las BLEEs tienen un espectro de resistencia más amplio, en el cual está contenido al dominio de las BLEAs y cefalosporinas de tercera y cuarta generación, así como monobactames.

El mecanismo bacterial común de resistencia para antibióticos  $\beta$ -lactámicos, es la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas que destruyen la estructura del anillo  $\beta$ -lactámico de las penicilinas como drogas.

El control genético de la producción de  $\beta$ -lactamasas es inducido por un plásmido o cromosoma. Una gran cantidad de plásmidos provienen de las enzimas TEM-1, TEM-2, y SHV1 (grupo 2b según Bush), estas enzimas les confieren resistencia a penicilinas, pero no para las nuevas cefalosporinas. Estas enzimas hidrolizan drogas como ceftazidim, cefotaxin, y aztreonam, pero tienen pequeños efectos en cefamicina-cefoxitin y cefotetan.

Las BLEEs (grupo 2be) han mutado de los genes de las TEM-1 y SHV-1, acarreados en los plásmidos que fueron transmitidos de otros organismos. Cambios minoritarios relativos en la secuencia de los genes originales han causado alteraciones significativas en la afinidad del enzima hacia el sustrato. La hidrólisis de ceftazidime, cefotaxime y aztreonam ha ocurrido en rangos mayores de 10 por ciento de las benzilpenicilina. Estas enzimas pueden ser bloqueadas por inhibidores de las  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico.

### **G.1 Opciones terapéuticas de microorganismos gramnegativos con blee**

Las opciones de tratamiento en las infecciones causadas por microorganismos gramnegativos productores de BLEE son limitadas, ya que presentan resistencia a cefalosporinas (incluidas tercera y cuarta generación excepto cefamicinas), penicilinas de amplio espectro y aztreonam, y además con frecuencia, los plásmidos que codifican esta resistencia portan genes de resistencia a otros antibióticos, y el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente.

Hasta el momento solo los carbapenemes han demostrado de forma consistente su eficacia frente a infecciones por cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, con dudas respecto a la utilización de cefamicinas como la cefoxitina y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas como piperacilina-tazobactam. A las escasas opciones terapéuticas se suma la obtención de resultados discordantes en cuanto a

respuesta clínica en los diferentes estudios. De una parte hay estudios que muestran fracaso terapéutico aún cuando la infección parece ser susceptible al antibiótico utilizado. Mientras, otros publican datos de buena evolución clínica con el uso de cefalosporinas en el tratamiento de infecciones, especialmente de foco urinario, causadas por bacterias productoras de BLEE que por definición son resistentes a estos antibióticos. La tasa de fracasos terapéuticos empleando antibióticos activos in vitro en el contexto de estas infecciones, puede superar el 50%. Este comportamiento se ha puesto en relación con el efecto inóculo, por el cual las concentración mínima inhibidora (CMI) de los antimicrobianos pueden aumentar de 10 a 100 veces en función de la carga bacteriana, dando lugar a fenómenos de resistencia in vivo a pesar de que los resultados in vitro indiquen que es un aislamiento sensible o de resistencia intermedia. Este fenómeno también se ha observado con las cefalosporinas de cuarta generación, a pesar de ser estos compuestos estructuralmente más estables frente a la hidrólisis por betalactamasas. Sin embargo recientemente otros autores argumentan que el efecto inóculo podría ser más bien un artefacto in vitro que carecería de importancia clínica. Los datos en cuanto al papel de las cefalosporinas de tercera generación son objeto de desacuerdo. Las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) mantienen buena actividad frente a ciertas cepas productoras de BLEE. De hecho, según algunas comunicaciones, entre el 95% y el 100% de los aislamientos con BLEE son sensibles in vitro. La explicación microbiológica de esta discordancia estriba en la diferente capacidad hidrolítica sobre los oximino betalactámicos según el tipo BLEE estudiada.

Si tenemos en cuenta todos los tipos de BLEE descritos y que su clasificación molecular sistemática no tiene cabida en la práctica clínica habitual, parece lógica la recomendación del CLSI de investigar la producción de BLEE en cualquier aislamiento de *Klebsiella* spp o *E. coli* cuyas CMI de aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona o cefotaxima sea igual o superior a 2 mg/L, informándola como resistente a todos los betalactámicos, de manera que el clínico pueda tomar la decisión de iniciar tratamiento con carbapenemes cuando se trate de una infección grave o, si se comprueba la sensibilidad, con un aminoglucósido o fluorquinolona en infecciones leves o sin diseminación hematógona. Algunos autores defienden esta estrategia argumentando que en caso de no ser una situación de brote epidémico o de riesgo vital es necesario preservar el valor terapéutico de los carbapenemes, por lo que, basándose en los patrones de sensibilidad de cada institución sería preferible la utilización de piperacilina-tazobactam, una fluoroquinolona o un aminoglucósido.

En cuanto a los éxitos terapéuticos en pacientes con infección por BLEE que han recibido antibióticos resistentes *in vitro*, nos encontraríamos en el caso contrario, y la explicación sería que la respuesta al tratamiento puede verse afectada por la localización de la infección. Así, la terapia empírica para las infecciones urinarias por microorganismos resistentes con BLEE, puede mostrar buenos resultados en relación con las altas concentraciones de antibiótico alcanzadas en orina. Analizando los grupos terapéuticos que se contemplan como opción en estos casos encontramos:

**Cefamicinas:** aunque por definición no son hidrolizadas por el mecanismo de las BLEE, su utilidad es limitada debido al frecuente desarrollo de resistencia por pérdida de expresión de las porinas a través de las cuales entra el antibiótico.

**Carbapenemes:** hoy por hoy y hasta no disponer de mayor experiencia clínica procedente de ensayos aleatorizados, el tratamiento de elección de las infecciones graves por bacterias gramnegativas productoras de BLEE son los carbapenemes, siendo imipenem el más estudiado hasta ahora. Sus moléculas son altamente estables a la hidrólisis por betalactamasas y parecen ser los únicos capaces de mantener la actividad bactericida durante veinticuatro horas frente a altos inóculos de cepas productoras de BLEE en ensayos *in vitro*. No obstante debemos ser cautelosos con el empleo de los carbapenemes, ya que se han descrito fenómenos de resistencia por carbapenemasas mediadas por plásmidos, metalo-betalactamasas y proteasas de espectro extendido y aunque de momento son infrecuentes, su evolución es impredecible. También es posible la resistencia debida a alteraciones en las porinas y su uso indiscriminado puede inducir la aparición de cepas de bacilos gramnegativos no fermentadores multirresistentes.

**Piperacilina-tazobactam:** no hay datos de estudios prospectivos que hayan examinado su eficacia. En un estudio que examinó la actividad *in vitro* de antibióticos de amplio espectro frente a aislados de *E. coli* con BLEE, piperacilina-tazobactam fue el segundo antibiótico con mayor actividad después de imipenem, consiguiendo inhibición en el 84,4% de los aislados. No obstante por ejemplo, en el estudio SENTRY, el 80% de *Enterobacter spp.* resistentes a ceftazidima eran resistentes a piperacilina/tazobactam. Una sobreproducción de  $\beta$ -lactamasa *in vivo* puede superar la capacidad inactivadora del inhibidor. Además su sensibilidad al efecto inóculo, si bien menor que la de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, es mayor que en el caso de los carbapenemes. De modo que, los datos de los que se dispone actualmente no permiten hacer recomendaciones claras sobre el uso de este antibiótico y se necesitarían estudios prospectivos más amplios.

**Amoxicilina-clavulánico:** podría ser una opción para el tratamiento de las infecciones urinarias por *E. coli* productora de BLEE siempre y cuando se trate de un aislado sensible, ya que no es infrecuente la resistencia a esta combinación por producción simultánea de otras betalactamasas, alteraciones de permeabilidad o, en menor medida, la hiperproducción de la propia BLEE.

**Aminoglucósidos:** muestran actividad variable frente a las enterobacterias productoras de BLEE, pero en el caso de *E. coli* se ha visto que la tasa de resistencia a aminoglucósidos es de dos a tres veces mayor que cuando la cepa no produce BLEE. Amikacina parece ser el que muestra una menor tasa de resistencias, pero los datos existentes sugieren que los resultados dependen de que la CMI de la cepa en cuestión frente al aminoglucósido sea baja.

**Fluoroquinolonas:** su uso tiene gran valor en el tratamiento de infecciones del tracto urinario por las grandes concentraciones que pueden alcanzar en orina, sin embargo, hay estudios que muestran una relación estadísticamente significativa entre el uso previo de fluoroquinolonas y la resistencia por BLEE, lo cual limita las opciones de tratamiento oral de infecciones urinarias en el medio extrahospitalario. La resistencia a fluoroquinolonas en *E. coli* con BLEE en nuestro país se encuentra en torno al 60%. No obstante mantienen su indicación en los casos sensibles. Los factores identificados como de riesgo para la resistencia a fluoroquinolonas en *E. coli* con BLEE incluyen uso previo de fluoroquinolonas y aminoglucósidos e ingreso en unidades de cuidados medios.

**Cefepima:** la literatura sugiere que la producción de BLEE podría tener su efecto más marcado sobre ceftazidima, por lo que en algunos casos se ha empleado cefepima, una cefalosporina de cuarta generación con mayor estabilidad frente a bacterias productoras de BLEE, respaldada por estudios de sensibilidad *in vitro*. No obstante los estudios que respaldan esta idea son escasos. Se está investigando mediante estudios de letalidad la utilidad de otras combinaciones, como la de cefepima o cefpiroma con sulbactam con la que algunos autores han encontrado un efecto bactericida mantenido a las 24 horas o la de ceftazidima con sulbactam con la que podría existir un efecto inhibidor post- $\beta$ -lactamasa en cepas productoras de BLEE de mayor duración que el efecto postantibiótico. De cualquier modo, toda esta información debe ser tomada con precaución y no tiene una traducción clínica práctica por el momento.

**Colistina:** es activa frente a microorganismos productores de BLEE, no obstante son pocos los estudios publicados respecto a su uso en infecciones por E. coli. Podría considerarse como opción en caso de resistencia a carbapenemes.

**Tigeciclina:** se ha descrito su papel en casos de infecciones intraabdominales y de tejidos blandos, con el inconveniente de que no aporta cobertura para P. aeruginosa y de que alcanza bajas concentraciones en orina, por lo que no estaría indicado su uso en infecciones del tracto urinario.

**Fosfomicina:** al contrario de lo comentado para tigeciclina, ha mostrado buenos resultados in vitro e in vivo frente a infecciones del tracto urinario provocadas por E. coli con BLEE

#### **F. Generalidades sobre los métodos de detección de BLEE**

Existen diferentes técnicas mediante las cuales se puede deducir la presencia de una BLEE, los que se basan en la capacidad del AC para incrementar la actividad de una CF3G gracias al efecto inhibitorio que este compuesto ejerce sobre las BLEE.

En el año 1998, el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomendaba el método de difusión y su aplicación al estudio de sinergia entre cefalosporinas de tercera generación (CF3G) y ácido clavulánico (AC) descrito por Jarlier et al, que consiste en efectuar una prueba de susceptibilidad a CF3G (ej. cefotaxima y/o ceftazidima) colocando discos conteniendo estos antimicrobianos y un disco con AC (en su defecto, un disco con amoxicilina/ácido clavulánico) conteniendo 10 µg de inhibidor, a una distancia razonable (20 mm). Si la cepa ensayada resulta ser productora de una BLEE, se produce incremento del halo de inhibición en la zona de interconexión entre la cefalosporina y el AC. En ocasiones puede ser un tanto difícil visualizar este efecto sinérgico. En aquellos casos en los que se observa resistencia a una CF3G y la prueba de sinergia resulta ser negativa, puede encontrarse presente una β- lactamasa del tipo IRT (inhibido rresistant enzimes) realmente muy infrecuentes en nuestro medio o, en su defecto, la cepa bacteriana ensayada puede poseer otro mecanismo de resistencia, por ejemplo, impermeabilidad. Esta prueba requiere del uso de ampicilina (Amp) (10 µg), cefradina (CFR) (30 µg) o cefazolina (CFZL) (30 µg), cefotaxima (CFTX) (30 µg), ceftazidima (CFZD) (30 µg), AC (10 µg). Se recomienda ensayar también discos de AC de 20 µg. El disco de AC debe colocarse en tal forma que mantenga una distancia de 20 mm con los discos de Amp, CFTX y CFZD, con el objeto de visualizar zonas de sinergia antibacteriana entre ellos.

Otra alternativa adecuada para detectar BLEE es el método de Ho et al. Estos autores han demostrado, con mucha claridad, que la sensibilidad en la investigación de la sinergia (y por lo tanto, de BLEEs) puede incrementarse notablemente con la siguiente metodología:

Se preparan placas de agar Mueller Hinton conteniendo AC (4 µg/ml) y placas sin AC.

Se efectúa el antibiograma en sendas placas (con y sin AC) usando solamente discos con CE3G.

Se compara el diámetro de los halos de inhibición producidos por las cefalosporinas en las placas sin y con AC.

El aumento de los halos en más de 10 mm en aquellas placas con AC sugiere la presencia de una BLEE. Este método alcanza una sensibilidad superior al 95%, siendo actualmente la mejor alternativa para detectar estas enzimas.

Posteriormente, en el año 2000, NCCLS ha recomendado el método del doble disco, como técnica estandarizada y más reproducible. Sin embargo, este método ha sido estandarizado sólo para *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. Se realiza como el método convencional de difusión en agar, en placas de agar Mueller-Hinton, con un inóculo Mac Farland 0,5 y ensayando 4 discos: CFZD, CFZD + AC, CFTX y CFTX + AC. Se incuba normalmente en atmósfera normal durante 16 a 18 hrs a 37°C. Se miden los halos de inhibición en forma convencional. El aumento del halo en más de 5 mm con los discos conteniendo la mezcla de cefalosporina y AC en relación al disco de cefalosporina sola, para las dos o al menos uno de las dos cefalosporinas (CFZD o CFTX), se considera confirmatorio para la presencia de BLEE.

#### **Test confirmatorio BLEE - CLSI (método americano).**

Las placas de agar Mueller Hinton fueron inoculadas con las cepas sospechosas, para ello se siguió las recomendaciones del CLSI, colocándose discos de susceptibilidad antimicrobiana (Britania) de CAZ (30 µg), ceftazidima/ácido clavulánico (CAZ/CAZ-CLA) (30/10 µg), CTX (30 µg), cefotaxima/ácido clavulánico (CTX/CXT-CLA) (30/10 µg). Una diferencia mayor o igual a 5 mm en los halos de inhibición entre los discos de CAZ-CLA y CAZ solos o CXT-CLA y CTX, fue interpretada como resultado positivo (Figura 1).

#### **Test confirmatorio BLEE - Método de Jarlier (Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología).**

Las placas de agar Mueller Hinton fueron inoculadas con las cepas sospechosas, con una turbidez equivalente al tubo N.º 0,5 de la escala de Mc Farland. Se colocó un disco de

amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) (20/10 µg) en el centro de una placa de Petri con agar Mueller Hinton y alrededor, a 25 mm de distancia, discos de CAZ (30 µg/ dL), CTX (30 µg) y FEP (30 µg). De manera opcional se analizó los discos de ATM (30 µg) o CRO (30 µg). La presencia de BLEE se manifestó por el efecto sinérgico del inhibidor y los discos efecto de huevo, cola de pez o balón de fútbol americano (Figura 2).

#### **Método de Hodge para la determinación de BLEE.**

Se realizó una suspensión de la cepa de E. coli ATCC 25922, con turbidez equivalente al tubo N.º 0,5 de la escala de Mac Farland, esta suspensión se inoculó en una placa de agar Mueller Hinton. Se utilizó una placa por cada disco (CTX, CRO, ATM, FEP, CAZ) que fueron los sustratos a identificar. Se realizó una estría de 2 cm de la cepa a investigar, desde el centro hacia afuera del disco. La presencia de la enzima se identificó al observar una deformación del halo de inhibición de la cepa de E. coli ATCC 25922 al disco con el sustrato en forma de hendidura (Figura 3A).

#### **Método tridimensional para la determinación de BLEE.**

Se realizó una suspensión de la cepa de E. coli ATCC 25922 con turbidez equivalente al tubo N.º 0,5 de la escala de Mac Farland, esta suspensión se inoculó en una placa de agar Mueller Hinton, se colocó al centro de la placa Petri los discos conteniendo los sustratos por identificar (CTX, CRO, ATM, FEP, CAZ), se realizó un surco perpendicular al disco, en el extremo final se realizó un orificio de 2 mm en la cual se inoculó 20 µL de la cepa problema de una suspensión equivalente al tubo 4 de la escala Mac Farland. La presencia de la enzima se identificó al observar una hendidura en el halo de inhibición, producto del crecimiento de la cepa indicadora de E. coli ATCC 25922 hacia el disco empleado como sustrato (Figura 3B).



### III. METODOLOGÍA

#### 3.1 Hipótesis

Si existe relación entre la prevalencia a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido y las Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.

#### 3.2 Variables, Indicadores e índices

Variables independientes:  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido

Variable dependiente: Enterobacterias aisladas

##### Tipo de Estudio

Este es un estudio de enfoque cuantitativo, de tipo observacional, descriptivo y transversal.

- **ES TRANSECCIONAL O TRANSVERSAL:** Se realiza en un lapso corto. Es como tomar una instantánea de un evento. La recolección de datos es muy importante en este diseño es decir que el investigador tiene la propiedad de investigar e indagar dicho trabajo a investigar, pero esta investigación se realizara en un tiempo determinado y cada recolección los analiza los describe en su debido tiempo determinado.
- **ESTUDIOS OBSERVACIONALES:** Se consideran observacionales los estudios en los que el factor de estudio no es asignado por los investigadores sino que estos se limitan a observar, medir y analizar determinadas variables, sin ejercer un control directo de la intervención.
- **LA INVESTIGACIÓN O METODOLOGÍA CUANTITATIVA:** Es el procedimiento de decisión que pretende señalar, entre ciertas alternativas, usando magnitudes numéricas que pueden ser tratadas mediante herramientas del campo de la estadística. Por eso la investigación cuantitativa se produce por la causa y efecto de las cosas.
- **ESTUDIO DESCRIPTIVO:** Es un tipo de metodología a aplicar para deducir un bien o circunstancia que se esté presentando; se aplica describiendo todas sus dimensiones, en este caso se describe el órgano u objeto a estudiar. Los estudios descriptivos se centran en recolectar datos que describan la situación tal y como es.

### **3.3 Población y Muestra**

El universo estuvo constituido por 334 muestras del paciente que haya pasado al servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.

3.5.1 Criterios de Inclusión: Fueron incluidos todas las muestras del paciente que haya pasado al servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017

3.5.2 Criterios de Exclusión: Fueron excluidos todas las muestras del paciente que no hayan pasado al servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017

### **3.4 Método de Investigación**

Se realizará un estudio descriptivo y transversal con diseño cuantitativo para analizar alta prevalencia a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto.

### **3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

La técnica que se utilizó para el presente estudio de investigación es la de recolección de información de fuente primaria, del cuaderno de registro de pacientes del servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto, con el permiso del encargado del servicio el Lic. T.M. Briones Alejo Alexander Omero.

### **3.6 Métodos de Análisis de datos**

En la fase de elaboración todos los instrumentos fueron sometidos a una validación de contenidos, según criterios de expertos, para comprobar si eran factibles y comprensibles antes de ser aplicados.

La recolección de los datos se realizó del cuaderno de registro del cuaderno de registro de pacientes del Servicio de Microbiología del Hospital Regional de Iquitos.

Las variables serán incluidas en el cuestionario y en la guía de observación, de donde se extraerá también la información y se creará la base de datos en Excel, que serán procesados en programa estadístico SPSS versión 22. Se calcularon medidas de resumen, números absolutos y el método porcentual para las variables. Los resultados serán expuestos en tablas para su mejor comprensión y análisis.

### **3.7 Estadística utilizada**

Se realizará un análisis estadístico descriptivo en el programa estadístico SPSS.22. Se describirán las variables categóricas en tablas con distribución absoluta y relativa (porcentual) .

#### IV. PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

##### 4.1. Presupuesto (de acuerdo con el clasificador por objeto de gasto)

PARTIDAS	DESCRIPCION	SOLES
IMPRESIÓN	➤ Impresión de trabajo para corrección	50
PASAJES	➤ Gasolina	45
HOJAS A4	➤ 1 millar de hojas A4	11
LAPICEROS	➤ 2 Azul ➤ 2 rojo ➤ 2 Negro	4
COMIDAS	➤ Desayuno ➤ Almuerzo ➤ Cena	100
TOTAL		160

#### 4.2. Cronograma de actividades (según método grant)

N°	ACTIVIDADES	J	A	S	O	N	D
01	Diseño de proyecto de investigación	X					
02	Planificación del proyecto de investigación	X					
03	Aprobación del proyecto de investigación		X				
04	Elaboración de instrumentos de recolección de datos			X			
05	Coordinación con las personas responsables del servicio de programas y también con la UPS de Patología Clínica			X			
06	Recopilación de datos				X		
07	Análisis de datos					X	
08	Redacción del informe					X	
09	Presentación del informe					x	
10	Aprobación del informe						X
11	Sustentación del informe						X

## V. RESULTADOS

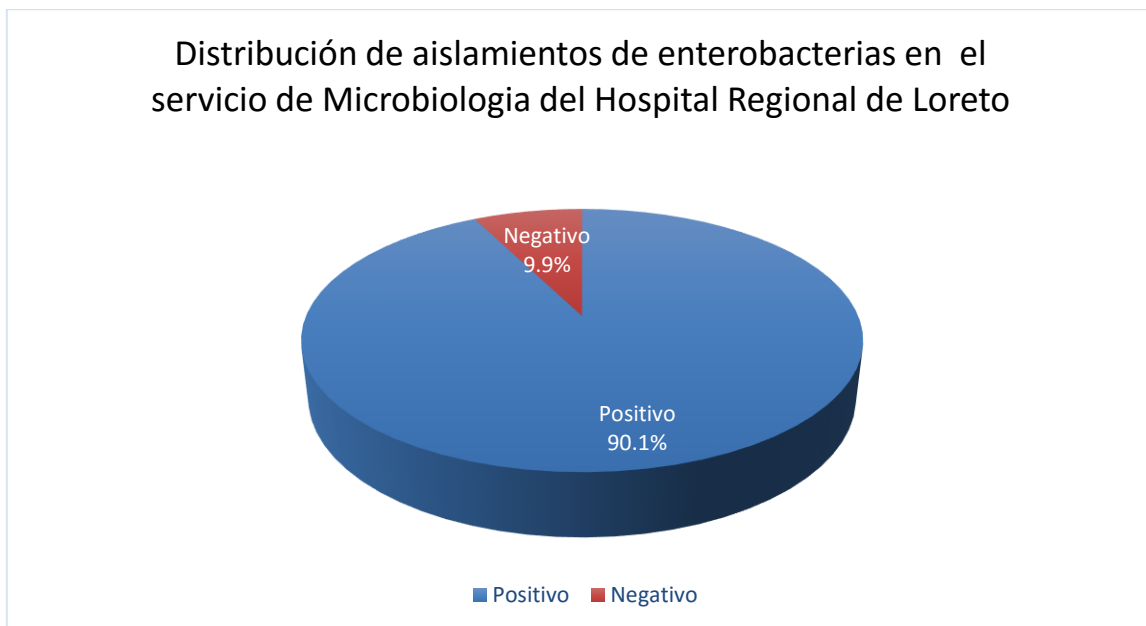
TABLA N° 1

Distribución de aislamientos bacterianos en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto

Aislamientos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Enterobacterias	301	90.1	90.1
No Enterobacterias	33	9.9	100,0
Total	334	100,0	

En la tabla N° 1. Se indica la distribución de frecuencia de los aislamientos, se aprecia que el 90.1% de resultados fueron aislamientos positivos, mientras que el 9.9% fueron aislamientos negativos.

GRAFICO N° 1



En el GRAFICO N° 1. Se indica Se indica la distribución de frecuencia de los aislamientos, se aprecia que la mayor frecuencia con el 90.1% de resultados fueron aislamientos positivos, mientras que la menor frecuencia con el 9.9% fueron aislamientos negativos.

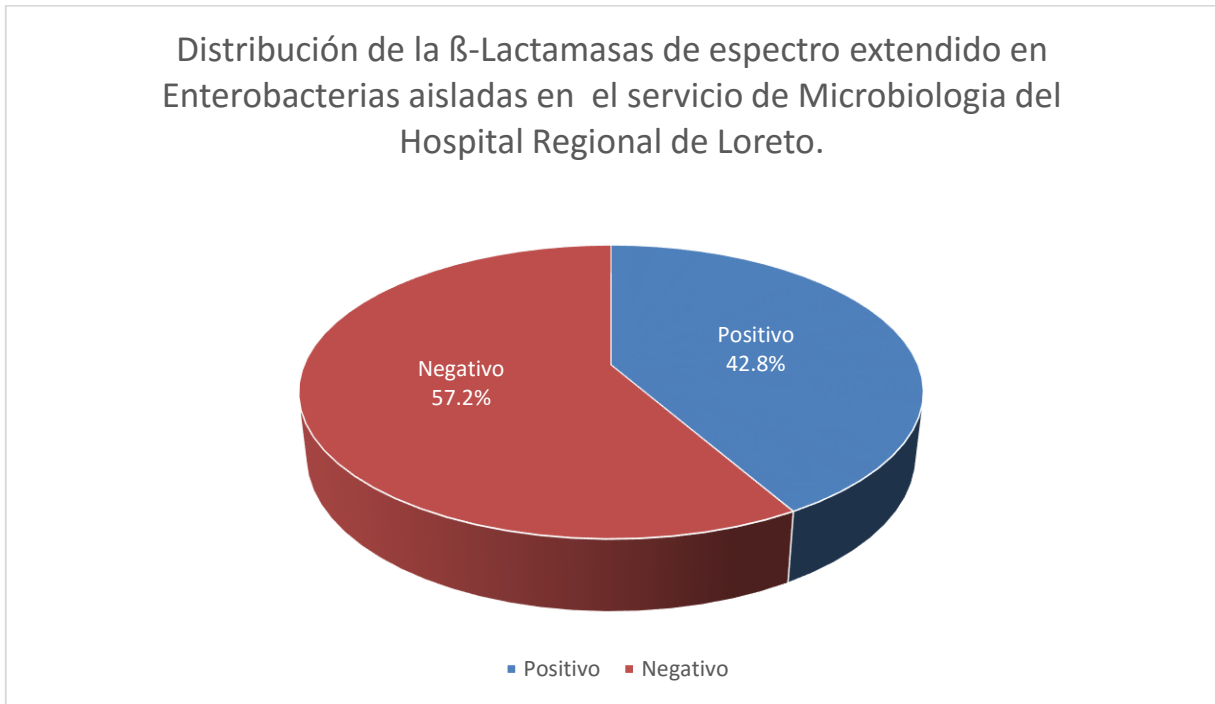
TABLA N° 2

Distribución de la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto.

BLEE	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Positivo	129	42.8	42,8
Negativo	172	57.2	100,0
Total	301	100,0	

En la tabla N° 2. Se indica la distribución de frecuencia de los resultados de BLEE, se aprecia que el 57.2 % de resultados fueron BLEE negativos, mientras que el 42.8% fueron resultados BLEE positivos.

GRAFICO N° 2



En el GRAFICO N° 2. Se indica la distribución de frecuencia de los resultados de BLEE, se aprecia que la mayor frecuencia con 57.2% de resultados fueron BLEE negativos, mientras que la menor frecuencia con el 42.8% fueron resultados BLEE positivos.

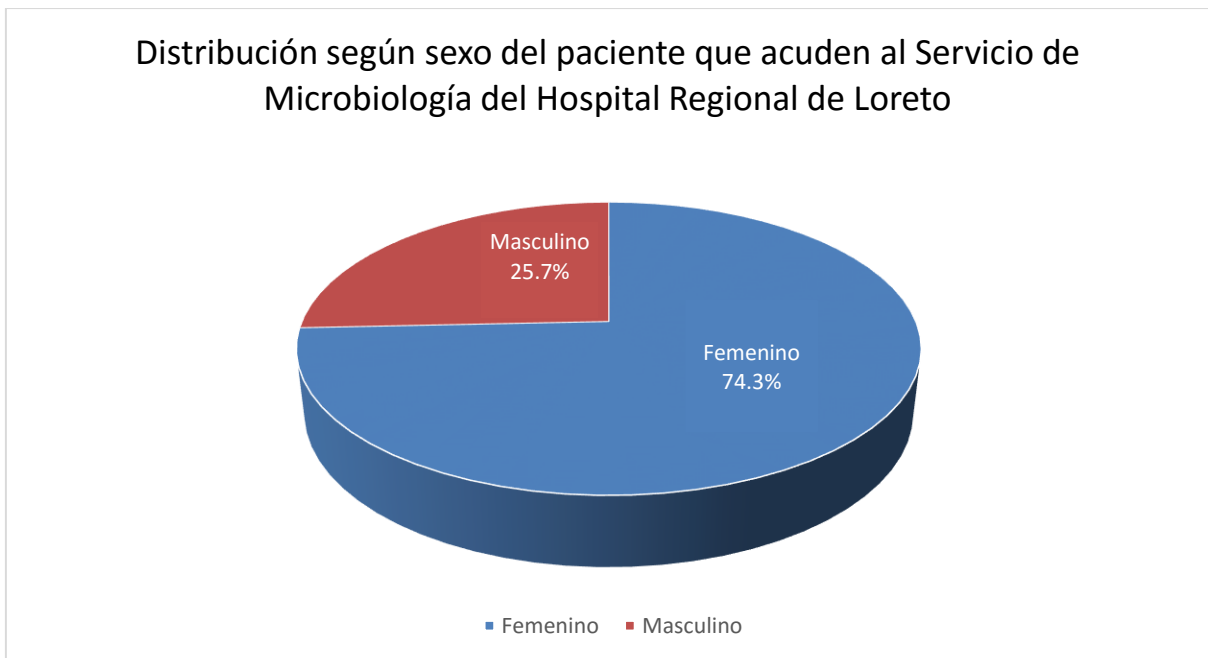
TABLA N° 3

Distribución según sexo del paciente que acuden al Servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto

Sexo	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Femenino	248	74,3	74,3
Masculino	86	25,7	100,0
Total	334	100,0	

En la tabla N° 3. Se indica la distribución de frecuencia de los resultados según sexo, se aprecia que el 74.3 % de resultados fueron femenino, mientras que el 25.7 % fueron masculino.

GRAFICO N° 3



En el GRAFICO N° 3. Se indica la distribución de frecuencia de los resultados según sexo, se aprecia que la mayor frecuencia con 74.3 % de resultados fueron femenino, mientras que la menor frecuencia con 25.7 % fueron masculino.



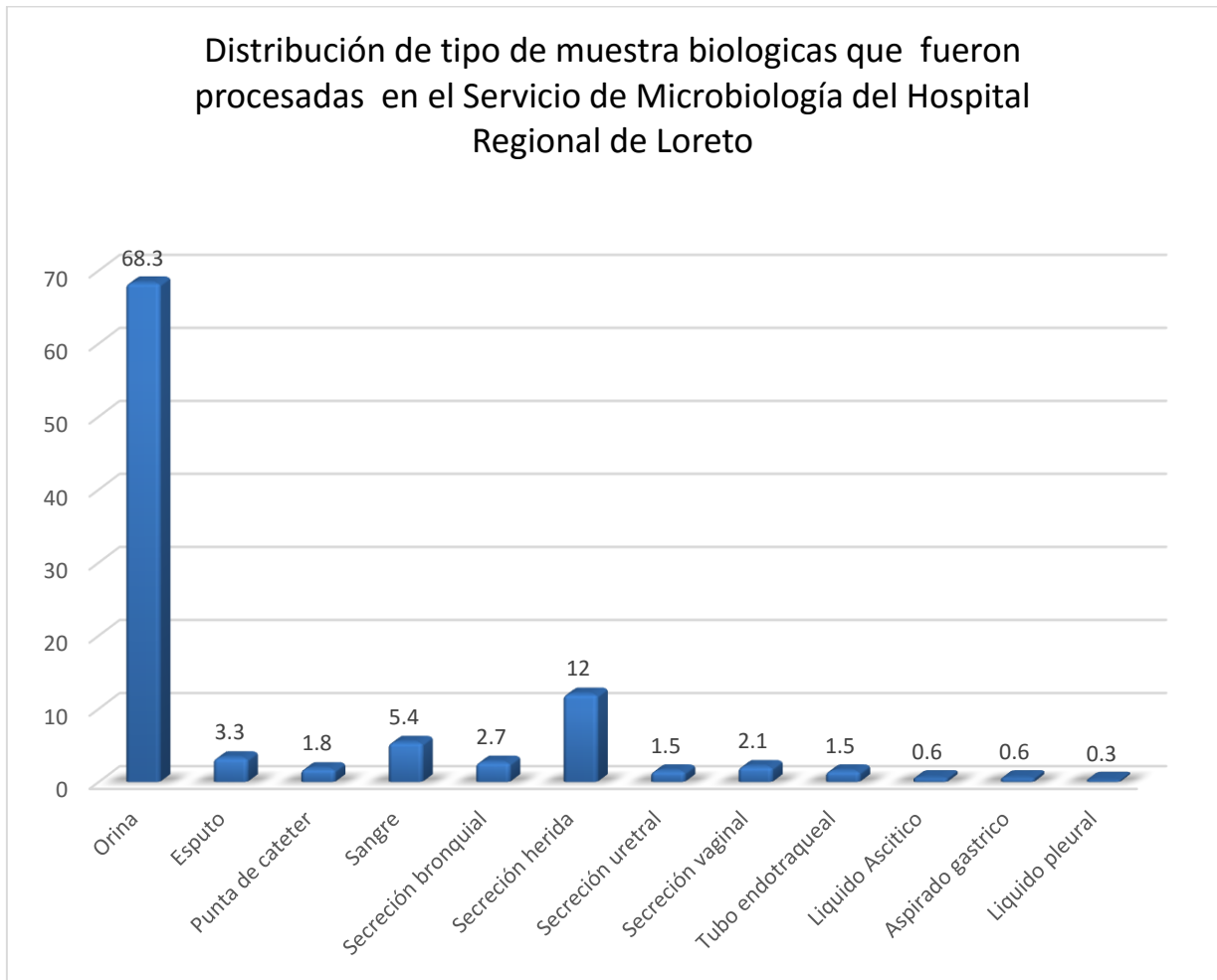
TABLA N° 4

Distribución de tipo de muestra biológicas que fueron procesadas en el Servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto

<b>Muestra</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje acumulado</b>
Orina	228	68,3	68,3
Secreción herida	40	12,0	93,4
Sangre	18	5,4	78,7
Espujo	11	3,3	71,6
Secreción bronquial	9	2,7	81,4
Secreción vaginal	7	2,1	97,0
Punta de catéter	6	1,8	73,4
Secreción uretral	5	1,5	94,9
Tubo endotraqueal	5	1,5	98,5
Líquido Ascítico	2	0,6	99,1
Aspirado gástrico	2	0,6	99,7
Líquido pleural	1	0,3	100,0
Total	334	100,0	

En la tabla N° 4. Se indica la distribución de frecuencia de los resultados, según tipo de muestra biológica, se aprecia que la mayor frecuencia con el 68.3% de muestras procesadas fueron orina, mientras que la menor frecuencia con el 0.3% de muestras procesadas fueron Líquido pleural.

GRAFICO N° 4



En el GRAFICO N° 4. Se muestra el porcentaje de muestras biológicas procesadas en el Servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto, la mayor frecuencia fue la muestra de orina con un 68.3% y con menor frecuencia con el 0.3% de muestras procesadas fueron Liquido pleural.

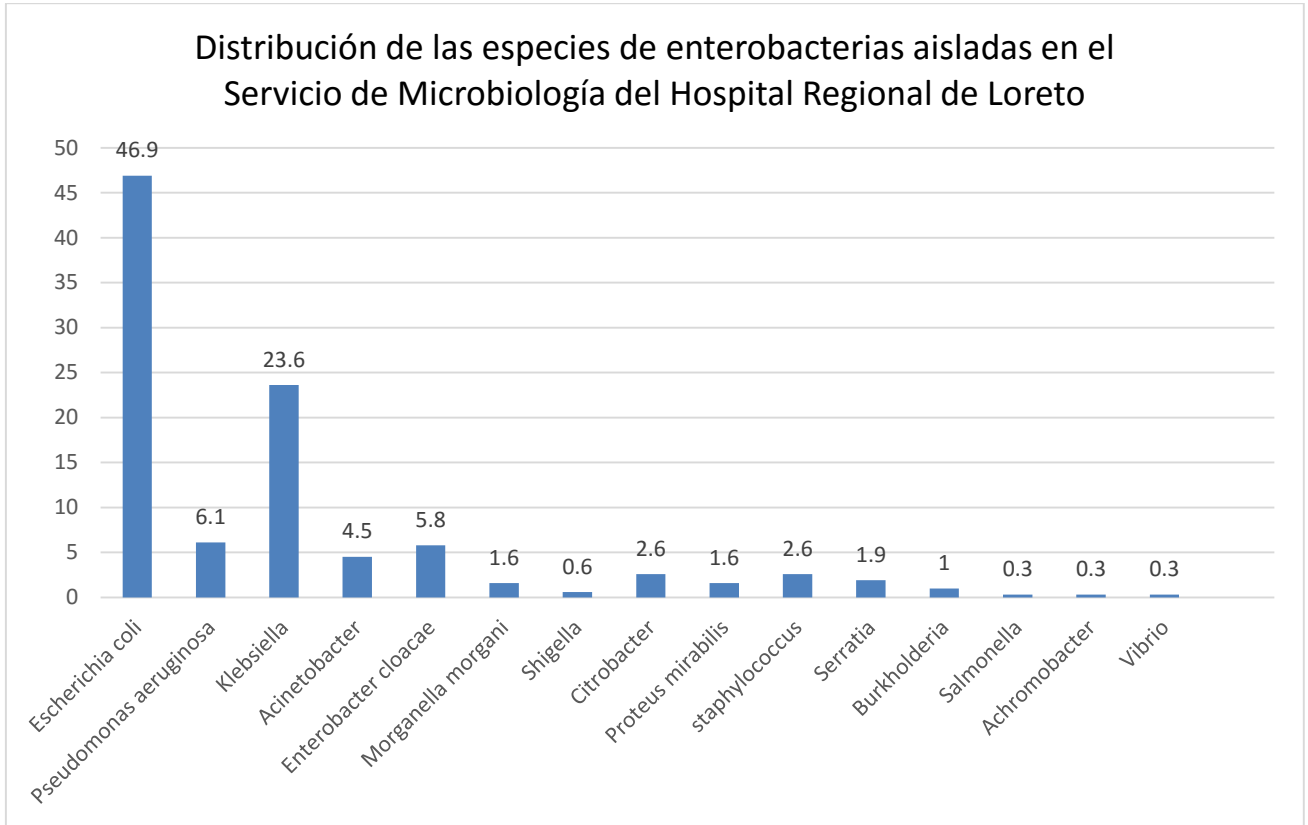
TABLA N° 5

Distribución de las especies de enterobacterias aisladas en el Servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto

Enterobacteria	Frecuencia	Porcentaje
Escherichia coli	145	48,2
Klebsiella	73	24,3
Pseudomonas aeruginosa	19	6,3
Enterobacter cloacae	18	6,0
Acinetobacter	14	4,7
Citrobacter	8	2,7
Serratia	6	2,0
Morganella morgani	5	1,6
Proteus mirabilis	5	1,6
Burkholderia	3	1,0
Shigella	2	0,7
Salmonella	1	0,3
Achromobacter	1	0,3
Vibrio	1	0,3
Total	301	100,0

En la tabla N° 5. De un total de 301 aislamientos de enterobacterias, la mayor frecuencia especie de enterobacteria aislada fue la Escherichia coli con el 48.2% y con la menor frecuencia con el 0.3% el Vibrio, Achromobacte y Salmonella.

GRAFICO N° 5



En el GRAFICO N° 5. De un total de 309 aislamientos de enterobacterias, la mayor frecuencia especie de enterobacteria aislada fue la Escherichia coli con el 46.9% y con la menor frecuencia con el 0.3% el Vibrio, Achromobacte y Salmonella.

## VI. DISCUSION

Se desconoce la prevalencia real de las BLEE, probablemente son subestimadas las cifras que habitualmente se comunican.

El presente estudio fue diseñado para demostrar la presencia y distribución en el escenario comunitario e intrahospitalario, de la resistencia bacteriana, específicamente aquella cuyo mecanismo de transmisión es de naturaleza enzimática mediante plásmidos de transferencia entre bacterias del tipo E. Coli aisladas de muestras de orina. Estas enzimas llamadas BLEE generan resistencia a las penicilinas, cefalosporinas de 1a, 2a, 3a y 4a generación, incluyendo al Aztreonam. A nivel nosocomial, las BLEE son consideradas como causas importantes del incremento en la morbilidad y mortalidad de pacientes, de la prolongada estancia hospitalaria y del aumento de los costos globales de salud, además la expansión de estas bacterias hacia la comunidad dificulta su tratamiento empírico si la infección urinaria (IU) es grave.

En los brotes nosocomiales de microorganismos BLEE (+) hasta ahora se han implicado mayoritariamente cepas de K. pneumoniae. Actualmente, el aislamiento de cepas de E. coli BLEE (+), tanto en la comunidad como en el hospital, se ha convertido en un problema creciente, si bien en general los brotes nosocomiales por dichas cepas son menos frecuentes que los debidos a K. pneumoniae. Menor peso global tiene de momento otras enterobacterias, como Citrobacter, Enterobacter, pseudomonas, Serratia, salmonella o Morganella. Entre los factores clásicamente considerados predisponentes para la aparición de brotes destacan los ecológicos, en concreto el uso excesivo de antimicrobianos, fundamentalmente de cefalosporinas de tercera generación, aunque también se ha implicado el uso de aztreonam, fluorquinolonas, aminoglucósidos, cotrimoxazol y metronidazol. Los principales determinantes para la selección y la diseminación de cepas productoras de BLEE parecen ser la duración y el espectro de la antibioterapia recibida previamente por los pacientes.

Entre los factores de riesgo que se estima pueden tener influencia en la colonización y/o infección se encuentran: La edad y la gravedad del paciente; La duración de la hospitalización y de la estancia en la UCI; Ser portador de catéteres intravasculares, urinarios, de gastrostomía o yeyunostomía; La colonización gastrointestinal; La intubación orotraqueal y la ventilación mecánica; La hemodiálisis.

## VII. CONCLUSIONES

El estudio descriptivo, observacional y retrospectivo, realizados durante el periodo Enero a Junio del 2017 en el Hospital Regional de Loreto, de los cuales se recepciono y se sembro en medios de cultivos 334 muestras biologicas de las cuales 301 se aislaron de enterobacterias.

La mayoría de las cepas productoras de BLEE fueron aisladas en orina con 228 cepas en urocultivos (68.3%). Las enterobacterias más frecuentes aislada fue *Escherichia coli* (48.2%).

Hallando asociación significativa con sexo femenino (74.3%) en relación con el sexo masculino (25.7%).

La prevalencia a la  $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias (BLEE) positivos aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto fue del 42.8%, resultados muy cercanos a los reportados por otros investigadores, Arce y Astete en Perú, quienes informaron una prevalencia de 51.4 % y 62.5% respectivamente.

Consideramos que la presencia de estos microorganismos BLEE positivos impone un trabajo de detección y seguimiento, lo cual requiere no solo de una mayor calidad en el trabajo del laboratorio de microbiología sino también una mayor identificación con estas realidades por parte del equipo de trabajo asistencial, todo lo cual va a incrementar la eficacia en la aplicación de la antibioticoterapia y menor costo en la atención de nuestros pacientes.

Las BLEE son una sana respuesta de los microorganismos a un ambiente hostil y es una de las causas de la emergencia de las BLEE por el excesivo uso a nivel hospitalario de las cefalosporinas de tercera generación. A nivel de laboratorio, existen un buen desarrollo con las técnicas de detección.

No obstante, el tratamiento de los gérmenes productores de BLEE es controvertido y su significancia clínica todavía no es clara, sin embargo, parece existir un consenso de los expertos para el control de las BLEE en los siguientes puntos:

- i. restricción de cefalosporinas de tercera generación
- ii. carbapenems como la terapia de elección para el tratamiento de los gérmenes productores de BLEE
- iii. uso combinado de beta-lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -Lactamasas

## VIII. RECOMENDACIONES

La Guía de Práctica Clínica (GPC) de la “European Society of Clinical Microbiology” sobre medidas para reducir la transmisión de bacterias Gram negativas multirresistentes en el ámbito hospitalario (incluyendo las enterobacterias productoras de BLEE), recomienda, entre las estrategias a adoptar ante un brote por enterobacterias productoras de BLEE (situación epidémica), que se implementen precauciones por contacto en todos los encuentros con pacientes colonizados o infectados y en todos los entornos hospitalarios, a fin de reducir el riesgo de adquisición. Señala que los trabajadores sanitarios que atienden a pacientes colonizados o infectados por enterobacterias productoras de BLEE deben usar guantes y batas antes de entrar en la habitación y deberían eliminar estos con prontitud después de la atención para realizar después medidas de higiene de manos. Considera que debería haber auditorías sobre la adherencia a las medidas de aislamiento de contacto para asegurar que las intervenciones se están realizando correctamente y aumentar las posibilidades de éxito. La evidencia de cuándo interrumpir el aislamiento de contacto en este grupo de pacientes es heterogénea y se proponen dos intervenciones: aislamiento de contacto durante toda la hospitalización o hasta obtener dos cultivos negativos. No hay evidencia que respalde una recomendación a favor o en contra de asociar el uso de mascarillas (precauciones de transmisión por gotas) al entrar a una habitación de pacientes con aislamiento de contacto. Las precauciones de contacto y el aislamiento estricto, sin embargo, pueden tener un efecto impacto psicológico negativo en los pacientes, observándose un aumento de las tasas de depresión y ansiedad. Además, se considera necesario una evidencia de más calidad, obtenida de estudios de cohortes multicéntricos, con poder estadístico adecuado y análisis robustos para minimizar los sesgos potenciales, para confirmar estos hallazgos; y aunque las medidas de prevención y control de la infección pueden ser efectivas para la prevención de la propagación de estos microorganismos, no hay evidencia respecto a si estas medidas son o no coste-efectivas.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 
- <sup>i</sup> Sánchez Artola, B. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Revista Electrónica de Medicina Intensiva 2004 Vol 4 nº 8, agosto . Artículo nº C6.
- <sup>ii</sup> Rossi B, Soubirou JF, Chau F, Massias L, Dion S, Lepeule R, et al. Cefotaxime and amoxicillin/clavulanate synergism against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in a murine model of urinary tract infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2 de noviembre de 2015
- <sup>iii</sup> Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*. marzo de 2008;8(3):159-66.
- <sup>iv</sup> Alarcón NC, José Francisco Salgado Gonzalez, Raquel Lisseth Ocampo Sarabia. Caracterización de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido producidas por *Escherichia coli* de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad de Chilpancingo, Guerrero, México. *Rev Tlamati*. abril de 2014;5(2):14-23.
- <sup>v</sup> Hernández Álvarez. *Escherichia coli* Productores de BLEE Aislados de Urocultivo: Implicaciones en el Diagnóstico y Tratamiento de la Infección Urinaria. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2009.
- <sup>vi</sup> Randolph Ruiz Rodríguez. Factores de riesgo para infección por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en adultos hospitalizados del complejo hospitalario San Pablo. [Trujillo-Perú]: Facultad de Ciencias Médicas UNT; 2014.
- <sup>vii</sup> Anya Ruth Argüez de Paz, Anelys Rodríguez Chávez. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario. *Rev Cub Med Int Emerg*. octubre de 2015;14(4):16-20.
- <sup>viii</sup> Morejón García Moisés. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev cubana med [Internet]*. 2013 Dic [citado 2017 Nov 14] ; 52( 4 ): 272-280. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es)
- <sup>ix</sup> García Coralith, Astocondor Lizeth, Banda Claudia. Enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y en el Perú. *Acta méd. peruana [Internet]*. 2012 Jul [citado 2017 Nov 14] ; 29( 3 ): 163-169. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172012000300007&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172012000300007&lng=es).
- <sup>x</sup> Álvarez Almanza Delfín. Identification of extended spectrum  $\beta$ -lactamases in enterobacterias. *Rev haban cienc méd [Internet]*. 2010 Nov [citado 2017 Nov 14] ; 9( 4 ): 516-524. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2010000400011&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400011&lng=es).
- <sup>xi</sup> Pavón Romero, Sergio, Zalazar Gómez, Mayra, Morales Rodríguez, Macario, Rojas Pedral, Mercedes, Presencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. *Ciencia Ergo Sum [en línea]* 2011, 18 (Julio-Octubre) :



---

[Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2017] Disponible en:<<http://revele.com.veywww.redalyc.org/articulo.oa?id=10418753007>> ISSN 1405-0269

<sup>xii</sup> Calle Núñez Adriana, Colqui Campos Kevin Antonio, Rivera Estrella David Alonso, Cieza Zevallos Javier Antonio. Factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido. *Rev Med Hered* [Internet]. 2017 Jul [citado 2017 Nov 28] ; 28( 3 ): 142-149. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2017000300002&Ing=es)

130X2017000300002&Ing=es. <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.20453/rmh.v28i3.3180>

<sup>xiii</sup> Cajas Bravo JM, Cobos Argudo JG. Tesis [Internet]. 2015 [citado el 28 de Noviembre de 2017]. Recuperado a partir de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/22260>

<sup>xiv</sup> Quiñones Pérez Dianelys, Carmona Cartaya Yenisel, Zayas Illas Arnaldo, Abreu Capote Miriam, Salazar Rodriguez Daniel, García Giro Sandra et al . Resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Klebsiella spp.* y producción de B-lactamasas de espectro extendido en hospitales de Cuba. *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 2014 Dic [citado 2017 Nov 28] ; 66( 3 ): 386-399. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602014000300007&Ing=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000300007&Ing=es)

<sup>xv</sup> Valdez Fernandez Baca Luis Manuel. *Escherichia coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), un problema creciente en nuestros pacientes. *Rev Med Hered* [Internet]. 2017 Jul [citado 2017 Nov 28] ; 28( 3 ): 139-141. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2017000300001&Ing=es)

130X2017000300001&Ing=es. [http://dx.doi.org/https://doi.org/10.20453/rmh.v28i3.3179.](http://dx.doi.org/https://doi.org/10.20453/rmh.v28i3.3179)

<sup>xvi</sup> Koneman EW. Diagnóstico microbiológico. 5ta Ed. Estados Unidos: Editorial MédicaPanamericana, 1999. P. 1359.

<sup>xvii</sup> Zwadyk P. Enterobacteriaceae: Características Generales. P. 673-683. (En JoklikWK,Wilett HP, Amos B, comps. Zinsser Microbiología. 13 ed. La Habana: Científico Técnica,Vol. 2, 1983. P. 1413.)

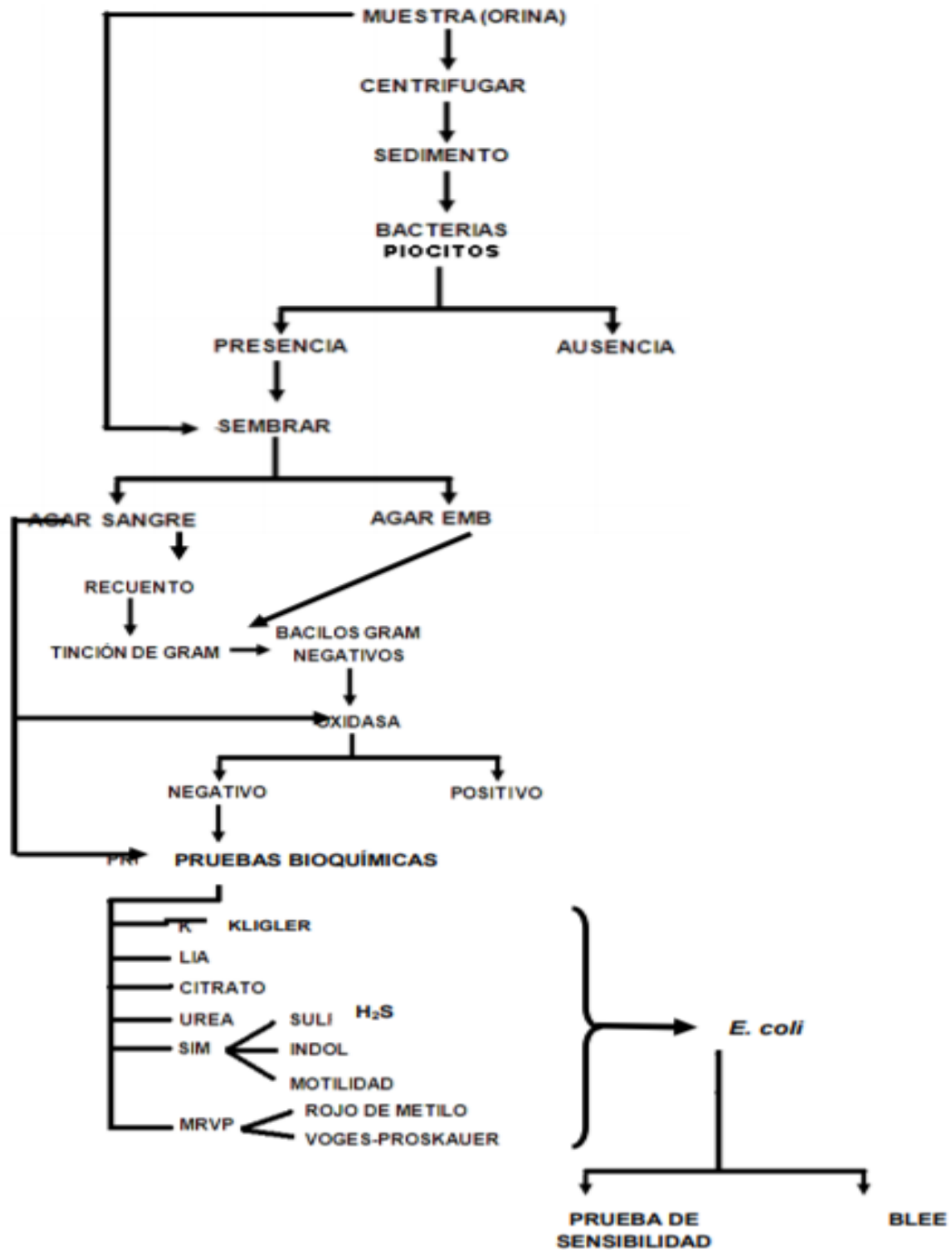
## 10. ANEXOS

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADORES
¿Cómo se relaciona la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido y las Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017?	Demostrar la relación entre la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido y las Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.	Si existe relación entre la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido y las Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.	<b>Variable Independiente X:</b> $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido	Sexo Especies de enterobacterias Tipos de muestras biológicas
			<b>Variable dependiente Y:</b> Enterobacterias aisladas	Cuaderno de registros de resultados Solicitud de laboratorio

PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVOS ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICO
¿Cómo se relaciona el sexo y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017?	Demostrar la relación entre el sexo y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.	Si existe relación entre el sexo y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.
¿Cómo se relaciona la especie de enterobacterias y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017?	Demostrar la relación entre la especie de enterobacterias y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.	Si existe relación entre la especie de enterobacterias y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.
¿Cómo se relaciona los tipos de muestras biológicas y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017?	Demostrar la relación entre tipos de muestras biológicas y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.	Si existe relación entre tipos de muestras biológicas y la frecuencia de la $\beta$ -Lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias en el servicio de Microbiología del Hospital Regional de Loreto desde Enero a Junio del 2017.

## Flujograma de trabajo



Antibióticos y diámetro críticos para Enterobacterias

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
<b>PENICILINAS</b>				
Ampicilina	10 µg	£ 13	14-16	³17
<b>CEFALOSPORINAS</b>				
Cefalotina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	£ 14	15-22	³23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefoxitina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefotaxima	30 µg	£ 14	15-22	³23
Ceftriaxona	30 µg	£ 13	14-20	³21
Ceftazidima	30 µg	£14	15-17	³18
Cefixima	5 µg	£ 15	16-18	³19
Cefpirome *	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	³18
<b>β LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA</b>				
Ampicilina/Sulbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	³15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	£ 13	14-17	³18
Cefoperazona/sulbactam +	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	³21
<b>MONOBACTAMS</b>				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	³22
<b>CARBAPENEMS</b>				
Imipenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
Meropenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
<b>AMINOGLUCOSIDOS</b>				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	³15
Amikacina	30 µg	£ 14	15-16	³17
<b>QUINOLONAS</b>				
Acido nalidixico	30 µg	£ 13	14-18	³19
Norfloxacin	10 µg	£ 12	13-16	³17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³21
Ofloxacin	5 µg	£ 12	13-15	³16
<b>TETRACICLINA</b>				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³19
<b>OTROS</b>				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	³18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75µg	£ 10	11-15	³16

\* Diámetros críticos adaptados del CFA – SFM, 2000 – 2001.

+ Adaptado a partir de los diámetros críticos de la Cefoperazona según el NCCLS 2001

---

### Diámetro críticos de tamizaje para la detección de Betalactamasas de espectro extendido

ANTIBIOTICO-CONCENTRACION	HALO DE INHIBICION
Aztreonam 30 mg	£ 27 mm
Ceftazidima 30 mg	£ 22 mm
Cefotaxima 30 mg	£ 27 mm
Ceftriaxona 30 mg	£ 25 mm

Test confirmatorio de la presencia de “betalactamasas de espectro extendido” (según el NCCLS - USA)

- Este test requiere el uso de discos habituales de Ceftazidima (30 mg) ,Cefotaxima (30 mg), así como de Ceftazidima/Acido Clavulánico (30/10 mg) y Cefotaxima/Acido Clavulánico (30/10 mg), con los que se realiza un test de disco difusión sin ninguna variante.
- Si los discos de Ceftazidima/Acido Clavulánico y Cefotaxima/Acido Clavulánico presentan zonas de inhibición superiores 5 mm a aquellos producidos por los discos de Ceftazidima y Cefotaxima, respectivamente, se considera el test como positivo.
- Test confirmatorio de la presencia de “betalactamasas de espectro extendido” (según el Comité de Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología)
- Este test requiere el uso de discos habituales de Amoxicilina/Acido Clavulánico (20/10 mg), Ceftazidima (30 mg) y/o Cefotaxima (30 mg) y/o Aztreonam (30 mg) y/o Ceftriaxona, con los que se realiza un test de disco difusión sin ninguna variante.
- Los discos de Ceftazidima, Aztreonam, Cefotaxima y Ceftriaxona se disponen a 30 mm del disco de Amoxicilina/Ácido Clavulánico (distancia de centro a centro de los discos).
- Si una imagen de sinergia aparece entre el disco Amoxicilina/Ácido Clavulánico y los discos de Ceftazidima y/o Aztreonam y/o Cefotaxima y/o Ceftriaxona, se considera el test como positivo.
- Reporte de antibiograma de las enterobacterias productoras de “betalactamasas de espectro extendido”: Una vez detectadas las cepas productoras de estas “betalactamasas de espectro extendido” deben ser reportadas como resistentes a todas las penicilinas, las cefalosporinas de todas las generaciones (incluyendo los

---

de cuarta generación) y al Aztreonam, cualquiera que sea el diámetro de los discos de estos antibióticos.