

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación del Perfil de Resistencia Antibiótica de Escherichia coli, Klebsiella oxytoca y Klebsiella pneumoniae en el Sanatorio privado "Nuestra Señora del Pilar"

Miriam Lorena Barrera Monterroso

Química Bióloga

Guatemala, noviembre del 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación del Perfil de Resistencia Antibiótica de Escherichia coli, Klebsiella oxytoca y Klebsiella pneumoniae en el Sanatorio privado "Nuestra Señora del Pilar"

Informe Final de Tesis

Presentado por

Miriam Lorena Barrera Monterroso

*Para optar al título de
Química Bióloga*

Guatemala, noviembre del 2005

DEDICATORIA

La presente tesis va dedicada a las entidades que hicieron posible de una u otra forma la realización del estudio.

Sanatorio "Nuestra Señora del Pilar"

Laboratorio Nacional de Salud

Universidad de San Carlos de Guatemala

AGRADECIMIENTOS

A **"DIOS"** Nuestro Señor por haberme dado la vida y fortaleza durante mi existencia.

A mis Padres: **José Mariano Barrera Gómez y Rita María Mendoza**, por haber sido los pilares más fuertes donde me he apoyado durante mi vida.

A mis Abuelos: **Manuel Barrera Castellanos y Margarita Gómez Gutierrez (Q.E.D.)**, por sus consejos y ayuda.

A mis Amigas y Compañeras: **Tania, Ana O, Shirley, Claudia, Lisbeth, Alf y María Elena**, por haber compartido triunfos y derrotas, alegrías y tristezas y por haber estado en las buenas y en las malas.

A mis primos, en especial a: **Jorge Barrera, Miguel Manolo Barrera, Vera de Barrera y César Leonel Barrera** por su ayuda incondicional.

A **Maria Eugenia Garzaro, Blanca Chutá, Enrique Albizures y Aida Matta.**

Al Lic. **Jorge Matheu, Licda. Karla Lange, Licda. Claudia Aldana y Licda. Isabel Massanet.**

INDICE

| | |
|--|----|
| I. RESUMEN | 3 |
| II. INTRODUCCIÓN | 5 |
| III. ANTECEDENTES | 7 |
| A. ENTEROBACTERIAS | 7 |
| 1. Características generales | 7 |
| 2. Propiedades de las Enterobacterias | 7 |
| 3. Características generales de <i>Escherichia coli</i> | 9 |
| 4. Características Generales de <i>Klebsiella</i> | 9 |
| B. ANTIBIÓTICOS | 12 |
| 1. Mecanismos de acción y clasificación | |
| 2. Betalactámicos | 12 |
| a. Generalidades | 12 |
| b. Mecanismo de acción | 15 |
| c. Mecanismos de resistencia a los antibióticos Betalactámicos | 16 |
| d. Inhibidores de las B-lactamasas | 17 |
| e. Preparados activos sobre <i>Klebsiella</i> | 19 |
| 3. Glucopéptidos | 19 |
| 4. Aminoglúcidos | 19 |
| 5. Quinolonas | 21 |
| 6. Macrólidos | 22 |
| 7. Tetraciclinas | 22 |
| 8. Amfenicoles | 23 |
| 9. Lincomicina y Clindamicina | 23 |
| 10. Sulfamidas | 24 |

| | |
|---|----|
| C. RESISTENCIA BACTERIANA | 25 |
| 1.Generalidades | 25 |
| 2. Datos Epidemiológicos | 25 |
| 3. Bases Genéticas de la Resistencia | 27 |
| 4. Mecanismos Bioquímicos de Resistencia | 28 |
| a. Inactivación Enzimática | 28 |
| b. Disminución de la permeabilidad de la membrana celular | 34 |
| c. Disminución de la concentración intracelular del antibiótico | 35 |
| d. Modificación de la estructura de las proteínas blanco | 35 |
| 5. Susceptibilidad a los patógenos nosocomiales | 35 |
| 6. Detección de la resistencia bacteriana en el laboratorio | 36 |
| a. Interpretación del antibiograma | 36 |
| 7. Emergencia de las infecciones nosocomiales | 38 |
| 8. Medidas Terapéuticas en las infecciones por BLEE | 39 |
| 9. Prevención y control de las Infecciones nosocomiales | 41 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 42 |
| V. OBJETIVOS | 44 |
| VI. HIPÓTESIS | 45 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS | 46 |
| VIII. RESULTADOS | 50 |
| IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 58 |
| X. CONCLUSIONES | 66 |
| XI. RECOMENDACIONES | 68 |
| XII. REFERENCIAS | 69 |
| XIII. ANEXOS | 75 |

I. RESUMEN

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico (1, 2). Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes causan una amplia morbilidad y mortalidad, asimismo causan un mayor costo por mayor estancia hospitalaria y complicaciones. La resistencia es transmitida a través de plásmidos los cuales son elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia que pueden codificar Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) y Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), siendo en el ámbito hospitalario *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* microorganismos susceptibles al traspaso continuo de la información que codifica los perfiles de resistencia antibiótica múltiple (3). El objetivo principal de la investigación fue determinar el perfil de resistencia antibiótica de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae* en el Sanatorio “Nuestra Señora del Pilar”, según el tipo de muestra, servicio de procedencia y la resistencia asociada a otros antibióticos no Betalactámicos cuando hay presencia de Betalactamasas de espectro ampliado y extendido.

Se recolectaron 162 aislamientos en total de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, fueron transportados al Laboratorio Nacional de Salud para su análisis poniendo énfasis en las muestras que fueron positivas para BLEE, en el equipo automatizado MicroScan del Sanatorio “Nuestra Señora del Pilar”, esto con el fin de descartar falsos positivos. Se utilizó el método de difusión en disco ó método de Bauer – Kirby, en el que se emplean discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada de 30 microgramos. Midiendo el tamaño del halo de inhibición de crecimiento se puede obtener resultados semicuantitativos. La resistencia hacia Ampicilina y Ticarcilina indica la presencia de BLEA mientras que la resistencia hacia Ceftazidima y Cefotaxima indican la presencia de BLEE.

Del total de 162 aislamientos: 103 presentaron BLEA y 15 presentaron BLEE. Los porcentajes de frecuencias de perfiles tipo BLEA y BLEE fueron: para el perfil de resistencia tipo BLEA: 80 aislamientos de *Escherichia coli* (49.38%), 20 aislamientos de

Klebsiella pneumoniae (10.49%) y 3 aislamientos de *Klebsiella oxytoca* (1.85%). Para el perfil de resistencia tipo BLEE se obtuvieron, 13 aislamientos de *Escherichia coli* (8.02%) y 2 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* (1.23%). En las salas de Medicina de Hombres y Medicina de Mujeres se aislaron cepas con BLEE y BLEA; en la sala de Maternidad únicamente se aisló cepas con BLEA. Según la muestra analizada se encontró que el patrón de resistencia tipo BLEA se halla más diseminado en urocultivos, el patrón tipo BLEE se halló diseminado en urocultivos, aspirados traqueales, esputo, puntas de catéter y secreciones. Se halló también la codificación de resistencia hacia Aminoglucósidos, Quinolonas y Sulfonamidas.

Se observó que la comunidad o los pacientes ambulatorios presentan con más frecuencia el patrón de resistencia tipo BLEA mientras que los pacientes hospitalizados presentan con mayor frecuencia del patrón de resistencia tipo BLEE, sobre todo los adultos mayores que cursan con fuerte presión antibiótica, los servicios que fueron mas afectados por BLEA son los encamamientos A y C, mientras que los más afectados por BLEE son los encamamientos B y C lo cual pudo deberse a que el personal no tomó las medidas necesarias para evitar la propagación del microorganismo. El patrón BLEE encontrado en los servicios fue de tipo Cefotaximasa. El Sanatorio posee una resistencia mucho mayor a ciprofloxacina en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* que los hospitales Nacionales de la red (47), debido a que la terapia empírica más usada es la medicación con ciprofloxacina en dicho Sanatorio.

Dentro de las conclusiones más importantes del estudio están: **1.** La existencia del patrón tipo BLEE en los aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, conlleva la resistencia hacia Sulfamidas, Quinolonas y Aminoglucósidos. **2.** El perfil de resistencia antibiótica mayormente encontrado para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* fue de tipo BLEA seguido por el Patrón tipo BLEE. **3.** La resistencia en urocultivos es similar a la obtenida de Consulta Externa y Emergencia lo cual es un reflejo de la resistencia que se halla en la comunidad, mientras que la resistencia encontrada en esputos, aspirados traqueales, secreciones y punta de catéter son similares a la hallada dentro de las Salas o encamamientos del Hospital. **4.** La resistencia hacia Ciprofloxacina en el Hospital Nuestra señora del Pilar es mayor que la reportada en la red de Salud Pública Guatemalteca, no importando si la muestra proviene del interior de las salas hospitalarias o fuera de ellas.

II. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la resistencia de bacterias a los antimicrobianos es uno de los ejemplos que más ilustran los llamados síndromes o enfermedades infecciosas re-emergentes, con implicaciones sociales y económicas enormes dadas por el incremento de morbilidad y mortalidad, aumento de los costos de los tratamientos y de las largas estancias hospitalarias generadas. Varios son los factores que han contribuido a su aparición:

- La presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso terapéutico en humanos.
- La utilización generalizada de antimicrobianos en pacientes inmunocomprometidos y en la unidad de cuidados intensivos.
- El uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana.
- El desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los diferentes microorganismos teniendo en cuenta la microbiota local de cada institución o comunidad.

Resulta sorprendente la rapidez con la cual el problema de la resistencia bacteriana se convirtió de un fenómeno localizado o de laboratorio a una epidemia mundial, hace algunos años la multirresistencia sólo se verificaba en los grandes hospitales, sin embargo, en nuestros días la atención al paciente con una infección por una bacteria multirresistente se da ya en todos los niveles. En la década de 1,990 las infecciones nosocomiales causadas por enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), fueron una preocupación constante de los médicos responsables de la atención de tales infecciones, el fenómeno de la resistencia bacteriana alcanzó en 1,999 una magnitud colosal, al grado de que hay quienes llamaron a esta problemática un desastre médico o el fin de los fármacos (antibióticos) milagrosos.

El laboratorio juega un importante papel a la hora de reportar casos de resistencia que se presenten contra los fármacos que se están aplicando en determinado momento en el hospital, ya que permite la detección precoz de cepas resistentes que pueden controlarse con oportunos cambios en los antibióticos autorizados para uso en la institución. Su otro papel fundamental es tipificar los microorganismos en el menor tiempo posible, dando además su perfil de susceptibilidad para pasar de la terapia empírica a la específica con el antibiótico indicado para el microorganismo identificado.

Está claro que día con día nos enfrentamos a un problema de resistencia antibiótica, tanto en el hospital como en la comunidad, trayendo consigo graves implicaciones terapéuticas en todo nivel, ya sea en la red hospitalaria pública o privada. En la presente investigación se estudiaron tres microorganismos *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, ya que son ellos los que con más frecuencia se han visto involucrados en brotes nosocomiales graves en años recientes. Se determinaron los perfiles de resistencia, clasificándolos según el lugar de procedencia (servicio del cual proviene la muestra) y el tipo de muestra del cual se aislaron con mayor frecuencia. En el estudio se buscó, tanto la resistencia a antibióticos Betalactámicos como a las distintas familias de antibióticos no Betalactámicos; ya que la presencia de BLEE y BLEA en el microorganismo no solo podría codificar resistencia hacia un solo grupo de antibióticos, dando como resultado la disminución de las opciones terapéuticas para el paciente.

III. ANTECEDENTES

A. ENTEROBACTERIAS

1. Características generales

Las enterobacterias constituyen una amplia familia de bacilos Gram negativo, aerobios y anaerobios facultativos, relacionados por sus propiedades bioquímicas y genómicas, algunos de cuyos miembros son huéspedes habituales del tubo digestivo del hombre y de los animales (1).

Se caracterizan por ser poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a la acción de los agentes externos, por este motivo se encuentran muy difundidos. Aunque cierto número se comportan como saprófitas del medio ambiente (agua, suelo, plantas), en su mayoría se encuentran asociadas con el hombre o los animales y constituyen la mayor parte de la microbiota aerobia Gram negativa que coloniza el tubo digestivo, pero, además, en ocasiones pueden intervenir en procesos patógenos intra o extraintestinales (2).

En relación con su acción patógena puede distinguirse un grupo reducido de especies que se consideran patógenos estrictos (capaces de producir cuadros patológicos en huéspedes), la gran mayoría se comportan como patógenos potenciales (capaces de expresar su acción patógena sólo cuando las condiciones ecológicas del huésped se encuentran modificadas), lo que hace que las Enterobacterias se encuentren como el origen de gran número de infecciones oportunistas y junto con los bacilos Gram negativo no fermentadores, constituyan la causa más importante de infecciones hospitalarias (1, 2).

2. Propiedades de las Enterobacterias

La clasificación de las Enterobacterias se efectúa en la base a sus propiedades bioquímicas y antigénicas (3).

a. Propiedades bioquímicas

Las Enterobacterias se definen como bacilos Gram negativo aerobios y anaerobios facultativos de 2-4 μm de longitud por 0.5-0.6 μm de ancho, con extremidades

redondeadas, pueden ser móviles por flagelación peritrica o inmóviles; no producen oxidasa, pero reducen los nitratos y descomponen la glucosa por fermentación (1, 3).

Las Enterobacterias presentan, además una gran variedad de propiedades bioquímicas o metabólicas, pues son capaces de fermentar diversos azúcares y alcoholes, utilizar diversas vías metabólicas con formación de ácidos, gas, descomponer diferentes sustratos (ácidos orgánicos, sustancias nitrogenadas) y aún producir gran variedad de fermentos (ureasas, descarboxilasas, desaminasas, dihidrolasas) y productos finales (indol, H₂S), por los que se pueden reconocer y diferenciar. La determinación de estas propiedades mediante pruebas bioquímicas constituye la base de la clasificación de las Enterobacterias en géneros y especies (2).

También se pueden producir variaciones en las propiedades bioquímicas, como en la capacidad de fermentar un determinado azúcar, sintetizar un exofermento, producir exotoxinas, y en la susceptibilidad o resistencia a los antibióticos (2, 3).

b. Clasificación

Atendiendo a su acción patógena, las enterobacterias se pueden dividir en dos grades grupos (1):

i. Enterobacterias patógenas

Escherichia coli, productores de diarrea, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* son microorganismos que por lo general no forman parte de la microbiota intestinal, pero que pueden dar lugar a procesos diversos en huéspedes normales, en su mayoría en el tubo digestivo (enteritis). Se caracterizan por su susceptibilidad a gran número de antibióticos que no siempre es necesario administrar para la curación del proceso (1, 2)

ii. Enterobacterias Oportunistas

E. coli, *Klebsiella-Enterobacter*, *Serratia-Hafnia*, *Citrobacter*, *Edwarsiella*, *Proteus*, *Morganella-Providencia*). Son microorganismos que forman parte de la microbiota comensal del tubo digestivo o que se encuentran como saprofitos en el medio externo que normalmente no se comportan como patógenos, pero, cuando se presentan factores predisponentes, pueden dar lugar a cuadros clínicos diversos por lo general fuera del aparato digestivo (infecciones urinarias, supuraciones de diversa localización y sepsis). En

su mayoría son cepas resistentes o multirresistentes a los antibióticos, que generalmente son necesarios para la curación del proceso (1, 2).

3. Características generales de *E. coli*

En los últimos 100 años la *E. coli* se ha estudiado de manera tal que es actualmente la forma de vida libre más perfectamente comprendida sobre la tierra (4). Es un bacilo Gram negativo, móvil, facultativo, oxidasa negativo, reductor de nitritos, no esporulado, fermenta la glucosa con producción de ácido y gas y presenta 3 antígenos: antígeno O (somático), antígeno H (flagelar) y antígeno K (de superficie) (5, 6).

a. Reservorio

Los humanos pueden servir como reservorio para la transmisión persona a persona, sobre todo en establecimientos con alto grado de hacinamiento (7).

b. Epidemiología

La incubación oscila entre 12 y 72 h. La transmisibilidad se desconoce, pero se supone que puede transmitirse mientras dure la formación de colonias en las heces que puede ser una semana o más (5, 6).

E. coli es uno de los microorganismos más importantes en ocasionar diarreas sobre todo a niños, pero también está vinculado en la transmisión de resistencia a los antibióticos tanto en la comunidad como en los hospitales, generando así grandes problemas, en su mayoría económicos. Generalmente se encuentra el mecanismo de resistencia AmpC (natural en *E. coli*), el cual hace que la bacteria sea resistente a algunas penicilinas, pero en la actualidad *E. coli* presenta no solo resistencia por AmpC sino que también por Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) (natural en *Klebsiella*) y Betalactamasas de espectro extendido (BLEE), por lo que la bacteria se ha hecho resistente a todas las cefalosporinas, dependiendo el tipo de mecanismo que posea (7).

4. Características Generales de *Klebsiella*

Los agentes cuantitativamente más importantes causantes de los cuadros neumónicos son sin duda los estreptococos. Sin embargo, el estudio de la etiología de los procesos neumónicos está también ligado al estudio del género *Klebsiella* (9).

- a. Características morfológicas y estructurales, antigénicas y fisiológicas de *Klebsiella*.

Morfología y estructura. Son bacilos rectos, de 0.3-1.0 μm de diámetro y 0.6-6.0 μm de longitud. Las células se disponen individualmente, en parejas o en cadenas cortas (10). Son inmóviles, Gram negativo y la mayor parte capsuladas. En los cultivos en medios sólidos, las cepas que producen cápsula permiten observar colonias mucosas de una consistencia viscosa. Estructuralmente al ser Gram negativas, presentan el citoplasma envuelto por una membrana citoplasmática o interna, el peptidoglicano, el espacio periplásmico, y una membrana externa. Adicionalmente, algunas cepas poseen fimbrias (pilis) (10).

La membrana citoplasmática actúa de barrera osmótica siguiendo el modelo de bicapa fosfolipídica. Es un importante centro de actividad metabólica debido a la gran cantidad de proteínas que presenta (10).

El peptidoglicano es un heteropolímero de aminoazúcares (N-acetil-glycosamina y N-acetilmurámico), y aminoácidos (D-glutámico, meso-diaminopimédico, L- y D-alanina). Las cadenas peptídicas se unen entre sí mediante la D-alanina de una cadena y el ácido mesodiaminopimédico de otra cadena; a través de la L-alanina se unen al N-acetilmurámico, ambas uniones utilizan un enlace amida. El peptidoglicano está involucrado en el mantenimiento de la forma y la ósmosis celular (10, 11).

El *periplasma* queda circunscrito entre la membrana celular y la externa. Está formado por una matriz polipeptídica y polisacárida. Su función estaría centrada en la captación de solutos, la transformación de ciertos compuestos, como los antibióticos, y el control de la presión osmótica (10, 11).

La *membrana externa* recubre la delgada estructura del peptidoglicano en las bacterias Gram negativas. La importancia fisiológica estriba en que: delimita externamente al periplasma; su superficie externa cargada negativamente le permite evitar la fagocitosis y la acción del complemento; y actúa a modo de barrera de permeabilidad frente a varios agentes tóxicos. Su estructura es típica de una membrana unitaria con proteínas (estructurales y porinas) en la que, en la capa más externa, aparece un lípido especial, el *lipopolisacárido* (LPS) (11).

El LPS que reemplaza a los fosfolípidos en la capa más externa de la membrana externa, presenta una estructura amplificada que está compuesta por tres regiones: El

lípidos A, la *región central R (core)* y la *cadena lateral O*. El *lípidos A* es la región hidrofóbica de anclaje a la membrana y es endotóxico. En esta región se une un núcleo oligosacárido (*core*) y a éste el polisacárido de características antigénicas (*antígeno O*).

La *cápsula*, que presentan muchas cepas de esta especie, es la capa más externa y está constituida por una trama laxa, hidratada y más o menos amorfa de carácter polisacárido (12).

Las *fimbrias* son estructuras proteicas filamentosas. Su función principal es la adhesión a superficies (13).

b. Reservorio y Epidemiología de *Klebsiella*

El género *Klebsiella* presenta una amplia distribución en la naturaleza (agua potable, residual y de fábricas textiles, vegetales, suelos, etc.), de lo que se deriva que la especie *K. pneumoniae* sea un huésped habitual saprofita del hombre y los animales. El 95% de los aislamientos clínicos lo constituye *K. pneumoniae* mientras que *Klebsiella oxytoca* constituye únicamente el 5% de los aislamientos, ambos microorganismos son causantes de enteritis grave en infantes, neumonía, septicemia, meningitis, infecciones en heridas, peritonitis y más frecuentemente infecciones en las vías urinarias, el período de incubación para ambos microorganismos oscila entre 6-36 horas, dependiendo de la dosis infectiva, forman parte del 40-80% de la microbiota intestinal, sobre todo en el intestino grueso y en ocasiones también de la piel, (14).

Las personas inmunodeprimidas (neonatos, ancianos, pacientes de Unidad de Cuidados Intensivos, etc.) y especialmente el ambiente hospitalario (portadores, presión antibiótica, instrumentación) son los factores más importantes para la colonización y/o el riesgo de sufrir un proceso infeccioso causado por *K. pneumoniae* (14).

K. pneumoniae no había sido considerada tradicionalmente como una especie especialmente patógena para el hombre. Sin embargo, quizás debido al incremento del uso de antibióticos y al empleo de procedimientos diagnósticos más agresivos, en los últimos años su papel como agente etiológico responsable de patología inespecífica ha ido en aumento, sobre todo de origen nosocomial representando una proporción muy significativa también de las infecciones del tracto urinario, respiratorio, septicemias e infecciones de tejidos blandos. Es causante de entre un 3-10% de todas las bacteriemias hospitalarias. Un 3% de las neumonías son atribuibles directamente a este patógeno,

pudiendo llegar a representar hasta el 40% de las neumonías nosocomiales, dejando a *K. oxytoca* como responsable del 10%; hay que considerar que del orden del 60% de los casos en las neumonías comunitarias y del 50% de las nosocomiales no es posible aislar el agente causal de la patología. El principal reservorio de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* lo constituye el tracto gastrointestinal, siendo el más importante vehículo de transmisión las manos del personal hospitalario. Debido a su gran habilidad para extenderse por el ambiente hospitalario, estas bacterias tienden a causar brotes nosocomiales, especialmente en salas de neonatos (en el 50% de los brotes), de cepas multirresistentes productoras de las denominadas Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) (13,15).

B. ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos, o agentes antimicrobianos, son sustancias (obtenidas de bacterias u hongos, o por síntesis química) que se emplean en el tratamiento de infecciones. La elección de uno u otro antibiótico en el tratamiento de una infección depende del microorganismo (obtenido por cultivo o supuesto por la experiencia), de la susceptibilidad del microorganismo (obtenida por un antibiograma o supuesta por la experiencia), la gravedad de la enfermedad, la toxicidad, los antecedentes de alergia del paciente y el costo. En infecciones graves puede ser necesario combinar varios antibióticos (16).

1. Mecanismos de acción y clasificación

Los antibióticos actúan a través de dos mecanismos principales: matando los microorganismos existentes (acción bactericida), e impidiendo su reproducción (acción bacteriostática). Su mecanismo de acción predominante los divide en dos grandes grupos (17):

- a. Bactericidas
 - i. Betalactámicos
 - ii. Glicopéptidos
 - iii. Aminoglucósidos
 - iv. Quinolonas
 - v. Polimixinas

- b. Bacteriostáticos
 - i. Macrólidos
 - ii. Tetraciclinas
 - iii. Cloramfenicol
 - iv. Clindamicina,
 - v. Lincomicina
 - vi. Sulfamidas

2. Betalactámicos

a. Generalidades

Los antibióticos betalactámicos representan un amplio grupo de moléculas con actividad bactericida. La característica común a todos los miembros de esta familia la determina la presencia de una lactama de cuatro miembros. Casi todos los preparados son bicíclicos es decir, el núcleo betalactámico está unido a un segundo anillo que varía en los diferentes grupos; las penicilinas presentan una thiazolidina, mientras las cefalosporinas tienen una thiazina.

Existen algunos preparados que carecen de este segundo anillo, los monobactamos, que son compuestos monocíclicos y el N-amídico del anillo betalactámico está unido a un radical ácido (17).

Atendiendo a la estructura del núcleo, los antibióticos betalactámicos, se han clasificado de la siguiente manera (ver figura 1):

- **Penicilinas (núcleos):** Penam, penem, clavam, clavem, carbapenam y carbapenem.
- **Cefalosporinas (núcleos):** Cefam, cefem, oxacefam, carbacefam y carbacefem.

Las cefalosporinas se clasifican en generaciones, según el tipo de bacterias que atacan:

- **Cefalosporinas de 1ª generación:** cefadroxilo, cefalexina, cefalotina, cefazolina
- **Cefalosporinas de 2ª generación:** cefaclor, cefuroxima, cefonicid, cefamandol
- **Cefalosporinas de 3ª generación:** cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefixima
- **Monobactamos.**

Desde el casual descubrimiento de la penicilina por Fleming en 1929 y la posterior purificación llevada a cabo por Florey y Chain en 1940, han aparecido toda una serie de

preparados naturales y semisintéticos que han ido mejorando tanto su espectro de actividad como las características farmacológicas. El uso extendido de los antibióticos betalactámicos radica no sólo en la excelente capacidad antibacteriana, sino en la escasa toxicidad que presentan sobre las células eucariotas (14). Los antibióticos betalactámicos más frecuentemente empleados en clínica se presentan en la Tabla 1.

Figura 1. Estructura de los núcleos de los antibióticos betalactámicos.

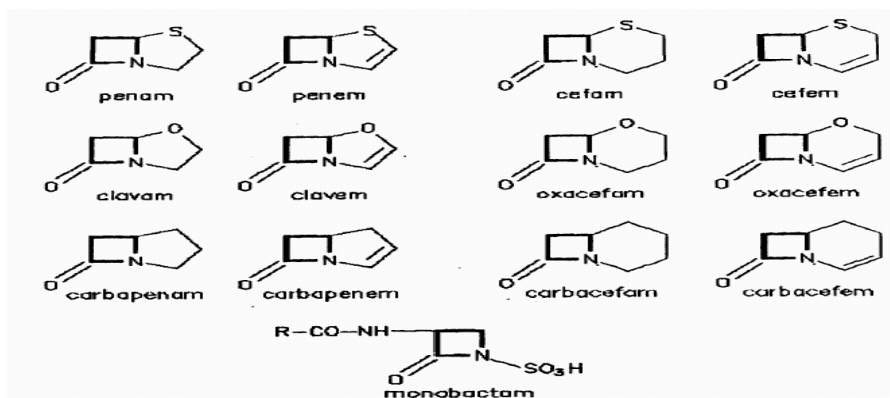


Tabla 1 Antibióticos betalactámicos más frecuentemente empleados en la clínica.

| | |
|-----------------------|----------------------------|
| PENICILINAS | |
| Bencilpenicilina | Penicilina G |
| Isoxazolilpenicilinas | Oxacilina |
| Aminopenicilinas | Ampicilina, amoxicilina |
| Carboxipenicilinas | Carbenicilina, ticarcilina |
| Acilureidopenicilinas | Azlocilina, mezlocilina |
| Temocilina | Temocilina |
| CEFALOSPORINAS | |
| 1ª Generación | Cefazolina, cefalotina |
| 2ª Generación | Cefoxitina, cefuroxima |
| 3ª Generación | Cefotaxima, ceftazidima |
| 4ª Generación | Cefpiroma, cefepime |
| CARBAPENEMAS | Imipenem, meropenem |
| MONOBACTAMOS | Aztreonam, carumonam |

b. Mecanismo de acción

Se han descrito dos mecanismos que intervienen de una manera más o menos directa en la acción antibiótica de los betalactámicos. El primero es la inhibición directa de las proteínas fijadoras de penicilina (PFP) de la membrana citoplasmática. El segundo mecanismo, inductor de la lisis celular, viene determinado por la acción concomitante de las autolisinas (16, 17).

Las proteínas PFPs son la diana por excelencia de los antibióticos betalactámicos a las que se unen por el residuo de serina análogamente a como lo haría el sustrato natural de las PFPs, los residuos acil-D-alanil-D-alanina del peptidoglicano.

En la primera reacción, de carácter reversible, la enzima fijadora de penicilina (PFP) reconoce al sustrato (antibiótico betalactámico) produciéndose una serie de cambios conformacionales en la enzima que acaban formando un complejo no covalente. En una segunda reacción, que ocurre de una manera rápida, el sustrato acila un residuo de serina del centro activo de la enzima uniendo covalentemente el antibiótico a la enzima mediante un enlace tipo éster. La reacción final de desacilación libera la enzima y un producto resultante de la inactivación del antibiótico. Un antibiótico betalactámico será considerado mejor, cuanto más rápidamente se una de forma covalente a la enzima (elevada K_3) y, permanezca unido el mayor tiempo posible (baja K_4) bloqueando y saturando las enzimas (16, 17).

Las Betalactamasas podrían haber evolucionado a partir de enzimas relacionadas con la síntesis del peptidoglicano (PFPs). De la misma forma que ciertas Betalactamasas son inducibles por exposición a los antibióticos betalactámicos, también algunas PFPs son inducibles. Sin embargo no ocurre el proceso inverso, ya que no se ha observado ninguna Betalactamasa con una función directa en el metabolismo de la pared bacteriana (17).

Las autolisinas intervienen en el crecimiento de la pared celular generando una serie de rupturas en la estructura del peptidoglicano, en la separación de las células en el momento de la división celular, en el proceso de transformación génica y en la liberación de fagos. Una vez bloqueado el crecimiento celular por la inhibición de las PFPs parece que la acción lítica de las autolisinas acabaría por completar el proceso (17).

c. Mecanismos de resistencia a los antibióticos Betalactámicos

Estos antibióticos tienen un mecanismo de acción común. Inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, en especial la formación de puentes cruzados entre las diversas capas de petidoglicanos, que normalmente brinda rigidez a la pared celular y protege a la membrana celular del ingreso de cantidades excesivas de agua a la bacteria, la formación de puentes cruzados es efectuada por proteínas con acción de transpeptidasas, denominadas proteínas fijadoras de penicilinas (PFP). También debe recordarse que cuando los antibióticos Betalactámicos son expuestos a enzimas del grupo de las betalactamasas, se convierten en inactivos, debido a la destrucción del anillo betalactámico (17).

Los mecanismos de resistencia a los antibióticos betalactámicos son fundamentalmente tres: disminución de la capacidad del antibiótico para alcanzar su diana, alteraciones de la diana (PFP) y producción de Betalactamasas (17).

La resistencia natural a los antibióticos betalactámicos es característica de género y/o especie, y es debida a la presencia de: factores relacionados con la permeabilidad, afinidad por las PFPs y presencia de Betalactamasas cromosómicas propias de estos géneros y especies (17).

Por fenómenos de mutación, conjugación, transducción o transformación, se modifican o incorporan genes de resistencia que determinarán la resistencia adquirida. A menudo la causa de presentar resistencia a un antibiótico se debe a la combinación de varios factores, lo que hace difícil asociar un patrón de resistencia fenotípico a una causa concreta y viceversa (17).

i. Disminución de la capacidad del antibiótico para alcanzar la diana:
Permeabilidad

La membrana externa juega un papel en la resistencia natural a los antibióticos betalactámicos. Las *Klebsiellas* por ejemplo, son naturalmente resistentes frente a la bencilpenicilina, meticilina y las isoxazolilpenicilinas. En las enterobacteriáceas las porinas son la vía de entrada de muchos antibióticos sin embargo, algunas mutaciones o la supresión de alguna porina, limita el acceso de los mismos al espacio periplásmico favoreciéndose la inactivación por las Betalactamasas (17).

ii. Alteraciones de la diana: PFPs

La estructura de las PFP suele estar muy conservada, sin embargo, hay casos en los que una represión fisiológica o una alteración mutacional sobre algunas porinas puede resultar en una menor funcionalidad y en un incremento de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) para algunos preparados betalactámicos. Este tipo de alteraciones se han descrito con mayor frecuencia, entre otras, en cepas de las especies *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli* (17, 18).

iii. Hidrólisis enzimática del antibiótico: Betalactamasas

Sobre los antibióticos betalactámicos pueden actuar diferentes tipos de enzimas pero sólo las Betalactamasas tienen un papel importante en la determinación de resistencia en estos preparados. Tanto en bacterias Gram positivas, donde la enzima es fundamentalmente extracelular, como en Gram negativas, donde las Betalactamasas están ubicadas en el espacio periplásmico, son estas enzimas la causa más importante de resistencia a los antibióticos betalactámicos. Las Betalactamasas hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico impidiéndose así la interacción con las PFPs (17, 18).

En algunas bacterias defectivas en la función de las autolisinas, se observa que existe una gran diferencia entre la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM), siendo la CBM muy superior a la CIM. Estos microorganismos pueden vivir en presencia de antibiótico y a este fenómeno se le conoce como tolerancia (17, 18).

d. Inhibidores de las Betalactamasas

El término de inhibidores de Betalactamasas engloba a compuestos de estructura química muy diversa y mecanismos de acción variados. En general, los compuestos betalactámicos que pueden actuar como inhibidores, se caracterizan por ser malos sustratos de las Betalactamasas. Aunque la existencia de los inhibidores de las Betalactamasas se conoce desde los años 50, su utilidad terapéutica no fue una realidad hasta el descubrimiento del ácido clavulánico en 1977, cuando fue administrado juntamente con un antibiótico betalactámico favoreciendo la actividad antibacteriana de

éste último, los inhibidores de las Betalactamasas se pueden clasificar en las siguientes categorías (17, 18):

i. Inhibidores reversibles

Son aquellos que no modifican la actividad enzimática de la enzima; es decir, no inactivan la enzima una vez se ha retirado el inhibidor. Existen de dos tipos:

- Competitivos

Son los que compiten por el mismo centro activo que el sustrato; la inhibición desaparece en presencia de elevadas concentraciones de sustrato. Su estructura es muy similar a la del sustrato, pero a diferencia de éstos, no son hidrolizados (p.e. peniciloatos y peniloatos) o lo son muy lentamente (p.e. cefoxitina, moxalactam, cefuroxima, cefotaxima y carbenicilina) (18).

- No competitivos

Se unen a un locus diferente del centro activo de la enzima y por ello no revierte su acción aumentando la concentración de sustrato (18).

- Inhibidores irreversibles

Son aquellos que modifican uno o más grupos funcionales de la enzima, de modo que ésta es incapaz de catalizar nuevamente la conversión de sustrato en producto. Los hay de tres tipos diferentes:

- Modificadores de aminoácidos: reaccionan covalentemente con un aminoácido susceptible de la enzima produciendo la inactivación de la misma (18).
- Inhibidores del centro activo: estructuralmente semejantes al sustrato, pero con un grupo funcional muy reactivo que se une a la enzima de forma irreversible (p.e. aztreonam) (18).
- Inhibidores suicidas: son poco reactivos, pero al unirse al centro activo provocan un cambio catalítico que inactiva la enzima. Su actividad como antibiótico es escasa, pero son potentes inhibidores. El ácido clavulánico, es el ejemplo más representativo, es activo sobre casi todas las Betalactamasas con excepción de las de clase 1, 3 y 4 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros, 1995. Otros ejemplos de este tipo de fármacos serían el sulbactam y el

tazobactam. El sulbactam es ligeramente más activo sobre las cefalosporinas y sobre las enzimas productoras de betalactamasas tipo TEM. El tazobactam presenta una buena actividad inhibitoria frente a enzimas de tipo plasmídico (TEM-1, SHV-1, OXA.1, etc.) y sobre algunas enzimas cromosómicas cefalosporinasas (19, 20).

e. Preparados activos sobre *Klebsiella*

Las bacterias del género *Klebsiella* tienen una Betalactamasa cromosómica de amplio espectro, lo que las hace naturalmente resistentes a las amino y carboxipenicilinas. La mayoría de las cepas son sensibles al resto de los preparados betalactámicos, incluidos los monobactamos (20).

La especie *K. pneumoniae* se caracteriza por presentar una frecuencia extremadamente elevada de una Betalactamasa denominada SHV-1, reconocida como de codificación plasmídica en la mayoría de especies donde se ha detectado. La presencia de esta enzima las puede hacer resistentes a ureidopenicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación (20).

En los últimos años están apareciendo cepas con sensibilidad disminuida o resistentes a las cefalosporinas de tercera generación y a los monobactamos. Esta resistencia viene determinada por la presencia de Betalactamasas plasmídicas, mutantes de las Betalactamasas clásicas, que han extendido su espectro de acción a estos preparados y que se han diseminado de manera horizontal por numerosas especies de enterobacteriáceas (21).

3. Glucopéptidos

a. Definición

Son antibióticos muy activos frente a microorganismos denominados Gram positivo, incluso los resistentes a penicilinas y cefalosporinas. Por ello se emplean en infecciones hospitalarias graves, sobre todo en alérgicos a penicilina.

Este grupo está integrado en la actualidad, solamente por dos antibióticos de uso clínico, primero se obtuvo la vancomicina y el otro componente del grupo es teicoplanina.

Constituyen la única alternativa para el tratamiento de infecciones causadas por

Staphylococcus aureus meticilino-resistente, *Corynebacterium jeikeium* y cepas de *S. pneumoniae* con resistencia de alto nivel a Betalactámicos (23, 24).

b. Mecanismo de acción

Actúan al nivel de la biosíntesis de la pared celular de bacterias en división, inhibiendo la síntesis del peptidoglicano en su segunda fase, un estadio previo al momento de acción de los Betalactámicos, por lo que no hay resistencia cruzada ni competencia por los sitios de unión. Secundariamente la vancomicina actuaría por otros mecanismos como es la afectación de la permeabilidad de la membrana citoplasmática e inhibición de la síntesis de ARN, que se ejerce después que el fármaco se unió al peptidoglicano. (23, 24).

c. Espectro de actividad

Son antibióticos de espectro restringido fundamentalmente a bacterias Gram positivo, activos frente a cocos y algunos bacilos Gram positivo, aerobios y anaerobios. Si la infección es por *Enterococcus* spp. resistente a penicilina, es necesario asociar gentamicina a la Vancomicina (23, 24).

4. Aminoglucósidos

Entre los aminoglucósidos más utilizados clínicamente figuran la estreptomicina, neomicina, gentamicina, kamamicina, tobramicina (25).

a. Espectro de Actividad

Estreptomicina, actualmente se usa (generalmente asociada) para tratar tuberculosis y brucelosis, y en infecciones raras como tularemia y peste.

Neomicina, se usa sólo por vía tópica (pomadas, colirios, gotas para los oídos, etc), por su toxicidad. Puede producir alergias de contacto.

Gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina se usan sólo en infecciones graves por microorganismos Gram negativo (25).

b. Mecanismo de acción

Inhiben la síntesis proteica, los aminoglucósidos se unen en forma irreversible a la unidad ribosómica 30S, provocando cambios configuracionales en los sitios dadores y aceptores, lo que da lugar a un complejo de iniciación incapaz de formar uniones peptídicas. Esto implica que se bloquea el ciclo ribosomal en una etapa temprana.

Provocan errores de lectura del ARN mitocondrial (ARNm), algunos aminoglucósidos interfieren en la traducción cuando se unen a la unidad 30S y provocan errores de lectura del ARNm, lo que lleva a que se sintetice una cadena peptídica diferente a la que se debería sintetizar (25).

5. Quinolonas

a. Clasificación y espectro de actividad

Hay dos subgrupos de quinolonas. Las más antiguas (ácido nalidíxico, ácido pipemídico) sólo actúan contra algunos microorganismos Gram negativo y se utilizan sólo como antisépticos urinarios (en infecciones leves de orina). Las más recientes, o fluoroquinolonas, incluyen fármacos como norfloxacino, ciprofloxacino y ofloxacino, y son activos frente a otras muchas bacterias, incluyendo *Pseudomona*. Se reconocen en el momento actual dos grandes grupos de quinolonas: las cuatro quinolonas y las seis fluoroquinolonas (26, 27).

b. Mecanismo de acción

El mecanismo o los mecanismos mediante los cuales las quinolonas ejercen su acción, son aún motivo de discusión. De modo general se acepta que la acción bactericida de las quinolonas puede lograrse por (27):

- i. Penetración del compuesto en el citoplasma celular.
- ii. Inhibición de la girasa del Acido Desoxirribunocleico (ADN) bacteriano.
- iii. Inhibición en la síntesis de replicación del ADN.
- iv. Inducción de una reacción de alarma y efectos deletéreos sobre la estructura celular y bioquímica de la bacteria.

6. Macrólidos

Son inhibidores de la síntesis de proteínas, la eritromicina y fármacos similares (claritromicina, azitromicina, etc) son activos, sobre todo, frente a microorganismos Gram positivo y tienen utilidad en muchas infecciones (amigdalitis, infecciones bucales, neumonías ,etc), sobre todo en alérgicos a penicilina. (21).

a. Eritromicina: Mecanismo de acción y espectro de actividad.

Es un antimicrobiano macrólido generalmente bacteriostático, pero puede ser bactericida, que actúa sobre la unidad ribosomal 50S y compite por el sitio de unión con el Cloranfenicol, que aunque parecen ser diferentes interactúan entre sí. La Eritromicina bloquea la translocación del ribosoma debido a que no permite que el Ácido Ribonucleico de transcripción (ARNt) descargado abandone el sitio P (Peptidil) (21).

Este antimicrobiano es utilizado para el tratamiento de infecciones producidas por microorganismos Gram positivo , *S. pneumoniae*, *Corynebacterium*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Campylobacter* y *Clostridium tetanii* en pacientes alérgicos a la penicilina (21).

7. Tetraciclinas: Claritromicina y Azitromicina

a. Espectro de Actividad

Inhibidores de la síntesis de proteínas, las Tetraciclinas (oxitetraciclina, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, aureomicina, etc.) tienen un espectro de actividad muy amplio. Las tetraciclinas actúan sobre cocos Gram positivos y Gram negativos, enterobacterias y se utilizan para el tratamiento de infecciones producidas por *Brucella*, *Mycoplasma*, *Rickettsia* y *Chlamydia*. Se utilizan en infecciones de boca, bronquitis, e infecciones por bacterias relativamente raras como rickettsias, clamidias, brucelosis, etc, y en la sífilis en alérgicos a penicilina. Nunca deben usarse en niños menores de 8 años ni en el Primer trimestre de gestación (21).

b. Mecanismo de Acción

Actúan sobre bacterias que se multiplican rápidamente y son bacteriostáticas. Son introducidas en la célula por un sistema de transporte activo formando un complejo con iones Magnesio (Mg^{2+}). Dentro de la célula, el complejo Tetraciclina- Mg^{2+} se une a

residuos fosfatos de la subunidad 30S, bloquean la unión de los ARNt-aminoácido al sitio aminoacil del ribosoma e impiden el alargamiento de la cadena peptídica en formación. Además interfieren en la formación del complejo de iniciación 30S (21).

8. **Amfenicoles**

Inhibidores de la síntesis de proteínas, es un antibiótico de espectro muy amplio, pero puede producir una anemia aplásica (falta completa de glóbulos rojos por toxicidad sobre la médula ósea), que puede llegar a ser mortal. Por ello, su empleo se limita al uso tópico en colirios y gotas para los oídos ("*chemicetina*"); así como para infecciones muy graves cuando los otros antibióticos son menos eficaces o más tóxicos, como por ejemplo fiebre tifoidea y algunas meningitis (22).

a. Cloranfenicol: Mecanismo de Acción

Es un antimicrobiano bacteriostático que inhibe la síntesis proteica. El cloranfenicol se une estereoespecíficamente a las unidades ribosomales 50S inhibiendo la formación de uniones peptídicas (no interfiere con la iniciación de la síntesis proteica) (22).

9. **Lincomicina y Clindamicina: Espectro de Actividad**

Inhibidores de la síntesis de proteínas, son activos también frente a microorganismos Gram positivo, pero además pueden con otros microorganismos llamados anaerobios. También se emplean en infecciones de hospital, sobre todo en alérgicos a penicilina. La Clindamicina se utiliza tópicamente en algunas infecciones de piel (22).

a. Mecanismo de acción

Se unen a la unidad 50S, compiten con el cloranfenicol por el sitio de unión al ribosoma y su acción bacteriostática es similar, inhiben la formación de las uniones peptídicas, pero además producen una rápida destrucción de los polirribosomas (22).

10. Sulfamidas:

a. Espectro de Actividad

Son agentes antimicrobianos sintéticos, bacteriostáticos, con un espectro amplio que abarca la mayoría de Gram positivo y muchos Gram negativo. Actualmente en relativo desuso, a excepción de algunas sulfamidas tópicas (sulfadiazina argéntica, mafenida), y de la combinación trimetoprim/sulfametoxazol (o cotrimoxazol) que se usa en infecciones urinarias y bronquiales, en la fiebre tifoidea y en otras infecciones, y que es de elección para el tratamiento y la prevención de la neumonía por el protozoo *Pneumocystis carinii*, que afecta a los pacientes con SIDA (28).

Las sulfamidas en combinación con trimetoprim se descubrieron en 1938, fueron los primeros antibióticos usados eficazmente (28).

b. Mecanismo de acción de las sulfamidas

Las bacterias sintetizan ácido fólico y las sulfamidas actúan inhibiendo esta síntesis.

Pteridina + receptores PABA → ácido dihidropteroico → ácido dihidrofólico → ácido tetrahidrofólico.

Las sulfamidas son análogos de los receptores PABA → compiten con él y no pueden sintetizar el ácido fólico → son bacteriostáticas.

Las sulfamidas son antibióticos de amplio espectro: Gram positivo, Gram negativo, así como: Clamydia y Toxoplasma (28).

c. Sulfamidas en combinación con trimetoprim

Esta combinación ha hecho que se incremente el uso de sulfamidas. Es un bacteriostático, pero la asociación es bactericida, las reacciones adversas son mínimas ya que solamente causan problemas gástricos, como por ejemplo nauseas; se usan mayormente en infecciones urinarias (cuando las sales sulfuradas al ejercer su efecto ocasionan respuestas inadecuadas en el paciente), respiratorias, gastrointestinales, meningitis (porque es más liposoluble), mastitis (porque tiene muy buena distribución) (28).

d. Mecanismo de acción del trimetoprim / sulfonamida

El trimetoprim inhibe la dihidrofolato reductasa que transforma el ácido dihidrofólico (precursor) en ácido tetrahidrofólico.

Como actúan a niveles diferentes, las resistencias aparecerán más lentamente o no se producirán. También es un bacteriostático, pero la asociación es bactericida (28).

C. RESISTENCIA BACTERIANA

1. Generalidades

La resistencia bacteriana se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico (29).

La resistencia bacteriana obliga al desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos, que son más costosos y a veces más tóxicos que los empleados habitualmente. Cuando se lanza al mercado un fármaco antibacteriano, se define el espectro de microorganismos sobre los cuales es eficaz, pero luego este patrón va cambiando a medida que la droga se utiliza clínicamente, llegando en algunos casos a caer en el desuso (29).

2. Datos epidemiológicos

El descubrimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos surgió poco después de iniciado el uso de la penicilina. Ya en 1944 se reportaron cepas productoras de betalactamasas que hidrolizaban la penicilina y la hacían inefectiva. Aunque inicialmente este tipo de resistencia sólo sucedía esporádicamente, rápidamente se propagó. La industria farmacéutica desarrolló nuevos fármacos, derivados a partir de los iniciales, para obviar este problema: nuevas penicilinas, cefalosporinas, combinaciones con inhibidores de betalactamasas, y carbapenems. Sin embargo, la introducción de nuevos antibióticos da lugar a la selección de cepas resistentes (29, 30).

En cuanto a los microorganismos Gram negativo, tenemos que las enterobacterias están desarrollando resistencia frente al aztreonam y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación mediante la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). El primero de estos casos se reportó en Alemania en 1983. Luego este tipo de resistencia se

fue difundiendo y actualmente *K. pneumoniae* y *E. coli* son los microorganismos más frecuentemente asociados con producción de BLEE. Al observar los porcentajes de sensibilidad de *E. coli*, tal como lo reporta un estudio en seis países latinoamericanos, vemos que en general mantienen una buena actividad imipenem 98%, amikacina 95%, cefalosporinas de tercera generación 88-92% y cefpirome 91%, al analizar los porcentajes de resistencia de las enterobacterias según las características de la muestra, se encuentra que la resistencia de *E. coli* es más baja en pacientes pediátricos, intermedia en adultos y más alta en pacientes adultos mayores; esto se explicaría porque los adultos mayores tienen un mayor número de ingresos hospitalarios, asociado a una mayor predisposición a infecciones lo que obliga a un mayor uso de antibacterianos favoreciendo el desarrollo de la resistencia. Es destacable una clara tendencia de *E.coli* a presentar una mayor resistencia a diferentes grupos de antibióticos, lo cual se pone de manifiesto por un aumento constante y mantenido de aislamientos resistentes a Ciprofloxacina (quinolona) y Ampicilina (betalactámico). Encontramos muy pocos aislamientos con Betalactamasa de espectro ampliado (BLEA), pues la resistencia a cefalosporinas de tercera generación (Cefotaxima) es prácticamente nula. Los aminoglucósidos (especialmente Amicacina) mantienen una buena actividad frente a *E.coli* en algunas localidades latinoamericanas (31).

En 1993 según algunos estudios realizados en América Latina *K. pneumoniae* muestra en general altos porcentajes de susceptibilidad, sin embargo debe recordarse, que este microorganismo es intrínsecamente resistente a Ampicilina, Cefalosporinas de primera y segunda generación. En uno de los hospitales que participaron en el estudio los datos correspondientes a los años 1993 y 1994, se encuentra un 45% de aislamientos resistentes a Cefotaxima, Aztreonam y Amoxicilina/Clavulánico, y aproximadamente un 40% a aminoglucósidos; corresponden a un probable brote nosocomial de microorganismos con BLEA (32).

La incidencia es variable, en el año 2001 se cuenta con un estudio en los Estados Unidos donde se encontró que el 9% de 906 aislamientos de Enterobacterias entre ellas *K. Pneumoniae* y *K. oxytoca* eran cepas productoras de BLEE.

De igual forma en Guatemala durante el año 2001, se realizó un estudio con los seis hospitales que constituyen la red de monotireo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos: Hospital Roosevelt, Hospital General San Juan de Dios, Instituto

guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), Hospital Nacional del Quiché, Hospital Nacional de Cobán y Hospital Nacional de Zacapa; los resultados fueron los siguientes: de 1298 aislamientos de *E. coli* se reporta un 74% de resistencia a ampicilina, 23 % a ciprofloxacina, 64 % a trimetoprim/sulfametoxazol, 10 % a gentamicina y 14 % a ceftazidima. Para *Klebsiella* spp. de 1531 aislamientos, se reporta: 48% de resistencia a gentamicina, 5% a ciprofloxacina, 51% a cefalotina, 48% a ceftazidima, 9% a cefotaxima y 38% a trimetoprim/sulfametoxazol; según los resultados obtenidos por la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, podría existir presencia de BLEE, en cualquiera de los hospitales que conforman la red (30).

3. Bases Genéticas de la Resistencia

La aparición de resistencia bacteriana se debe a cambios estructurales y fisiológicos que van a neutralizar los efectos del antibiótico. Estos cambios ocurren por dos mecanismos genéticos principales (29):

a. Mutaciones en un gen cromosómico

Los cambios en el cromosoma pueden ser debidos al azar o a la influencia de agentes físicos o químicos y no necesariamente debido a la exposición al antibacteriano. Es posible que cualquier población grande de bacterias susceptibles a antibióticos contenga algunos mutantes que sean relativamente resistentes al fármaco (29, 32).

b. Introducción de un Plásmido R de resistencia

Es la adquisición, por parte del microorganismo, de genes para la resistencia transportados en plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación. Este mecanismo es más frecuente que el mutacional, se disemina rápidamente aún entre diferentes especies bacterianas, puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez y a diferencia del anterior, no suele producir una desventaja adaptativa, es decir, no disminuye la tasa de crecimiento de la bacteria ni la hace perder sus propiedades de virulencia (32).

4. Mecanismos Bioquímicos de Resistencia

Los eventos genéticos descritos anteriormente dan lugar a diversos tipos de alteraciones bioquímicas en el metabolismo bacteriano. Se pueden agrupar en (32, 33):

a. Inactivación Enzimática

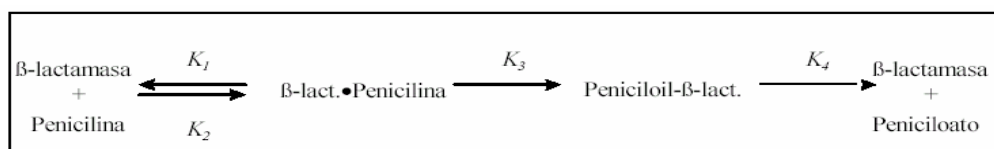
Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de la mutación de plásmidos, tipo TEM, SHV. El ejemplo más común es la producción de enzimas Betalactamasas, y recientemente la producción de Betalactamasas de espectro extendido en *Enterobacterias*, que inactivan al aztreonam y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Otras enzimas que inactivan antibióticos para cloranfenicol son la cloranfenicol acetiltransferasa y en el caso de los aminoglucósidos, las enzimas adenilantes, acetilantes y fosforilantes (32, 33).

i. Generalidades sobre Betalactamasas

Las Betalactamasas, también llamadas penicilin (cefalosporín) amido-betalactam hidrolasas, son enzimas que pueden hidrolizar el enlace amida característico del anillo Betalactámico. Estas enzimas son la causa más frecuente de las resistencias a los antibióticos Betalactámicos (32, 33).

ii. Mecanismo de acción

Las Betalactamasas (enzima) unen el antibiótico Betalactámico (sustrato) formando un complejo no covalente (enzima•sustrato). Si el complejo no se disocia, se forma un enlace entre el enzima y el sustrato produciéndose una estructura acil-enzima por unión del antibiótico con el grupo hidroxilo de la serina del centro activo. Finalmente el producto de la hidrólisis se desprende de la enzima quedando ésta nuevamente libre para su acción (34).



Cuando el núcleo Betalactámico de las penicilinas es hidrolizado por una Betalactamasa se produce estequiométricamente el correspondiente peniciloato, compuesto inactivo, relativamente estable y fácilmente detectable. El primer producto

generado tras el ataque de la Betalactamasa sobre una cefalosporina es hipotéticamente, un cefalosporato análogo al peniciloato. Sin embargo, los cefalosporatos son muy inestables y se degradan rápidamente a moléculas más sencillas por lo que son muy difíciles de detectar como tales (34).

iii. Betalactamasas bacterianas: Clasificación

Las Betalactamasas bacterianas son un complejo grupo de enzimas con propiedades diferenciales en función del sustrato que hidrolizan o las inhibe, su localización (intra o extracelular), su codificación (cromosómica y/o extracromosómica), expresión genética (constitutiva o inducible) y otras propiedades físico-químicas (peso molecular, punto isoeléctrico, inmunología).

La Clase A, penicilinasas que poseen un residuo de serina en el centro activo; y la Clase B, cefalosporinasas, metalo-Betalactamasas que requieren zinc como cofactor, la Clase C, cefalosporinasas con una serina en su centro activo. A finales de los años 80, se segrega la Clase D, enzimas que hidrolizan oxacilina (34).

iv. Betalactamasas en Bacterias Gram negativo

Las Betalactamasas producidas por estas bacterias presentan una gran diversidad. Se localizan en el espacio periplásmico, casi todas las bacterias gramnegativas producen una, o más de una, Betalactamasa codificada por genes cromosómicos (gen AmpC en *E. coli*) y en ocasiones pueden expresar otras de origen extracromosómico (BLEA y BLEE en *Klebsiella*) las cuales son codificadas por genes localizados en plásmidos o en transposones.

Las Betalactamasas cromosómicas son codificadas por un gen (ampC), las cuales existen inducibles y en algunas oportunidades y por procesos de mutación no inducibles. Las Betalactamasas inducibles solo aparecen cuando el gen AmpC se activa solamente en presencia del antibiótico, por tal razón se han clasificado los antibióticos en tres grupos según la inducción y la sensibilidad que presenten frente a las Betalactamasas (35).

Grupo 1. Antibióticos que son buenos inductores y sensibles a la enzima

Cefalosporinas de Primera Generación

Cefalosporinas de Segunda Generación

Cefamicinas (cefoxitina)

Inhibidores de BetaLactamasas: Ácido Clavulánico, Sulbactam, Tazobactam

En el antibiograma se verán como resistentes.

Grupo 2: Antibióticos que son buenos inductores y resistentes a betalactamasa

Carbapenems: Imipenem, Meropenem

En el antibiograma se verán sensibles.

Grupo 3: Antibióticos que son malos inductores y sensibles a la Betalactamasa

Cefalosporinas de Tercera Generación

(Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftriaxona)

Ticarcilina, Piperacilina

En el antibiograma se verán sensibles.

Las Betalactamasas no inducibles están presentes siempre, a este mecanismo se le conoce como Amp-C dereprimida en el cual la población mutante produce la Betalactamasa constantemente sin necesidad de inducción, por lo que se presentará resistencia a ticarcilina y cefalosporinas de tercera generación (36).

Las Betalactamasas extracromosómicas en general, son enzimas con actividad hidrolítica de amplio espectro y se inhiben por ácido clavulánico. Suman su actividad, que por lo general es más elevada, a la de la Betalactamasa cromosómica. Se encuentran ampliamente distribuidas entre los diferentes géneros y especies bacterianas (29).

BLEA: Las Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), naturales en *Klebsiella*, son un grupo de enzimas de codificación plasmídica, derivadas de las Betalactamasas clásicas (TEM-1, TEM-2 y SHV-1). confieren resistencia a amino y ureidopenicilinas, amplían el espectro hidrolítico a cefalosporinas de segunda generación y monobactames. En 1983, se detectaron en Alemania los primeros aislamientos clínicos de *K. pneumoniae* y *E. coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación y sensibles a cefoxitina. El análisis de estas cepas, demostró con posterioridad que la resistencia era debida a la producción de una Betalactamasa plasmídica transferible derivada de SHV-1 que se denominó SHV-2. (37).

Las BLEA hidrolizan amino y ureidopenicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactámicos; no hidrolizan carbapenemes. La acción hidrolítica de estas enzimas se ve contrarrestada por los inhibidores de las Betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam).

Las enterobacterias productoras de BLEA se han aislado con mayor frecuencia en muestras procedentes de pacientes hospitalizados, pero también pueden encontrarse en muestras de origen comunitario. Estos aislamientos pueden aparecer de forma esporádica, sin relación epidemiológica, o dar lugar a brotes nosocomiales. La mayoría de estas epidemias afectan a pocos pacientes (de 10 a 20) en un periodo corto de tiempo, pero cada vez es más frecuente la descripción de brotes nosocomiales más extensos (37). La codificación plasmídica de este tipo de resistencia hace que sea fácilmente transferible por conjugación entre diferentes especies bacterianas. Además, estos plásmidos pueden llevar asociada resistencia a otros grupos de antimicrobianos por lo que nos encontramos con microorganismos multirresistentes. De este modo, podemos detectar brotes debidos a la diseminación de un plásmido (diferentes especies de enterobacterias BLEA con un plásmido común), o bien a la diseminación de una cepa multirresistente (epidemia clonal) (38). El tubo digestivo actúa como reservorio de estos microorganismos multirresistentes; además es el nicho ecológico adecuado para que la resistencia se transmita a otras especies bacterianas. En casos de epidemia, la colonización fecal de los pacientes ingresados en unidades de riesgo puede llegar a más del 40% (28). Dentro de las enterobacterias productoras de BLEA, *K. pneumoniae* es la especie que con mayor frecuencia causa brotes nosocomiales, seguida de *E. coli*, también se han encontrado otras especies como *Salmonella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, etc. (28). Las primeras epidemias de infección hospitalaria por *K. pneumoniae* productora de BLEA fueron descritos en Francia a finales de los ochenta. Desde entonces se han documentado por todo el mundo numerosos brotes nosocomiales causados por enterobacterias productoras de BLEA. Un estudio multicéntrico realizado en Unidades de Cuidados Intensivos de 10 países europeos, demostró que el 22.8% de aislamientos de *Klebsiella* spp. eran productoras de BLEA, siendo *K. pneumoniae* la especie más importante (28). Entre los años 1988-1990 se detectaron los primeros aislamientos de enterobacterias productoras de BLEA. Se encontraron 59 aislamientos que producían una BLEA tipo SHV-2; el 61% eran cepas de *K. pneumoniae*, el 5% de *K. oxytoca* y el 3% de *E. coli*. El brote nosocomial más importante descrito hasta el

momento en España, tuvo lugar ente los años 1993-1995 en el Hospital de Bellvitge, esta epidemia fue debida a la diseminación clonal de una cepa de *K. pneumoniae* productora de BLEA. Este brote afectó a 150 pacientes, de los que el 69.6% estaban ingresados en UCI. La cepa epidémica era resistente a cefalosporinas de tercera generación, aztreonam, gentamicina y ciprofloxacina y producía dos tipos de Betalactamasas tipo SHV transferibles por conjugación (37).

La aparición de brotes nosocomiales debidos a estos microorganismos depende tanto de las condiciones ambientales (elevado consumo de cefalosporinas de tercera generación, manipulación de los pacientes, etc.) como de las características especiales del microorganismo (factores de virulencia, adherencia, etc. Los factores de riesgo para adquirir infección/colonización son el consumo de antibióticos (especialmente cefalosporinas) y la cateterización arterial y/o urinaria (38).

Para el control de estos brotes nosocomiales se han aplicado medidas como restricción en el consumo de cefalosporinas de tercera generación, aislamiento cutáneo de los pacientes colonizados/infectados y educación de personal sanitario en el lavado de manos y en el cuidado de la manipulación de los pacientes. La restricción en el consumo de cefalosporinas se relaciona en muchas ocasiones con el control del brote, señalándose como la medida más efectiva. La descontaminación intestinal selectiva como medida de control en estos brotes, sugerida por algunos autores, pueden ocasionar el desarrollo de nuevas resistencias o la selección de otros microorganismos multirresistentes por lo que su utilidad está en entredicho y hoy día no se recomienda (38).

BLEE: Las Betalactamasas de espectro extendido, sin actividad sobre cefalosporinas de tercera y cuarta generación es una Betalactamasa de espectro extendido, causada por mutación de plásmidos, tipo TEM, SHV, CTX-M, OXA; hay más de 150 enzimas conocidas. La resistencia a cefalosporinas fue detectada por primera vez en Alemania en 1983, luego en una epidemia en Francia en 1985. La BLEE se han reportado en bacterias como *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*. Esta Betalactamasa presentaba actividad hidrolítica frente a cefalosporinas de tercera generación y monobactamos. Estas mutaciones les confiere al germen que produce cierta resistencia a cefotaxime, ceftazidime y otras cefalosporinas de amplio espectro y a aztreonam pero no aportan resistencia a la acción de las cefamicinas o imipenem. Las

enzimas se encuentran codificadas en plásmidos lo que les otorga una capacidad de diseminación en distintas cepas que ha hecho que se hayan difundido en pocos años (39), se inhiben por ácido clavulánico por el que presentan una gran afinidad, son inhibidos además por otros inhibidores como el sulbactam y el tazobactam. Esta propiedad se emplea en el laboratorio para su detección mediante la técnica denominada de sinergia en doble disco. Inicialmente se les denominó con los términos ceftazidimasas (CAZ) o cefotaximasas (CTX) según su fenotipo de resistencia fuese preferentemente activo frente a ceftazidima o cefotaxima.

Las diferentes BLEE varían en la eficiencia cinética y en el grado de la resistencia que causan. Algunas tienen una actividad muy amplia con actividad similar frente a cefotaxima y ceftazidima y dan lugar a resistencia para todas las cefalosporinas de amplio espectro. Otras tienen un fenotipo de ceftadizimasa, con mayor actividad frente a ceftazidima que frente a otras cefalosporinas. Las ceftazidimasas da una resistencia a ceftazidima pero causa solo una pequeña reducción en la sensibilidad a cefotaxima, ceftriaxona y ceftizoxime (39).

La sensibilidad frente al imipenem permanece inalterable. La mayoría de estas Betalactamasas han sido aisladas en cepas de *K. pneumoniae* de origen hospitalario.

La mayoría de los aislamientos clínicos que producen BLEE emparentadas con TEM o SHV son de pacientes hospitalizados y causan con cierta frecuencia brotes nosocomiales. La epidemiología de aquellas cepas que producen Betalactamasas de amplio espectro no difiere de la del resto de las enterobacterias. El principal reservorio es el tracto digestivo y las manos la ruta de transmisión. La infección se desarrolla en el 50 % de los pacientes colonizados, siendo la mitad infección del tracto urinario. Los factores de riesgo para la colonización o infección son la duración del tiempo de exposición a una cepa epidémica y la frecuencia del contacto con personal sanitario. La predilección de estas enzimas por *Klebsiella* refleja parcialmente el que estas bacterias sobreviven más que otras enterobacterias sobre la piel y otras superficies facilitándose la infección-cruzada (40).

Las cepas productoras de BLEE, especialmente *K. pneumoniae*, son responsables de infecciones nosocomiales graves, aunque se ha visto que no solamente *Klebsiella pneumoniae* es causante de dichas infecciones sino que también se han visto involucradas *E. coli* y *K. oxytoca* productoras de BLEE, el perfil de multiresistencia antibiótica que expresan estas cepas ocasiona, especialmente en el ámbito hospitalario, un problema

terapéutico de notables dimensiones. Los genes que codifican las BLEE y los que codifican la resistencia a otros antimicrobianos, pueden residir en el mismo plásmido conjugativo y, por lo tanto, se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia antibiótica múltiple. Por otro lado, los problemas clínicos también son consecuencia de que las cepas productoras de BLEE con frecuencia podrían parecer sensibles *in vitro* a los oximino Betalactámicos, ello ocasiona que los laboratorios de microbiología puedan tener dificultades para identificar de forma adecuada los fenotipos de bacilos Gram negativo productores de BLEE y que algunos pacientes reciban un tratamiento antibiótico poco adecuado. En este sentido algunos estudios han demostrado que las cefalosporinas de amplio espectro no son eficaces en las infecciones producidas por BGN con BLEE, incluso cuando estos son aparentemente sensibles *in vitro*, en 1983, la prevalencia de BGN con BLEE no ha cesado de aumentar, alcanzando cifras preocupantes durante esta última década. Los datos de resistencia antibiótica proporcionados por el proyecto SENTRY, procedentes de aislamientos en pacientes hospitalizados desde 1997 hasta 1999, han demostrado que los BGN con BLEE tienen una amplia distribución mundial, aunque con grandes diferencias según las áreas geográficas. El mayor porcentaje corresponde a América Latina, con el 45% de las cepas de *K. pneumoniae*-BLEE, seguido de la región del Pacífico Este y de Europa, con el 25 y el 20%, respectivamente, siendo la incidencia mucho menor en Estados Unidos y Canadá con cifras del 8 y 5%. Aunque en términos absolutos el número de aislamientos de *E. coli* fue muy superior al de *K. pneumoniae*, el porcentaje de *E. coli*-BLEE fue mucho menor, de alrededor del 8% en América latina y Pacífico este, del 5% en Europa y entre el 3 y el 4% en Estados Unidos y Canadá (41).

b. Disminución de la permeabilidad de la membrana celular

Los cambios bioquímicos que reducen la captación, ya sea porque reducen el ingreso o porque aumentan la salida o eflujo del antimicrobiano, se han encontrado los siguientes casos: Aumento del eflujo, para tetraciclinas, macrólidos y quinolonas y Reducción del ingreso por disminución de permeabilidad, si el medicamento no accede al interior bacteriano por algún mecanismo de transporte. Esto supone una mayor resistencia al antibiótico, esto ocurre para trimetoprim, quinolonas, tetraciclinas cloranfenicol y Betalactámicos. Por ejemplo en *E. coli* el reemplazo de la porina OmpF por

OmpC causa un aumento en la concentración inhibitoria mínima de varios antibióticos betalactámicos, debido a los cambios en la constitución de la membrana celular externa del microorganismo (32).

c. Disminución de la concentración intracelular del antibiótico

El ejemplo más típico es la resistencia a las tetraciclinas desarrollada por muchas bacterias ya que el efecto inhibitor de las tetraciclinas depende de la acumulación activa de este tipo de antibióticos por parte de las bacterias. Ciertos plásmidos R poseen transposones que codifican un sistema para bombear tetraciclina desde el interior bacteriano hacia el exterior, en contra de la gradiente de concentración (32, 33).

d. Modificación de la estructura de las proteínas blanco

Se ha encontrado este tipo de resistencia frente a varios antibióticos. Por ejemplo los cambios en la proteína receptora de la subunidad 30S producen resistencia a los aminoglucósidos; las alteraciones o aparición de nuevas proteínas fijadoras de penicilinas, a los betalactámicos; la metilación del ARN ribosomal en la subunidad 50S, confiere resistencia cruzada a eritromicina y clindamicina y las alteraciones en la ADN girasa, producen resistencia a quinolonas; para trimetopim, cambios en la dihidrofolato reductasa bacteriana; para sulfonamidas, cambios en la dihidropteroico sintetasa; para Vancomicina, cambios en los péptidos de la pared celular bacteriana (32).

5. Susceptibilidad a los patógenos nosocomiales

Las infecciones nosocomiales típicamente afectan a los pacientes inmunocomprometidos debido a su edad, enfermedades subyacentes o tratamientos médicos o quirúrgicos. El envejecimiento de la población (más en países desarrollados que en los países en vías de desarrollo) y las intervenciones médicas y terapéuticas cada vez más agresivas, como lo son los implantes de cuerpos extraños, los trasplantes de órganos y los xenotrasplantes, han creado un grupo de pacientes especialmente vulnerables a infecciones nosocomiales. Como resultado de lo anterior, los más altos índices de infección recaen en los pacientes de cuidados intensivos, los índices de infecciones nosocomiales en las unidades de cuidados intensivos de adultos y en las pediátricas se triplican en comparación a las infecciones en el resto de las unidades

hospitalarias. Es importante recalcar que la localización de la infección y el tipo de patógenos involucrados se relacionan directamente con los procedimientos terapéuticos que se realizan en cuidados intensivos (42).

6. Detección de la resistencia bacteriana en el laboratorio

Existen técnicas para saber como actúa un antimicrobiano ante una bacteria: *in vivo* (en el paciente) e *in vitro* (en el laboratorio). El médico utiliza un antibiótico adecuado gracias al antibiograma o prueba de susceptibilidad antimicrobiana reportado por el laboratorio (42).

El NCCLS (Comité Nacional de Control de Calidad de los Estándares) tiene aprobadas tres técnicas:

- Difusión en disco.
- CIM (Concentración inhibitoria mínima sistematizada)
- Test E

a. Interpretación del antibiograma

Desde el punto de vista práctico es importante deducir desde el antibiograma el perfil de Betalactamasas que produce un aislamiento.

Así una *Klebsiella* que sea resistente a penicilina, cefalosporina de Primera generación, ceftazidima y aztreonam pero sensible a cefotaxima y cefoxitin se debe considerar que produce una BLEE que actúa sobre ceftazidima de manera preferente. Se debe de considerar a esta bacteria capaz de resistir a la cefotaxima *in vivo* y se debe de informar como resistente a cefotaxima. Puede ser interesante estudiar en este caso como actúa frente a la administración de un inhibidor de la Betalactamasa (41).

Si esta misma *Klebsiella* es también resistente a cefoxitin y cefotaxima posiblemente tiene un enzima AmpC mediada por plásmido que no se afecta por un inhibidor de la Betalactamasa (38).

El screening para *K. oxytoca* debe diferenciarse del de *E. coli* y *K. pneumoniae*. ceftazidima es el mejor indicador de BLEE y puede ayudar a distinguir a cepas productoras de estas enzimas de cepas de *K. oxytoca* hiperproductoras de Betalactamasa. (*K. oxytoca* puede presentar hiperproducción mediante mutación de la enzima cromosómica K1. Estas cepas tiene un antibiograma que la diferencia de otros aislamientos de *K. oxytoca*. Son cepas resistentes a cefotaxima y ceftriaxona pero sensibles a

ceftazidima. Esto lo distingue de las enterobacterias con enzimas TEM o SHV de amplio espectro que son usualmente resistentes a la ceftazidima) (38).

Fundamental desde este punto de vista es realizar la identificación de la especie aislada así como estudiar una serie de Betalactámicos que aunque pueden no ser una opción terapéutica nos informan del perfil de Betalactamasa producida por una cepa, para identificar BLEE, según su halo de inhibición ver Tabla No. 2. y para el uso de discos combinados de antibióticos (41), ver Tabla No. 3.

Tabla 2 Zona de inhibición para detectar BLEE en *K. pneumoniae* y *E. coli*,

| Antibiótico | | Zona de inhibición para cepas sensibles | Zona de inhibición con posible producción de BLEE |
|-------------|-----|---|---|
| Aztreonam | 30g | >= 22 mm | <= 27 mm |
| Cefotaxime | 30g | >= 23 mm | <= 27 mm |
| Cefpodoxime | 10g | >= 21 mm | <= 22 mm |
| Ceftazidime | 30g | >= 18 mm | <= 22 mm |
| Ceftriaxone | 30g | >= 21 mm | <= 25 mm |

Tabla 3 Discos combinados para detectar la BLEE

| DISCOS COMBINADOS | CONCENTRACIÓN EN ug |
|-------------------------------|---------------------|
| Cefpodoxime/ácido clavulánico | 10/1 |
| Cefpriome/ácido clavulánico | 30/7.5 |
| Cefotaxime/ácido clavulánico | 30/10 |
| Ceftazidime/ácido clavulánico | 30/10 |

Cuando hay una diferencia mayor de 5 mm de los discos combinados con relación al halo de los sencillos se confirma la producción de BLEE o con el procedimiento sistematizado cuando da >2mg/L. Por ejemplo, con el método de difusión en disco, si el

combinado tiene un halo de inhibición de 20 mm y el sencillo de 14 mm, quiere decir, que sí es productora de BLEE (41) .

El Centro de Control de Enfermedades de los Estados Unidos afirma además que la forma alargada de la cefalexina con el augmentin y la forma elíptica de la cefotaxima con el imipenem indican la presencia de la enzima BLEE en la técnica de difusión en disco (41). Así mismo, si el halo de inhibición de ampicilina es superior al diámetro de la cefotaxima, se detecta la cefalosporinasa (41).

7. Emergencia de las infecciones nosocomiales

Existen tres fuerzas importantes que involucran a las infecciones nosocomiales. La primera es el uso de antimicrobianos relacionado a una larga estancia intrahospitalaria. El creciente interés en las infecciones por bacilos Gram negativos durante 1970 y 1980 conllevó al exagerado uso de cefalosporinas. Al volverse éstos resistentes a las primeras generaciones de cefalosporinas, nuevas generaciones de cefalosporinas fueron creadas. El uso indiscriminado de cefalosporina se considera una de las causas de surgimiento de enterococos como patógenos nosocomiales. El uso prolongado de antimicrobianos y la transferencia de pacientes de manera intra y extrahospitalaria, han creado un reservorio importante de cepas resistentes en asilos para ancianos (42).

En segundo lugar, el personal hospitalario no sigue al pie de la letra los métodos de control de infecciones, como lo es el lavarse las manos entre paciente y paciente. En las unidades de cuidados intensivos, la emergencia muchas veces se antepone a la asepsia (42).

En tercer lugar, cada vez más pacientes hospitalarios se hallan inmunocomprometidos. La nueva medicina ambulatoria hace que los pacientes más vulnerables sean los que permanecen internados en el hospital. Este cambio ha provocado el dominio de infecciones hematógenas asociadas al acceso vascular y a neumonías relacionadas a los ventiladores (42).

Muchos otros factores precipitantes se deben al manejo intrahospitalario. Los trasplantes son un arma de doble filo debido a los efectos combinados de la inmunosupresión en los pacientes transplantados y a las enfermedades infecciosas que conlleva el trasplante de órganos. La transfusión sanguínea seguirá siendo una fuente importante de enfermedades infecciosas (43).

8. Medidas terapéuticas en las infecciones por BLEE

No existen investigaciones aleatorias, controladas, que permitan guiar un tratamiento óptimo al encontrar BLEE's, sin embargo, estudios *in vitro* y de observación sugieren que los carbapenems (imipenem y meropenem), constituyen la mejor alternativa terapéutica para el manejo de infecciones severas causadas por Enterobacterias productoras de BLEE (42). Los carbapenems son muy estables a la hidrólisis producida por las betalactamasas y la penetración de las porinas se facilita notablemente por el tamaño molecular compacto y su estructura zwitteriónica (44).

El beneficio de cambiar a estos medicamentos se confirma en el estudio de Meyer y colaboradores en 48 pacientes, en los cuales la respuesta más favorable se logró en aquellos que recibieron imipenem. Resultados similares se obtuvieron en el Estudio Internacional Multicéntrico de bacteremia por *K. pneumoniae* productora de BLEE (44).

Sin embargo, el uso generalizado de estos agentes condiciona la aparición de microorganismos resistentes. Cuando Rahal y colaboradores decidieron restringir el uso de cefalosporinas en su hospital de Queens (Nueva York), con el fin de controlar la infección o colonización de los pacientes con *Klebsiellas* resistentes a cefalosporinas, obtuvieron un aumento de 69% en *P. aeruginosa* resistentes a imipenem (42). Algo similar ocurrió en otra institución neoyorkina, cuando el sobreuso de imipenem para *Klebsiellas* resistentes a cefalosporinas generó un incremento notable de colonización e infección por cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem (43).

Desafortunadamente, por tanto, el cambio a carbapenems y su uso aumentado como tratamiento de primera intención, puede sustituir un problema de resistencia por otro y los efectos de esta práctica no se han medido en términos de mortalidad y de estancia en la unidad de cuidado intensivo (43).

En general, puede decirse que si la prevalencia de BLEE es baja en un hospital (asumiendo que las pruebas para detección se hagan correctamente), el uso de cefalosporinas de tercera generación podría permitirse. Sin embargo, esta no parece ser la situación en la mayoría de centros hospitalarios en donde la prevalencia es alta y por tanto el uso de cefalosporinas de tercera generación y aztreonam debe prohibirse como tratamiento de primera intención. Cefepima o piperacilina/tazobactam podrían usarse como "caballos de batalla" en el paciente convencional (guiados por los datos locales de

sensibilidad) y así poder reservar los carbapenems para el individuo que se sabe que alberga una cepa productora de BLEE o que ha recibido una cefalosporina previamente y en el que, por tanto, el riesgo de tener un bacilo Gram negativo resistente es especialmente alto. Sin embargo, otros autores piensan que cefepina o piperacilina-tazobactam no son convenientes como terapia de primera línea (43).

Como medidas complementarias fundamentales para controlar la diseminación de microorganismos productores de BLEE se deberá en primer lugar, mejorar la detección de BLEE por parte del laboratorio y en segunda instancia, establecer medidas estrictas de control de la infección nosocomial (11). Entre estas deben destacarse las de aislamiento, que incluyen habitación individual, uso de guantes y bata, cambio de guantes y lavado de manos con solución antiséptica entre pacientes, agrupar los individuos colonizados o infectados con microorganismos productores de BLEE, cultivo periódico rectal y de orina en todos los pacientes de las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) para buscar productores de BLEE y por último, evitar epidemias en otras áreas del hospital o en otros hospitales mediante información acuciosa sobre el estatus del paciente trasladado, ya sea que esté infectado o enfermo. La educación del personal de la unidad y especialmente de los médicos y paramédicos que actúan como consultantes no permanentes, es primordial en el control de la diseminación (44).

9. Prevención y control de las Infecciones nosocomiales

Como siempre, el control de las infecciones puede ser muy costoso. Aproximadamente una tercera parte de las infecciones nosocomiales se pueden prevenir, y sobrepasar, para lo cual se deben realizar una serie de estrategias simultáneas (41). Antes que nada, debe buscarse la mejora de la vigilancia nacional de infecciones nosocomiales para que, de esta manera, se obtengan datos más representativos. Se debe estudiar la sensibilidad y especificidad del sistema de vigilancia y establecer parámetros para hacer diagnósticos difíciles de infecciones como neumonías asociadas al ventilador. De igual modo, deben desarrollarse sistemas de vigilancia de aquellas infecciones nosocomiales que ocurren fuera del hospital, donde gran parte del cuidado de la salud se realiza, hoy en día (45, 46).

En segundo lugar, se debe asegurar que los sistemas de vigilancia sean válidos. La iniciativa ORYX del Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organization para

monitorizar, tanto los procedimientos del cuidado de la salud como sus resultados, producirán indicadores mundiales importantes. Sucesivamente, la vigilancia extrahospitalaria se incrementará, lo cual provocará un sistema mundial de vigilancia eficiente (45, 46).

En tercer lugar, el éxito del control de las infecciones nosocomiales recae en la mejora del diseño del equipo invasivo. Esto es particularmente importante debido al incremento significativo de las infecciones hematógenas asociadas a los métodos de acceso vascular, específicamente en los pacientes de cuidados intensivos. Dada la opción de cambiar el comportamiento humano (como el mejorar las técnicas de asepsia) o el diseñar un mejor equipo, la última opción siempre será la más exitosa. Es de suma importancia el desarrollo de métodos no invasivos de monitoreo y de técnicas quirúrgicas de invasión mínima que eviten el alto riesgo asociado al traspaso de las barreras de defensa naturales del huésped (la piel y la mucosa) (45, 46).

En cuarto lugar, el resistir la era postantibiótica requerirá de programas agresivos de control de antibióticos. El riesgo de cepas resistentes a antibióticos también puede reducirse en el futuro al controlar su colonización mediante la adecuada inmunización así como flora competente (45, 46).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los aislamientos de algunas enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), tales como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, son responsables de infecciones nosocomiales graves, afectando a pacientes críticos, con presión antibiótica significativa y cursando muchas veces con bacteremia; aunque naturalmente pueden producirse también infecciones de menor gravedad. Entre las distintas especies de la familia *Enterobacteriaceae*, el género *Klebsiella* y en particular las especies *K. pneumoniae*, y *K. oxytoca* representan dos de los patógenos oportunistas más importantes causantes de más del 7% de las infecciones hospitalarias dejando a *E. coli* como causante del 3% de dichas infecciones. *K. pneumoniae* es el agente causal responsable de aproximadamente el 10% de las neumonías, aunque las infecciones más frecuentes causadas por *Klebsiella* son las relacionadas con el aparato urinario, siendo la mayoría de ellas de origen nosocomial, el perfil de multirresistencia antibiótica que expresan estas cepas ocasiona, especialmente en el ámbito hospitalario, un problema terapéutico de notables dimensiones. Los genes que codifican las BLEE y BLEA's codifican también la resistencia a otros antimicrobianos por lo que pueden residir en el mismo plásmido conjugativo y, por lo tanto, se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia antibiótica múltiple.

Por otro lado, los problemas clínicos también son consecuencia de que los aislamientos productores de BLEE con frecuencia podrían parecer sensibles *in vitro* a los oximino Betalactámicos, debido a diferencias cuantitativas en la actividad de ciertas BLEE frente a determinados sustratos, ello ocasiona que los laboratorios de microbiología puedan tener dificultades para identificar de forma adecuada los aislamientos productores de BLEE y BLEA lo que conducirá a que algunos pacientes reciban un tratamiento antibiótico incorrecto.

En resumen, se presenta un problema creciente de resistencia antibiótica, tanto en el ámbito hospitalario como posiblemente en la comunidad, con claras implicaciones terapéuticas y de morbimortalidad, por lo tanto determinar y cuantificar los perfiles de resistencia de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* en el Hospital privado "Nuestra Señora del

Pilar” puede ayudar a mejorar la terapéutica antibiótica, eliminando así el uso desmesurado de los antibióticos de amplio espectro en dicho hospital, este estudio puede también ser de valiosa información ya que en la actualidad no se conocen los perfiles de resistencia de un hospital privado guatemalteco como lo es “Nuestra Señora del Pilar”.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar del perfil de resistencia antibiótica de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae* en el sanatorio privado “Nuestra Señora del Pilar”.

B. Específicos

1. Determinar el perfil de resistencia frente a distintos antibióticos según el tipo de muestra ingresada al laboratorio.
2. Determinar la resistencia asociada de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae* según el servicio del cual provengan.
3. Determinar la resistencia asociada a otros antibióticos cuando hay presencia de Betalactamasas de espectro extendido.

VI. HIPÓTESIS

La presente investigación no contiene hipótesis, ya que el estudio es de tipo descriptivo.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo

Aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, obtenidos de muestras de los pacientes del Hospital privado “Nuestra señora del Pilar”.

B. Muestra

162 aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, obtenidas de muestras de los pacientes del Hospital privado “Nuestra señora del Pilar”.

C. Materiales

1. Asa de nicromo
2. Hisopos estériles
3. Estándar de MacFarland 0.5
4. Caldo y Agar tripticasa soya.
5. Agar Muller Hinton: El pH del medio se ajustó entre 7.2-7.4, se almacenó entre 2-8°C y se utilizó dentro de los siete días siguientes a su preparación. El medio se dejó a temperatura ambiente dos horas antes de utilizarlo. Cuando hubo agua en la superficie del agar, las placas fueron colocadas en la incubadora a 37°C durante 30 minutos con la tapa ligeramente entreabierta.
6. Agar sangre de Carnero (ASC)
7. Discos impregnados de antibióticos.
 - a. Penicilina: ampicilina (AMP)
 - b. Carboxipenicilina: ticarcilina (TIC)
 - c. Cefalosporina de primera generación: cefalotina (CEP)
 - d. Cefalosporina de segunda generación: cefuroxima (CXM)
 - e. Cefalosporina de tercera generación: ceftazidima (CAZ)
 - f. Cefalosporina de tercera generación: cefotaxima (CTX)
 - g. Inhibidor Suicida: ácido clavulánico (AMC)
 - h. Cefamicina: cefoxitina (FOX)
 - i. Carbapenemas: imipenem (IPM)

- j. Aminoglucósido: gentamicina (GEN)
- k. Quinolona: ciprofloxacina (CIP)
- l. Sulfamida: trimetropim sulfametoxazol (SXT)

Los discos se guardaron a 4°C y fueron dejados a temperatura ambiente una hora antes de utilizarlos. Los discos de antimicrobianos Betalactámicos se congelaron y hubo de transcurrir más de una semana hasta su utilización. Por regla general, se reemplazaron los discos de Betalactámicos que estaban refrigerados con aquellos que se encontraban congelados. El dispensador tenía una tapa muy ajustada, un desecante y se mantuvo refrigerado cuando no se utilizó.

- 8. Cajas de petri
- 9. Tubos con rosca
- 10. Incubadora
- 11. Regla graduada en milímetros
- 12. Tablas con perfiles de Susceptibilidad antibiótica de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, de la NCCLS.
- 13. Pinzas
- 14. Mechero
- 15. Campana bacteriológica

D. Metodología

1. Se obtuvieron aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* del hospital privado "Nuestra Señora del Pilar, se colectaron los datos epidemiológicos del paciente (edad, sexo, diagnóstico, la sala y el tipo de muestra), dichos aislamientos fueron transportados al Laboratorio Nacional de Salud.
2. Se preenriquecieron los aislamientos en caldo tripticasa soya durante 4 horas y se resembraron en agar sangre de Carnero (ASC) durante 24 horas a 37° C .

3. A partir de una placa de cultivo en ASC incubado 24 horas, se obtuvieron varias colonias, se ajustó el inóculo en solución salina a una turbidez equivalente al estándar de MacFarland 0.5
4. Antes de que transcurrieran 15 minutos de haber preparado el inóculo, se introdujo un hisopo estéril dentro de la suspensión rotándolo varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.
5. Se inocularon las placas de Agar Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el hisopo por la superficie del agar en tres direcciones, rotando la placa unos 60°C cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Se dejó secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.
6. Los discos fueron colocados manualmente con pinzas estériles, asegurándose de que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que se debió presionar ligeramente. Se situaron a menos de 15 mm del borde de la placa, y se distribuyeron de forma que no se produjo superposición de los halos de inhibición. Para detectar la Betalactamasa, los discos de antibióticos se colocaron de la siguiente manera: hacia la izquierda cefotaxima, en el medio ácido clavulánico y a la derecha ceftazidima, cefoxitina se colocó debajo de cefotaxima, la distancia entre los discos de antibiótico fue preferentemente de 20 mm. Las placas de 150 mm no contenían más de 12 discos y las de 100 mm no más de 6.
7. Antes de que transcurrieran 15 minutos, se incubaron las placas invertidas entre 20 - 24 horas, en grupos no superiores a 5 placas, a 37°C en atmósfera aeróbica.
8. Se midieron los halos a las 24 horas de incubación con un pie de regla milimetrada.

9. Se extrajo la información de los aislamientos por paciente del equipo automatizado MicroScan y se analizaron utilizando el programa Whonet.

E. Interpretación de Resultados

1. La resistencia a AMP, TIC y cefalosporinas de primera generación (CEP) indicó presencia de BLEA, la deformación del halo entre cefotaxima, ácido clavulánico y ceftazidima indicó presencia de BLEE. La interpretación de los resultados se realizó en función de las normas del NCCLS (Ver Anexo).
2. En los casos que presentaron sospecha de la presencia de BLEE, se realizó la prueba confirmatoria (repetir pasos 3-8), teniendo en cuenta que para esta prueba se utilizaron discos con antibióticos combinados: cefotaxima/ácido clavulánico (CD 2) y ceftazidima/ácido clavulánico (CD 3), en los cuales de evidenciarse incremento en los halos de inhibición se deberá reportar la prueba como positiva para BLEE.

F. Diseño de la Investigación

1. Diseño de Muestreo

El diseño del muestreo fue por cuota, en el período de tiempo necesario para completar las 162 muestras, tomando todas aquellas que se reportaron positivas para las bacterias de interés. El número de muestra está dado con un 95% de confianza, 5% de error y una frecuencia esperada del 50%, para obtener la máxima variabilidad posible.

2. Análisis de Resultados

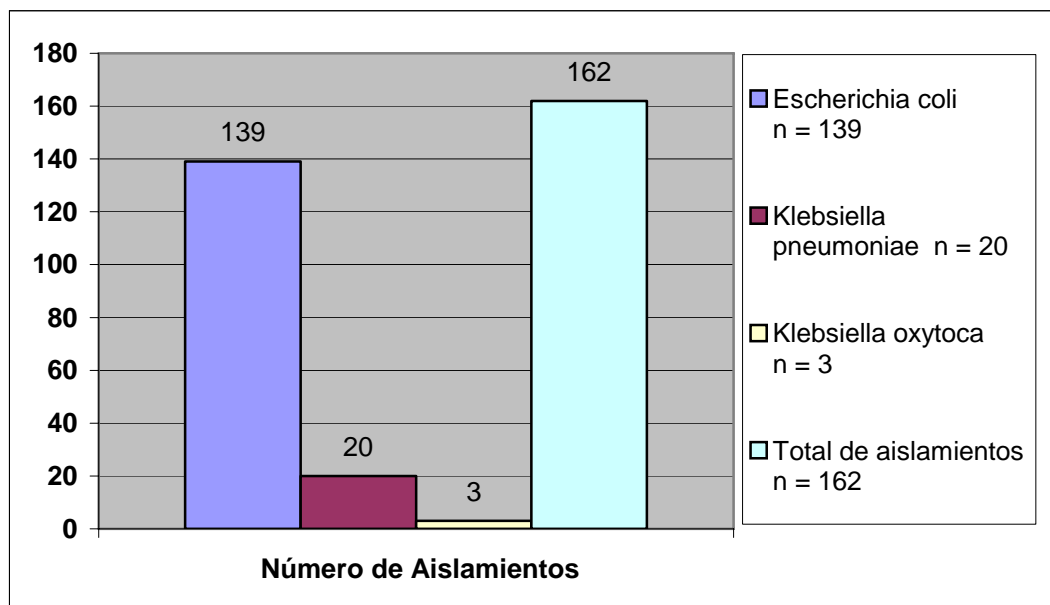
Se obtuvo el valor porcentual de la frecuencia de la resistencia antibiótica que se presentó por cada microorganismo, construyéndose un intervalo de confianza del 95%, para estimar la proporción poblacional, luego se hizo un análisis descriptivo por servicio y diferenciando la resistencia encontrada frente a los distintos tipos de Antibióticos (Betalactámicos y no Betalactámicos).

VIII. RESULTADOS

Tabla 1
Total de Aislamientos para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*
y *Klebsiella oxytoca* en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

| Microorganismos Aislados | Número de Aislamientos |
|------------------------------|------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 139 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 20 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 3 |
| Total de aislamientos | 162 |

Gráfica 1
Total de Aislamientos para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*
y *Klebsiella oxytoca* en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

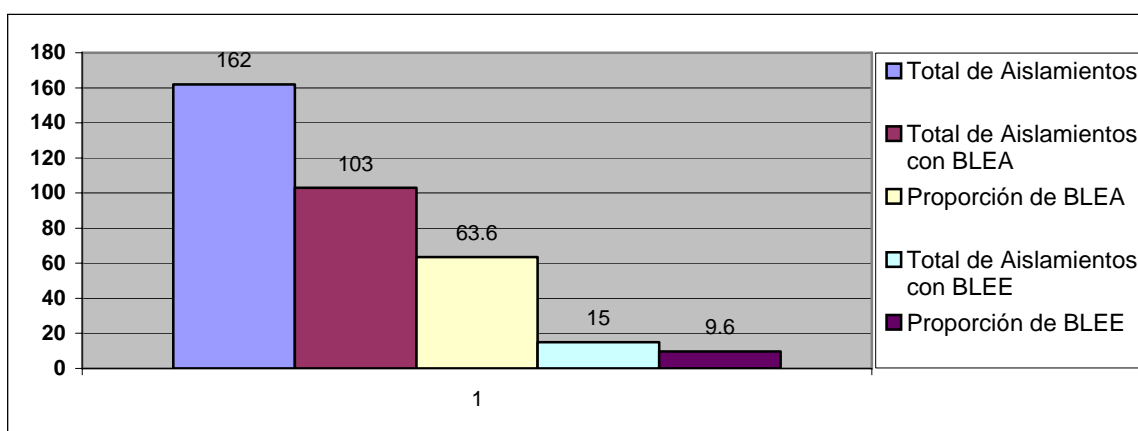


En la Tabla y Gráfica 1 se muestran los 162 aislamientos obtenidos del Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”, los cuales se distribuyen de la siguiente manera: 139 aislamientos de *Escherichia coli*, 20 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y 3 aislamientos de *Klebsiella oxytoca*.

Tabla 2
Distribución de la Proporción Poblacional de patrones tipo BLEA y BLEE en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

| Tipo de Patrón | No. de Aislamientos | Proporción Poblacional de BLEA y BLEE | Intervalo de Confianza del 95% |
|----------------|---------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| BLEA | 103 | 63.58 | 55.86 - 71.30 |
| BLEE | 15 | 9.6 | 4.49 - 14.03 |

Gráfica 2
Distribución de la Proporción Poblacional de patrones tipo BLEA y BLEE en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

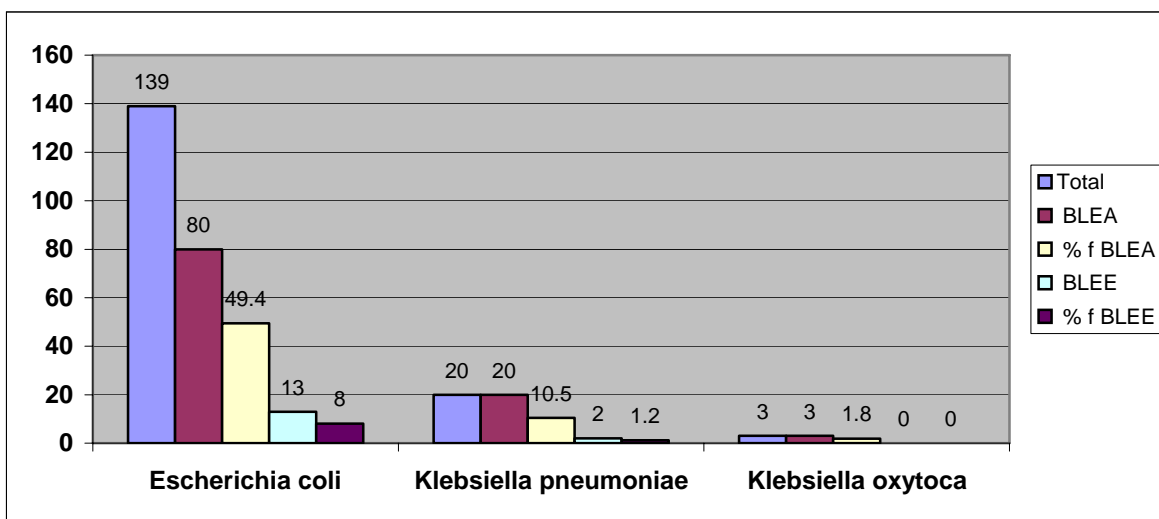


Los datos de la Tabla y Gráfica 2 muestran los resultados obtenidos de los aislamientos que presentaron los patrones tipo BLEA y BLEE con su respectiva frecuencia o proporción poblacional, la cual fue calculada con un intervalo de confianza del 95%; la Gráfica No. 2 muestra la comparación entre el total de Aislamientos por los tres microorganismos (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*) y el Total de Aislamientos que presentaron los Patrones tipo BLEA y BLEE, así como la comparación entre las proporciones de BLEA y BLEE.

Tabla 3
Total de Aislamientos y Frecuencia de Resistencias tipo BLEA y BLEE de
Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* en el Hospital Privado
 "Nuestra Señora del Pilar"

| Microorganismos | Total de Aislamientos | Total de Aislamientos con BLEA | Porcentajes de frecuencia de BLEA | Total de Aislamientos con BLEE | Porcentajes de frecuencia de BLEE |
|------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 139 | 80 | 49.4 | 13 | 8 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 20 | 20 | 10.5 | 2 | 1.2 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 3 | 3 | 1.8 | 0 | 0 |

Gráfica 3
Total de Aislamientos y Frecuencia de Resistencia tipo BLEA y BLEE de
Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* en el Hospital Privado
 "Nuestra Señora del Pilar"

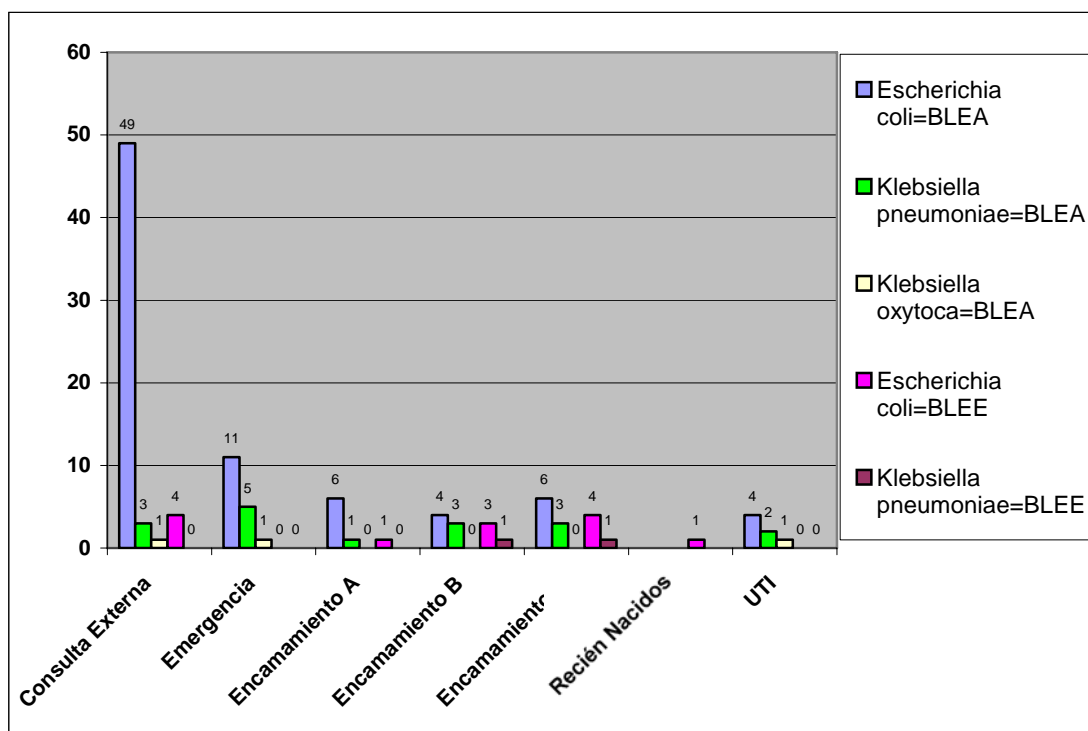


La Tabla y Gráfica 3 presentan las cantidades de aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* así como los Porcentajes de frecuencias de perfiles tipo BLEA y BLEE por microorganismo; se obtuvieron 80 aislamientos de *Escherichia coli* con patrón BLEA representado el 49.4% de la frecuencia total, 20 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* con 10.5 % de frecuencia y 3 aislamientos de *Klebsiella oxytoca* con 1.8% de frecuencia.

Tabla 4
Dispersión de Patrones de Resistencia tipo BLEA y BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* según el servicio de Procedencia de la muestra, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

| Servicio | BLEA | | | BLEE | |
|-----------------------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------------|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| Consulta Externa | 49 | 3 | 1 | 4 | 0 |
| Emergencia | 11 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| Encamamiento A | 6 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Encamamiento B | 4 | 3 | 0 | 3 | 1 |
| Encamamiento C | 6 | 3 | 0 | 4 | 1 |
| Recién Nacidos | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Unidad de Terapia Intensiva (UTI) | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 |

Gráfica 4
Dispersión de Patrones de Resistencia tipo BLEA y BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* según el servicio de Procedencia de la muestra, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

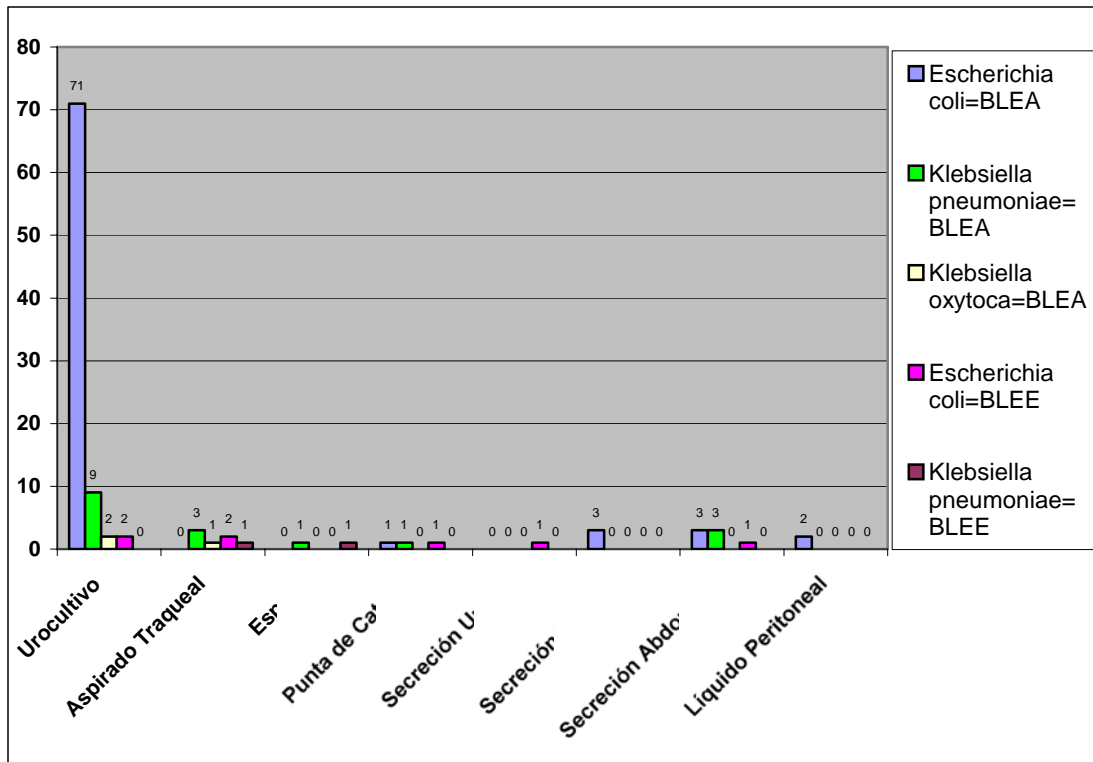


Según el servicio de procedencia de la muestra (Tabla y Gráfica 4); para el perfil de resistencia de *Escherichia coli* tipo BLEA se obtuvo: 49 de la Consulta Externa, 11 de emergencia, 6 de Encamamiento A, 4 de encamamiento B, 6 de Encamamiento C y 4 de UTI; para *Klebsiella pneumoniae* tipo BLEA se obtuvo: 3 de Consulta Externa, 5 de Emergencia, 1 de encamamiento A, 3 de Encamamiento B, 3 de Encamamiento C y 2 de UTI; para *Klebsiella oxytoca* tipo BLEA se obtuvo: 1 de Consulta Externa, 1 de Emergencia y 1 de Unidad de Terapia Intensiva (UTI); para el perfil de Resistencia de *Escherichia coli* tipo BLEE se obtuvo: 4 de Consulta Externa, 1 de Encamamiento A, 3 de Encamamiento B, 4 de Encamamiento C y 1 de Recién Nacidos; para *Klebsiella pneumoniae* tipo BLEE de obtuvo: 1 en Encamamiento B y 1 en Encamamiento C, no habiendo presencia de *Klebsiella oxytoca* con patrón de Resistencia tipo BLEE.

Tabla 5
Dispersión de Patrones de Resistencia tipo BLEA y BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* según el tipo de Muestra ingresada al Laboratorio Clínico, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

| Tipo de Muestra | BLEA | | | BLEE | |
|---------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------------|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| Urocultivo | 71 | 9 | 2 | 2 | 0 |
| Aspirado Traqueal | 0 | 3 | 1 | 2 | 1 |
| Espujo | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Punta de Catéter | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Secreción Uretral | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Secreción Vaginal | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Secreción Abdominal | 3 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| Líquido Peritoneal | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Gráfica 5
Dispersión de Patrones de Resistencia tipo BLEA y BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* según el tipo de Muestra ingresada al Laboratorio Clínico, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

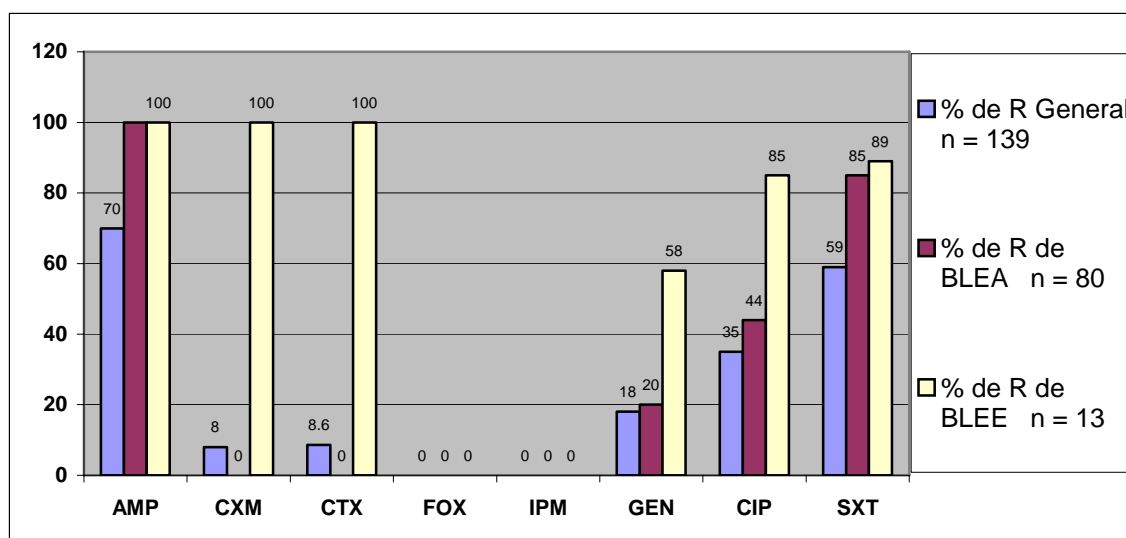


Según la muestra analizada (Tabla y Gráfica 5); para el patrón de resistencia tipo BLEA se cuentan en *Escherichia coli*: 71 urocultivos, 1 punta de catéter, 3 secreciones vaginales, 3 secreciones abdominales y 2 en líquido peritoneal; para *Klebsiella pneumoniae* 9 urocultivos, 3 aspirados traqueales, 1 esputo, 1 punta de catéter y 3 secreciones abdominales; para *Klebsiella oxytoca* 2 urocultivos y 1 aspirado traqueal; para el patrón de resistencia tipo BLEE, se cuentan 6 aislamientos de *Escherichia coli* en urocultivos y 2 aspirados traqueales; para *Klebsiella pneumoniae*: 1 aspirado traqueal, 1 esputo, 2 puntas de catéter, 1 secreción uretral, 1 secreción abdominal y 1 líquido peritoneal; no habiendo cultivos positivos para *Klebsiella oxytoca*.

Tabla 6
Comparación de Perfiles de Resistencia Generales, Perfiles de Resistencia con patrón tipo BLEA y Perfiles de Resistencia con Patrón tipo BLEE asociados a *Escherichia coli*, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

| Antibióticos | Porcentajes de Resistencia Generales | Porcentajes de Resistencia en Presencia de BLEA | Porcentajes de Resistencia en Presencia de BLEE |
|----------------------------|--------------------------------------|---|---|
| Ampicilina | 70 | 100 | 100 |
| Cefuroxima | 8 | 0 | 100 |
| Cefotaxima | 8.6 | 0 | 100 |
| Cefoxitín | 0 | 0 | 0 |
| Imipenem | 0 | 0 | 0 |
| Gentamicina | 18 | 20 | 58 |
| Ciprofloxacina | 35 | 44 | 85 |
| Trimetoprim Sulfametoxazol | 59 | 85 | 89 |

Gráfica 6
Comparación de Perfiles de Resistencia Generales, Perfiles de Resistencia con patrón tipo BLEA y Perfiles de Resistencia con Patrón tipo BLEE asociados a *Escherichia coli*, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”



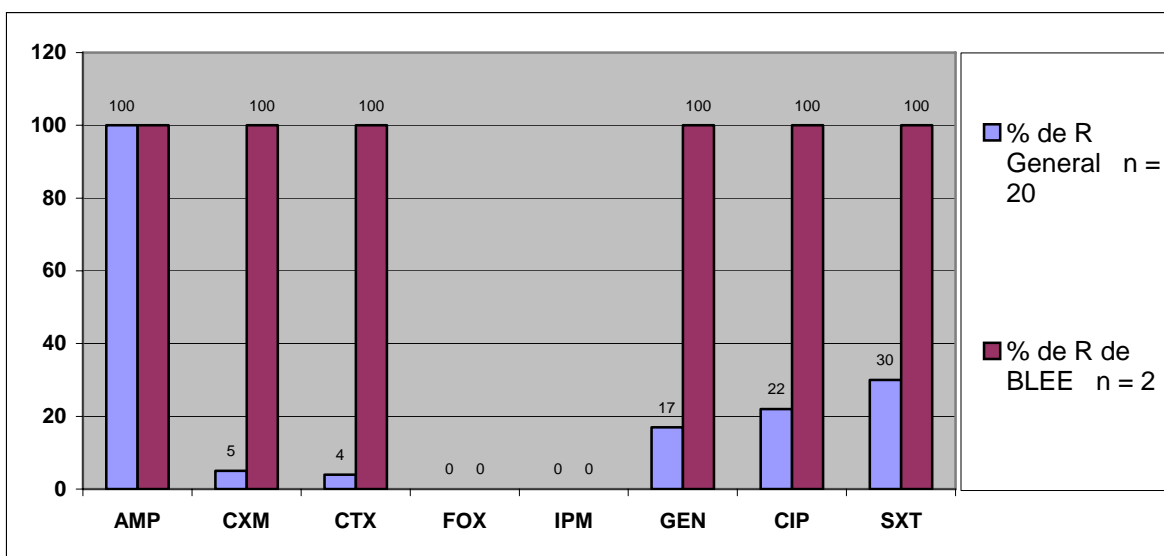
Abreviaturas de Antibióticos usados: Ampicilina (AMP), Cefuroxima (CXM), Cefotaxima (CTX), Ácido Clavulánico (AMC), Cefoxitina (FOX), Imipenem (IPM), Gentamicina (GEN), Ciprofloxacina (CIP) y Trimetoprim Sulfametoxazol (SXT).

La Tabla y Gráfica 6, muestran el comportamiento de antibióticos betalactámicos y no betalactámicos en *E. coli* en presencia de BLEA y BLEE, así como la comparación de los mismos cuando se presentan perfiles de resistencia generales.

Tabla 7
Comparación de Perfiles de Resistencia Generales y Perfiles de Resistencia con Patrón tipo BLEE asociados a *Klebsiella pneumoniae*, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”

| Antibióticos | Porcentajes de Resistencia Generales | Porcentajes de Resistencia en Presencia de BLEE |
|----------------------------|--------------------------------------|---|
| Ampicilina | 100 | 100 |
| Cefuroxima | 5 | 100 |
| Cefotaxima | 4 | 100 |
| Cefoxitín | 0 | 0 |
| Imipenem | 0 | 0 |
| Gentamicina | 17 | 100 |
| Ciprofloxacina | 22 | 100 |
| Trimetoprim Sulfametoxazol | 30 | 100 |

Gráfica 7
Comparación de Perfiles de Resistencia Generales y Perfiles de Resistencia con Patrón tipo BLEE asociados a *Klebsiella pneumoniae*, en el Hospital Privado “Nuestra Señora del Pilar”



Abreviaturas de Antibióticos usados: Ampicilina (AMP), Cefuroxima (CXM), Cefotaxima (CTX), Ácido Clavulánico (AMC), Cefoxitina (FOX), Imipenem (IPM), Gentamicina (GEN), Ciprofloxacina (CIP) y Trimetoprim Sulfametoxazol (SXT).

La Tabla y Gráfica 7, muestran el comportamiento de antibióticos betalactámicos y no betalactámicos en *K. pneumoniae* en presencia de BLEA y BLEE, así como la comparación de los mismos cuando se presentan perfiles de resistencia generales.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

El análisis de la información obtenida por el equipo automatizado MicroScan se realizó en el programa Whonet el cual reveló de forma general que el microorganismo aislado con mayor frecuencia en el Hospital privado “Nuestra Señora del Pilar” es *Escherichia coli*, seguido por *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* y por último *Klebsiella oxytoca* en el noveno lugar de frecuencia de aislamiento; al referirnos únicamente a la presente investigación y según datos de la Tabla 1 *Escherichia coli* es en efecto el organismo aislado con mayor frecuencia seguido por *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, de allí la importancia del estudio, ya que son los microorganismos que comúnmente transmiten plásmidos de resistencia ocasionando brotes en hospitales.

Escherichia coli y *Klebsiella pneumoniae* son los microorganismos en los que con más frecuencia se han descrito la presencia de BLEA y BLEE (3), lo cual puede estar probablemente relacionado con el hecho de que dichas especies forman parte de la microbiota normal y donde sobreviven durante mucho tiempo sobre la piel y los fomites (2).

Las Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) son patrones de resistencia bacteriana que hidrolizan amino, ureidopenicilinas y algunas veces cefalosporinas de primera generación, en el caso de las Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) su espectro de acción se extiende hasta la hidrólisis de cefalosporinas de primera, segunda, tercera, cuarta generación y aztreonam.

Las Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son mutaciones que le confieren al microorganismo resistencia a cefotaxime, ceftazidime y cefalosporinas de amplio espectro, pero no aportan resistencia a la acción de las cefamicinas o carbapenemas, por tal razón en el estudio no se halló resistencia hacia cefoxitín e imipenem.

En la Tabla 2 se muestra las cantidades de aislamientos productores de BLEA (103) y BLEE (15) así como la proporción poblacional expresado en porcentajes (BLEA: 63.58% y BLEE: 9.26%), los cuales fueron calculados con un Intervalo de Confianza del 95%, es decir que el patrón predominante fue BLEA y seguidamente BLEE.

En la Tabla 3 se muestra los resultados de los aislamientos en *Escherichia coli* que poseen el patrón tipo BLEA, representando el 49.38% de la frecuencia total; *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* por su parte son microorganismos que naturalmente

contienen el mecanismo tipo BLEA y cuya frecuencia de aislamiento es de 10.49% y 1.85%, respectivamente.

Los porcentajes de aislamientos que producen BLEE sobre el total de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* fueron del 8.02 y del 1.23%, respectivamente, no encontrándose este mecanismo en *Klebsiella oxytoca*.

En 1999 según estudios realizados en el Instituto de Patología Infecciosa y Experimental Dr. Francisco Ruiz Sánchez, Guadalajara México (33), muestran en general altos porcentajes de aislamientos productores de BLEA; lo cual concuerda con los resultados de este estudio ya que es el patrón tipo BLEA el que se presenta con mayor frecuencia en la mayoría de aislamientos de *Escherichia coli*. Sin embargo debe recordarse que *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* son microorganismos intrínsecamente resistentes a ampicilina y ticarcilina (debido a su mecanismo BLEA natural) comportándose algunas veces con sensibilidad variable hacia cefalosporinas de primera y segunda generación. Esto indica que los microorganismos con BLEA no han adquirido ningún tipo de multiresistencia a los antibióticos con los cuales se tratan las infecciones causadas a la población que acude al centro Hospitalario, lo cual implica que no se recomienda la utilización de cefalosporinas de últimas generaciones como primera elección para el tratamiento de pacientes con infecciones por parte de microorganismos con BLEA, sino que debe emplearse como terapia de primera elección una cefalosporina de primera o segunda generación que presente sensibilidad en el antibiograma. *Escherichia coli* por su parte no presenta este patrón de forma natural pero es susceptible al traspaso de la información por parte de *Klebsiella* (31). La Tabla 2 muestra que la frecuencia de resistencia de aislamientos productores de BLEA es del 62% mientras que para BLEE es del 9%.

La Tabla 4 presenta la dispersión de patrones tipo BLEA y BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* en cada uno de los servicios del Hospital, entre ellos figuran: (Emergencia, Consulta externa, Medicina de Mujeres y Maternidad (Encamamiento A), Medicina de Hombres y Medicina de Mujeres (Encamamiento B), Medicina de Hombres (Encamamiento C), Sala Cuna y Unidad de Cuidados Intensivos (UTI)); existe un mayor número de aislamientos positivos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* productores de BLEA en la Consulta Externa y en la Emergencia. En la mayoría de estudios previos, los microorganismos productores de

BLEE se han aislado principalmente en el ámbito hospitalario, y, dentro de éste, en la Consulta externa (4), Medicina de Hombres (5), Pediatría (4) Medicina de Mujeres, Maternidad y sala Cuna (1), no encontrándose casos en la Unidad de cuidados Intensivos, hecho que ocurre a la inversa de los hospitales europeos según el estudio SENTRY en España (32), en el cual se ha encontrado que hasta un 42% de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* producen BLEE en las Unidades de Cuidados Intensivos (UTI) y un 20% fuera de la UTI. Esta información revela que el mayor porcentaje de resistencia tipo BLEA se presume proviene de pacientes que no se encuentran internados en el momento de la toma de muestra, mientras que el mayor porcentaje de resistencia tipo BLEE es hospitalario.

La resistencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en las distintas salas y en los diferentes tipos de muestras se ven incrementados por la presencia de Betalactamasas de espectro extendido. De aquí deriva la necesidad de una correcta detección *in vitro* de microorganismos productores de la enzima y de los servicios del hospital mas afectados.

Las frecuencias de aparición de BLEE en los servicios son las siguientes: Consulta Externa (4.4%), Encamamiento A (8.3%), Encamamiento B (18.7%), Encamamiento C (26.7%) y Sala Cuna (50%), no hallándose casos en Unidad de Terapia Intensiva y Emergencia. Los resultados muestran que Consulta Externa tiene la menor frecuencia de aparición de BLEE; en los encamamientos, el Encamamiento C es el más afectado por BLEE, seguido por el Encamamiento B y A, y es en estos donde se deben incrementar las medidas para evitar la diseminación del microorganismo; Sala Cuna muestra el porcentaje de frecuencia más alto de todos los servicios debido a que, de dos muestras ingresadas y analizadas en el laboratorio durante el estudio, una posee BLEE derivándose de allí el 50% de frecuencia encontrado, aunque sea el servicio con menor número casos.

Para *Klebsiella pneumoniae* la mayor frecuencia de resistencia se encuentra en Encamamiento B (en donde se halló 1 aislamiento con BLEE lo que corresponde el 6.25% de frecuencia) y en el Encamamiento C (donde también se obtuvo un aislamiento con BLEE y constituye el 6.7% de frecuencia). Es precisamente en estas dos salas en donde encontró 1 Aspirado Traqueal y 1 Esputo con presencia de BLEE.

Klebsiella oxytoca por su parte no representa aportes significativos en el incremento de la resistencia ya que de un total de 162 aislamientos, solamente 3 de ellos fueron

Klebsiella oxytoca, los cuales solamente aportaron resistencia hacia ampicilina (lo que corresponde a su resistencia natural).

Debido a que en la mayoría de servicios del Hospital se presentan cepas con BLEE, dentro de poco tiempo los casos de multirresistencia se pueden incrementar si no se cuenta con un programa de vigilancia epidemiológica eficiente, con el cual se tomen las medidas necesarias para identificar y controlar los focos de propagación, y evitar consecuencias graves que perjudiquen a los pacientes internados, pacientes de la Consulta Externa y comunidad consultante del mismo.

Las enterobacterias productoras de BLEA y BLEE se han aislado con mayor frecuencia en muestras procedentes de pacientes hospitalizados, pero también pueden encontrarse en muestras de pacientes de Consulta Externa y de la comunidad, estos aislamientos pueden aparecer de forma esporádica, sin relación epidemiológica, o dar lugar a brotes nosocomiales (31).

La resistencia obtenida de los servicios del Hospital puede explicarse según la dispersión hallada de los patrones BLEA y BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* según el tipo de muestra ingresada al laboratorio, en la Tabla 5 los urocultivos presentan el mayor número de aislamientos además de ser *Escherichia coli* con presencia de BLEA la que se aísla con más frecuencia, esto ocurre mayormente en mujeres ya que son las más susceptibles de sufrir infecciones urinarias debido a la disposición anatómica de uretra y recto. El mayor número de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* se encuentran en urocultivos, aspirados traqueales y secreciones abdominales, siendo casi en su totalidad muestras de origen hospitalario. El patrón de resistencia tipo BLEE se encuentra distribuido de la siguiente manera: 4 urocultivos provenientes de Consulta externa, 2 urocultivos de Encamamientos B y C, 3 aspirados traqueales de Encamamientos B y C, 2 puntas de catéter de Encamamiento A y Sala Cuna, 1 secreción uretral de Encamamiento C, 1 secreción abdominal de Encamamiento B, 1 secreción de herida de Encamamiento B y 1 esputo de Encamamiento C, lo cual indica que el Patrón tipo BLEE se haya mayormente distribuido dentro de las salas del hospital ya que 11 se encuentran en las mismas y 4 provienen de Consulta Externa, es por eso que la resistencia se ve aumentada en Encamamientos A, B, C y Sala Cuna como ya se expuso con anterioridad, pues es en estas las salas en donde se hallan la mayor cantidad de

muestras que poseen BLEE; siendo 13 aislamientos con BLEE de *Escherichia coli* y 2 de *Klebsiella pneumoniae*.

Inicialmente a las BLEE se les denominó con los términos ceftazimasas (CAZ) o cefotaximasas (CTX) según su fenotipo de resistencia fuese preferentemente activo frente a ceftazidima o cefotaxima, en el caso del Hospital “Nuestra Señora del Pilar” la enzima BLEE predominante es de tipo Cefotaximasa, razón por la cual los aislamientos BLEE productores encontrados en el estudio son más afines a destruir el antibiótico cefotaxima, esto lleva implícito el error que se comete en la interpretación del antibiograma, pues en muchos casos se toma el antibiótico ceftazidima como opción terapéutica para el paciente, ocasionando falla de tratamiento.

Los datos de la Tabla 6 muestran las diferencias asociadas a *Escherichia coli*, en cuanto a perfiles de Resistencia Generales y los mostrados por aquellos aislamientos que poseen BLEA ó BLEE. Cuando se compara la Resistencia General con la resistencia hallada para los aislamientos que contienen BLEA se puede observar que la resistencia hacia ampicilina, aumenta, lo que no ocurre a cefuroxima y a cefotaxima para los cuales la resistencia general se halla aumentada en comparación a la existente en los aislamientos que contienen BLEA. Esto se debe a una sencilla razón, en la resistencia general se involucra a los aislamientos que presentan BLEA y BLEE lo cual hace aumentar los porcentajes de resistencia. En efecto los datos de la resistencia general y la resistencia presentada en aislamientos que contienen BLEA son menores a la presentada en aislamientos que contienen BLEE, aquí radica la importancia de identificar patrones tipo BLEE en el Laboratorio, así como el seguimiento de una correcta vigilancia epidemiológica con estudios periódicos, pues no solo se observa incremento de resistencia hacia Betalactámicos en presencia de BLEE (como era de esperarse) sino también hacia no Betalactámicos como ciprofloxacina, gentamicina y trimetoprim sulfametoxazole. Esto indica que los microorganismos están adaptándose a sobrevivir en pacientes con fuerte presión antibiótica, aún no se halla resistencia hacia cefoxitín e imipenen. En el caso de *Klebsiella pneumoniae* sucede una situación similar, la resistencia presentada hacia todos los antibióticos es mayor cuando se hayan en los aislamientos patrones tipo BLEE; *Klebsiella pneumoniae* con presencia de BLEE (Tabla 7) presenta el 100% de resistencia hacia gentamicina, ciprofloxacina y trimetoprim, no así en *Escherichia coli* con BLEE, en donde gentamicina tiene 58.3%, ciprofloxacina 84.6% y trimetoprim 61.5% de resistencia

antibiótica. Esto puede deberse a que hay aislamientos de *Escherichia coli* productores de BLEE provenientes de Consulta Externa en donde la presión antibiótica no es tan fuerte como la mostrada dentro de las salas del hospital, por lo que los perfiles tienden a disminuir a la hora de realizar el análisis. En el caso de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE, se halló que solo se aisló en pacientes de los encamamientos con fuerte presión antibiótica, mostrando también altos porcentajes de resistencia a todo el panel antibiótico.

La resistencia que se halla en patrones BLEE, abarca como ya se expuso con anterioridad, otro tipo de familias representadas por ciprofloxacina, gentamicina y trimetropim sulfametoxazol, por lo que las opciones de terapia disminuyen a solamente dos antibióticos: imipenem y ceftaxim; es decir que los aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* productores de BLEE hallados en los servicios del Hospital "Nuestra Señora del Pilar" codifican resistencia no solo a antibióticos Betalactámicos como penicilinas y cefalosporinas sino que también codifican resistencia hacia antibióticos No Betalactámicos como quinolonas, sulfonamidas y aminoglucósidos. Dicha información puede residir en el mismo plásmido conjugativo y por lo tanto se transmite de un microorganismo a otro, confirmando el perfil de resistencia antibiótica múltiple. El perfil de multirresistencia antibiótica que expresan estas cepas ocasiona, especialmente en el ámbito hospitalario, un problema terapéutico de notables dimensiones.

Los resultados de la vigilancia del informe anual regional de los países participantes en la red de Monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos, realizado en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia (47) (con fecha de presentación: 17 - 19 de abril del 2002) permiten realizar la comparación entre los datos que reportaron seis hospitales nacionales Guatemaltecos (Hospital Roosevelt, Hospital San Juan de Dios, Hospital del Seguro Social, Hospital Nacional del Quiché, Hospital Nacional de Cobán Alta Verapaz y Hospital Nacional de Zacapa) y el Hospital privado Guatemalteco "Nuestra Señora del Pilar".

En la Tabla 6 se muestra los datos obtenidos de los perfiles generales de resistencia en *Escherichia coli* del Hospital "Nuestra Señora del Pilar", los cuales pueden ser comparados con los datos del manual de monitoreo/vigilancia de Hospitales Nacionales. Para *Escherichia coli* se hallan mayores porcentajes de resistencia en el sistema hospitalario público hacia ampicilina (74 %), trimetropim /sulfametoxazol

(64%) y cefotaxima (14%), mientras que los valores para el Hospital "Nuestra Señora del Pilar" son: ampicilina (69.7 %), trimetropim sulfametoxazol (58.9%) y cefotaxima (8.6%). No obstante la resistencia general hallada hacia ciprofloxacina y gentamicina es mas elevada en el Hospital "Nuestra Señora del Pilar" (ciprofloxacina (34.6%) y gentamicina (17.8%) que en los Hospitales Nacionales de la red (47) (ciprofloxacina (23%) y gentamicina (10%). Llama la atención la diferencia en cuanto a porcentajes de resistencia frente a cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima) y quinolonas (ciprofloxacina) entre la red privada y la red pública.

La comparación de *Klebsiella pneumoniae* es un tanto diferente, pues es un microorganismo hospitalario por excelencia, lo cual coincide con el informe anual que reporta a *Klebsiella* dentro de microorganismos hospitalarios. Esto indica que la comparación se torna mas sintética pues se realiza entre salas de hospitales públicos y las salas del Hospital "Nuestra Señora del Pilar", los datos obtenidos del informe anual (47) son los siguientes: ciprofloxacina (5%), trimetropim sulfametoxazol (38%) gentamicina (48%) y cefotaxima (9%) y para el Hospital son (Tabla 7): ciprofloxacina (21.7%), trimetropim sulfametoxazol (30.4%) gentamicina (17.4%) y cefotaxima (4.3%), los valores de cefotaxima, trimetropim sulfametoxazol y gentamicina son mayores en el informe (47) pero los mostrados para ciprofloxacina son altamente mayores en el Hospital, de nuevo se refleja la tendencia a la resistencia hacia ciprofloxacina, esta tendencia se debe a una sencilla razón, una de las terapias empíricas mas usadas a nivel hospitalario y sobre todo en Hospitales privados, es el uso de quinolonas (ciprofloxacina) como primera línea de defensa hacia las infecciones por microorganismos Gram positivos y Gram negativos, por lo que se aumenta la presión antibiótica hacia quinolonas y como consecuencia actualmente los microorganismos ya están codificando resistencia hacia ciprofloxacina en el Hospital Privado "Nuestra Señora del Pilar" no así en los Hospitales de la red.

Los carbapenems son muy estables a la hidrólisis producida por las Betalactamasas, razón por la cual este antimicrobiano permanece siempre susceptible en los antibiogramas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* productores de BLEA y BLEE, no existen investigaciones que permitan guiar un tratamiento óptimo al encontrar BLEE, sin embargo, estudios *in vitro* y "de observación" sugieren que los

carbapenems (imipenem y meropenem), constituyen la mejor alternativa terapéutica para el manejo de infecciones severas causadas por enterobacterias productoras de BLEE.

Desafortunadamente, por tanto, el cambio a carbapenems y su uso aumentado e irracional como tratamiento de primera intención, puede sustituir un problema de resistencia por otro al igual del que se observa con el uso de quinolonas. En general, puede decirse que si la prevalencia de BLEA y BLEE es baja en un Hospital, el uso de cefalosporinas de tercera generación podría permitirse y así poder reservar los carbapenems para el individuo que se sabe que alberga una cepa productora de BLEE o que ha recibido una cefalosporina previamente y en el que, por tanto, el riesgo de tener un bacilo Gram negativo resistente es especialmente alto.

Como medidas complementarias fundamentales para controlar la diseminación de microorganismos productores de BLEE se deberá en primer lugar, vigilar la detección de BLEE por parte del Laboratorio y en segunda instancia, establecer medidas estrictas de control de la infección nosocomial, entre estas deben destacarse las de aislamiento, que incluyen: habitación individual, uso de guantes y bata, cambio de guantes y lavado de manos con solución antiséptica entre pacientes, agrupar a los individuos colonizados o infectados con microorganismos productores de BLEE, cultivos periódicos de manos y superficies, la educación del personal de la unidad y especialmente de los médicos y enfermeras que actúan como consultantes no permanentes.

X. CONCLUSIONES

- A. El perfil de resistencia antibiótica mayormente encontrado en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* en el Hospital privado “Nuestra Señora del pilar” fue de tipo BLEA (63.58%) seguido por el Patrón tipo BLEE (9.26%).
- B. Los pacientes de Consulta externa presentan el índice más alto de frecuencia de aislamientos productores de BLEA, a diferencia de los pacientes hospitalizados, los cuales poseen un mayor porcentaje de frecuencia del patrón de resistencia tipo BLEE.
- C. Las salas más afectados por BLEA son Encamamiento A (Medicina de Mujeres y Maternidad) y Encamamiento C (Medicina de Hombres); mientras que los más afectados por BLEE son encamamiento B (Medicina de Hombres y Medicina de Mujeres) y Encamamiento C (Medicina de Hombres).
- D. El patrón de resistencia tipo BLEE mayormente hallado en el estudio es de tipo cefotaxidimasa.
- E. La existencia del patrón tipo BLEE en los aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* en el Hospital privado “Nuestra Señora del pilar”, conlleva la resistencia hacia Sulfamidas, Quinolonas y Aminoglucósidos.
- F. La resistencia en urocultivos es similar a la obtenida de Consulta Externa y Emergencia lo cual es un reflejo de la resistencia que se halla en la comunidad, mientras que la resistencia encontrada en esputos, aspirados traqueales, secreciones y punta de catéter son similares a la hallada dentro de las Salas o encamamientos del Hospital.

- G. La resistencia hacia ciprofloxacina en el Hospital Nuestra señora del Pilar es mayor que la reportada en la red de Salud Pública Guatemalteca, no importando si la muestra proviene del interior de las salas hospitalarias o fuera de ellas.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Elaborar un correcto sistema de vigilancia hospitalaria para la detección temprana de aislamientos productores de patrones tipo BLEA y BLEE.
- B. Involucrar al comité de Nosocomiales de manera activa en la vigilancia de la Resistencia antimicrobiana, creando protocolos de acción preventivos para la eliminación de brotes causados por BLEA y BLEE intra hospitalarios.
- C. Vigilar activa y enérgicamente los encamamientos A, B y C ya que son estos en donde se hallaron los más altos índices de frecuencia de resistencia tipo BLEA y BLEE.
- D. Vigilar activamente por parte del Laboratorio Clínico el aparecimiento de microorganismos productores de BLEA y BLEE, ya que el mismo constituye una de las líneas importantes de detección dentro del hospital.

XII. REFERENCIAS

1. Koneman EW. Diagnóstico Microbiológico. 5ed. Estados Unidos: Editorial Médica Panamericana, 1999. 1359p. (172-250, 764-832).
2. Jawetz E. Manual de Microbiología Médica. 3ed. México: El Manual Moderno 1999. 589p. (209-253).
3. Linton AH. General Microbiology and Immunity. 8ed. Gran Bretaña: vol. 1. 683p. (232-250).
4. Murray P. *et. al.* Microbiología Médica. Trad. Servicios integrales de edición. España: Mosby, 1995. 725p. (107-116).
5. *Escherichia coli* como causa de diarrea infantil a los antibióticos. 2003. http://www.infomed.sld.cu/revistas/ped/vol75_3_03/ped10303.htm
6. De la Roca M. *Escherichia coli* Verotoxigénica. Madrid, España. Abril, 2003. <http://www.ciencia-hoy.retina.ar/hoy55/escherichia.htm>
7. Libros: Características Generales. *E. coli*. 2003 <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap5/>
8. Calidad del diagnóstico clínico y microbiológico de la sepsis. Universidad de Cadiz. 2003. <http://www.medigraphic.com/pdfs/iner/in-2003/in031d.pdf>
9. Prescott LM., Harley JP., y Klein DA. Microbiología. 4 ed. McGraw-Hill Interamericana, 1999. (280-290).

10. Madigan MT., Martinko JM., y Parker J. *Brock Biología de los Microorganismos*. 10 ed. Trad.: Fernández, M. Et. Al. España Prentice-Hall Pearson. Educación S.A., 2004. (190-195)
11. Volk W. *Microbiología Básica*. 7 ed. Trad.: A. Castilleja, México Harla S.A. 1996. (200-210).
12. Pelczar MJR., Reid y Chan ECS., Chan. *Microbiología*. 4 ed. Trad.: A. Capella y J. Tay. México. McGraw Hill. 1982. (157-165).
13. Jawetz, E., *et. al.* *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 14 ed. Manual Moderno. 1992. (89-97).
14. Alcamo E. *Fundamentals of Microbiology*. Lones and Bartlett Publishers Inc. USA. 2000. (111-115).
15. www.C.D.C.gov Resistance to antibiotics and other antimicrobial agents. 2002.
16. Iáñez Pareja E. Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. (17 de agosto de 1998). En: Iáñez Pareja, Enrique. *Curso de Microbiología General*. Universidad de Granada. España. http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/21_Micro.html#intro
17. Estudio de la resistencia a los Antibacterianos. http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/Tesis/Salud/Avellaneda_M_I/generalidades.htm
18. Valsecia M. *Farmacología Terapéutica Antiinfecciosa*. 2003. http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/ clas4to/atbgralid_penicil.pdf

19. Uso de Racional de Antibióticos: Mecanismos de Resistencia. 2003
http://www.abcmedicus.com/articulo/medicos/id/185/pagina/1/uso_racional_antibioticos.html
20. Programas Educativos Especiales, Iladiba. (1999). Enfoque Actual de la terapia antibiótica. En Presencia de UPR en la reforma de Salud y Educación Continua para el Médico Primario. N°5 de 1999.
<http://www.iladiba.com.co/upr/1999/No51999/HTM/ANTIBIO.asp>
21. Antimicrobianos. Diciembre. 2004.
<http://www.microbiologia.com.ar/antimicrobianos/proteinas.php>
22. Tuotromedico: antibióticos. Octubre 2003.
<http://www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm>
23. Mutaciones cromosómicas, alteración de precursores de pared celular: resistencia a Glicopeptidos. Diciembre 2003.
http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/leccionesresistencia_bacteriana_mecanismos_resistencia
24. Vancomicina. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Julio, 2001.
<http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/glico/glicopeptidos.htm>
25. Palomino J. Aminoglucósidos. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Enero 2003.
<http://db2.doyma.es/pdf/28/28v21n02a13042869pdf001>.
26. La Quinolonas: Mecanismo de Acción. Diciembre, 1999.
http://www.infomed.sld.cu/revistas/sint/vol1_4_95/sint4495.htm
27. Quinolonas y Terapia Antimicrobiana. Mayo, 2003.
http://www.infomed.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act08198.htm

28. Quimioterapia Antimicrobiana. Noviembre, 2003.
<http://www.canal-h.net/webs/sgonzalez002/farmaco/antimicrobiana.htm>
29. Generalidades: La resistencia bacteriana. 2003.
http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Salud/Avellaneda_M_I/Generalidades.pdf
30. Pérez A. Identificación y Determinación de los Patrones de susceptibilidad Antibiótica de enterobacterias, Aisladas de Muestras Clínicas de Pacientes Internos en el Hospital "San Juan de Dios". Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2003. 76p, (24-26).
31. Rayo MO., Rodríguez Noriega E. Enterobacterias con Betalactamasas de Espectro Extendido: Su importancia como Patógenos Nosocomiales. Instituto de Patología Infecciosa y Experimental Dr. Francisco Ruiz Sánchez , Centro Universitario de Ciencias de La Salud, Universidad de Guadalajara; Infectología, Hospital Civil de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. México. Febrero, 1999.
32. Pujol M. El Significado Clínico de las Betalactamasas de Espectro extendido. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. España.
<http://www.sciam.com/2003/0398issue/0398pujol.html>.
33. Microbiología Clínica en la www. Revisión de Betalactamasas. Diciembre, 2003.
<http://www.microbiologiaclinica.com/beta-lactamasas2.htm> - 32k
34. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum Betalactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697-1704.
35. Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA. A functional classification scheme for Betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.

36. Matheu J. Detección de Betalactamasas por medio del Antibiograma. Laboratorio Nacional de salud. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guatemala. Septiembre, 2003.
37. Betalactamasas plasmídicas de espectro ampliado, Agosto, 2003.
http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pdf/bleas.pdf
38. Betalactamasas plasmídicas de espectro ampliado. Diciembre, 2003.
http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/bleas.htm
39. Iliczyszyn G., Hurí J. Resistencia Antimicrobiana. Publicación de Análisis y Unidades de Tendencias. Noviembre, 1999.
<http://www.healthing.com/infecciones/congreso.html>.
40. Escobedo, ME. Estudio de la Resistencia a los Antibacterianos. Mayo, 2002.
http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/avellaneda_m_j/refere_nciabib.htm
41. Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended-spectrum Betalactamasas in a tertiary medical center. J Clin Microbiol 1997;35:2061-7.
42. Higueros CM. Infecciones nosocomiales de Vías Urinarias. comité de control de infecciones nosocomiales. Cuba. Agosto, 2003.
<http://www.insp.mx/salud/36/361-3s.html>
43. Sánchez J. Infecciones nosocomiales de origen gineco-obstétrico. Comité de control de infecciones nosocomiales. Cuba. Agosto, 2003.
<http://www.insp.mx/salud/36/361-2s.html>

44. Sánchez J. Neumonía Nosocomial. Comité de control de infecciones nosocomiales. Cuba. Septiembre, 2003.
<http://www.encolombia.com/medicina/pediatria/pedi37102neumonia2.htm>
45. Avellaneda JM., Pecho G. Estudio de la resistencia a los antibacterianos en el centro médico naval de enero a diciembre del 2000. Buenos aires, Argentina. Enero, 2002.
http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/avellaneda_m_j/discusion
46. Luján ML. Tendencias y Pronósticos de las Infecciones Nosocomiales Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de Cienfuegos. Cuba Septiembre. 2002.
http://www.infomed.sld.cu/revistas/hie/vol40_1_02/hie04102.htm
47. Informe anual regional de los países participantes en la red de Monitoreo / vigilancia de la resistencia a los antibióticos, realizado en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, 17 - 19 de Abril del 2002

XIII. ANEXOS

Tabla 1. Patrones estándar del halo de inhibición, puntos de corte equivalente a la CIM para enterobacterias^a y diámetro del halo de inhibición para la cepa *E. coli* ATCC25922 empleada como control de calidad

| GRUPO | Antimicrobiano | Carga del disco (µg) | Diámetro del halo de inhibición (mm) | | | Punto de corte Equivalente a la CIM (µg/ml) | | <i>E. coli</i> ATCC 25922 intervalo ^b |
|-------|-------------------------------|----------------------|--------------------------------------|------------|----------|---|----------|--|
| | | | Resistente | Intermedia | Sensible | Resistente | Sensible | |
| A | Ampicilina ^{a,c} | 10 | ≤13 | 14-16 | >17 | ≥32 | <8 | 16-22 |
| | Cefalotina ^{c,d} | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 15-21 |
| | Cefazolina ^{c,d} | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 23-29 |
| | Gentamicina ^c | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥8 | ≤4 | 19-26 |
| B | Amoxicilina/ácido clavulánico | 20/10 | ≤13 | 14-17 | ≥18 | ≥16/8 | ≤8/4 | 19-25 |
| | Ampicilina/sulbactam | 10/10 | ≤11 | 12-14 | ≥15 | ≥32/16 | ≤8/4 | 20-24 |
| | Piperacilina/tazobactam | 100/10 | ≤17 | 18-20 | ≥21 | ≥128/4 | ≤16/4 | 24-30 |
| | Ticarcilina/ácido clavulánico | 75/10 | ≤14 | 15-19 | ≥20 | ≥128/2 | ≤16/2 | 25-29 |
| | Mezlocilina | 75 | ≤17 | 18-20 | ≥21 | ≥128 | ≤64 | 23-29 |
| | Ticarcilina | 75 | ≤14 | 15-19 | ≥20 | ≥128 | ≤16 | 24-30 |
| | Piperacilina | 100 | ≤17 | 18-20 | ≥21 | ≥128 | ≤16 | 24-30 |
| | Cefamandol | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 26-32 |
| | Cefonicid | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 25-29 |
| | Cefuroxima (oral) | 30 | ≤14 | 15-22 | ≥23 | ≥32 | ≤4 | 20-26 |
| | Cefpodoxima | 10 | ≤17 | 18-20 | ≥21 | ≥8 | ≤2 | 23-28 |
| | Cefixima | 5 | ≤15 | 16-18 | ≥19 | ≥4 | ≤1 | 23-27 |
| | Cefoxitina | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 23-29 |
| | Cefotetan | 30 | ≤12 | 13-15 | ≥16 | ≥64 | ≤16 | 28-34 |
| | Cefmetazol | 30 | ≤12 | 13-15 | ≥16 | ≥64 | ≤16 | 26-32 |
| | Cefoperazona ^a | 75 | ≤15 | 16-20 | ≥21 | ≥64 | ≤16 | 28-34 |
| | Cefotaxima ^{a,d} | 30 | ≤14 | 15-22 | ≥23 | ≥64 | ≤8 | 29-35 |

| | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--|------------|-----|-------|-----|--------|-------|-------|
| | Ceftizoxima ^a | 30 | ≤14 | 15-19 | ≥20 | ≥32 | ≤8 | 30-36 |
| | Ceftriaxona ^{a, d} | 30 | ≤13 | 14-20 | ≥21 | ≥64 | ≤8 | 29-35 |
| | Cefepima | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 29-35 |
| | Imipenem | 10 | ≤13 | 14-15 | ≥16 | ≥16 | ≤4 | 26-32 |
| | Meropenem | 10 | ≤13 | 14-15 | ≥16 | ≥16 | ≤4 | 28-34 |
| | Amikacina | 30 | ≤14 | 15-16 | ≥17 | ≥32 | ≤16 | 19-26 |
| | Ciprofloxacino ^{a, c} | 5 | ≤15 | 16-20 | ≥21 | ≥4 | ≤1 | 30-40 |
| | Levofloxacino | 5 | ≤13 | 14-16 | ≥17 | ≥8 | ≤2 | 29-37 |
| | Trimetoprim/ sulfametoxazol ^{a, c} | 1,25/23,75 | ≤10 | 11-15 | ≥16 | ≥8/152 | ≤2/38 | 24-32 |
| C | Ceftazidima ^e | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 25-32 |
| | Aztreonam ^e | 30 | ≤15 | 16-21 | ≥22 | ≥32 | ≤8 | 28-36 |
| | Kanamicina | 30 | ≤13 | 14-17 | ≥18 | ≥25 | ≤6 | 17-25 |
| | Netilmicina | 30 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥32 | ≤12 | 22-30 |
| | Tobramicina | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥8 | ≤4 | 18-26 |
| | Tetraciclina ^c | 30 | ≤14 | 15-18 | ≥19 | ≥16 | ≤4 | 18-25 |
| | Cloranfenicol ^a | 30 | ≤12 | 13-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 21-27 |
| D | Carbenicilina | 100 | ≤19 | 20-22 | ≥23 | ≥64 | ≤16 | 23-29 |
| | Cinoxacino | 100 | ≤14 | 15-18 | ≥19 | ≥64 | ≤16 | 26-32 |
| | Lomefloxacino | 10 | ≤18 | 19-21 | ≥22 | ≥8 | ≤2 | -- |
| | Norfloxacino | 10 | ≤12 | 13-16 | ≥17 | ≥16 | ≤4 | 28-35 |
| | Ofloxacino | 5 | ≤12 | 13-15 | ≥16 | ≥8 | ≤2 | 29-33 |
| | Loracarbef ^f | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤8 | 23-29 |
| | Nitrofurantoina | 300 | ≤14 | 15-16 | ≥17 | ≥128 | ≤32 | 20-25 |
| | Sulfisoxazol | 250 o 300 | ≤12 | 13-16 | ≥17 | ≥350 | ≤100 | 15-23 |
| | Trimetoprim | 5 | ≤10 | 11-15 | ≥16 | ≥16 | ≤4 | 21-28 |
| | Fosfomicina | 200 | ≤12 | 13-15 | ≥16 | ≥256 | ≤64 | 22-30 |
| Elaborado con datos del NCCLS, 2000 | | | | | | | | |

Cepas de *Klebsiella* spp. y *E. coli* pueden ser resistentes a cefalosporinas y aztreonam mediante producción de β-lactamasas de espectro extendido: a pesar de la aparente sensibilidad "in vitro", algunas cepas pueden ser reconocidas por resultados intermedios o

resistentes a ceftazidima y aztreonam (o cefotaxima, cefpodoxima, ceftriaxona y ceftizoxima) y frecuentemente son resistentes a otros antimicrobianos como aminoglicósidos y trimetoprim-sulfametoxazol. Las cepas con Betalactamasas de espectro extendido deben ser informadas como resistentes a las cefalosporinas y al aztreonam.

| Tabla 2. Problemas que pueden surgir en la determinación de los halos de inhibición de las cepas utilizadas como control de calidad | | |
|--|--|---|
| Observación | Diagnóstico | Solución |
| Halos de inhibición demasiado pequeños | <ol style="list-style-type: none"> 1. Inóculo demasiado denso. 2. Deterioro del antibiótico. 3. Cambio en la cepa control. 4. Agar demasiado profundo. 5. Lectura incorrecta de los resultados 6. Aislamiento resistente | <ol style="list-style-type: none"> 1. Comprobar y ajustar inóculo. 2. Comprobar potencia . Utilizar un disco nuevo. 3. Utilizar una cepa nueva. 4. Comprobar profundidad del agar. 5. Repetir con varios observadores. |
| Halos de inhibición demasiado grandes | <ol style="list-style-type: none"> 1. Inóculo poco denso. 2. Antibiótico demasiado potente. 3. Cambio en la cepa control. 4. Agar demasiado delgado. 5. Lectura incorrecta de los resultados. 6. Aislamiento sensible | <ol style="list-style-type: none"> 1. Comprobar y ajustar inóculo. 2. Comprobar potencia. Utilizar un disco nuevo. 3. Utilizar una cepa nueva. 4. Comprobar la profundidad del agar. 5. Repetir con varios observadores. |
| Resultados para <i>Pseudomonas</i> y aminoglicósidos fuera de control | <ol style="list-style-type: none"> 1. Contenido catiónico incorrecto. | <ol style="list-style-type: none"> 1. Utilizar nuevo medio suplementado con cationes. |

| | | |
|--|------------------------------------|---|
| Resultados anómalos para <i>Pseudomonas</i> spp. y carbenicilina | 1. Mutación en la cepa control. | 1. Utilizar cepa control nueva. |
| Aminoglicósidos y macrólidos demasiado resistentes, tetraciclina demasiado sensible. | 1. Medio demasiado ácido. | 1. Comprobar pH del medio. |
| Aminoglicósidos y macrólidos demasiado sensibles, tetraciclina demasiado resistente. | 1. Medio demasiado alcalino. | 1. Comprobar pH del medio. |
| Halo de inhibición del trimetoprim demasiado pequeña. | 1. Exceso de timidina en el medio. | 1. Probar el medio con <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 33186. |

Miriam Lorena Barrera Monterroso
Autora

Lic. Jorge Raul Matheu
Asesor

Licda. María Eugenia Paredes
Revisora

Licda. Isabel Gaitan
Revisora

Licda. Alba Marina Valdés de García
Directora

Msc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Decano