

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

**DETERMINACIÓN DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA  
DE LOS AISLAMIENTOS DE *Escherichia coli* Y *Klebsiella* sp REALIZADOS EN EL  
LABORATORIO NACIONAL DE SALUD DURANTE EL PERIODO 2002 –  
MAYO-2004.**

Lisbeth Pensamiento

Química Biológica

Guatemala, junio de 2006

## INDICE

	pag
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
A. Enterobacterias	3
1. Características generales	3
a. Morfología	3
b. Fisiología	4
c. Estructura antigénica	4
d. Determinantes de patogenicidad	4
2. <i>Escherichia coli</i>	5
3. <i>Klebsiella</i>	6
B. Antibióticos	9
1. Generalidades	9
2. Modo de acción de los antibióticos	9
a. Inhibición de la pared celular	10
b. Alteración de la membrana celular	12
c. Inhibición de la síntesis de proteínas	12
d. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos	13
e. Actividad antimetabólica o antagonismo competitivo	13
C. Mecanismos de resistencia	13
1. Resistencia intrínseca y resistencia adquirida	14
2. Mecanismos bioquímicos de resistencia a antimicrobianos	15
3. Mecanismos de resistencia a beta lactámicos	15
IV. JUSTIFICACIÓN	24
V. OBJETIVOS	25
VI. HIPÓTESIS	26
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	27
VIII. RECURSOS ECONÓMICOS	31
IX. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	32
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
XI. ANEXOS	37

## I. RESUMEN

La susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos ha variado a través de los años debido al uso inadecuado y desmedido de los antibióticos, razón por la cual una prueba de susceptibilidad es de gran importancia.

Las beta-lactamasas de espectro ampliado (BLEA) y beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que median la resistencia a los antibióticos beta lactámicos, dentro de los que se encuentran las penicilinas y cefalosporinas. *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp., son enterobacterias que pueden desarrollar mecanismos de resistencia como los citados anteriormente; sin embargo en el laboratorio la detección de este tipo de mecanismos de resistencia no se realiza rutinariamente debido a que el personal técnico que realiza las pruebas no tiene la capacitación necesaria, es decir, desconocen la metodología a seguir cuando se aislan éstas bacterias. La existencia de los anteriores mecanismos de resistencia implica que los microorganismos deben reportarse resistentes a todos los antibióticos beta-lactámicos (exceptuando carbapenemes y cefamicinas).

En la presente investigación se evaluó la presencia de BLEE y BLEA en 133 aislamientos provenientes de los hospitales nacionales, que fueron referidos al Laboratorio Nacional de Salud en el periodo enero 2002 a mayo 2004. Para la evaluación de estos mecanismos de resistencia se utilizó la técnica de difusión en disco descrita por el Comité Nacional para la Estandarización de Laboratorios Clínicos (NCCLS, por sus siglas en inglés); el 51 por ciento de los aislamientos (n=68) provenía de orina y el 74 por ciento (n=98) de los microorganismos aislados fue *E. coli*. Sin embargo, el mayor número de aislamientos BLEE positivos (33%) correspondió a *Klebsiella* sp. y el hospital que presentó mayor número de éstos fue el hospital Nacional San Juan de Dios. Además se determinó que en los aislamientos BLEE positivo la resistencia a los antibióticos no beta-lactámicos fue mayor comparada con la de los aislamientos BLEE negativo. Tanto para *E. coli* como para *Klebsiella* spp. un alto porcentaje de aislamientos (70%) presentó resistencia hacia el trimetoprim sulfametoxazol.

Ningún aislamiento de *E. coli* presentó BLEA, a diferencia de *Klebsiella* spp. que por ser un mecanismo de resistencia natural estuvo presente en todos los aislamientos.

## II. INTRODUCCIÓN

La susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos ha cambiado a través de los años debido al uso inadecuado y desmedido de los antibióticos, razón por la cual una prueba de susceptibilidad es de gran importancia.

Las beta- lactamasas de espectro ampliado (BLEA) y beta- lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que median la resistencia hacia los antibióticos beta lactámicos, dentro de los que se encuentran las penicilinas y cefalosporinas. *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp, son enterobacterias que pueden desarrollar mecanismos de resistencia como los citados anteriormente; sin embargo en el laboratorio la detección de este tipo de mecanismos de resistencia no se realiza rutinariamente debido a que el personal técnico que realiza las pruebas no tiene la capacitación necesaria, lo cual implicaría el conocimiento de la metodología a seguir cuando se aíslan éstas bacterias. La existencia de estos mecanismos de resistencia implica que los microorganismos deben reportarse resistentes a todos los antibióticos beta-lactámicos y al no realizarse la identificación de los mismos podría dar como resultado fallo en el tratamiento de la diversidad de padecimientos clínicos en que estas enterobacterias pueden estar involucradas.

La presente investigación identificó las beta- lactamasas de espectro extendido y ampliado presentes en 112 aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp que fueron realizados en el Laboratorio Nacional de Salud en el período enero 2002 a mayo 2004. Los aislamientos fueron evaluados utilizando el método recomendado por la NCCLS. Los resultados de carácter descriptivo obtenidos contribuirán a la orientación terapéutica y adopción de nuevas conductas en los hospitales que refirieron los aislamientos.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Enterobacterias

##### 1. Características generales

Las enterobacterias son organismos ubicuos de distribución mundial y que se encuentran en el suelo, el agua, la vegetación y formando parte de la microbiota bacteriana normal de casi todos los animales, incluido el ser humano. Algunos miembros de la familia (*Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia pestis*) siempre se asocian a enfermedad cuando se aislan en el hombre, mientras que otros (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) son miembros de la microbiota saprófita normal que produce infecciones oportunistas, las cuales se desarrollan sólo cuando un hospedero posee un sistema inmune debilitado. Más del 5 por ciento de los pacientes hospitalizados desarrollan infecciones nosocomiales (adquiridas en el hospital), siendo las enterobacterias los agentes etiológicos de la mayoría de estas infecciones (1,2).

Se han descrito al menos 27 géneros y 7 grupos entéricos con más de 110 especies. Estos géneros se han clasificado en función de la homología del ácido desoxirribonucleico (ADN), las propiedades bioquímicas, las reacciones serológicas, la susceptibilidad a bacteriófagos específicos de género y especie, así como los patrones de sensibilidad a los antibióticos (2).

##### a. Morfología

Las enterobacterias se definen como bacilos Gram negativo aerobios y anaerobios facultativos de 2-4 um de longitud por 0.4-0.6 um de anchura, con extremidades redondeadas; pueden ser móviles por flagelación peritrica o inmóviles (3).

Se han utilizado diversas características morfológicas, como método rápido para identificar a los miembros de la familia Enterobacteriaceae, ya que se caracterizan por ser bacilos no esporoformadores que puede poseer cápsula, como en el caso de *Klebsiella* (1).

## **b. Fisiología**

### **i. Características bioquímicas**

La capacidad de fermentar la lactosa se emplea como característica para diferenciar la mayoría de aislamientos de *Escherichia*, *Klebsiella* y *Enterobacter*, de otras enterobacterias habituales que no poseen dicha capacidad. Todos los miembros de la familia Enterobacteriaceae fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos pero no licuan el alginato y son oxidasa-negativos (1,2).

### **ii. Genética**

Las Enterobacteriaceae representan herramientas útiles para los genetistas y son los microorganismos que se emplean con mayor frecuencia en la producción de ADN recombinante, ya que han permitido demostrar que la información genética puede ser transferida entre géneros relativamente alejados, así como entre géneros con una relación estrecha, por transducción o conjugación (1).

## **c. Estructura antigénica**

Algunos antígenos se han asociado de forma específica a meningitis, gastroenteritis e infecciones del tracto urinario. Sin embargo, el papel de estos antígenos somáticos (O), capsulares (K) y flagelares (H) en la patogenia de la infección aún no se ha definido claramente (2).

## **d. Determinantes de la patogenicidad**

### **i. Endotoxinas**

Gran parte de las manifestaciones tóxicas de las infecciones por bacilos Gram negativo son producidas por la endotoxina, el lipopolisacárido asociado a la membrana externa que se libera con la lisis celular. Más concretamente, la toxicidad se asocia al componente lipídico A del lipopolisacárido (2).

### **ii. Pili**

Los pili o fimbrias, son proyecciones similares a pelos que surgen de la superficie de los bacilos y facilitan la adherencia a la célula huésped y están directamente relacionados con la transferencia de información (2).

## **2. *Escherichia coli***

### **a. Generalidades**

El género *Escherichia* fue nombrado en honor a Theodor Escherich quien aisló el tipo de especies del género. Son bacilos Gram negativo organizados solos o en parejas (3). El género *Escherichia* consta al menos de cinco especies, siendo *Escherichia coli* la que se aísla con más frecuencia (2). *E. coli* es un microorganismo anaeróbico facultativo, inmóvil o móvil por flagelos peritricos (3).

### **b. Epidemiología**

El género *Escherichia* consta al menos de cinco especies, siendo *Escherichia coli* la que se aísla con más frecuencia. *E. coli* está presente en gran cantidad en el tracto gastrointestinal y es la enterobacteria que con más frecuencia causa sepsis bacteriana, meningitis neonatal, infección del tracto urinario y gastroenteritis entre los viajeros que visitan países con deficientes condiciones sanitarias (2). *Escherichia coli* es una causa importante de enfermedad y muerte en niños de países en vías de desarrollo (4). La mayoría de las infecciones (con excepción de la gastroenteritis) son endógenas, es decir, se producen por la microbiota normal del individuo en condiciones en las que el sistema inmune del hospedero están comprometidas (2). En un estudio realizado por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en el año 2002 se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana de 14 antibióticos importantes en la terapéutica de *E. coli* y se reportó que aproximadamente el 50 por ciento de 137 aislamientos provenientes de humanos fueron resistentes a ampicilina, sulfametoxazol, cefalotina, tetraciclina o estreptomina y aproximadamente el 25 por ciento fueron resistentes a cloramfenicol, trimetoprim-sulfametoxazole, o amoxicilina-ácido clavulánico. Aunque la resistencia de *E. coli* a cefamicina es relativamente poco común, el amplio uso de antibióticos beta-lactámicos puede contribuir al desarrollo y esparcimiento de estos aislamientos. En 1999, Sahm *et al.* reportó que el 0.16 por ciento de las cepas de *E. coli* fueron resistentes a la cefamicina (5).

Según el informe anual regional del Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos los porcentajes de resistencia en Guatemala para el año 2001 fueron de 74 por ciento para ampicilina, 23 por ciento para ciprofloxacina, 64 por ciento para trimetoprim sulfametoxazol, 10 por ciento para gentamicina y 14 por ciento para ceftazidima (6).

En el año 2003 Pérez V. realizó un estudio en el hospital San Juan de Dios de Quetzaltenango, en el que evaluó la resistencia de *Escherichia coli* a varios antibióticos y reportó que el 75 por ciento fue resistente a ampicilina, el 23 por ciento a ciprofloxacina, el 55 por ciento a trimetoprim-sulfametoxazol, el 14 por ciento a gentamicina y el 10 por ciento a ceftazidima (1).

### **c. Síndromes clínicos**

- Septicemia: *Escherichia coli* es el bacilo Gram negativo que se aísla con más frecuencia en el paciente séptico. El foco de infección suele ser el tracto urinario o el gastrointestinal (2).
- Infecciones del tracto urinario: *Escherichia coli* es responsable de más del 80 por ciento de las infecciones del tracto urinario adquiridas en el seno de comunidades humanas y de la mayoría de infecciones nosocomiales. Las cepas que producen la infección se originan en el tracto gastrointestinal, asociándose la enfermedad a serotipos específicos (2). La recurrencia después de la primera infección por *E. coli* es de 44 por ciento después de 12 meses. *E. coli* causa una amplia variedad de infecciones del tracto urinario incluyendo uretritis/cistitis, cistitis sintomática, pielonefritis, prostatitis aguda, abscesos prostáticos (7).
- Meningitis: *E. coli* y los estreptococos del grupo B son las causas más comunes de meningitis neonatal (2,7).
- Gastroenteritis: Las cepas de *E. coli* que producen gastroenteritis se han dividido en cuatro grupos: enterotoxigénicas, enteroinvasivas, enteropatógenicas y enterohemorrágicas (2,7).

### **3. Klebsiella**

Los organismos incluidos en este grupo fueron llamados así en honor al microbiólogo del siglo XIX Edwin Klebs. Son bacilos inmóviles, Gram negativo con una prominente cápsula de polisacáridos. Los serotipos están basados en la variabilidad estructural de los polisacáridos de la cápsula (8). El género *Klebsiella* pertenece a la tribu Klebsiellae, un miembro de la familia Enterobacteriaceae. El género fue dividido originalmente en 3 especies basadas en sus reacciones bioquímicas. Actualmente se conocen 7 especies de las cuales *Klebsiella pneumoniae* es la más importante clínicamente, pero también *K. oxytoca* y *K. rhinoscleromatis* han sido encontradas en



especímenes clínicos humanos. En años recientes *Klebsiella* se ha convertido en un patógeno importante en infecciones nosocomiales (9).

#### **a. Epidemiología**

Los miembros de la familia Klebsiellae son ubicuos en la naturaleza. En humanos pueden colonizar la piel, faringe o tracto gastrointestinal. *Klebsiella* permanece como parte de la microbiota normal en gran parte del tracto gastrointestinal y biliar. *Klebsiella pneumoniae* y *K. oxytoca* son los 2 miembros del género responsables de infecciones humanas; el principal foco de infección es el tracto gastrointestinal de pacientes y las manos del personal hospitalario. Estos organismos pueden esparcirse rápidamente, desencadenando con frecuencia brotes nosocomiales. La infección por *Klebsiella* puede ocurrir en pulmones, donde causa cambios destructivos tales como, necrosis, inflamación y hemorragia pulmonar, produciendo algunas veces un esputo denso, mucoide y sanguinolento (9). La enfermedad afecta típicamente personas de edad media y mayores con enfermedades debilitantes como alcoholismo, diabetes y enfermedad broncopulmonar crónica (9,10).

*Klebsiella* ha sido también incriminada en infecciones nosocomiales. La presencia de dispositivos, contaminación del equipo respiratorio, uso de catéteres urinarios y uso de antibióticos son factores que han incrementado la probabilidad de infecciones nosocomiales con especies de *Klebsiella* (8,9).

*K. oxytoca* ha sido implicada en bacteremia neonatal, especialmente entre niños prematuros y en unidades de cuidados intensivos (9).

El uso extenso de antibióticos de amplio espectro en pacientes hospitalizados ha llevado al desarrollo de aislamientos que producen beta- lactamasas de espectro extendido. Estos aislamientos son altamente virulentos, mostrando un tipo capsular K55, y tienen una extraordinaria habilidad de esparcirse (8). La detección de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* con fenotipos de beta- lactamasas de espectro extendido (BLEE) está tomando gran importancia en laboratorios clínicos. La frecuencia de aislamientos de *K. pneumoniae* con BLEE (según el método de difusión en disco) se ha incrementado marcadamente en años recientes, de 3.4 por ciento en 1993 a 10.3 por ciento en 1997. Hasta 1997 se encontró resistencia a por lo menos una cefalosporina de tercera generación o aztreonam (11). La susceptibilidad a cefepime entre las cepas de *K. pneumoniae* productoras de BLEE es de 94.4 por ciento para Canadá, 87.6 por

ciento para U.S.A., 63.6 por ciento para Europa y 49.6 por ciento para Latinoamérica (12).

Según el informe anual regional del Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos, los porcentajes de resistencia de *Klebsiella* spp en Guatemala en el año 2001 fueron de 20 por ciento para amikacina, 5 por ciento para ciprofloxacina, 38 por ciento para trimetoprim sulfametoxazol, 48 por ciento para gentamicina, 48 por ciento para ceftazidima, 51 por ciento para cefalotina, 9 por ciento para cefotaxima y 0 por ciento para imipenem (6).

En el año 2003 Pérez V. realizó un estudio en el hospital San Juan de Dios de Quetzaltenango, Guatemala; en el que evaluó la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* ss *pneumoniae* a varios antibióticos y reportó 27 por ciento para amikacina, 18 por ciento para ciprofloxacina, 50 por ciento para trimetoprim sulfametoxazol, 32 por ciento para gentamicina, 41 por ciento para ceftazidima, 46 por ciento para cefalotina, 41 por ciento para cefotaxima y 0 por ciento para imipenem (3).

#### **b. Síndromes clínicos**

- Neumonía: difiere de otras neumonías en que está asociada con cambios destructivos en los pulmones. Los pacientes típicamente presentan un ataque agudo de fiebre alta y escalofríos, síntomas parecidos a gripe y tos productiva con abundante esputo sanguinolento y gelatinoso (8). La neumonía es la infección más común causada por *Klebsiella* fuera del hospital (10).
- Infección del tracto urinario: las características clínicas incluyen frecuencia, urgencia, disuria, dolor de espalda baja. Síntomas sistémicos como fiebre y escalofríos son usualmente indicadores de pielonefritis concomitante o prostatitis (9).
- Infección nosocomial: importantes manifestaciones de infecciones por *Klebsiella* adquiridas en hospitales son infecciones del tracto urinario, neumonía, bacteremia, infección de heridas, colecistitis, y bacteriuria asociada a catéteres. Otras infecciones asociadas a *Klebsiella* son colangitis, meningitis, endocarditis y endoftalmitis bacteriana (9).
- Rinoscleroma y ozena: Estas enfermedades son raras. Rinoscleroma es un proceso inflamatorio crónico que afecta la nasofaringe, mientras que ozena es una rinitis crónica atrófica caracterizada por necrosis de la mucosa nasal y descarga nasal mucopurulenta (8).

## **B. Antibióticos**

### **1. Generalidades**

El término *antibiótico* fue propuesto por Waksman, descubridor de la estreptomina, para definir las sustancias dotadas de actividad antimicrobiana y extraídas de estructuras orgánicas vivientes (13,14). El término que deriva del griego, *anti*, 'contra'; *bios*, 'vida', se utiliza para nombrar cualquier compuesto químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos (15).

Los antimicrobianos son sustancias naturales, sintéticas o semisintéticas, que inhiben a concentraciones bajas el crecimiento de bacterias, hongos o virus. Su utilización a lo largo de los años ha reducido la mortalidad debida a las enfermedades infecciosas, pero no la prevalencia de las mismas, ya que el uso desmedido de éstos ha provocado que los microorganismos evolucionen desarrollando mecanismos de resistencia que impiden la acción de los fármacos y en consecuencia, conducen a fallos terapéuticos (16).

En efecto, uno de los factores que limita la utilización de los antimicrobianos es la presencia de mecanismos de resistencia en el microorganismo. Un microorganismo es sensible a la acción de un antimicrobiano cuando este inhibe el crecimiento bacteriano o se produce la muerte celular. Por el contrario, la resistencia implica la ausencia del efecto inhibitorio o letal. Los mecanismos de resistencia surgen como un proceso de adaptación natural de los microorganismos a la acción inhibitoria o letal de los antimicrobianos, y el conocimiento de los mecanismos bioquímicos de resistencia ayuda tanto a la detección de los fenotipos de resistencia *in vitro*, como al diseño de nuevos antimicrobianos (16).

Se han descubierto un gran número de antibióticos, pero tal vez, menos del 1% de ellos han sido de valor práctico en medicina. Los que han resultado útiles han tenido un impacto maravilloso sobre el tratamiento de las enfermedades infecciosas. También existen antibióticos que pueden hacerse más efectivos mediante modificaciones químicas y son los conocidos antibióticos semisintéticos (17).

### **2. Modo de acción de los antibióticos**

El antibiótico introducido en el organismo por vía oral o parenteral o directamente aplicado en la superficie cutaneomucosa despliega una actividad contra las bacterias o

microorganismos sensibles, cuyo efecto se expresa en dos alternativas: destruye al microorganismo o lo inhibe en su crecimiento y reproducción. En el primer caso, la lisis o muerte se denomina efecto bacteriolítico o bactericida, mientras que la inmovilización vital se designa efecto bacteriostático (13,14).

Los mecanismos básicos de acción de los antibióticos se pueden dividir en cinco:

- a. Inhibición de la síntesis de la pared celular
- b. Alteración de la membrana celular
- c. Inhibición de la síntesis de proteínas
- d. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos
- e. Actividad antimetabólica o antagonismo competitivo (2).

#### **a. Inhibición de la síntesis de la pared celular**

Los antibióticos beta -lactámicos son potentes inhibidores de la síntesis de la pared celular. Una importante característica de la síntesis de la pared celular es la reacción de transpeptidación que da como resultado la unión, mediante enlaces transversales, de dos cadenas de peptidoglicanos. Las enzimas que cumplen esta tarea, las transpeptidasas, son además capaces de unirse a la penicilina u otros antibióticos. Por eso es que estas transpeptidasas se conocen con el nombre de proteínas de unión a las penicilinas (PBPs, de penicillin binding proteins). Las PBPs se unen muy frecuentemente a la penicilina y ya no pueden seguir catalizando la reacción de la transpeptidasa. La pared celular continúa sintetizándose pero ya no tiene enlaces transversales y se va haciendo cada vez más débil a medida que se va depositando el esqueleto de peptidoglicano. Además, el complejo antibiótico-PBP estimula la liberación de autolisinas que digieren la pared celular existente; el resultado es una pared celular debilitada y finalmente degradada lo que provoca la muerte de la bacteria (efecto bactericida). A este grupo pertenecen las penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenemes e inhibidores de beta- lactamasas (17).

#### **i. Las penicilinas**

El primer antibiótico beta -lactámico fue la penicilina G; su acción está restringida a las bacterias Gram positivo, ya que las Gram negativo son impermeables a este

antibiótico debido a que no poseen las estructuras necesarias para el transporte de este tipo de medicamento al interior de la célula (16,17).

Los compuestos penicilínicos son antibióticos extraordinariamente eficaces y con una toxicidad para el hombre muy reducida. El compuesto básico es un ácido orgánico con un anillo beta-lactámico que se obtiene por cultivo del hongo *Penicillium crysogenum* (2).

## **ii. Las cefalosporinas**

Estas son otro grupo de antibióticos clínicamente importante que forman parte de los beta -lactámicos. Difieren estructuralmente de las penicilinas porque poseen un anillo de dihidrotiacina de seis miembros. Las cefalosporinas tienen el mismo modo de acción que las penicilinas, es decir, que se unen irreversiblemente a las PBPs, impidiendo la formación de los enlaces transversales del peptidoglicano. En general, las cefalosporinas tienen un espectro de actividad más amplio que las penicilinas y con frecuencia son más resistentes a la acción de las enzimas que destruyen los anillos beta -lactámicos (17).

Las cefalosporinas a la vez se clasifican en cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, de acuerdo a su actividad frente a bacterias Gram negativo y al grado de resistencia hacia las beta-lactamasas (Anexo 1) (14).

## **iii. Inhibidores de las beta-lactamasas**

Los inhibidores de las beta-lactamasas protegen a los antibióticos beta-lactámicos y aumentan significativamente su espectro. Las primeras asociaciones que se utilizaron son: Amoxicilina + Acido clavulánico, Ampicilina + Sulbactam, Sultamicilina (éster de ampicilina) + Sulbactam; son eficaces contra beta lactamasas de espectro ampliado. La asociación más reciente: Piperacilina+Tazobactam, es moderadamente activa contra cefalosporinasas cromosómicamente inducibles que no son inhibidas por ácido clavulánico; dicha combinación es eficaz en infecciones intraabdominales, piel, tejidos blandos, neumonías, etc. (18).

## **b. Alteración de la membrana celular**

Los antibióticos de la clase polimixina constan de decapeptidos cíclicos ramificados y catiónicos que destruyen la membrana citoplásmica de las bacterias susceptibles. Esta actividad detergente no ocurre si el antibiótico es incapaz de penetrar a través de la pared celular externa y pasar a la membrana citoplásmica interna (2). Los antibióticos de tipo poliénico (anfotericina B, nistatina) se unen al esterol de la membrana que sólo contienen los microorganismos contra los cuales se utilizan estos antibióticos (10).

## **c. Inhibición de la síntesis de proteínas**

Una vez que el antibiótico entra en la célula y atraviesa la membrana celular, se une a las subunidades ribosómicas. En consecuencia, algunos antibióticos inhiben la síntesis de proteínas mitocondriales, otros detienen la elongación de las proteínas recién producidas y por último, algunos deforman las proteínas ya sintetizadas (2). Los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas se dividen en tres:

1. Las tetraciclinas, son un importante grupo de antibióticos que tienen gran utilidad clínica; fueron unos de los primeros llamados antibióticos de amplio espectro, que inhiben a casi todas las bacterias Gram positivo y Gram negativo (17).
2. La eritromicina forma parte del grupo de los macrólidos e inhibe la síntesis de proteínas bacterianas, uniéndose reversiblemente a la subunidad ribosomal 50S, bloqueando la translocación e impidiendo la extensión de la cadena polipeptídica. En algunas bacterias la eritromicina parece compartir sitios de unión con otros macrólidos (19).
3. Los aminoglucósidos ejercen su acción interfiriendo en la síntesis de proteínas bacterianas, por unión al ribosoma; entre ellos se encuentran antibióticos ampliamente usados como la estreptomina, gentamicina, tobramicina, netilmicina, neomicina y amikacina, que son útiles contra la mayoría de organismos Gram negativo (19).

Las tetraciclinas y los antibióticos beta -lactámicos son los dos grupos más importantes de antibióticos de aplicación médica (17).

#### **d. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos**

Algunos agentes antimicrobianos inhiben la síntesis de ácidos nucleicos, uniéndose a la enzima Ácido ribonucleico (ARN) polimerasa o inhibiendo la Ácido desoxirribonucleico (ADN) girasa (2). El ácido nalidíxico, la novobiocina y la griseofulvina bloquean la síntesis del ADN, mientras que la rifampicina interfiere en la síntesis de ARN bloqueando la transcripción del mensaje genético (13).

#### **e. Actividad antimetabólica o antagonismo competitivo**

Determinados compuestos antibacterianos actúan como antimetabolitos. La sulfonamida compite con el ácido p-aminobenzóico, impidiendo la síntesis de ácido fólico, necesario para algunos microorganismos (13).

### **C. Mecanismos de resistencia**

Se considera la resistencia microbiana como la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo, que se transmite a sus descendientes, los que por este motivo resultan también resistentes al antimicrobiano en cuestión (20). Los cambios genéticos que explican la resistencia pueden producirse por varios mecanismos que involucran ya sea al ADN cromosomal, como en la mutación, o por la adquisición de material genético extracromosomal, como en la mutación, o por la transducción, transformación o conjugación (3).

Más comúnmente, la alteración que condiciona la resistencia es producida mediante la adquisición, por parte del microorganismo, de genes transportados en plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación (3). La resistencia microbiana constituye un problema de grandes implicaciones clínicas, pues obliga al desarrollo y utilización de nuevos agentes antimicrobianos, siempre más costosos y muchas veces más tóxicos que los empleados habitualmente en el tratamiento de las infecciones; además ha obligado a abandonar y eliminar del arsenal terapéutico a muchas drogas que inicialmente fueron muy útiles (20).

## **1. Resistencia intrínseca y resistencia adquirida**

La resistencia bacteriana puede ser intrínseca o adquirida. Se habla de resistencia intrínseca cuando la concentración mínima inhibitoria de un antibiótico frente a esa especie bacteriana es superior a la que inhibe normalmente a otras bacterias de características similares; por lo tanto es género y especie específica. No debe confundirse la resistencia intrínseca con la resistencia natural o constitucional que implica la insensibilidad de la bacteria por carecer de la estructura sobre la cual ha de actuar el antibiótico (16).

La resistencia adquirida, implica el desarrollo o adquisición de un mecanismo de resistencia en un microorganismo que carece de él, y por tanto, solamente estará presente en ciertos aislamientos o ciertas especies de un género. La resistencia adquirida puede producirse por la mutación de genes cromosómicos ya existentes, por la adquisición de material genético ajeno (plásmidos o transposones) o por la mutación del material genético adquirido. Los mecanismos de resistencia pueden ser específicos de un solo antimicrobiano o afectar a más de un fármaco, bien de la misma familia o a varios antimicrobianos estructuralmente no relacionados entre sí (16).

A algunos microorganismos se les denomina multirresistentes o con resistencia múltiple a los antimicrobianos. Este término se refiere a aquellos aislamientos que presentan resistencia a dos o más antibióticos de diferente familia. Por último, existen algunos mecanismos de resistencia que afectan a más de un grupo de antimicrobianos. Este caso particular de multirresistencia se denomina resistencia pleiotrópica. (16).

## **2. Mecanismos bioquímicos de resistencia a antimicrobianos**

Para que un antimicrobiano pueda ejercer su acción ha de acceder a su lugar específico de acción, interaccionar con las dianas (estructuras esenciales para el desarrollo bacteriano), e inhibir eficazmente su función. Las bacterias han desarrollado distintos mecanismos para resistir a la acción de los antimicrobianos de diversas formas:

- impidiendo el acceso del antimicrobiano al lugar específico de acción,
- eliminando o expulsando el antibiótico para evitar que pueda acceder a su diana,
- inactivando o modificando la estructura química del antimicrobiano,



- alterando o hiperproduciendo la diana de acción, y
- desarrollando vías metabólicas alternativas que suplan la inhibida por el antibiótico.

Los cuatro primeros mecanismos pueden atribuirse a mutaciones cromosómicas o mediados por plásmidos, mientras que el último suele producirse por la adquisición de plásmidos o transposones (16).

### 3. Mecanismos de resistencia a beta-lactámicos

Las beta-lactamasas son enzimas bacterianas capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo beta-lactámico de las penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos beta-lactámicos, dando lugar a compuestos sin actividad antibacteriana. En la actualidad se conocen alrededor de 300 enzimas diferentes, y lo que es más importante, ningún antibiótico beta-lactámico utilizado en la clínica escapa a la acción hidrolítica de alguna de las beta-lactamasas. Este enorme número de enzimas ha llevado a establecer diferentes clasificaciones atendiendo a diversas consideraciones. En la actualidad se sigue la clasificación establecida por Bush, Jacoby y Medeiros en 1995 (16,21).

Las beta-lactamasas del grupo 1 son producidas por los microorganismos Gram negativo y son cefalosporinasas que confieren resistencia a todas las clases de beta lactámicos pero no a carbapenemes y no son inhibidas por el ácido clavulánico (22). Incluye tanto a las beta-lactamasas cromosómicas inducibles de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella* y *P. aeruginosa*, como a las cromosómicas constitutivas de *E. coli* (16). *E. coli* presenta resistencia en alrededor de un 40 por ciento de los aislamientos a amoxicilina y piperacilina; aproximadamente el 10 por ciento de estos aislamientos son resistentes a los inhibidores de las beta-lactamasas, pero casi siempre son sensibles a cefalosporinas de segunda y tercera generación. Una pequeña proporción de aislamientos (5 por ciento), emergentes en la comunidad y en el hospital son resistentes a cefalosporinas y aztreonam, pero sensibles a cefoxitina y carbapenémicos (23).

El grupo 2 es el más numeroso y acoge a las beta-lactamasas inhibidas por el ácido clavulánico y que presentan un residuo de serina en su centro activo (serín-beta-lactamasas). Incluye penicilinasas de *S. aureus*, beta-lactamasas plasmídicas clásicas

de enterobacterias (TEM-1, TEM-2), beta-lactamasas plasmídicas de espectro extendido capaces de hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación, beta-lactamasas que confieren resistencia a los inhibidores de beta-lactamasas (enzimas IRT), beta-lactamasas constitutivas de *Klebsiella* e inducibles de *Proteus vulgaris*, oxacilinasas clásicas y de espectro extendido y carbapenemasas no metaloenzimas (16). *Klebsiella pneumoniae* presenta resistencia a inhibidores de las beta-lactamasas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación y aztreonam que varía ampliamente entre centros y unidades, dependiendo de las clonas prevalentes, se sitúa entre el 10 y el 30 por ciento y siempre es mayor en las unidades de cuidados intensivos. La resistencia a carbapenémicos es prácticamente nula (23). En años recientes, han sido descubiertos aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido alrededor del mundo, siendo los porcentajes de susceptibilidad para cefepime de 94.4 para Canadá, 87.6 para los Estados Unidos, 63.6 para Europa y 49.6 para latinoamérica (12). En un estudio realizado en Liverpool se determinó que el 25 por ciento de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* de hemocultivos fueron productores presuntivos de beta-lactamasas, las cuales tenían susceptibilidad reducida a cefotaxima y ceftazidima, y cuya producción de ESBL fue confirmada con difusión en disco (24).

El grupo 3 representa un tipo de enzima no inhibido por el ácido clavulánico que hidroliza carbapenemes y requiere  $Zn^{2+}$  para su acción (metaloenzimas) (22).

Por último, el grupo 4 recoge aquellas enzimas que no encajan en los grupos anteriores (22). La resistencia a los antibióticos beta-lactámicos puede ser debida a diferentes mecanismos: reducción de la permeabilidad, mecanismos de expulsión del antibiótico, inactivación enzimática por la acción de las beta-lactamasas, y modificación de las PBPs (16).

Para que un antibiótico beta-lactámico pueda ejercer su efecto antimicrobiano, tiene que acceder a su lugar de acción, que son las PBPs situadas sobre la membrana citoplasmática. En ocasiones, los beta-lactámicos, debido a su estructura o a las particulares características de la pared celular de algunos microorganismos, no logran atravesar la pared celular y acceder a las PBPs. Las porinas son canales protéicos de la membrana externa que permiten el paso de los beta-lactámicos, en consecuencia, la pérdida o la modificación de las porinas determina resistencia a estos antimicrobianos.

No todas las bacterias Gram negativo presentan el mismo tipo y número de porinas, por lo que algunas de las diferencias de actividad intrínseca de los beta-lactámicos frente a las distintas especies bacterianas pueden ser debidas a este hecho. Por este mismo motivo, no todos los beta-lactámicos se afectan por igual cuando aparece este mecanismo de resistencia. En general, el nivel de resistencia que se produce suele ser bajo y sólo tiene relevancia clínica cuando se asocia con otros mecanismos de resistencia, como son la producción de beta-lactamasas o los mecanismos de expulsión activa (16).

Las beta-lactamasas plasmídicas de espectro extendido, también denominadas oxiiimino-beta-lactamasas, derivan por mutaciones puntuales en el centro activo de las beta-lactamasas plasmídicas clásicas, como TEM-1, TEM-2 o SHV-1, estas mutaciones generan la hidrólisis de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación así como de los monobactámicos, pero no de las cefamicinas (cefexitina). En este grupo también se incluyen las enzimas que son el resultado de la integración de beta-lactamasas cromosómicas (AmpC) en plásmidos (como MIR-1). Se las denomina beta-lactamasas plasmídicas de espectro extendido de clase C o cefamicinasas, ya que además de hidrolizar los beta-lactámicos de amplio espectro anteriormente citados, también hidrolizan las cefamicinas (16).

Un aspecto preocupante es la descripción cada vez más frecuente de carbapenemasas, enzimas que hidrolizan imipenem y/o meropenem. La codificación puede ser cromosómica como en *Enterobacter cloacae* y *Serratia marcescens*, o plasmídica como en *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estas carbapenemasas también pueden ser responsables de la resistencia de *Acinetobacter baumannii* a carbapenemes (16).

#### **a. Beta-lactamasas de espectro ampliado**

##### **i. Beta-Lactamasas TEM Y SHV De Gram Negativo**

TEM-1, TEM-2 y SHV-1 son las beta-lactamasas mediadas por plásmidos predominantes en los bacilos Gram negativo y se clasifican en el grupo 2b de la clasificación de Bush. Su diseminación es consecuencia de la presión selectiva ejercida por la introducción de ampicilina, y las primeras cefalosporinas en los años 60. TEM-1 fue detectada en un aislamiento de *E. coli* resistente a ampicilina en 1965 pero pronto fue frecuente en todas la enterobacterias. En 1969 se detectaron enzimas TEM en *P.*

*aeruginosa* y de 1973 a 1975 se encontraron en *H. influenzae*, *V. cholerae* y *N. gonorrhoeae*. Los plásmidos que codifican las enzimas TEM-1 ahora aparecen en 50-60 por ciento de las cepas de *E. coli* de todo el mundo y en 20-50 por ciento de los aislamientos de otras enterobacterias; éstos siguen siendo raros en *P. aeruginosa* (21,25).

TEM-1, TEM-2 y SHV-1 atacan a los mismos beta-lactámicos. Tienen una alta afinidad por ampicilina y amoxicilina y las modifica rápidamente. Las ureidopenicilinas parecen ser tan buen sustrato como la ampicilina in vitro pero el nivel de resistencia conferido es más bajo, probablemente a causa de que la alta afinidad de estos agentes para la PBP-3 motiva unas concentraciones de antibiótico en el espacio periplásmico muy baja. Cefamicinas (cefotixin, cefmetazol, cefotetan), cefalosporinas aminotiazólicas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), monobactam (Aztreonam) y carbapenem (Imipenem) son más estables frente a estas enzimas (21,25).

#### **b. Beta lactamasas de espectro extendido (BLEE)**

En los años 80, se creó una nueva clase de antimicrobianos los oxímino cefalosporinas, para tratamientos de infecciones severas causadas por bacterias Gram negativo, pero prontamente apareció resistencia a estos antimicrobianos y debido a su amplio espectro de acción, se les llamó beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), que confieren resistencia a cefalosporinas de tercera generación, por ejemplo Ceftazidima, Cefotaxima y Ceftriaxona y a Monobactámicos como el Aztreonam, pero no afectan a Cefamicinas, Cefotixin, y Carbapenems como Imipenem y Meropenem. Actualmente, se han descrito alrededor de 150 de estas enzimas y se les ha encontrado en una variedad de géneros bacterianos de enterobacterias (*E. coli* y *K. pneumoniae* principalmente, pero también descritas en *Enterobacter spp*, *Salmonella spp*, *Proteus spp*, *Citrobacter spp*, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y *Capnocytophaga Ochracea* (26). La producción de estas enzimas generalmente es inhibida por los inhibidores de beta- lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactan) (27).

El primer aislado bacteriano resistente a las llamadas cefalosporinas de tercera generación fue identificado en Alemania en 1983 y la beta lactamasa Amp C mediada por plásmidos fue reportada en 1988. Ambas BLEEs y beta lactamasas Amp C mediada

por plásmidos están típicamente asociadas con multiresistencia (usualmente en consecuencia a que los genes para mecanismos de resistencia para otros antibióticos residen en los mismos plásmidos) (28, 29).

El problema de las beta- lactamasas de espectro extendido es de magnitud mundial. Fue primero descrito en Europa, luego en América y Asia. La prevalencia es muy variable de país a país y también en diferentes centros. En Estados Unidos, en enterobacterias varía de 0- 25 por ciento, con un promedio nacional del 3 por ciento, según información del CDC; entre aislamientos de *K. pneumoniae* varía de 5 a 10 por ciento en pacientes hospitalizados, en unidades no críticas y críticas respectivamente. En Europa varía de 1 a 40 por ciento. En Asia varía de 0,1 a 12 por ciento (26).

Estos mutantes, que son agrupados en el subgrupo 2b de la clasificación de Bush, tienen de uno a 4 sustituciones de aminoácidos comparado con las enzimas originales. Estas sustituciones remodelan el lugar activo de la enzima aumentando el espectro de su actividad hidrolítica. Carbapenem, cefamicinas y temocilina permanecen estables. Estas beta- lactamasas aparecen de manera predominante en *Klebsiella* pero se está extendiendo a otras bacterias. Estas enzimas aparecieron en 1994 en 20-25 por ciento de los aislamientos de *Klebsiella* de algunas UCI del Sur y Oeste de Europa y posiblemente alcancen una amplia distribución como las enzimas TEM-1. En 1997 se presentaba con estas enzimas la misma proporción de *Klebsiella*, no observándose aumento de la frecuencia en este período. Desde 1994 a 1997 si se observó aumento de la proporción de *Klebsiella* productora de BLEEs resistente a piperacilina/tazobactam (desde 31 al 63 por ciento; la mayoría con CMI =  $128 \pm 4$  µg/ml). También ha aumentado la proporción de aislamientos de *K. oxytoca* hiperproductora de beta-lactamasa desde el 8 a 21 por ciento (21,25).

Estas enzimas son más comunes en *Klebsiella* y *Escherichia coli* pero están también presentes en una gran variedad de enterobacterias. La resistencia mediada por estas enzimas puede ser difícil de detectar para algunos antibióticos (25).

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. La transferencia paciente a paciente de un aislamiento productor de la beta-lactamasa no explica totalmente la epidemiología de

BLEEs, y hay muchos casos donde la transferencia del plásmido codificante ha sido crítica para la diseminación de la resistencia (25).

Las diferentes BLEEs varían en la eficiencia cinética y en el grado de la resistencia que causan; algunas tienen una actividad muy amplia similar frente a cefotaxima y ceftazidima y dan lugar a resistencia para todas las cefalosporinas de amplio espectro. Otras, tienen un fenotipo de ceftazidimasa, con mayor actividad frente a ceftazidima que frente a otras cefalosporinas. Las ceftazidimasas da una resistencia a ceftazidima pero causa sólo una pequeña reducción en la sensibilidad a cefotaxima, ceftriaxona y ceftizoxime (25).

- **Detección de beta-lactamasas de espectro extendido**

El método de detección descrito en la NCCLS para detección de beta- lactamasas de espectro extendido es solo para *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* y *E. coli*.

El principio de la prueba se basa en la capacidad de los inhibidores de las beta-lactamasas para impedir la producción de BLEA y BLEE. La interacción de los mismos con las cefalosporinas de tercera generación, permite que está última pueda ejercer su acción sobre el microorganismo y así inhibir el crecimiento del mismo, por lo que al realizar el antibiograma se observa una prolongación del halo de inhibición desde la cefalosporina hacia el inhibidor de beta- lactamasas en el área donde ocurre la interacción de ambos antibióticos. Existen diferentes clases de métodos para la detección de beta- lactamasas, tales como el Vitek que es un sistema automatizado, el E-test y la Difusión en disco que se llevan a cabo manualmente. A continuación se describe el método de Difusión en disco.

Las desventajas del método de difusión en disco son que las beta-lactamasas de espectro extendido pueden no detectarse si el inóculo es muy elevado y/o si la producción de beta-lactamasa se asocia con otro mecanismo de resistencia, como hiperproducción de cefalosporinasa de Bush tipo 1 (no se produce inhibición por ácido clavulánico) o una disminución de la permeabilidad de la membrana al paso del antibiótico. En este último caso el estudio debe realizarse de nuevo situándose los discos a 10 mm. También puede deberse a la presencia de una beta-lactamasa de amplio espectro resistente a inhibidores, como algunas cefamicinasas (p. ej. MIR-1),

estos organismos que codifican a muchos genes de resistencias, aunque a la fecha no son muy frecuentes, están aumentando en el computo total de aislamientos debido al uso desmedido que se ha dado a los antibióticos (25).

Cuadro 1. Método de Difusión en disco aprobado por la NCCLS 2003

Método difusión	Tamizaje inicial	Test fenotípico confirmatorio
Medio	Agar Mueller Hinton	Agar Mueller Hinton
Concentración de antimicrobiano en sensidisco	Cefpodoximo 10 ug ó Ceftazidima 30 ug ó Aztreonam 30ug ó Cefotaxima 30 ug ó Ceftriaxona 30 ug	Ceftazidima 30 ug Ceftazidima /ácido clavulánico 30/10 ug Y Cefotaxima 30 ug Cefotaxima/ácido calvulánico 30/10 ug.
	El uso de más de un antimicrobiano mejora la sensibilidad	Los test confirmatorios requieren el uso de ambos cefotaxima y ceftazidima solos y en combinación con ácido clavulánico
Inóculo	Recomendaciones	
Condiciones de incubación	estándar de los discos	
Duración de la incubación		
Resultados	Cefpodoximo ≤17 mm Ceftazidima ≤22 mm Aztreonam ≤28-36 mm Cefotaxima ≤29-35 mm Ceftriaxona ≤29-35 mm	A ≤ 5 mm en el diámetro del halo para cualquiera de los agentes evaluados en combinación con ácido clavulánico vrs. su halo cuando fue evaluado solo= BLEE

Tomado de: Sakurada A. Beta Lactamasas Espectro Extendido. 22 de Noviembre de 2003. <http://200.68.11.22/Resistencia/ESBI%20red%resistencia-junio-03.pdf> (26).

Cada aislamiento de *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* o *Escherichia coli* aislada debe ser considerada como productor potencial de BLEE si los resultados de la evaluación son los siguientes:

Cuadro 2. Puntos de corte para considerar a un aislamiento productor de BLEE

<u>Difusión en disco</u>	<u>CIMs</u>
Cefpodoxima $\leq$ 22 mm	Cefpodoxima $\geq$ 2 g/ml
Ceftazidima $\leq$ 22 mm	Ceftazidima $\geq$ 2 g/ml
Aztreonam $\leq$ 27 mm	Aztreonam $\geq$ 2 g/ml
Cefotaxima $\leq$ 27 mm	Cefotaxima $\geq$ 2 g/ml
Ceftriaxona $\leq$ 25 mm	Ceftriaxona $\geq$ 2 g/ml

1. Tomado de: Guidelines on susceptibility testing of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* due to extended spectrum beta-lactamases (ESBLs). Canadian External Quality Assessment Advisory Group for Antibiotic Resistance. 1998. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: [http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-agspsp/prublicat/cega-pceeq/esbl98\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-agspsp/prublicat/cega-pceeq/esbl98_e.html) (29). Wayne, PA Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS approved standard M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards 1999. 19 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.cdc/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm](http://www.cdc/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm) (30)

- **Opción terapéutica**

Los carbapenemes son los antibióticos beta- lactámicos más activos frente a enterobacterias productoras de BLEA. Estos antibióticos son muy resistentes a la hidrólisis por estas beta-lactamasas (31). Imipenem permanece activo in vivo e in vitro frente a aislamientos que producen BLEEs y son una opción terapéutica. Otras opciones incluyen combinaciones de inhibidor de la beta-lactamasa como piperacilina/tazobactam y cefoperazona/sulbactam. Estas combinaciones no son sin embargo universalmente activas; algunos productores de BLEEs son resistentes a causa de que tienen grandes cantidades de enzimas, múltiples enzimas, o baja expresión de porinas (25). El uso de antibióticos carbapenémicos debería ser moderado puesto que se ha descrito aumento de la resistencia a estos antibióticos en otras



especies bacterianas como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en aquellos hospitales donde se ha usado extensamente para el tratamiento de infecciones. La combinación de la disminución de permeabilidad junto con la hiperproducción de enzimas hidrolíticas ha generado resistencia en algunas especies de enterobacterias. Estos hallazgos nos alertan de la necesidad del uso racional de los antibióticos carbapenémicos para prevenir la aparición de nuevos microorganismos multirresistentes (31).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Las enterobacterias presentan patrones de resistencia particulares y específicos de cada especie los cuales han cambiado con el paso de los años debido al uso indiscriminado de antibióticos, principalmente los de amplio espectro. En la actualidad por el desconocimiento o por la poca importancia que se le da a la susceptibilidad antimicrobiana, estos patrones de resistencia no son evaluados correctamente ya que los aislamientos se manejan indiferentemente del género o especie a la que pertenezcan; con lo cual, se impide la identificación de mecanismos de resistencia de aislados como *Escherichia coli* y *Klebsiella* que se sabe por estudios realizados, es muy probable que presenten mecanismos de resistencia como beta-lactamasas de espectro ampliado (principalmente para *Klebsiella*) y beta-lactamasas de espectro extendido; las cuales si no son detectadas por el laboratorio pueden ocasionar fallos graves en la terapéutica que el médico pueda adoptar para tratar los padecimientos de sus pacientes; y considerando que *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* son responsables de una gran variedad de padecimientos clínicos es de vital importancia caracterizar estos aislamientos en cuanto a mecanismos de resistencia para evitar repercusiones negativas tanto para la salud de los pacientes como para la economía de las instituciones a las cuales acuden.

Las beta- lactamasas de espectro extendido (BLEEs) pueden ser difíciles de detectar debido a que tienen diferentes niveles de actividad contra varias cefalosporinas por lo que la selección de los agentes antimicrobianos a evaluar es crítica y más importante aún la forma en la que se evalúan estas drogas, dado que al evaluarlas en forma individual no se evidencia de una forma clara la presencia de este tipo de mecanismos de resistencia ya sea utilizando el método convencional o sistemas automatizados que no posean la capacidad de establecer puntos de corte para la detección de las beta-lactamasas de espectro ampliado o de espectro extendido, y aún cuando los aparatos sistematizados sean capaces de brindar esta información, las personas encargadas de interpretar esta información no tienen la capacitación para saber que están tratando con un microorganismo que posee estos mecanismos de resistencia. Es importante determinar la situación de Guatemala en cuanto a la presencia de este tipo de mecanismos de resistencia para orientar al uso adecuado de los antibióticos.

## V. OBJETIVOS

### GENERAL

- Determinar los mecanismos de resistencia que presentan los aislamientos de *Klebsiella sp* y *Escherichia coli* referidas al Laboratorio Nacional de Salud por los hospitales nacionales.

### ESPECÍFICOS

- 1 Determinar la presencia de BLEE en los aislamientos de *Klebsiella sp*.
- 2 Determinar la presencia de BLEA y BLEE en los aislamientos de *Escherichia coli*.
- 3 Relacionar la presencia de BLEA o BLEE con la resistencia a otras familias de antibióticos o betalactámicos.
- 4 Transferir la información obtenida por el Ministerio de Salud a los hospitales nacionales.

## **VI. HIPÓTESIS**

En esta investigación no se formula hipótesis por ser de tipo descriptivo transversal.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Muestra

133 aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* captadas por el Laboratorio Nacional de Salud de enero del 2002 a mayo del 2004.

### B. Recursos

#### 2. Humanos

- a. Br. Lisbeth Pensamiento (Tesisista)
- b. Lic. Jorge Matheu (Asesor)

#### 3. Institucionales

- a. Área de Bacteriología de la Unidad de Diagnóstico Humano del Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

#### 3. Físicos

##### a. Materiales

- 522 cajas de Petri
- hisopos estériles
- 261 tubos de vidrio
- asa de nicromo
- regla
- cartilla para leer

##### b. Reactivos y Medios

- Estándar de MacFarland de 0.5 de turbidez
- Agar sangre de carnero
- Agar Müller-Hinton
- Agar nutritivo
- Discos con antibióticos: ampicilina, ticarcilina, amoxicilina/ácido clavulánico, ceftazidima, cefotaxima, gentamicina, amikacina, sulfametoxazol,

ciprofloxacina y cloramfenicol, mezclas cefotaxima-ácido clavulánico, ceftazidima- ácido clavulánico.

c. Equipo

- Mechero
- Incubadora (37°C)
- Refrigerador (4°C)

**C. Metodología**

1. Se analizaron 133 aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* con la técnica de difusión en disco.
2. Se llevó a cabo la lectura de los halos de inhibición de cada antibiótico (Anexo 2).
3. Reporte de resultados como susceptible o resistente.
4. Análisis estadístico utilizando el programa de computación WHONET.
5. Elaboración del informe final.
6. Traslado de información recabada a Departamento de Epidemiología de los hospitales que refieren los aislamientos al Laboratorio Nacional de Salud.

**D. Procedimiento**

1. Los aislamientos que se encontraban congelados a -70°C fueron resembrados en caldo tripticasa soya con glicerol en una proporción de 2:1 en un agar nutritivo (30).
2. Se incubó 24 horas a 37°C (30).
3. Se hizo una suspensión de bacterias de turbidez equivalente al 0.5 del estándar de MacFarland (30).
4. Se inoculó el agar Müeller-Hinton con la suspensión de bacterias utilizando un hisopo al cual previamente se le eliminó el exceso de muestra contra las paredes del tubo donde se encuentra la suspensión y se hizo el inóculo en 3 direcciones (30). Este paso se llevó a cabo antes de que se cumplieran 15 minutos de haber ajustado la turbidez de la suspensión.

5. Los discos con antibiótico se colocaron con una pinza previamente flameada de la siguiente manera: los discos de cefotaxima, amoxicilina/ácido clavulánico, ceftazidima a 2 cm de distancia entre cada uno en ese orden. Los discos de: ampicilina, ticarcilina, gentamicina, amikacina, sulfametoxazol, ciprofloxacina y cloramfenicol se colocaron arbitrariamente (30).
6. Se incubó 24 horas a 37°C (30).
7. Se llevó a cabo la lectura de los halos de inhibición poniendo mayor atención en los discos de cefotaxima, ácido clavulánico, ceftazidima y se observó cuando hay presencia de BLEE un aumento del halo de inhibición en las zonas donde el disco de ácido clavulánico está cercano a la cefalosporina; lo que es sugerente de la presencia de BLEE; y cuando hay BLEA resistencia a los antibióticos ticarcilina y amikacina (Anexo 3) (30).
8. Todos los aislamientos que fueron positivos para BLEA o BLEE se verificaron con la mezcla de cefalosporina de tercera generación/ácido clavulánico (30).
9. Interpretación: todas las cepas productoras de BLEE fueron informadas como resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam (30).

## **F. Diseño de la investigación**

### **1. Variables de interés**

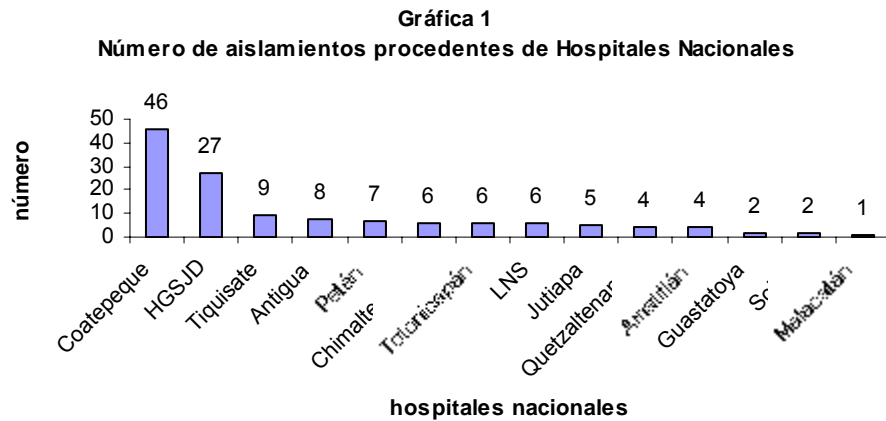
Mecanismos de resistencia, halos de inhibición.

### **2. Análisis de los resultados**

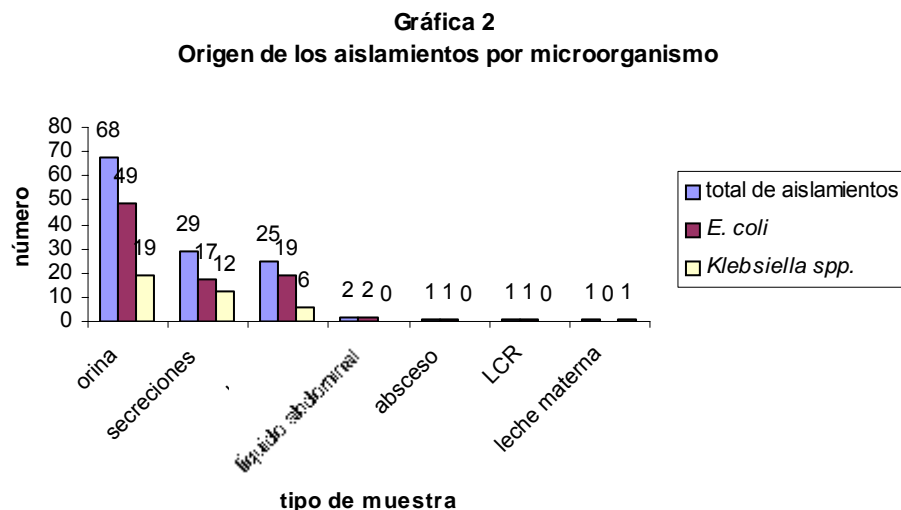
Para el análisis de resultados se utilizó el programa de computación WHONET que actualmente incluye listas lineales y resúmenes de los aislamientos, tabulación de las estadísticas de resistencia antibiótica, histogramas de diámetro de zona, ploteo de antibióticos y perfiles de resistencia a antibióticos en listados lineales y resúmenes.

## VIII. RESULTADOS

La procedencia de las 133 muestras que se evaluaron para la determinación de BLEA y BLEE, donde se observa que 46 (34 por ciento) aislamientos provenían del Hospital Nacional de Coatepeque, 27 (20 por ciento) del Hospital General San Juan de Dios, y las 60 (46 por ciento) restantes de otros centros hospitalarios (Tiquisate, Antigua, Petén, etc.) (Gráfica 1).

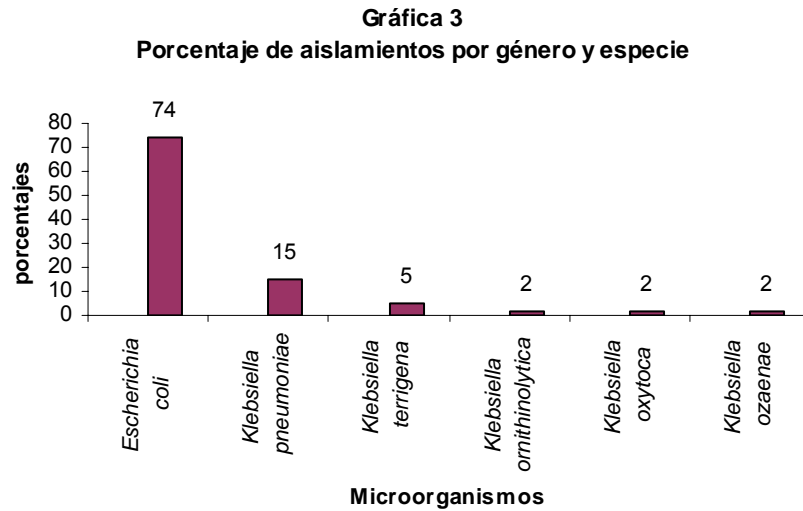


Los aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella spp* se obtuvieron en su mayoría de muestras de orina (68/127 equivalente a 53 por ciento), seguido por muestras de secreciones (29 /127 equivalente al 22 por ciento) y las restantes (36/127 equivalente al 18 por ciento) de otro tipo de muestra (heces, líquido abdominal, abscesos, etc.). En 49/68 (72 por ciento) orinas se aisló *E. coli* mientras que en las 19/68 (28 por ciento) restantes se aisló *Klebsiella sp.* (Gráfica 2).

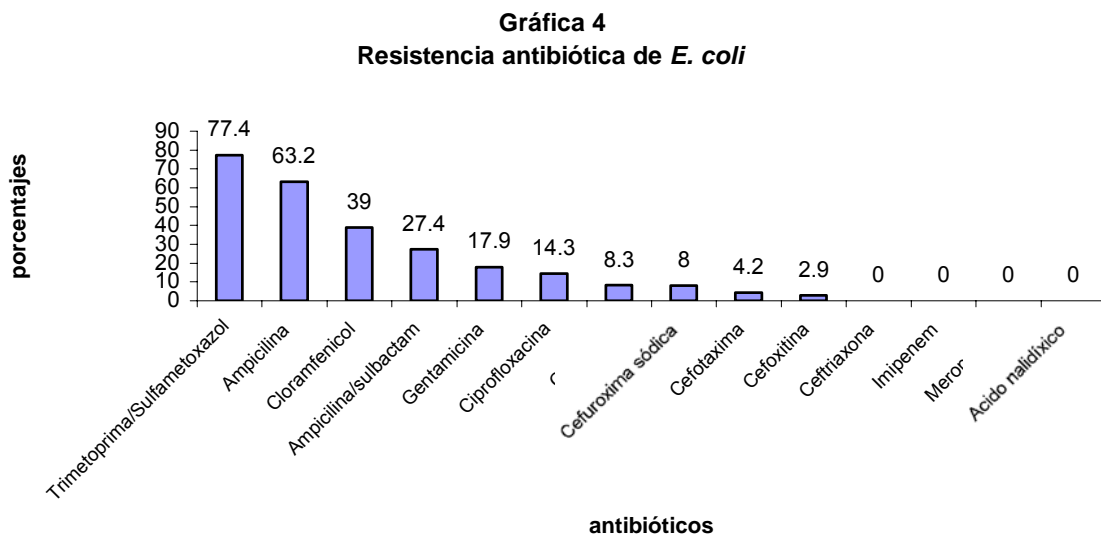




En el porcentaje de distribución de los microorganismos aislados en las 133 muestras analizadas, el 74 por ciento (98/133) de los aislamientos correspondió a *Escherichia coli*, el 15 por ciento (20/133) a *Klebsiella pneumoniae* y el 11 por ciento (15/133) restante a otras especies de *Klebsiella* (Gráfica 3).

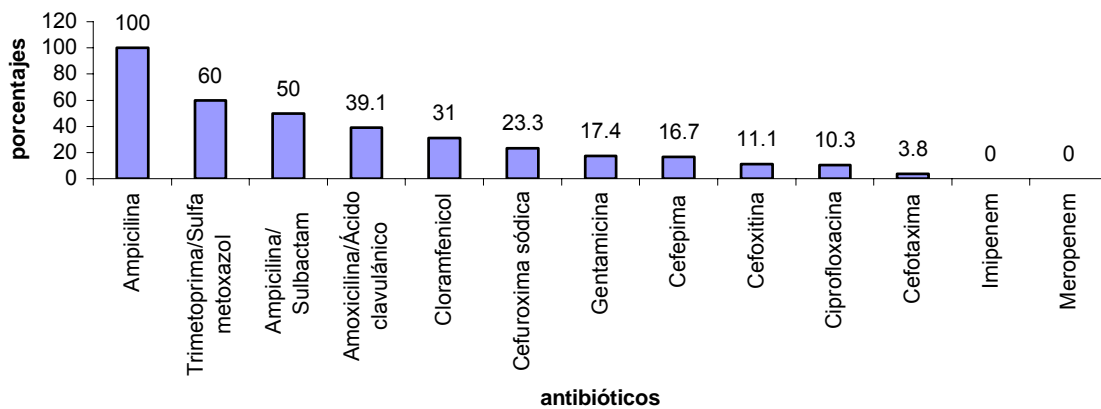


El comportamiento general de los 99 aislamientos de *Escherichia coli*, se puede apreciar que el 77.4 por ciento de los aislamientos presenta resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol, el 63.2 por ciento a la ampicilina y el 39 por ciento al cloramfenicol, los porcentajes de resistencia hacia los antibióticos restantes son menores a los mencionados anteriormente y ningún microorganismo presenta resistencia hacia los carbapenemes (imipenem y meropenem) (Gráfica 4).



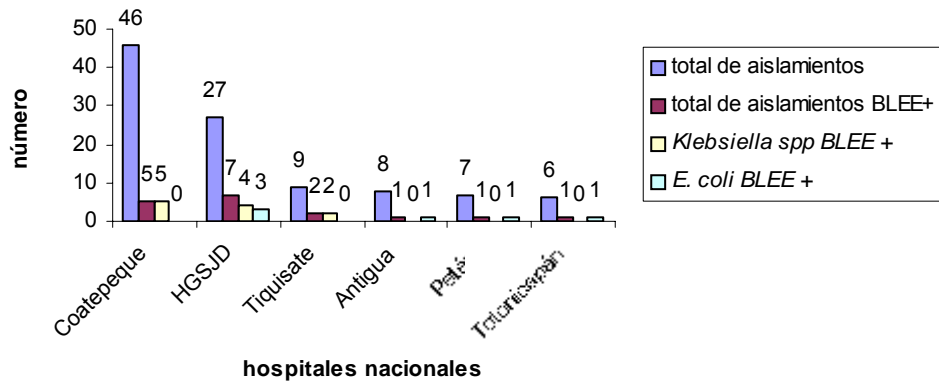
La resistencia general que presentan los aislamientos de *Klebsiella spp*, se puede observar que el 100 por ciento tiene resistencia a la ampicilina, el 60 por ciento al trimetoprim-sulfametoxazol, el 50 por ciento a la ampicilina-sulbactam, los porcentajes de resistencia hacia los antibioticos restantes (cefuroxima, ciprofloxacina, gentamicina, etc.) son menores a los mencionados anteriormente y ningún aislamientos presentó resistencia a los carbapenemes (Gráfica 5).

**Gráfica 5**  
**Comportamiento de resistencia de *Klebsiella spp***



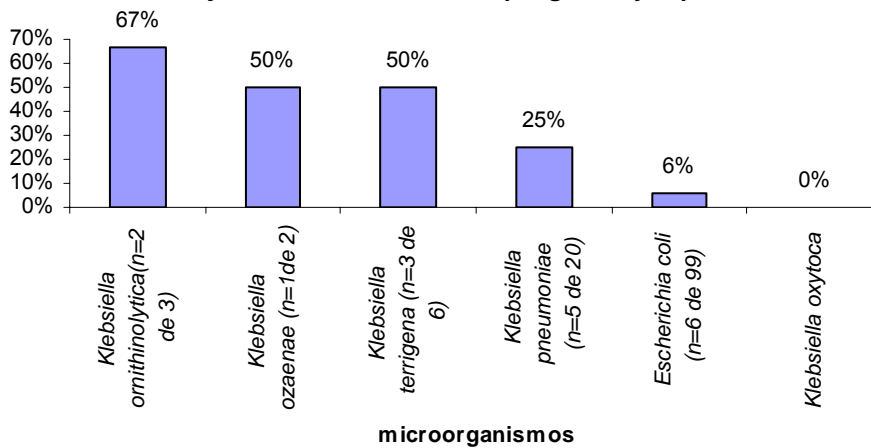
El Hospital Nacional que presentó mayor porcentaje de aislamientos BLEE positivo fue el Hospital General San Juan de Dios con 7/27 (26 por ciento), seguido del hospital de Coatepeque con 5/46 (11 por ciento), el de Tiquisate con 2/9 (22 por ciento), el de Totonicapán con 1/6 (17 por ciento), el de Petén 1/7 (14 por ciento) y el de Antigua con 1/8 (13 por ciento) (Gráfica 6).

**Gráfica 6**  
**Procedencia de los aislamientos BLEE +**



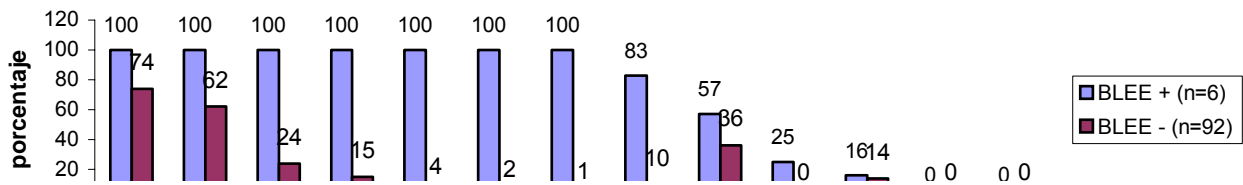
Los aislamientos BLEE positivos se distribuyeron por género+especie de la siguiente manera: 67 por ciento (2/3) de los aislamientos de *Klebsiella ornithinolytica* fueron BLEE positivo, el 6 por ciento (6/99) de los aislamientos de *Escherichia coli*, 50 por ciento de los aislamientos de *Klebsiella ozanae*, 25 por ciento de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* (Gráfica 7).

**Gráfica 7**  
**Porcentaje de aislamientos BLEE + por género y especie**

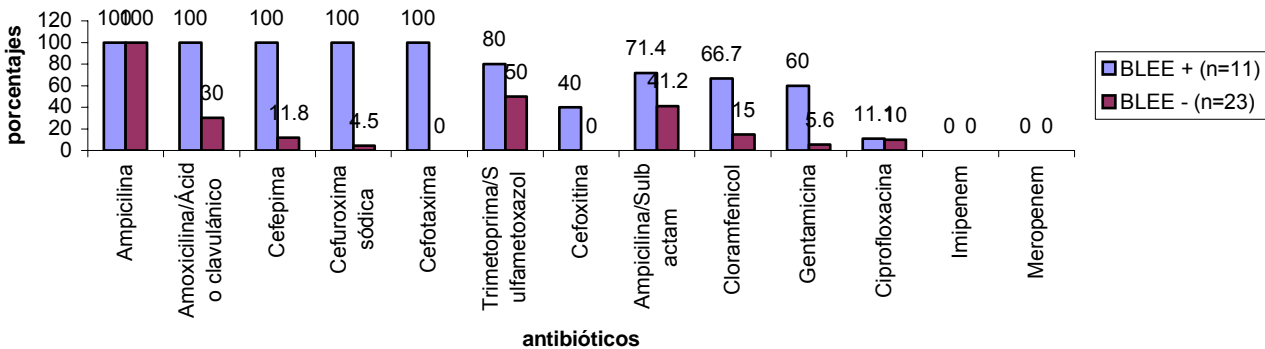


Los aislamientos de *E. coli* BLEE positivo presentaron un patrón de resistencia en el que el 100 por ciento fue resistente al trimetoprim-sulfametoxazol, ampicilina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-ácido clavulánico, cefepima, cefuroxima sódica y cefotaxima; comparado con los aislamientos BLEE negativo que presentaron porcentajes de resistencia mucho menores para los mismos antibióticos (Gráfica 8).

**Gráfica 8**  
Comparación de la resistencia de *E. coli* que poseen y no poseen BLEE



**Gráfica 9**  
Comparación de la resistencia antibiótica entre aislamientos de *Klebsiella spp* que poseen y no poseen BLEE



La comparación entre los aislamientos de *Klebsiella spp* BLEE positivo y BLEE negativo permite apreciar que ambos tipos de aislamiento fueron resistentes a la ampicilina (100 por ciento), además el 100 por ciento de los aislamientos fue resistente a la amoxicilina-ácido clavulánico, cefepima, cefuroxima sódica y cefotaxima, se obtuvo porcentajes menores para los demás antibióticos y el 0 por ciento fue resistente a los carbapenemes (Gráfica 9).

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la gráfica 1 se presenta la distribución por hospitales de los aislamientos captados por el Laboratorio Nacional de Salud; se puede observar que los hospitales que tuvieron mayor número de aislamientos fue el Hospital Nacional de Coatepeque (46/133) y el Hospital General San Juan de Dios (27/133), que además de presentar gran afluencia de personas a los laboratorios clínicos de los mismos, tienen mejor acceso a la información que el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) les pueda brindar; por carecer de los medios necesarios para llevar a cabo la identificación de estos mecanismos de resistencia, envían sus aislamientos a esta institución para obtener un perfil de resistencia claro y completo. También es importante mencionar que algunos hospitales encuentran gran dificultad en enviar las muestras o los aislamientos al LNS porque las distancias que tendrían que recorrer son demasiado extensas, por lo que no participan activamente en la evaluación correcta de los perfiles de resistencia de las bacterias aisladas en sus laboratorios.

En la gráfica 2 se puede observar que 49/127(39 por ciento) aislamientos de *Escherichia coli* provienen de orina, seguidos por 17/127 (13 por ciento) obtenidos de secreciones y por último 1/127 (1 por ciento) aislamiento obtenido de abscesos. *E. coli* es el causante más importante de infecciones urinarias, es también muy importante en secreciones debido generalmente a las malas prácticas de higiene que se tiene en los hospitales nacionales, las que favorecen la diseminación de esta bacteria en los pacientes que se encuentran recluidos en estas instituciones. Se puede observar también que 19/127 (15 por ciento) aislamientos de *klebsiella spp* provienen de orina, 12/127 (9 por ciento) de secreciones y por último 6/127 (5%) aislamientos de muestras de heces. Esto concuerda con el comportamiento que se esperaría para este grupo de microorganismos, ya que en el ambiente hospitalario el uso de catéteres urinarios incrementa la posibilidad de una infección urinaria. Así mismo, el ambiente hospitalario también favorece la colonización de heridas, lo cual es muy importante en infecciones nosocomiales, ya que una gran cantidad de estos aislamientos poseen un mecanismo de resistencia BLEE su erradicación dentro de la institución es muy difícil; es importante notar que siempre el número de aislamientos de *Escherichia coli* sobrepasa el número de aislamientos de *Klebsiella*, esto posiblemente debido a que las prácticas de higiene

son deficientes lo que facilita la contaminación fecal en las manos de las personas que manipulan a los enfermos recluidos en los hospitales.

En la gráfica 3 se puede observar la distribución de los microorganismos analizados en este estudio para un total de 133 aislamientos, de los cuales como se puede observar el 74 por ciento corresponden a *E. coli* que por naturaleza es más común en una variedad de padecimientos clínicos que *Klebsiella*, Además por ser *E. coli* una bacteria “oportunista” causante de infecciones endógenas se disemina con facilidad en los centros hospitalarios porque éstos poseen las condiciones propicias para el desarrollo de esta bacteria. Después de *E. coli* la bacteria aislada es *Klebsiella pneumoniae* (15 por ciento) la cual de su género es la que más frecuentemente se encuentra causando patología en el hombre.

La gráfica 4 presenta los valores de resistencia obtenidos para los 99 aislamientos de *Escherichia coli*, en la cual se puede observar que el mayor porcentaje de resistencia corresponde a trimetoprim-sulfametoxazol con un 77.4 por ciento, seguido por la ampicilina con un 63 por ciento y el cloramfenicol con un 39 por ciento; el valor de resistencia tan elevado para el trimetoprim-sulfametoxazol podría deberse a que es una droga muy popular para el tratamiento de afecciones ocasionadas por *E. coli*. También hay que prestar especial atención al alto porcentaje de resistencia a la ampicilina, ya que esto podría ser indicio del desarrollo de una beta-lactamasa de espectro ampliado. Los valores de resistencia presentados por Pérez V. en el año 2003 concuerdan con lo obtenido en el presente estudio, con diferencias mínimas que se deben a que en el estudio de Pérez V. sólo se evalúan aislamientos del año 2002 mientras que en este estudio se evalúan aislamientos del año 2002, 2003 y 2004 en conjunto, a fin de presentar los valores de resistencia de manera global; esto ocasiona un sesgo en los datos presentados en este estudio ya que con el paso de los años el valor de resistencia a los antibióticos aumenta, por lo que ambos estudios no podrían tener valores de resistencia idénticos.

En la gráfica 5 se presentan los porcentajes de resistencia obtenidos para los 34 aislamientos de *Klebsiella spp*, en la cual se puede observar que el mayor porcentaje de resistencia corresponde a la ampicilina con un 100 por ciento, seguida del trimetoprim-sulfametoxazol con un 60 por ciento, ampicilina-sulbactam con un 50 por ciento y cloramfenicol con un 39 por ciento. Al igual que para *E. coli* los valores de resistencia

obtenidos para *Klebsiella* en el presente estudio concuerdan con los obtenidos por Pérez V. en el año 2003. El porcentaje de resistencia tan alto a la ampicilina es de esperarse en aislamientos de *Klebsiella* ya que éstos por poseer beta-lactamasa de espectro ampliado (BLEA), presentan resistencia natural a los compuestos penicilínicos. También resalta el alto porcentaje de resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol y a la ampicilina-sulbactam, lo cual es alarmante debido a que ésta última por poseer un inhibidor de beta-lactamasas no debería presentar resistencia alguna. Este comportamiento puede deberse a una producción tan alta de beta-lactamasa que el medicamento ya no se da a vasto para eliminar al microorganismo o a la producción de una beta-lactamasa que es tan afín a la droga que logra bloquear la acción de la misma. Esto debe ser tomado en cuenta en la prescripción de antibióticos para lograr que el tratamiento del paciente sea eficaz.

En la gráfica 6 se presentan los Hospitales Nacionales de los cuales se aislaron bacterias BLEE positivo; al respecto es importante notar que aunque el Hospital General San Juan de Dios tuvo 27 aislamientos y el Hospital Nacional de Coatepeque 46, el primero presentó 7 aislamientos BLEE positivo y el segundo 5; esto indica que los datos obtenidos en un hospital no pueden ser usados como referencia para otro hospital, por lo que es importante que las instituciones hospitalarias desarrollen un programa de vigilancia epidemiológica tomando en cuenta la terapéutica que cada institución maneja y así obtener un perfil más específico de los aislamientos de cada hospital.

En la gráfica 7 se proporciona una panorámica de los aislamientos con BLEE donde el 67 por ciento ( $2/3$ ) de los aislamientos de *Klebsiella ornithinolytica* son BLEE positivo, el 50 por ciento ( $1/2$ ) de los de *K. ozanae*, el 50 por ciento ( $3/6$ ) de los de *K. terrigena*, el 25 por ciento ( $5/20$ ) de los de *K. pneumoniae* y el 6 por ciento de los de *E. coli*. Debe aclararse que cada porcentaje fue calculado para cada especie dividiendo el número de aislamientos BLEE positivos dentro del número de aislamientos por especie, por lo que aunque el porcentaje de aislamientos BLEE positivo sea muy alto por género y especie, el número de aislamientos por género y especie es muy pequeño; esto crea la necesidad de un estudio posterior enfocado en cada una para lograr un número de muestra mayor y por consiguiente resultados con mayor significado. Sin embargo si se analiza en forma global que 1 de cada 3 aislamientos ( $11/34$ ) de *Klebsiella spp* poseen el mecanismo de resistencia BLEE mientras que solo 1 de cada

20 aislamientos (6/99) de *E. coli* son BLEE positivos; esto significa que un gran número de aislamientos de *Klebsiella spp* poseen este mecanismo y están diseminando el mismo con lo que cada vez habrá más aislamientos BLEE positivos, lo cual limitará la terapéutica que deba ser utilizada para eliminar estos microorganismos, y ya que los aislamientos provienen de los distintos hospitales nacionales poseen un gran significado porque esto indica que los aislamientos están presentes en todos los hospitales con una gran probabilidad de diseminación si no se toman las medidas adecuadas.

Es importante notar que la cantidad de aislamientos de *E. coli* que poseen BLEE es mucho menor que el observado para *Klebsiella*, esto se debe probablemente a que la *Klebsiella* puede convertir fácilmente la BLEA que ya posee en BLEE; sin embargo debido a que *E. coli* no presenta BLEA natural no puede desarrollar por sí sola un mecanismo BLEE, sino debe que adquirirlo por medio de transducción o conjugación a partir de otra bacteria. En este estudio no se encontró ninguna *E. coli* que presentara BLEA ya que cuando se observó el antibiograma para cada uno de los aislamientos ninguno presentó el patrón necesario para considerarse BLEA, lo que significa que se observó un efecto desde la cefalosporina de tercera generación (ceftazidima) hacia el ácido clavulánico y que los sustratos pequeños como la ampicilina además de las cefalosporinas de primera y segunda generación mostraron un efecto inhibitorio sobre las bacterias.

En la gráfica 8 se presenta la comparación entre los valores de resistencia obtenidos para los aislamientos de *Escherichia coli* cuando presentan y no presentan BLEE. En esta gráfica se puede observar que todos los microorganismos BLEE positivos son resistentes en un 100 por ciento a las cefalosporinas que fueron evaluadas *in vitro*. Al igual que para *Klebsiella* la diferencia de los aislamientos con BLEE y sin BLEE es muy marcada ya que para el primer grupo es de un 83 por ciento y para el segundo de un 10 por ciento, la diferencia para el trimetoprim-sulfametoxazol es de casi un 30 por ciento y para el cloramfenicol de un 20 por ciento. Al igual que con *Klebsiella* la presencia de BLEE también favorece la resistencia hacia antibióticos no beta-lactámicos.

Es de suma importancia recordar que para los aislamientos BLEE positivos aunque un porcentaje de los aislamientos sea sensible *in vitro* a los medicamentos beta-



lactámicos, éstos deben ser informados como resistentes debido a que cuando poseen el mecanismo BLEE los microorganismos son resistentes a todos los antibióticos beta-lactámicos *in vivo*, exceptuando carbapenemes y cefamicinas. Los valores presentados en las gráficas sirven para hacer notar que estas drogas no son efectivas en el tratamiento de procesos patológicos aunque en el antibiograma se observe un halo de inhibición.

En la gráfica 9 se hace una comparación entre los valores de resistencia obtenidos para los aislamientos de *Klebsiella spp* cuando presentan y no presentan BLEE. En esta gráfica se observa que la diferencia obtenida para la ampicilina-sulbactam es de 30 por ciento, al igual que para el trimetoprim sulfametoxazol, la diferencia de resistencia es muy notoria para la gentamicina que en los aislamientos sin BLEE (BLEA) presenta un porcentaje de resistencia de 5.6 por ciento y en los aislamientos con BLEE el valor de resistencia es de 60 por ciento. Esto significa que cuando la beta-lactamasa de espectro extendido está presente la resistencia frente a otros antibióticos no beta-lactámicos aumenta considerablemente, por lo que la única alternativa para el tratamiento sería el imipenem y el meropenem hacia los cuales no se ha desarrollado resistencia por parte de estos microorganismos.

La importancia de la determinación de estos mecanismos de resistencia radica en que cuando están presentes confieren resistencia hacia otras familias de antibióticos, por lo que es necesario utilizar medicamentos más potentes, lo cual implica no solo un incremento en el costo del tratamiento sino también la probabilidad de que las bacterias desarrollen un mecanismo de resistencia hacia estos medicamentos, lo que limita cada vez más las opciones terapéuticas disponibles actualmente. El tamizaje correcto para estos aislamientos debe ser implementado lo antes posible en todas las instituciones ya que actualmente no se realiza; con esta medida se evitaría el informe erróneo de sensibilidad antibiótica que se han estado manejando hasta el momento.

## X. CONCLUSIONES

1. El mayor número de aislamientos evaluados provenía del Hospital Nacional de Coatepeque seguido de el Hospital Nacional San Juan de Dios.
2. La mayoría de aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella spp* fueron realizados en muestras de orina.
3. La bacteria aislada con más frecuencia en las muestras evaluadas es *E. coli*.
4. Se determinó que uno de cada tres aislamientos de *Klebsiella spp* presenta BLEE.
5. En los hospitales evaluados ningún aislamiento de *Escherichia coli* presentó BLEA.
6. De los aislamientos de *Escherichia coli* que se evaluaron se determinó que uno de cada veinte presenta BLEE.
7. Los microorganismos que presentan BLEE también presentan elevada resistencia hacia otros antibióticos, principalmente trimetoprim-sulfametoxazol, cloramfenicol y gentamicina.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio posterior que se enfoque en *Klebsiella spp* únicamente para que se tenga un mayor número de aislamientos por especie y se logre una mejor perspectiva del comportamiento de cada una de las especies.
2. Alertar a todas las instituciones que realicen antibiogramas en el país acerca del desarrollo de BLEE en aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella spp*.
3. Capacitar al personal de laboratorio para que realicen adecuadamente el tamizaje para detección de BLEE en *E. coli* y *Klebsiella*.
4. Implementar un sistema de vigilancia haciendo énfasis en la determinación de BLEA y BLEE en cada una de las instituciones.

## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zinsser. Microbiología. Vigésima ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana, 1997. p 737-742.
2. Murray P. Microbiología Médica. España: Editorial Mosby/Doyma libros, 1995. p 103 – 109.
3. Perez V. Identificación y determinación de los patrones de susceptibilidad antibiótica de enterobacterias, aisladas de muestras clínicas de pacientes internos en el hospital regional de occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango. 2003. pag 24 (tesis de graduación).
4. Pujol Miguel. Peña C. El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. pp 69-71. 2003. 22 de Noviembre de 2003 Disponible en: <http://db2.doyma.es/pdf/28/28v21n02a1304286pdf001.pdf>.
5. Schroeder C. *et al.* Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from Animals and Humans. December 2002;8. 10 Noviembre de 2003. Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no12/02-0070.htm>
6. Informe anual regional de los países participantes en la red de Monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia: 2002. p. 58-60
7. Chi Hiong U Go. *Escherichia coli* infecciones. emedicine, world medical library 2003. 31 de Mayo de 2004 Disponible en: [www.emedicine.com/med/topic734.htm](http://www.emedicine.com/med/topic734.htm)
8. Obiamiwe Umeh. *Klebsiella* Infections. Emedicine, World medical library. 2002. 31 de Enero de 2004. Disponible en: [www.emedicene.com/med/topic1237.htm](http://www.emedicene.com/med/topic1237.htm)

9. Chaves J. Caracterización molecular del gen de la beta-lactamasa SHV-1 en *Klebsiella pneumoniae*. pp10-12. 2003. 10 de Febrero de 2004. Disponible en: [http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_UB/AVAILABLE/TDX-0528102-113221/TOL73.pdf](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0528102-113221/TOL73.pdf)
10. Brochert, A. *Klebsiella*: One Potentially Nasty Bacteria. Personal MD.com 1999. 01 de Febrero de 2004. Disponible en: [www.personalmd.com/news/klebsiella\\_102299.html](http://www.personalmd.com/news/klebsiella_102299.html)
11. Jan I. *et al.* Antimicrobial susceptibility testing for *Klebsiella pneumoniae* isolates resistant to extended-spectrum beta-lactam antibiotics. Pub Med 1998;10. 19 de Noviembre de 2003. <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/00001506.htm>
12. Wen Liang Yu, *et al.* Cefepime MIC as a predictor of the Extended-Spectrum beta-lactamase type in *Klebsiella pneumoniae*, Taiwan. EID Mayo 2002;8. 19 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.cdc.gov/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm)
13. Bergolio. Antibióticos. Quinta ed. España: Editorial Médica Panamericana, 1993. p 3.
14. <<ftp://members.tripod.com//fotografía/textos/antibióticos1.htm> 22 de Noviembre de 2003.
15. Mejía, Andrea. Comparación de la identificación y antibiograma de bacterias gram positivo y gram negativo en un sistema automatizado a partir de cepas aisladas en medios de cultivo enriquecidos y medios de cultivo cromogénicos. 2002.( tesis de graduación)
16. Cercenado E. Resistencia a los antimicrobianos. Servicio de microbiología. Madrid, España. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: <http://clinfec.edu.uy/pdf/28/28v21n02a13042861pdf001.pdf>

17. Zageta M. Antibióticos. Ecom. Noviembre 2002. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: <http://www.lafacu.com/apuntes/biologia/antibioticos/default>
18. <ftp://www.ifal.uh.cu/documentos/Diplomado/Beta-lact%E1micos.ppt  
Betalactámicos. 31 de Enero de 2004.
19. Departamento de Biología Molecular. Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. Salud pública de México 1994;36. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: [http://xipe.insp.mx/salud/36/364\\_7s.html](http://xipe.insp.mx/salud/36/364_7s.html)
20. Chirinos J. Mecanismos de la resistencia microbiana. La revista médica del C.I.E.M. 31 de Enero de 2004. Disponible en: [www.ucsm.edu.pe/ciemucsm/larev.rev01.htm](http://www.ucsm.edu.pe/ciemucsm/larev.rev01.htm)
21. Bush, K. It is important to Identify Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing Isolates?. Astra Research Center Boston. 1996;15. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.warn.cas.cz/Topics/lactamases/bush.html](http://www.warn.cas.cz/Topics/lactamases/bush.html)
22. Bush K. Functional and molecular characteristics of the mayor groups of beta-lactamases. Tabla 1. 2001:1086. 31 de Enero de 2004. Disponible en: <http://gold.aecom.yu.edu/id/almanac/betalactamases.htm>
23. Marín M. Francesc G. Antibióticos betalactámicos. 2003:42-55. 31 de Enero de 2004. Disponible en: <http://db2.doyma.es/pdf/28/28v21n01a13042137pdf001.pdf>
24. Crowley B. Extended-spectrum beta-lactamases in blood culture isolates of *Klebsiella pneumoniae*: seek and you may find!. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2001;47:728-729. 01 de Febrero de 2004. Disponible en: <http://jac.oupjournals/cgi/caontent/full/47/5/728>
25. Beta-lactamasas de amplio espectro. Microbiología Clínica en la www. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.microbiologiaclinica.com/beta-lactamasas2.htm](http://www.microbiologiaclinica.com/beta-lactamasas2.htm)

26. Sakurada A. Beta Lactamasas Espectro Extendido. 22 de Noviembre de 2003. <http://200.68.11.22/Resistencia/ESBI%20red%resistencia-junio-03.pdf>
27. Farkosh M. Extended-Spectrum beta-lactamase Producing Gram Negative Bacilli. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.Hopkins\\_heic.org/infectious\\_diseases/esbl.htm](http://www.Hopkins_heic.org/infectious_diseases/esbl.htm)
28. Zemelman R. *et al.* Detección de beta-lactamasas de espectro extendido en el laboratorio de microbiología. Revista chilena de infectología 2002;19. 01 de Febrero de 2004. Disponible en: [www.wcielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid](http://www.wcielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid)
29. Guidelines on susceptibility testing of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* due to extended spectrum beta-lactamasas (ESBLs). Canadian External Quality Assessment Advisory Group for Antibiotic Resistance. 1998. 22 de Noviembre de 2003. Disponible en: [http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-agspsp/prublicat/cega-pceeq/esbl98\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-agspsp/prublicat/cega-pceeq/esbl98_e.html)
30. Wayne PA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS approved standard M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards 1999. 19 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.cdc/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm](http://www.cdc/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm)
31. Ardanuy C. Beta-lactamasas plasmídicas de espectro ampliado. Disponible en: [www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/kpbpea.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/kpbpea.htm)
32. <ftp://[www.aulavirtual.com.sv/pediatria/cefalosporinas.htm](http://www.aulavirtual.com.sv/pediatria/cefalosporinas.htm). Cefalosporinas. 22 de Noviembre de 2003.
33. Cona E. Etapas en la evaluación de diferentes cefalosporinas: Un flujograma lógico. Revista Chilena Infectología 2002;19:88-92. 01 de Febrero de 2004 Disponible en: [www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art04.pdf](http://www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art04.pdf)

### **XIII. ANEXOS**



## Anexo 1. Clasificación de las cefalosporinas

Generación	Espectro antimicrobiano	Indicaciones terapéuticas	Ejemplos
Primera	Gram positivo y enterobacterias no productoras de beta-lactamasas	Útiles en el tratamiento de infecciones causadas por <i>S. aureus</i> meticilino sensibles	cefadroxil, cefalexina cefaloglicina, cefapirina cefalovidina, cefalotina, cefazolina, cefadrina
Segunda	más amplio que el de la primera generación con respecto a los Gram negativo.	Infecciones causadas por microorganismos Gram positivo y Gram negativo, sensibles, siempre que la infección no se localice en el sistema nervioso central	cefaclor cefprozil cefamandol, cefmetazol, cefonicid, ceforanida, cefotetan, cefoxitina (Grupo de las cefamicinas), cefuroxima
Tercera	espectro más amplio contra enterobacterias y microorganismos Gram negativo no productores de BLEEs y/o cefalosporinasas	Infecciones causadas por microorganismos Gram negativo como <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia marcesens</i> , <i>Salmonella</i> incluyendo <i>tiphy</i> , <i>Shigella</i> y <i>H. influenzae</i> .	cefatamed, cefixima, cefpodoxima y ceftibutén, cefmenoxina, cefodizima, ceporezona, cefotaxima, cefsulodina, ceftazidima, ceftizoxima, ceftriaxona y moxalactam
Cuarta	Potente actividad frente a bacilos Gram negativo que inactivan cefalosporinas de tercera generación y productoras de BLEE	Infecciones causadas por Gram positivo, <i>Pseudomonas</i> y no productoras de beta-lactamasas para la cefepima y para cefpiroma; y algunas productoras de beta-lactamasas excepto <i>L. monocytogenes</i> , <i>C. difficile</i> y <i>B. fragilis</i> .	cefepima y cefpiroma . En fase de experimentación se encuentra la llamada FK-037

Tomado de: <ftp://[www.aulavirtual.com.sv/pediatria/cefalosporinas.htm](http://www.aulavirtual.com.sv/pediatria/cefalosporinas.htm). 22 de Noviembre de 2003 (32). Cona E. Etapas en la evaluación de diferentes cefalosporinas: Un flujograma lógico. Revista Chilena Infectología 2002;19:88-92. 01 de Febrero de 2004  
Disponible en: [www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art04.pdf](http://www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art04.pdf) (32).

## ANEXO 2

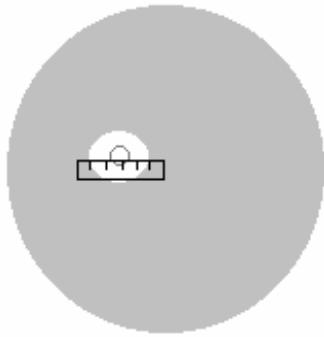
Interpretación de los diámetros de las zonas de inhibición (mm) para miembros de la familia *Enterobacteriaceae*.

Agente antimicrobiano	Contenido del disco (mcg)	Resistente	Intermedio	Moderadamente susceptible	Susceptible
Amikacina	30	≤14	15-16		≥ 17
Amoxicilina-ácido clavulánico	20/10	≤ 13		14-17	≥ 18
Ampicilina	10	≤13		14-16	≥17
Ampicilina-sulbactam	10/10	≤11		12-14	≥15
Aztreonam	30	≤15		16 - 21	≥22
cefamandol	30	≤14		15-17	≥18
Cefazolina	30	≤14		15-17	≥18
Cefmetazol	30	≤12		13-15	≥16
Cefotaxima	30	≤14		15-22	≥23
Cefoxitina	30	≤14		15-17	≥18
Ceftazidima	30	≤14		15-17	≥18
Ceftriaxona	30	≤13		14-20	≥21
Cefalotina	30	≤14		15-17	≥18
Cloramfenicol	30	≤12	13-17		≥18
Ciprofloxacina	5	≤15		16-20	≥21
Gentamicina	10	≤12	13-14		≥15
Imipenem	10	≤13		14-15	≥16
Kanamicina	30	≤13	14-17		≥18
Tetraciclina	30	≤14	15-18		≥19
Ticarcilina	75	≤14		15-19	≥20
Trimetoprim-sulfametoxazol	1.25/23.75	≤10		11-15	≥16

Tomado de: Wayne, PA Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS approved standard M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards 1999. 19 de Noviembre de 2003. Disponible en: [www.cdc/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm](http://www.cdc/ncidod/hip/lab/FactSheet/esbl.htm) (30).

### ANEXO 3

DIAGRAMA 1. MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN PARA TODAS LAS FAMILIAS EXCEPTO CEFALOSPORINAS.



La lectura de las placas se lleva a cabo 18-24 horas más tarde con la ayuda de una regla, midiendo la zona alrededor del disco donde no hay crecimiento; las longitudes de halos obtenidas se comparan con la tabla presentada en el anexo II para determinar si son sensibles o resistentes.

DIAGRAMA 2. IDENTIFICACION DE BETA- LACTAMASAS DE ESPECTRO AMPLIADO Y EXTENDIDO (EVALUACION DE CEFALOSPORINAS)



Si existen beta-lactamasas de espectro extendido o ampliado se observa una deformación del halo de inhibición desde la cefalosporina hacia el inhibidor de beta-lactamasas (ácido clavulánico).