

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

**Determinación de la Prevalencia Beta-lactamasas de Espectro
Extendido en
Escherichia coli en el Hospital General San Juan de Dios**



MAURICIO MAZARIEGOS BARRIOS

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, Marzo de 2007

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

**Determinación de la Prevalencia Beta-lactamasas de Espectro
Extendido en
Escherichia coli en el Hospital General San Juan de Dios**



INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

MAURICIO MAZARIEGOS BARRIOS

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, Marzo de 2007

JUNTA DIRECTIVA
FACUTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Oscar C3bar Pinto Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Oliva	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antill3n	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Ur3zar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jim3nez	Vocal III
Br. Angel Dami3n Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Angel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

DEDICO ESTA TESIS

- A DIOS: Por que nunca me ha abandonado, y por haberme regalado algo hermoso como lo es mi familia.
- A MI PADRE: Por ser el impulsor de mi carrera, por su paciencia, por acompañarme todo este tiempo y por hacerme entender que la dedicación y la perseverancia traen consigo grandes recompensas.
- A MI MADRE: Por ser la persona que nunca me ha fallado, por haberme tomado de la mano y acompañarme en caminos difíciles, por las enseñanzas que me has dado y por que siempre has confiado en mí.
- A MIS HERMANOS: Raúl y Humberto por siempre ayudarme, comprenderme y por brindarme siempre lo mejor de cada uno.
- A MIS ABUELOS: Zoila por ser mi segunda madre, Carmen por su cariño y sus consejos, Gerardo por su amor.
- A MIS TIOS: A cada uno por su apoyo, en especial a Norma por su cariño y su atención.
- A MIS PRIMOS: A cada uno de ellos, en especial a Vanessa y Ligia.
- A MIS MAESTROS: A cada uno de ellos, en especial Maria del Carmen Bran por ser la catedrática que más empeño pone en enseñar a sus alumnos.
- A MIS ASESORES: Jorge Matheu y Tamara Velásquez por brindarme siempre su apoyo amistad y ejemplo.
- A MI AMIGO: Fray Guillermo Bonilla por sus oraciones y por el gran cariño que le ha brindado a mi familia, en especial a mi hermano Humberto.

ACTO QUE DEDICO

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
A LA ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA
AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
A TODOS MIS CATEDRATICOS

A MIS AMIGOS: Luis y Heidy por su cariño, sus consejos y su amistad sincera, Alejandro, Chaly , Tono, César, Leonel por brindarme su amistad,

AI TODO
EL PERSONAL

Del Laboratorio del Hospital Juan José Ortega de Coatepeque.

AI PERSONAL
TECNICO

Del laboratorio del Hospital General San Juan de Dios y del Laboratorio Nacional de Salud.

INDICE

CONTENIDO	PÁGINA
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
A. Generalidades	3
1. <i>Escherichia coli</i>	3
2. Características bioquímicas y de cultivo	4
3. Composición antigénica	4
4. Mecanismo de resistencia natural de <i>Escherichia coli</i>	5
B. Beta-lactámicos	6
1. Definición	6
2. Mecanismo de acción	7
C. Beta-lactamasas	8
D. Mecanismo de resistencia a penicilina y Cefalosporinas	9
E. Beta-lactamasas de espectro extendido	12
F. Aparición de las beta-lactamasas de espectro Extendido	14
G. Epidemiología de beta-lactamasas de espectro Extendido	14
H. Detección de beta-lactamasas de espectro extendido	15
1. Método para la confirmación de beta-lactamasas de espectro extendido	16
2. Técnica de la doble difusión con discos	16
3. Técnica de E-test	17
4. Técnica de la sinergia con inhibidores de las beta-lactamasas	
6. El significado clínico de las beta-lactamasas de Espectro extendido	17
IV. JUSTIFICACIÓN	19
V. OBJETIVOS	20
VI. HIPÓTESIS	21
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	22
VIII. RESULTADOS	27
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
X. CONCLUSIONES	36
XI. RECOMENDACIONES	37
XII. REFERENCIAS	38
XIII. ANEXOS	41

I. RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia de *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en el Hospital General San Juan de Dios. Para ello se evaluaron 385 aislamientos de *Escherichia coli*, obtenidas de diferentes tipos de muestras, las cuales fueron recolectadas en el período del 5 de enero al 24 de mayo del 2004.

La identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias se estableció por medio del sistema automatizado de MicroScan (Dade Behring). La confirmación de cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE, se llevó a cabo en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) por medio del método del triple disco.

Se determinó que la prevalencia de cepas de *Escherichia coli* con BLEE, fue del 5 por ciento. En el tipo de muestra donde se observó un mayor número de aislamientos de bacterias productoras de BLEE, fue en el de orina, seguida de de secreciones varias y hemocultivo. Se observó un mayor número de *Escherichia coli* con BLEE, en la sala de pediatría. Se obtuvo mayor resistencia microbiana por parte de *Escherichia coli* con BLEE, a los antibióticos no beta-lactámicos, como gentamicina y amikacina, los que pertenecen a la familia de los aminoglucósidos, trimetoprim sulfametoxasole y ciprofloxacina que pertenece a la familia de las quinolonas.

Se recomienda educar al personal médico y de laboratorio sobre la importancia de conocer las beta-lactamasas y las implicaciones clínicas de las cepas con este mecanismo de resistencia, para tomar medidas de control y prevención adecuadas.

II. INTRODUCCION

La resistencia a los antibióticos a nivel mundial ha aumentado considerablemente, por lo que la multirresistencia de las bacterias a los antibióticos pone en grave riesgo la vida de los pacientes. Las bacterias pueden adquirir mecanismos de resistencia, por medio de mutaciones y también por transferencia de material genético de otras bacterias (1).

Los antibióticos como las cefalosporinas están entre los más usados a nivel mundial, pues en los últimos años han servido mucho para combatir diferentes infecciones; sin embargo, se ha observado una resistencia por parte de las bacterias a estos agentes, incluso a las cefalosporinas de tercera generación, por lo que las opciones terapéuticas disminuyen considerablemente (2).

El propósito de esta investigación fue determinar la prevalencia de *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido, ya que en el Hospital General San Juan de Dios no se habían realizado estudios sobre este tema. Se determinó la sala hospitalaria más afectada con estos aislamientos y se demostró la resistencia asociada a otras familias de antibióticos no beta-lactámicos. El uso inadecuado de los antibióticos y el abuso de los mismos aumenta la resistencia bacteriana a los antibióticos, por lo que fue necesario hacer un estudio de este tipo en el centro asistencial, para que se tomen las medidas necesarias para controlar estas cepas y paralelamente, se pueda contar con datos nacionales que nos den indicios de cuál es la situación de este mecanismo de resistencia en *Escherichia coli*.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades

1. *Escherichia coli*

La familia *Enterobacteriaceae* consta de bacilos Gram negativo. Históricamente las *Enterobacteriaceae* han sido divididas en patógenos oportunistas y patógenos intestinales, sin embargo en la actualidad esta diferencia es menos clara por los recientes avances en las relaciones genéticas, junto con los descubrimientos vinculados a los mecanismos de la enfermedad diarreica (4).

El género *Escherichia* contiene una sola especie considerada patógena, *Escherichia coli*, que ha sido objeto de más investigación científica que cualquier otro microorganismo. Esta bacteria es el principal habitante del intestino grueso y es única entre los microorganismos que integran la microbiota normal, por cuanto también es el patógeno humano aislado con mayor frecuencia de infecciones en las vías urinarias, en heridas y en casos de neumonía, meningitis, septicemia o de gastroenteritis entre los viajeros que visitan países con deficiencias sanitarias. En Estados Unidos, *E. coli* es la principal causa de infecciones en las vías urinarias, tanto nosocomiales como adquiridas en la comunidad. Las mujeres son las más propensas a sufrir infecciones del tracto urinario debido a diferencias anatómicas, edad de maduración sexual y alteraciones producto del embarazo. La neumonía es la segunda causa más frecuente de enfermedad causada por *E. coli*, seguida por la meningitis, y las infecciones en heridas, en países tropicales. *E. coli* puede ser causa importante de diarrea en niños, a través de varios serotipos existentes, como *Escherichia coli* enteropatógena, *Escherichia coli* enteroinvasiva, *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Escherichia coli* enterocolítica (4).

2. Características bioquímicas y de cultivo

Los medios usados para el cultivo de *Escherichia coli* son medios de cultivo no diferenciales como el agar sangre de carnero y medios diferenciales como el agar MacConkey; la mayor parte de cepas de *Escherichia coli* fermenta la lactosa (5).

Se utilizan las siguientes pruebas bioquímicas para su identificación, sembrar en agar lisina hierro(LIA) alcalino/alcalino o alcalino/neutro (pico de flauta/fondo) producción de gas y no hay producción de H₂S o en agar triple azúcar (TSI) ácido/ácido o alcalino/ácido (pico de flauta/fondo) producción de gas y no hay producción de H₂S; la prueba de indol positiva en 99 % de los casos, prueba de rojo de metilo positiva, prueba de Voges Proskauer negativa , citrato de Simmons negativa, prueba de la ureasa negativa, prueba de lisina y ornitina descarboxilasa positiva (5).

3. Composición antigénica

La composición antigénica de *E. coli* es compleja, con más de 170 antígenos somáticos (O), 56 antígenos flagelares (H) y numerosos antígenos factores de superficie (K). La clasificación serológica de las cepas de *E. coli* resulta útil para los estudios epidemiológicos; se conocen algunos serotipos específicos asociados a una mayor virulencia, como el serotipo O157:H7 que produce por lo menos dos citotoxinas denominadas verotoxinas y que tienen un efecto citotóxico sobre cultivos celulares y que han sido asociados con tres síndromes humanos: diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (5).

4. Mecanismo de resistencia natural en *Escherichia coli*

Las enterobacterias son las bacterias más frecuentemente aisladas y presentan diferentes mecanismos de resistencia para evadir la acción de los antibióticos; entre ellos están, producción de enzimas inactivadoras de antibióticos, beta-lactamasas (incluyendo beta-lactamasas de espectro extendido o BLEE_s). Alteración de los sitios de acción del antibiótico, alteración de las proteínas de unión a la penicilina (PBP), (en las que no se da la unión del antibiótico a la bacteria, por lo que no puede pasar a su interior); mecanismos de bombeo hacia el exterior o bombas de e-flujo (7).

Las bacterias Gram negativo poseen en el cromosoma un gen (Amp C) que codifica una beta lactamasa más activa frente a cefalosporinas que frente a penicilina. Muchos bacilos Gram negativo poseen genes reguladores de la producción de esta beta lactamasa ampC, como *Escherichia coli*. En algunas oportunidades y por procesos de mutación, las bacterias se convierten en productoras de grandes cantidades de esta enzima, que aunque no es muy eficaz para destruir a los antibióticos beta-lactámicos, la producción puede aumentar provocando la resistencia, como se ha observado con *Enterobacter cloacae*. Existen también casos, como en *Escherichia coli* resistente a ampicilina, en los cuales la mayor producción de beta-lactamasa ampC es debida a modificaciones en la región cromosómica de ampC que le permiten una expresión genética más eficaz, aumentando la resistencia a los antibióticos beta-lactámicos (8).

La bacteria *Escherichia coli* presenta niveles insignificantes de AmpC, siendo este su mecanismo natural, estas enzimas pueden tener un papel en el ensamblaje de peptidoglicano o pueden haber evolucionado para defender a la bacteria de los agentes beta-lactámicos. La resistencia aparece sólo con agentes que no pueden penetrar en la bacteria fácilmente (9).

Las cepas que expresan niveles de AmpC insignificantes son altamente sensibles y sólo presentan resistencia a sulbactam y a trimetoprim sulfametoxasole (SXT) (9).

Las bacterias que presentan moderada producción de AmpC son resistentes a ampicilina sulbactam, cefalosporinas de primera generación, amikacina y nitrofurantoína; las cepas donde hay hiperproducción de AmpC presentan resistencia a ampicilina, sulbactam, tazobactam, cefalosporinas de primera generación, cefalosporinas de segunda generación, SXT y nitrofurantoína (10).

B. Betalactámicos

1. Definición

Los antibióticos beta-lactámicos son productos que se recetan frecuentemente y comparten una estructura y un mecanismo de acción común. Inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, en especial la formación de puentes cruzados entre las diversas capas de peptidoglucano, que brinda rigidez a la pared celular y protege del ingreso excesivo de agua a la bacteria. Este extremo ocurriría debido a la elevada concentración de solutos en estos microorganismos. La formación de puentes cruzados es efectuada por proteínas con acción de transpeptidasas, denominadas proteínas fijadoras de penicilinas (PFPs) (10,11).

Cuando los antibióticos beta-lactámicos son expuestos a enzimas del grupo de las beta-lactamasas, se convierten en inactivos, debido a destrucción (ruptura) del anillo beta lactámico (10,11).

Entre las clases importantes de estos productos están las penicilinas G y V que son muy activas contra cocos Gram positivo sensibles y poco activos contra bacterias Gram-negativo. Las cefalosporinas se clasifican por generaciones y son más estables que las penicilinas a muchas beta-lactamasas bacterianas; la primera (cefolatina, cefadrozil, cefalexina, cefapirina, cefadrina y cefazolina) incluye un compuesto con actividad contra microorganismos Gram positivo, pero moderada contra Gram negativo; la segunda (cefaclor, cefamandol, cefonicida, cefuroxima, cefprozil, cefotetán y cefmetazol) productos con actividad un poco mayor contra microorganismos Gram negativo y algunos medicamentos con efectos contra anaerobios; la tercera (cefoperazona, cefotaxima, ceftazidima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefixima, cefpodoxima, moxalactan) tiene compuestos con menor actividad contra microorganismos Gram positivo, pero posee acción intensa contra *Enterobacteriaceae*, y un subgrupo activo contra *Pseudomonas aeruginosa*.(12)

La cuarta (cefepima) tiene entre sus miembros, productos con un espectro semejante al de la tercera, pero una mayor estabilidad a la hidrólisis por beta-lactamasas (12,13).

2. Mecanismo de Acción

Las penicilinas, así como todos los antibióticos beta-lactámicos, inhiben el crecimiento bacteriano por interferir con un paso específico en la síntesis de la pared celular. En especial la formación de puentes cruzados entre las diversas capas de peptidoglucano, que normalmente brinda rigidez a la pared celular y protege a la membrana celular del ingreso de cantidades excesivas de agua a la bacteria (12,13).

La pared celular está compuesta por un polímero complejo entrecruzado, peptidoglucano (mureína, mucopéptido), consistente en polisacáridos y polipéptidos. Los polisacáridos contienen aminoazúcares alternados, N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. Un péptido de 5-aminoácidos se une al azúcar ácido N-acetilmurámico; este péptido termina en D-alanil-D-alanina. Las proteínas fijadoras de penicilinas (PFPs) catalizan la reacción transpeptidasa que remueve la terminal alanina para formar un enlace cruzado con un péptido contiguo, el cual proporciona a la célula su estructura rígida. Los antibióticos beta lactámicos son análogos estructurales del sustrato natural de D-ala-D-ala y se unen covalentemente a las PFPs en el sitio activo. Después que un antibiótico beta-lactámico se ha unido a la PFP, se inhibe la reacción de traspeptidasa, la síntesis de peptidoglucano se bloquea y la célula muere. El mecanismo exacto responsable de la muerte celular no es completamente entendido, pero las autolisinas, enzimas bacterias que remodelan y rompen la pared celular, están involucradas. Las penicilinas y las cefalosporinas son bactericidas solo si las células están activamente en crecimiento y sintetizando la pared celular (12,13).

C. Beta-Lactamasas

Las beta-lactamasas son una familia de enzimas cuya actividad es hidrolizar el enlace amida cíclico de la penicilina G y otros beta-lactámicos, inactivando al antibiótico. En la actualidad se conocen alrededor de 300 enzimas diferentes. La especificidad de la beta-lactamasa por un antibiótico beta-lactámico determinará la eficiencia con la cual la bacteria hidroliza al antibiótico (12-14).

Las TEM-1, TEM-2 y SHV-1 son beta-lactamasas mediadas por plásmidos predominantes en los bacilos Gram negativo y se clasifican en el grupo 2b de la clasificación de Bush.(12).

Su diseminación es consecuencia de la presión selectiva ejercida por la introducción de ampicilina, cabernicilina y las primeras cefalosporinas en los años sesenta (15-17).

Algunas beta-lactamasas como las sintetizadas por *Staphylococcus aureus* han permanecido estables por décadas y tienen un limitado espectro de actividad, hidrolizando a la penicilina G, pero no a las penicilinas semisintéticas (16).

En cambio, las beta-lactamasas sintetizadas por Gram negativo TEM-1 y SHV-1 codificadas en plásmidos y con un amplio espectro de actividad contra beta-lactámicos permanecieron estables por muchos años, pero a partir de los años ochenta aparecieron cepas bacterianas productoras de variantes de las enzimas anteriormente mencionadas, con capacidad para hidrolizar cefalosporinas de 3ª generación (ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima) y fueron llamadas beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs) (16,17).

D. Mecanismos de Resistencia Bacteriana a Penicilinas y Cefalosporinas

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 PFPs (8).

Todas las bacterias (o casi todas) contienen las proteínas fijadoras de penicilina (PFPs), pero los antibióticos beta-lactámicos no destruyen, ni siquiera inhiben a todas las bacterias, debido a que operan algunos mecanismos de resistencia de los microorganismos patógenos a tales medicamentos (8).

Los microorganismos pueden indicar resistencia intrínseca por diferencias estructurales en las PFPs, que son los objetivos o blancos de tales fármacos (8).

Otros casos de resistencia bacteriana a los antibióticos beta-lactámicos son causados por la incapacidad del compuesto para penetrar en su sitio de acción (espacio periplásmico), afinidad de la enzima al antibiótico y la cantidad de beta-lactamasas (14,15).

En bacterias Gram negativo, las beta-lactamasas aparecen en cantidades relativamente pequeñas, pero están situadas en el espacio periplásmico entre las membranas internas y externas de la bacteria. Las enzimas de la síntesis parietal se encuentran en la superficie externa de la membrana interna, razón por la que estas beta-lactamasas de bacterias Gram negativo son codificadas en los cromosomas por plásmidos y pueden ser de tipo constitutivo o inducibles. Los plásmidos son transferencias entre una y otra bacteria por conjugación; las enzimas en cuestión hidrolizan a las penicilinas, cefalosporinas o ambos fármacos (15,16).

La alteración en dos proteínas fijadoras de penicilinas (1A y 2X), al punto de que hay poca unión con las cefalosporinas. Las cefalosporinas de tercera generación son sensibles a hidrólisis por beta-lactamasas inducibles codificadas por cromosoma (tipo1); en cambio las cefalosporinas de 4a generación (cefepima o cefpirona) no son afectadas ya que estos antibióticos son más permeables y atraviesan rápidamente el espacio periplásmico donde están ubicadas las beta-lactamasas. Si estuviera afectada la permeabilidad de la membrana externa, estos antibióticos permanecerían más tiempo en el espacio periplásmico con la consecuente inactivación (17,18).

Las bacterias Gram negativo poseen en el cromosoma un gen (Amp C) que codifica para una beta-lactamasa más activa frente a cefalosporinas que frente a penicilinas; además, muchos bacilos gram negativo poseen genes reguladores de la producción de esta beta-lactamasa AmpC (17).

En algunas oportunidades y por procesos de mutación, las bacterias se convierten en productoras de grandes cantidades de la enzima, que aun cuando no es muy eficaz para destruir los beta-lactámicos, es tan grande la producción que al final aparece la resistencia (19).

En las bacterias Gram negativo las más importantes de estas beta-lactamasas ligadas a plásmidos son las TEM-1 y en menor grado la SHV-1 (en *K. pneumoniae*) y la PSE-1 (en *Pseudomonas aeruginosa*). Estas enzimas brindan resistencia a las bacterias Gram negativo frente a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación. Se ha descrito además la existencia de beta lactamasas de espectro extendido, ligadas a plásmido, especialmente en *Klebsiella pneumoniae*, que producen la inactivación de cefalosporinas de tercera generación y monobactamos (19).

Estas enzimas están relacionadas a TEM-1 y TEM-2 (16 enzimas) y a SHV-1 (4 enzimas), y en ellas sólo hay variación de uno a tres aminoácidos en relación a las beta-lactamasas originales TEM-1, TEM-2 y SHV-1(19).

Las beta-lactamasas de espectro extendido no destruyen a la cefoxitina y su actividad puede ser anulada combinando un beta-lactámico con un inhibidor de las beta-lactamasas, como ácido clavulánico o sulbactam. Existe una tercera clase de beta- lactamasas de espectro extendido, relacionada con la beta-lactamasa AmpC, que sí brinda resistencia frente a cefoxitina y no es inhibida por ácido clavulánico ni sulbactam. El imipenen no es afectado por ninguno de los tres tipos de beta lactamasas de espectro ampliado (20).

E. Beta-Lactamasas de Espectro Extendido

Estas beta-lactamasas son enzimas que se han originado en los genes que codifican las beta-lactamasas de amplio espectro TEM-1, TEM-2 o SHV-1 tras sufrir diversas mutaciones (18).

Estas mutaciones le confieren a la bacteria que produce estas enzimas, cierta resistencia a las oximino-cefalosporinas como cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona (cefalosporinas de 3^a generación), además de oximino-monobactam, y aztreonam, que fueron diseñados para resistir la actividad de las beta-lactamasas; pero estas enzimas no aportan resistencia a la acción de imipenem (19,20).

En 1988 se reportaron beta-lactamasas codificadas en plásmidos y su origen fue debido a la transferencia del gen cromosomal que codifica para la beta-lactamasas llamado AmpC a plásmidos. Las bacterias productoras de beta-lactamasas AmpC que más comúnmente se han aislado son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* y *Proteus mirabilis* (21,22).

Todas las BLEE tiene el mismo espectro de actividad y son inhibidas por el ácido clavulánico, pero las beta-lactamasas AmpC plasmídicas, son constitutivas en su expresión, es decir, las células bacterianas siempre las están sintetizando, a diferencia de las cromosomales, las cuales requieren inducción por la exposición previa a beta-lactámicos(22).

Además, los genes que codifican para las beta-lactamasas AmpC pueden ser transferidos a otras bacterias a través de la conjugación (23).

Las mutaciones en las beta-lactamasas, que son agrupados en el subgrupo 2be de la clasificación de Bush, tienen de uno a 4 sustituciones de aminoácidos comparado con las enzimas originales (23).

Estas sustituciones remodelan el lugar activo de la enzima aumentando el espectro de su actividad hidrolítica. El carbapenem, las cefamicinas y la temocilina permanecen estables (24).

Estas mutaciones en las diversas BLEE conocidas, no necesariamente les confiere capacidad para hidrolizar a los mismos sustratos, por ejemplo, TEM-7 hidroliza ceftazidima y cefotaxima con la misma efectividad, mientras que SHV-2 hidroliza a cefotaxima cerca de 10 veces más rápido que a ceftazidima; sin embargo, *in vitro* se observa que la concentración mínima inhibitoria para ceftazidima es mucho más alta debido a que este antibiótico tiene pobre penetración al espacio periplasmático bacteriano y, por tanto, tiene poco contacto con las beta-lactamasas (25).

La transferencia paciente a paciente de una cepa productora de la beta-lactamasa no explica totalmente la epidemiología de BLEE, y hay muchos casos donde la transferencia del plásmido codificante ha sido crítica para la diseminación de la resistencia (25).

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 ceftazidimasa con mayor actividad frente a ceftazidima que frente a otras cefalosporinas. Las ceftazidimasas dan una resistencia a ceftazidima, pero causan sólo una pequeña reducción en la sensibilidad a cefotaxima, ceftriaxona y ceftizoxime (26-28).

F. Aparición de las beta-lactamasas de espectro extendido

La presión ejercida por los antibióticos ha aumentado la resistencia de las bacterias a estos agentes (29).

En los años 80 se creó una nueva clase de antimicrobianos los oxímino cefalosporinas, para tratamientos de infecciones severas causadas por bacterias gram negativos, pero prontamente apareció resistencia a estos antimicrobianos y, debido a su amplio espectro de acción, se les llamó beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) (29).

El uso de cefalosporinas de amplio espectro es uno de los principales factores en la aparición de *Escherichia coli*, productoras de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE)(29).

Las BLEE, han aparecido como consecuencia de mutaciones puntuales en los genes de beta-lactamasas de menor espectro. Varios estudios experimentales han demostrado que estas mutaciones se seleccionan por concentraciones subinhibitorias de penicilinas y cefalosporinas. Se postula que el patrón de uso de beta-lactámicos en un entorno concreto, es la causa fundamental de la aparición de una u otra de las variantes de BLEE, existentes. Las BLEE, hidrolizan a las cefalosporinas de tercera y algunas de cuarta generación (11).

G. Epidemiología de las beta-lactamasas de espectro extendido

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 (18).

En Estados Unidos de Norteamérica, las enterobacterias con beta lactamasas de espectro extendido pueden variar de 0- 25 por ciento, con un promedio nacional del 3 por ciento, según información del Central Disease Control 1998(CDC). En Europa se ha encontrado hasta un 5 por ciento de cepas de *Escherichia coli* que tiene beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) (13,15,16).

Las beta-lactamasas se pueden adquirir ya sea por mutación o por medio de plásmidos . Las bacterias que poseen beta-lactamasas de espectro extendido son resistentes a los beta-lactámicos excepto a carbapenemes y cefoxitín, lo que reduce las opciones terapéuticas para los pacientes infectados por estas bacterias. (17, 20, 21-23).

Los antibióticos beta-lactámicos son los compuestos más ampliamente usados para tratar infecciones tanto adquiridas en el hospital como en la comunidad. Sin embargo, la resistencia a estos antibióticos se ha incrementado, limitando su eficacia en el tratamiento (24-26).

La resistencia a beta-lactámicos en enterobacterias es debida principalmente a la producción de beta-lactamasas codificadas cromosomalmente o en plásmidos. (27,28).

H. Detección de Beta-Lactamasas de Espectro Extendido

El laboratorio de microbiología es imprescindible en la detección de aislamientos de enterobacterias productoras de BLEE y de posibles brotes nosocomiales. La detección precoz de estas cepas es importante para instaurar el tratamiento adecuado y las medidas de aislamiento de los pacientes, necesarias para evitar la diseminación (11,17).

La acción hidrolítica de estas BLEE hace que en algunas ocasiones generen CMI (concentración mínima inhibitoria) más elevadas a ceftazidima que a cefotaxima y, en otras, ocurra lo contrario; por lo tanto, se debe determinar la susceptibilidad antibiótica con los dos antibióticos. Cuando se detecte la producción de BLEE se debe informar como resistente a cefalosporinas de tercera generación y monobactams para tomar las medidas epidemiológicas adecuadas y evitar que estos antibióticos se usen en el tratamiento (11,18).

1. Método para la confirmación de beta-lactamasas de espectro extendido

Realizar la confirmación de BLEE, midiendo los halos de los discos de antibióticos de cefalosporinas de 3ra Generación individual (CTX y CAZ) y los halos de los discos de la mezcla de los antibióticos con Ácido Clavulánico/CTX y ácido clavulánico/CAZ, se interpreta como producción de BLEE, con un aumento de 5 ó más mm, en el halo de inhibición de la cefalosporina combinada con clavulánico con respecto al halo de la cefalosporina sola (18).

2. Técnica de la doble difusión con discos.

Se realiza por difusión en agar utilizando una placa de Müller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana ajustada al patrón de 0,5 de la escala McFarland; sobre ella se colocan, discos con carga estándar (30 mg) de cefotaxima, ceftazidima, cefuroxima y aztreonam dispuestos a una distancia de 25-30 mm de discos de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 mg). Se considera sinergia positiva y, por tanto, presencia de una BLEE, cuando se observa una ampliación del halo de inhibición en alguna de las cefalosporinas o del aztreonam, debido a que el disco de amoxicilina/ac. clavulánico estimula la producción de beta lactamasas de espectro extendido en la bacteria (18).

3. Técnica de E-test

Son tiras comerciales de E-test especialmente diseñadas para la detección de cepas productoras de BLEE. El E-test es una tira de papel impregnada con antibióticos, la mitad consta de una concentración decreciente de ceftazidima desde 32 µg/mL hasta 0.5 µg/mL; la otra mitad de la tira contiene ceftazidima/ácido clavulánico (2:1) en concentraciones decrecientes desde 8 µg/mL hasta 0.12 µg/mL. Se considera positiva la sinergia con ácido clavulánico cuando se observa una disminución de dos o más diluciones de la CMI de ceftazidima cuando se le añade ácido clavulánico (18).

4. Técnica de la sinergia con inhibidores de las beta-lactamasas

Se puede detectar la presencia de una BLEE mediante la realización de una CMI por micro o macrodilución de cefalosporinas de tercera generación con y sin inhibidor (Ac.clavulánico) de beta-lactamasa. Se considera confirmatorio una disminución de la CIM en tres o más diluciones cuando se evalúa cefotaxima sola *versus* cefotaxima con ácido clavulánico o ceftazidima sola *versus* ceftazidima con ácido clavulánico (18).

5. El significado clínico de las beta-lactamasas de espectro extendido

El sustrato específico de las BLEE, incluye todas las penicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactames; las cepas con estas enzimas, frecuentemente, expresan también resistencia a otros grupos de antibióticos incluidos los aminoglucósidos. Los genes que codifican los genes de BLEE pueden residir en un plásmido conjugativo y, por lo tanto, se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia antimicrobiana múltiple (22).

Por otro lado, los problemas clínicos también son consecuencia de que las cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE, con frecuencia podrían parecer sensibles *in vitro* a los oximino beta-lactámicos (30).

Algunos microorganismos con BLEE, son aparentemente sensibles *in vitro*, sin embargo, las infecciones no se reducen por lo que hay acción de las BLEE, *in vivo*, debido a una producción constante de estas enzimas (BLEE) y las dosis de antibióticos indicadas no tienen efecto (31-32).

IV. JUSTIFICACIÓN

La resistencia a los antibióticos por parte de las bacterias va en aumento, lo cual restringe las opciones de tratamiento y lo más grave aún, es que no se toman las medidas de prevención y control necesarias.

Las beta-lactamasas son enzimas cuyo mecanismo consiste en romper el anillo beta-lactámico, esto produce ineffectividad de estos antibióticos ante las bacterias y reduce las opciones terapéuticas. *Escherichia coli* no posee este mecanismo en forma natural, pero puede adquirirlo por dos formas, ya sea por medio de plásmidos o por una mutación.

La bacteria *Escherichia coli* representa el 20 por ciento de las cepas encontradas en el Hospital General San Juan de Dios; si a ello se agrega la presión ejercida por los mismos antibióticos y el poco conocimiento acerca de la prevalencia de cepas de *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido puede derivar esa circunstancia en un grave problema dentro del citado nosocomio. Ya que las infecciones nosocomiales son muy frecuentes y una vez que estas bacterias llegan a infectar a pacientes de cuidados intensivos las opciones terapéuticas se reducen, por lo que la vida del paciente estaría en peligro.

El aporte que esta investigación brinda, se basa en establecer el porcentaje de *Escherichia coli* productoras de beta-lactamasas de amplio espectro, en pacientes que son atendidos en el laboratorio de microbiología del Hospital General San Juan de Dios.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Determinar la prevalencia de beta-lactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en el Hospital General San Juan de Dios.

B. Objetivos específicos

1. Determinar cual es el servicio más afectado dentro del Hospital General San Juan de Dios con cepas de *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido.
2. Determinar la frecuencia de las beta-lactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en las diferentes unidades, por el tipo de muestra y por género.
3. Determinar la resistencia asociada a otras familias de antibióticos no beta-láctamicos, cuando hay presencia de beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli*

VI. HIPOTESIS

Debido a que es un estudio descriptivo no se incluye hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de Trabajo

Aislamientos de *Escherichia coli* de la población atendida por el laboratorio de microbiología del hospital General Sal Juan de Dios, dentro del período de Enero a Junio del 2004.

1. Muestra

Se recolectaron 385 cepas de *Escherichia coli* aisladas en laboratorio clínico del Hospital General San Juan de Dios.

B. Recursos

1. Humanos

Br. Mauricio Mazariegos Barrios (tesista).

Lic. Jorge Matheu (asesor).

Lcda. Tamara Velásquez (asesora)

2. Institucionales

Hospital General San Juan de Dios, Laboratorio de Microbiología.

Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala

3. Materiales

Cajas de petri 100 x 15 mm descartables

Fósforos

Marcadores

Asa bacteriológica en argolla y en punta

Espátula

Pinzas

Gradillas

Guantes desechables

Hojas de papel bond

Tubos de ensayo

Erlenmeyer de 250 mL, 500 mL

Probeta de 10 mL, 100mL y 500mL

Hisopos estériles

Papel mayordomo

Hojas de papel bond tamaño carta

a. Reactivos y Medios de Cultivo

Agar Mueller-Hilton

Agar Tripticasa soya

Agua Destilada

Solución Salina

Estándar de McFarland 0.5

Discos de cefotaxima de 30 ug

Discos de ceftazidima de 30 ug

Discos de amoxicilina/ac clavulónico 20/10 ug

Discos de SXT 1.25/23.75 ug

Discos de amikacina 30 ug

Discos de ampicilina 10 ug

Discos de cefepime 30 ug
Discos de imipenen 10 ug
Discos de ciprofloxacina 5 ug
Discos de ceftriaxone 30 ug
Discos de gentamicina 10 ug
Discos de piperacilina 100 ug
Discos de cefalotina 30 ug

b. Equipo.

Incubadora a 35⁰C
Mechero Bunsen
Refrigeradora
Congelador a – 70⁰C
Nefelómetro
Balanza Analítica
Autoclave
Campana bacteriológica
Computadora e impresora

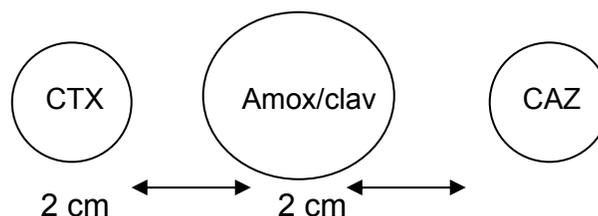
c. Procedimiento

Las muestras que se analizaron fueron todas aquellas en que se realizó cultivo microbiológico en el laboratorio clínico del HGSJDD y que se aisló *Escherichia coli*. Fueron identificadas por medio del sistema automatizado Microscan,[®] (Dade, Ca), asimismo el sistema de Microscan realizó el antibiograma, pero no confirmo BLEE. Se tomaron todos los cultivos en los que se aisló *Escherichia coli* y que presentaron multirresistencia, sin exclusión de la región anatómica de donde se obtuvieron, ni del servicio hospitalario al cual pertenecían. Se transportaron las cepas en tubos con agar tripticasa soya al 13 por ciento,

por medio de las tres barreras según IATA (international Air Transport Association) al Laboratorio Nacional de Salud, donde se confirmó la presencia de beta-lactamasas de espectro extendido por medio del método del triple disco, según el siguiente procedimiento:

1. Se sembraron las cepas presuntivas de BLEE en Agar Tripticasa Soya.
2. En solución salina se realizó una suspensión al 0.5 del Estándar de MacFarland de las cepas de *Escherichia coli*.
3. Se tomó un hisopo estéril y se introdujo en la suspensión bacteriana que se preparó en el paso anterior y se rotó el hisopo contra las paredes del tubo. Se sembró con él, en tres direcciones diferentes, en una caja de agar Muller Hinton.
4. Se dejó absorber por tres minutos
5. Se colocaron los discos de detección con una pinza a una distancia de 2 cm entre disco y disco, colocados en el siguiente orden (Figura 1):
 - a. Cefotaxima (CTX)
 - b. Acido Clavulánico/amoxicilina
 - c. Ceftazidima (CAZ)

Figura 1



Interpretación: Deformación del halo por la inhibición de la beta-lactamasa por parte del Ac. Clavulánico con amoxicilina y la consiguiente acción de la Cefalosporina de 3ra generación (CTX y CAZ).

6. Se realizó la confirmación de BLEE, con los discos de antibióticos de Cefalosporinas de 3ra Generación individual (CTX y CAZ) y la mezcla de los antibióticos con Ácido Clavulánico.

Interpretación: Se confirmó con la lectura de la mezcla de antibióticos (cefalosporina de 3era generación/ac.clavulánico) y con los discos de antibióticos Cefalosporinas de 3ra Generación encontrándose una diferencia de \geq de 5mm.

7. Se detectó resistencias acompañada a otros antibióticos como eritromicina, SXT, penicilinas, tetraciclinas, gentamicina, por el método de difusión en disco.

d. Diseño de Investigación

1. **Tipo de análisis:** Descriptivo
2. **Tipo de muestreo:** Por cuota (no probabilística, 385 muestras)
3. **Tipo de estudio:** Transversal
4. **Nivel de confianza:** 95%
5. **Varianza:** 0.25
6. **Límite de error:** 0.05
7. **Número de muestra:** 385

VIII. RESULTADOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal en el cual se tomaron 385 aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de los pacientes del hospital General San Juan de Dios. Se determinó la prevalencia de *Escherichia coli* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE).

En la gráfica 1 se observa el número de aislamientos de *Escherichia coli* en los diferentes servicios del Hospital General San Juan de Dios de los cuales un 5% presentó β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

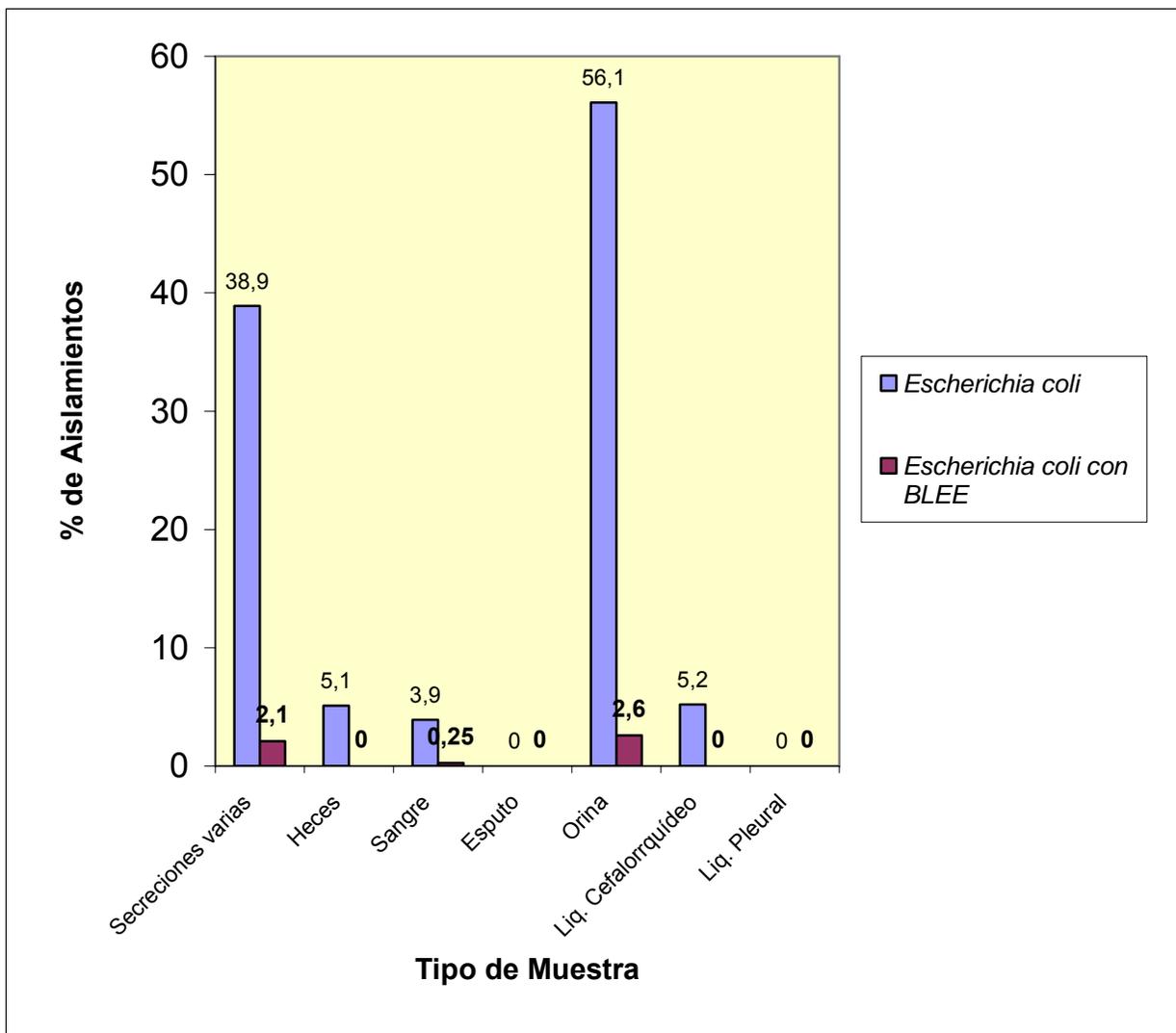
Gráfica 1
Porcentaje de aislamientos de *E. coli* productoras de BLEE



Fuente: datos experimentales

Las muestras donde se aislaron las cepas de *Escherichia coli* con BLEE con mayor frecuencia, fueron 10 aislamientos en orinas (2.6%), seguida de las distintas secreciones, 8 aislamientos (2.1%); el resto de la distribución de las diferentes localizaciones anatómicas se puede observar en forma detallada en la gráfica 2.

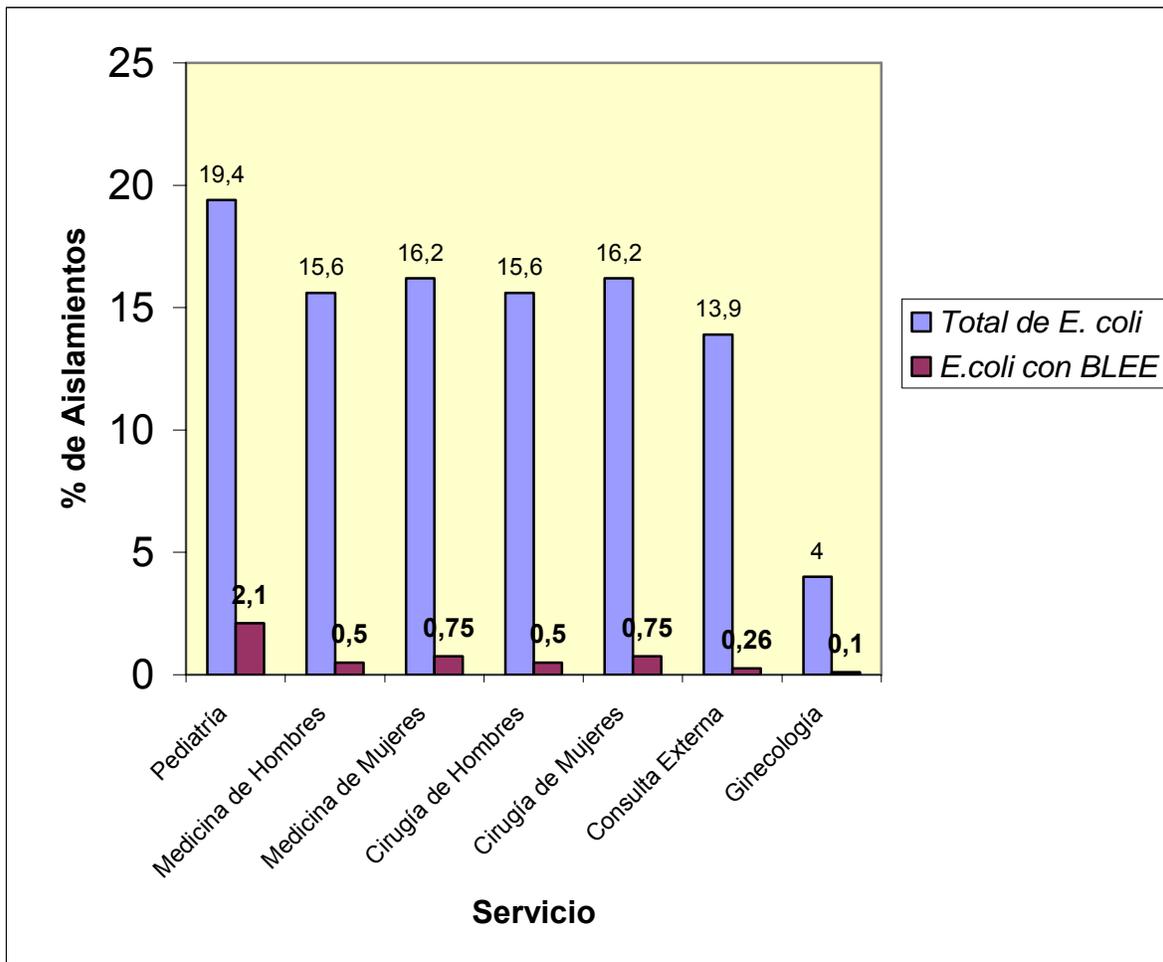
Gráfica 2
Porcentaje de *Escherichia coli* productoras y no productoras de BLEE por tipo de muestra



Fuente: datos experimentales

Como se observa en la gráfica 3; de las distintas salas analizadas, es de importancia que las cepas de *Escherichia coli* con BLEE se concentran mayormente en pediatría con 8 aislamientos (2.1%), medicina de mujeres 3 aislamientos (0.8%) y cirugía de mujeres 3 aislamientos (0.8%).

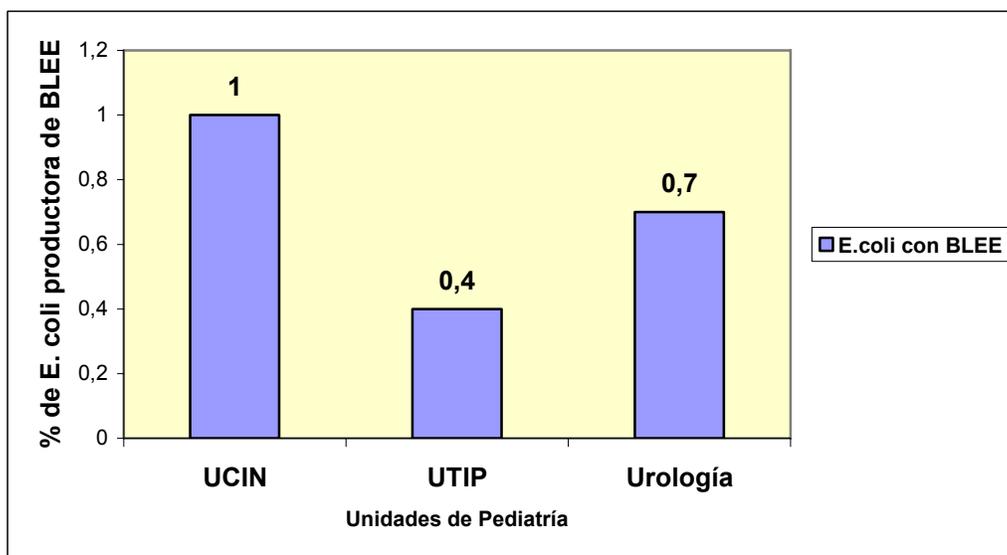
Gráfica 3
Porcentaje de *Escherichia coli* productoras y no productoras de BLEE por servicio



Fuente: Datos experimentales

La gráfica 4 muestra la distribución de las cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE dentro del servicio de pediatría, siendo UCIP (unidad de cuidados intensivos de la pediatría) donde se concentró mayormente 4 aislamientos (1%).

Gráfica 4
Porcentaje de *Escherichia coli* productora de BLEE en Pediatría

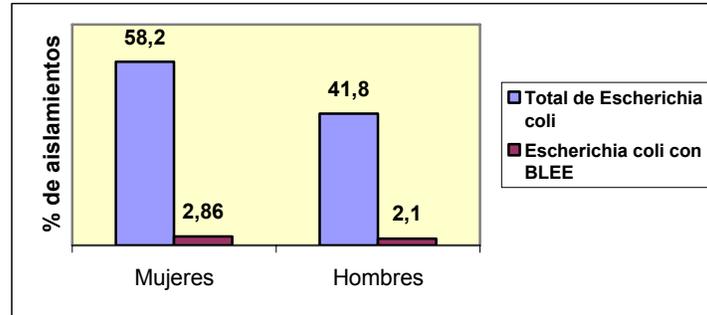


Abreviaturas UCIN = unidades de cuidados intensivos de pediatría
UTIP = Unidad de terapia intermedia de la pediatría

Fuente: Datos Experimentales

De las cepa productoras de β -lactamasas de espectro extendido, 11 aislamientos corresponde al sexo femenino (2.86%) y 8 aislamientos al sexo masculino (2.1%), como se presenta en la gráfica 5.

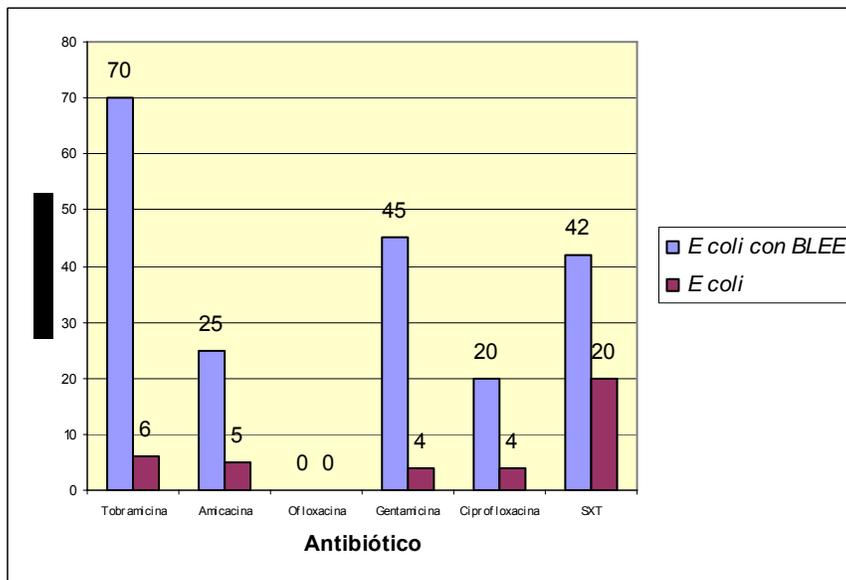
Gráfica 5
Porcentaje de *Escherichia coli* productoras y no productoras de BLEE por género



Fuente: datos experimentales

La gráfica 6 muestra el patrón de resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE a los antibióticos no β -lactámicos y se observa que 13 aislamientos (70%) fueron resistentes a tobramicina, 8 aislamientos gentamicina-resistentes (42%), 9 aislamientos fueron resistentes (45%) trimetoprim sulfametoxasole.

Gráfica 6
Porcentaje de resistencia a no β -lactámicos



Fuente: datos experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El impacto que muestra la resistencia antimicrobiana hoy en día, es de niveles alarmantes y constituye uno de los problemas de carácter emergente a nivel de salud pública. Conocer los niveles de resistencia de las distintas bacterias dentro de los centros hospitalarios es ahora una necesidad, debido a la alta morbi-mortalidad que conlleva la resistencia antimicrobiana; además, los costos aumentan y esto debe poner en estado de alerta a las instituciones hospitalarias ante un posible colapso. La bacteria *Escherichia coli* es de las enterobacterias que más comúnmente se encuentran en los hospitales el conocer su presencia y su perfil de resistencia antibiótica dentro de los centros nosocomiales ayuda en el control y prevención de este problema creciente.

Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas especializadas ya que inactivan no sólo sustratos penicilínicos, sino también a todas las cefalosporinas de primera, segunda, tercera, cuarta generación y aztreonam. Lo anterior implica la disminución de opciones terapéuticas, lo que conlleva al uso de medicamentos mucho más potentes respecto de los que se tienen a disposición actualmente; esto trae como consecuencia el incremento en el costo del tratamiento, predispone a las bacterias para crear variantes de resistencia y agrava de esa forma el problema que ha motivado este estudio (33).

La importancia de identificación de BLEE en las bacterias, radica en que muchas veces trae corresponsencia a otras familias bacterianas, debido al intercambio de material genético por medio de plásmidos, lo cual hace que se transfieran los mecanismos de resistencia expandiendo a una mayor escala el problema creciente de resistencia bacteriana (34).

Como se observa en la gráfica 1, fueron aisladas 385 cepas de *Escherichia coli*, de las cuales el 5 % presentó el mecanismo de resistencia BLEE (β -lactamasas de espectro extendido). Debido a que *E. coli*, es una de las bacterias que más se aíslan en este centro asistencial, puede encontrarse frecuentemente en salas de cuidados intensivos, y por la forma de propagación del mecanismo de resistencia, el porcentaje de cepas de *Escherichia coli* con BLEE podría aumentar y agravar dicha situación (35).

En la gráfica 2, se observa la distribución de *Escherichia coli* por el tipo de muestra analizado; y se visualiza que hay una mayor cantidad de estas bacterias en las muestras de orina, seguido por las de secreciones varias y las de sangre, que son las tres más importantes, ya que en éstas se concentra la mayor cantidad de muestras. El resultado es normal que se presente, debido a la misma naturaleza de las *Escherichia coli*, ya que tienen una mayor tendencia a causar infecciones en las vías urinarias de las personas. Se recomienda investigar si las cepas aisladas en las muestras de orina son de tipo nosocomial o de la comunidad, para así poder ejercer control y establecer el protocolo para el manejo de los pacientes ambulatorios. En segundo lugar encontramos las secreciones, esto puede deberse a que *Escherichia coli* infecta fácilmente a personas que están cateterizadas, que sufren quemaduras o heridas operatorias; condiciones que son ideales para la propagación del mecanismo de resistencia.

Es de gran importancia hacer esta comparación debido a la distribución presentada en la gráfica 2, ya que estos datos permitirán determinar con mayor probabilidad el tipo de muestras con cepas de *Escherichia coli* con BLEE. Lo anterior, no es motivo para descuidar la fuente del resto de muestras; ya que aunque poco frecuente, *Escherichia coli* puede presentar cepas con multiresistencia.

La distribución de las cepas de *Escherichia coli* con BLEE por servicio se presenta en la gráfica 3, indicando el porcentaje de aislamientos de ésta en cada uno de los servicios del hospital. Debe resaltarse el servicio de pediatría, en el cual se obtuvo la mayor cantidad de aislamientos y consecuentemente una elevada resistencia por parte de cepas con BLEE. Esto probablemente se debe a que el hospital General San Juan de Dios es de referencia para el servicio de pediatría.

Como se puede observar en la gráfica 3, la mayoría de servicios presentan cepas de *Escherichia coli* con BLEE; sin embargo son niveles de resistencia antimicrobiana inferiores a los encontrados en la sala pediatría, debido a que este servicio está totalmente separado de los demás; sin embargo la diseminación, de estas cepas ha abarcado la mayoría de los servicios. En la consulta externa se encontró un paciente que ha sido afectado por este tipo de cepas resistentes, lo que se puede interpretar como una voz de alerta para el comité de vigilancia epidemiológica del hospital, que debe darle seguimiento a este tipo de casos. Esto serviría, en primer lugar, para descartar si esta persona adquirió la bacteria dentro del hospital; en segundo, para saber si se trata de una cepa adquirida en otro centro asistencial o bien de una cepa multirresistente que se ha propagado dentro de la población.

En el servicio de pediatría se puede observar (gráfica 4) la distribución de las cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE. En la UCIN (unidad de cuidados intensivos de neonatos) fue donde se encontró un mayor porcentaje de dichas cepas, en esta unidad se encuentran pacientes cateterizados, con pérdida de la conciencia, factores que pueden predisponerlos a adquirir una infección.

Se encontró una mayor cantidad de aislamientos de bacterias en mujeres que en los hombres, como se puede apreciar en la gráfica 5. Este resultado es normal debido a la propensión por parte de las mujeres a adquirir infecciones urinarias, por las diferencias anatómicas como por ejemplo, longitud de la uretra,

que favorece la infección por vía ascendente y a que *Escherichia coli* es la principal causante de dichas infecciones. La mayoría de cepas de *Escherichia coli* que presentan BLEE se encuentra en mujeres.

La resistencia bacteriana hacia antibióticos no beta-lactámicos se presenta en la gráfica 6, se aprecia que el nivel más alto de resistencia por parte de *Escherichia coli* con BLEE está dirigida hacia dos familias de antibióticos: los aminoglucósidos (Gentamicina, Amikacina y Tobramicina) y el Trimetroprim sulfametoxazol. Entre los aminoglucósidos el que presenta una mayor resistencia es tobramicina seguida de gentamicina y por último la amikacina. Esto quiere decir que *Escherichia coli* ha estado en mayor contacto con los aminoglucósidos dentro del centro hospitalario, por lo cual se han incrementado los niveles de resistencia hacia estos antibióticos es de notar que la gentamicina es el segundo antibiótico de la familia de los aminoglucósidos con mayor porcentaje de resistencia. Esto es indicador del uso frecuente de este fármaco dentro del centro asistencial en estudio. Trimetroprim sulfametoxazole es otro antibiótico que presenta una resistencia por parte de *Escherichia coli*.

Las quinolonas (Ciprofloxacina) son los antibióticos que presentan niveles de resistencia más bajos por parte de *Escherichia coli* con BLEE. En la gráfica 6 se observa los niveles de resistencia entre las cepas de *Escherichia coli* con BLEE y *Escherichia coli*. Se puede decir que cuando hay cepas que presenta BLEE como mecanismo de resistencia, la familia de los aminoglucósidos son los más afectados por éstas enzimas, debido a que las bacterias han adquirido esta resistencia por el contacto frecuente a estos antibióticos o por la transferencia por medio de plásmidos de otras familias de enterobacterias.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de *Escherichia coli* con β -lactamasas de espectro extendido, en el Hospital General San Juan de Dios corresponde al 5 %.
2. La Pediatría es el servicio hospitalario con los mayores niveles de resistencia, por parte de *Escherichia coli* con β -lactamasas de espectro extendido
3. La orina es el tipo de muestra donde se aisló con mayor frecuencia *Escherichia coli* con β -lactamasas de espectro extendido.
4. La presencia de *Escherichia coli* con β -lactamasas de espectro extendido está distribuida en todas las áreas del centro asistencial en estudio.
5. Los aminoglucósidos son los antibióticos no betalactámicos que se ven más afectados cuando hay presencia de β -lactamasas de espectro extendido.

XI. RECOMENDACIONES

1. Promover y facilitar estudios que permitan la identificación de los diferentes mecanismos de resistencia que presentan las enterobacterias, para lograr un mejor control de multirresistencia bacteriana.
2. Establecer un programa de vigilancia epidemiológico que controle este tipo de situaciones, coordinado juntamente con el laboratorio, el comité de vigilancia epidemiológico y el comité de infecciones nosocomiales.
3. Implementar un programa por medio del cual se difunda y se instruya al personal de salud, acerca de la importancia que tiene la resistencia causada por las β -lactamasas y poder utilizar las herramientas que se tienen para evitar la creciente propagación de éstas.
4. Implementar la detección de beta-lactamasas de espectro extendido en el laboratorio, para utilizarla como una herramienta para controlar la multirresistencia bacteriana.

XII. REFERENCIAS

1. Chirinos , J. Los Mecanismos de La Resistencia Microbiana. Revista Medica del CIEM. Disponible en URL: <http://www.ucsm.edu.pe/ciemucsm/home.htm>
2. Microbiología Clínica En La www. Disponible en URL: <http://microbiologiaclinica.Com/beta-lactamasas2.htm>. (Septiembre 2003)
3. Informe Anual Regional de los países participantes en la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos 2002. Disponible en URL: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/amr-santa-cruz.htm>
4. Murray N. *et al.* Microbiología Médica. 1era Edición. Editorial Mosby. México. 1995. pag 800.
5. Koneman E. *et al.* Diagnóstico Microbiológico. 3era Edición. Editorial Panamericana. Argentina. 1992. Pág. 400.
6. Perez, J. Beta-Lactamasa Plasmídica de Espectro Ampliado. Experiencias Del Programa De Control De Calidad: Dos Años Después. Boletín de Control de Calidad SEIMC 1999. Disponible en URL: http://www.seimc.org/control/revi_bacter/kpbca.htm
7. Yoklik, W. *et al.* Zinsser Microbiología. 20a Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1997. Pág. 1696.
8. Navarro-Navarro M, Bolado-Martínez Enriquez. Beta-Lactamasa de Espectro Extendido. Boletín Clínico Hospital General del Estado, en Hermosillo, Sonora, México. Disponible en: <http://actamedicasonora.com/beta-lactamasa.htm>
9. Tisaire Ardanuy . Beta-Lactamasas Plasmídicas de Expectro Ampliado. Boletín de Control de Calidad SEIMC 1997; 9(1):11-18. Disponible en URL: http://www.seimc.org/control/revi_bacter/kpbca.htm
10. Bouthors H. *et al.* Role of Residues 104, 106,166, 238 and 240 in the substrate profile of PER-1 β -lactamasas hidrolislin third-generation cephalosporins. Biochem J.1998. 330:1443-1449.
11. Pai, P . *et al.* Survey of Extended-Spectrum b-Lactamases in Clinical Isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Prevalence of TEM-52 in Korea. Journal of Clinical Microbiology. 1999. 37(6):1758–1763.
12. Yan S. *et al.* Dissemination of CTX-M-3 and CMY-2 β -lactamasas among Clinical Islotes of *Escherichia coli* in Southern Taiwan . Journal of Clinical Microbiology. 2000. 38(12):4320.

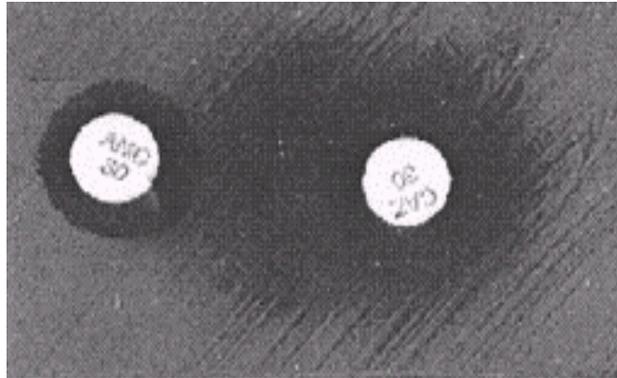
13. Fluit M. *et al.* Molecular Detection of Antimicrobial Resistance Clinical Microbiology Reviews. 2001. 14(4):836-862.
14. Pitout, H. *et al.* Beta-lactamases Responsible for Resistance to Expanded-Spectrum Cephalosporins in *K pneumoniae* *E coli* *P mirabilis* Isolates in South Africa. Journal Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1998. 42(6):1350-1351.
15. Wommer, S. *et al.* Wommer Substrate-activated Zinc Binding of Metallo- β -lactamases. The Journal de Biological Chemistry Papers in Press. 2002. 277(27):24142.
16. Nanninga, S. *et al.* Morphogenesis of *Escherichia coli*. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 62(1) :111- 125.1998.
17. Valulenko P. *et al.* Effects on Substrate Profile by Mutational Substitutions at Positions 164 and 179 of the Class A TEM β -Lactamase from *Escherichia coli*. The Journal de Biological Chemistry. 274(33):23052-23060.1999.
18. Livermore, D. *et al.* β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. Clinical Microbiology Reviews American Society for Microbiology. 1995. 8(4):557-584.
19. Pujol F. *et al.* El significado clínico de las beta-lactamasas de espectro extendido. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica. 21(2):69-71. 2003.
20. Goffin, C. *et al.* Multimodular Penicillin-Binding Proteins: An Enigmatic Family of Orthologs and Paralogs. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 62(4):1079–1093.1998.
21. <http://www.who.int/entity/csr/drugresist/surveillance/en&prev=/search%3Fq%3Dantimicrobial%2Bsurveillance%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26oe%3DUTF-8%26sa%3D>
22. Fletcher H. *et al.* Epidemiología Clínica Aspectos Fundamentales. 2da Edición. Editorial Masson. España.1998. Pág 4.
23. Teshager, T. *et al.* Surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from pigs at Spanish slaughterhouses. Int J Antimicrob Agents. 2000. 15(2):137-42.
24. Oteo J. *et al.* Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. J Antimicrob Chemother 2002. 50(6):945-52.

25. Bell JM. *et al.* Prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002. 42(3):193-8.
26. Iqbal M. *et al.* Susceptibility patterns of *Escherichia coli*: prevalence of multidrug-resistant isolates and extended spectrum beta-lactamase phenotype. *J Pak Med Assoc.* 2002. 52(9):407-11.
27. MacFaddin J. *et al.* Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. 3 era. Edición. Editorial Panamericana. 2003. Argentina. pag. 237.
28. Pujol. *et al.* El significado clínico de las beta-lactamasas de espectro Extendido. *Enfermedades Infecciosas Microbiología. Clínica* 2003. 21(2):69-71.
29. Spanu T. *et al.* Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob Agents Chemoter.* 2002. 46(1):196-202.
30. Sader HS. *et al.* Antimicrobial susceptibility of bacteria causing urinary tract infections in Latin American hospitals. results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Clin Microbiol Infect* 1999. 5(8):478-487.
31. Henry J B. *et al.* El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 20ª Edición. Editorial Marbán. España. 2005. Pags 1121-1129.
32. Sader HS. *et al.* Prevalence of important pathogens and the antimicrobial activity of parenteral drugs at numerous medical centers in the United States. II. Study of the intra- and interlaboratory dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1994. 20(4):203-8.
33. Tonkic M. Prevalence and Antimicrobial Resistance of Extended-β-Lactamases-producing. 2005 Disponible en URL <http://www.in.Microbios.org>.
34. Oliver A. Enterobacterias Productoras de β-lactamasas Plasmídicas de Espectro Extendido. 2002. Disponible en URL <http://www.microbiologia.com.ch>.
35. Sader H. Resistencia Antimicrobiana en Latinoamérica 2002. Disponible en URL. <http://www.microbiologia.com.ch>.
36. Koneman W. *et al.* Diagnóstico Microbiológico. 5ta. Edición Editorial Panamericana. Argentina. 1999. Pags. 776-778.

XIII. ANEXOS

Anexo 1

Test del doble disco



Disco de la izquierda Amoxicilina/ac. Clavulánico.

Disco de la derecha cefalosporina de tercera generación

* Tomado de Livermore, D. *et al.* β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. Clinical Microbiology Reviews American Society for Microbiology. 1995.

Anexo 2
Clasificación de Beta-lactamasas según Bus*

Grupo	Clase Molecular	Sustrato de Preferencia	Inhibición por el ac. clavulánico	Inhibición por EDTA	Enzimas representativas
1	C	Cefalosporinas	-	-	Enzimas Ampc de Gran negativos MRI-1
2 ^a	A	Penicilinas	+	-	Penicilinas de Gram positivos
2b	A	Penicilinas y Cefalosporinas	+	-	TEM-1, TEM-26, SHV-1
2be	A	Penicilinas, Cefalosporinas de espectro extendido y monobactames	+	-	TEM-3 a TEM-26 SHV-2 a SHV-6 K-1
2br	A	Penicilinas	+/-	-	TEM-30 a TEM-36 TRC-1
2c	A	Penicilinas y carbenicilinas	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Penicilinas y Cloxacilinas	+/-	-	OXA-1 a Oxa 11, PSE-2
2e	A	Cefalosporinas	+	-	Cefalosporinas de <i>P. vulgaricus</i>
2f	A	Penicilinas, Cefalosporinas y Carbapenems	+	-	MNC-A de <i>E. Cloacae</i> , Sme-1 de <i>S. marcescens</i>
3	B	La mayoría de β -lactamasas incluyendo Carbapenems	-	+	L-1 de <i>S. maltophilia</i> CcrA de <i>B. fragilis</i>

* Tomado de Tomado de Livermore, D. *et al.* β -Lactamasas in Laboratory and Clinical Resistance. Clinical Microbiology Reviews American Society for Microbiology. 1995.

Mauricio Mazariegos Barrios
Tesisista

Lic. Jorge Matheu
Asesor

Licda. Tamara Velásquez
Asesora

Licda. Karla Lange
Revisora

Msc. Vivian Matta
Revisora

Msc. Vivian Matta
Directora de Escuela

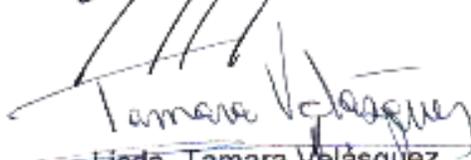
Oscar Cobar Pinto, Ph.D.
Decano



Mauricio Mazariégos Barrios
Tesisista



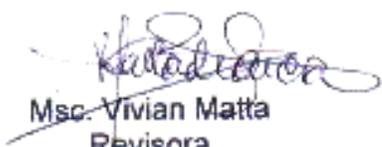
Lic. Jorge Matheu
Asesor



Licda. Tamara Velásquez
Asesora



Licda. Karla Lange
Revisora



Msc. Vivian Matta
Revisora



Msc. Vivian Matta
Directora de Escuela



Oscar Cobar Pinto, Ph.D.
Decano