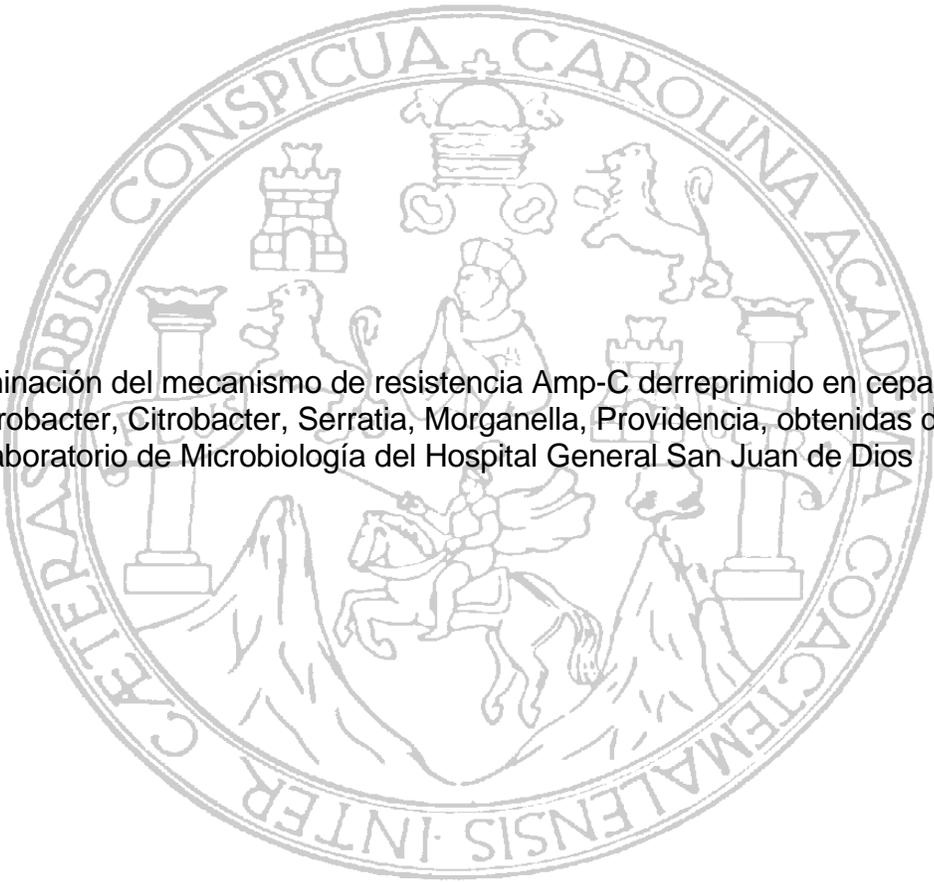


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Determinación del mecanismo de resistencia Amp-C derreprimido en cepas de Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Morganella, Providencia, obtenidas del laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios

Luis Fernando Espinoza Pérez

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, mayo de 2007

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

Determinación del mecanismo de resistencia Amp-C derreprimido en cepas de  
Enterobacte, Citrobacter, Serratia, Morganella, Providencia, obtenidas del  
laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios

Informe de Tesis

Presentado por

Luis Fernando Espinoza Pérez

Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, mayo de 2007

## JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda, Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Ángel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

## ACTO QUE DEDICO

A Dios por estar conmigo en todo momento y darme la fortaleza necesaria para seguir adelante.

A mi madre por el amor, cariño, dedicación, esfuerzo, ternura y educación que me ha dado, además de sus enseñanzas para imponerme ante los tropiezos de la vida.

A Mami y Pa por sus sabias enseñanzas dadas con amor y cariño.

A mi familia por haber depositado confianza en mí.

A los que ya no están entre nosotros pero dejaron una huella y una luz para seguir el camino correcto.

A mis amigos, Carlos, Rubén, Luis, Rodrigo, Gabriela, Rudolf, Vivian, y de forma muy especial a Karlita por su apoyo incondicional y por los gratos momentos vividos en la universidad. Alejandro y Marvin por estar siempre en los buenos y malos momentos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Lic. Jorge Matheu y la Licda. Kenia Caballeros por su ayuda y orientación en el desarrollo de la investigación.

A las Licenciadas Vivian Matta y Karla Lange por su valiosa asesoría.

Al personal del laboratorio del Hospital General San Juan de Dios, principalmente al personal técnico del área de Microbiología a quienes agradezco su colaboración y en cuyos laboratorios se efectuó la presente investigación.

Al Laboratorio Nacional de Salud por haber brindado el material necesario para realización de la investigación.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, institución a la que agradezco mi formación profesional y mi *alma mater*.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, sus autoridades, personal docente y administrativo, y especial al departamento de Microbiología por todos los conocimientos recibidos y por la confianza depositada en mí.

## INDICE

I.	RESUMEN	2
II.	INTRODUCCIÓN	4
III.	ANTECEDENTES	5
A	La quimioterapia y la resistencia a través de los tiempos	5
B	Resistencia natural y resistencia adquirida	8
C	Mecanismos bioquímicos de resistencia a antimicrobianos	10
D	Mecanismos de acción de la $\beta$ -lactamasa sobre el anillo $\beta$ -lactámico	15
E	Clasificación de las $\beta$ -lactamasas	15
F	Mecanismo resistencia AmpC inducible	16
G	Mecanismo AmpC derreprimido	17
IV.	JUSTIFICACIÓN	20
V.	OBJETIVOS	21
VI.	HIPOTESIS	22
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	23
VIII.	RESULTADOS	27
IX.	DISCUSIÓN	34
X.	CONCLUSIONES	39
XI.	RECOMENDACIONES	40
XII.	REFERENCIAS	41
XIII.	ANEXOS	45

## I. RESUMEN

El mecanismo Amp C derreprimido es un tipo de mecanismo de resistencia que le provee a *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia* y *Serratia*, resistencia hacia penicilinas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación.

Estos géneros pueden llegar a encontrarse por selección natural durante terapias con inductores débiles como lo son cefalosporinas de segunda y tercera generación, así como aztreonam.

Para este estudio se determinó el mecanismo Amp C derreprimido en 83 aislamientos de pacientes provenientes de distintas salas del hospital General San Juan de Dios, obtenidas por el laboratorio de microbiología de esta institución por un periodo de 6 meses, y luego se llevaron hacia el laboratorio nacional de salud para hacerles pruebas que evidenciaran el mecanismo Amp C derreprimido por metodología Kirby-Bauer.

Se encontró que el género más frecuente en el estudio fue el de *Enterobacter* con 21 aislamientos y el microorganismo que representó la mayor cantidad de aislamientos con mecanismo Amp C derreprimido, fue *Enterobacter cloacae* (19 aislamientos) seguido por *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes* (5 y 2 respectivamente).

En lo que respecta a las salas, se encontraron más aislamientos con este tipo de resistencia en la Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría (UTIP), Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatología (UCIN), y la sala de medicina de hombres (unidad XV).

Los microorganismos que presentaron este tipo de mecanismo de resistencia provenían de distintos tipos de muestras, principalmente de hemocultivo y secreciones varias.

Algunos aislamientos recolectados poseían, además del mecanismo Amp C derreprimido,  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), lo que proporciona una mayor resistencia a estos microorganismos, debido a que provee resistencia hacia todos los  $\beta$ -

lactámicos, presentándose o no en el antibiograma esta resistencia, dándose el caso de cometer un error al reportar el antibiótico como susceptible *in vitro*, siendo posible de que *in vivo* pueda ser resistente. El mecanismo BLEE se dio principalmente en el género *Enterobacter*, y solo en la especie *cloacae*.

Los géneros *Serratia*, *Morganella* y *Providencia*, no presentaron mecanismo Amp C derreprimido, aunque si presentaron mecanismo BLEE de resistencia, lo que les confiere mayor resistencia que la proporcionada solo por el mecanismo Amp C derreprimido.

Por lo tanto *Enterobacter cloacae* es el microorganismo que más presenta mecanismo de resistencia Amp C derreprimido de los 5 géneros estudiados y los servicios del Hospital General San Juan de Dios que más presentan microorganismos con mecanismo Amp C derreprimido fueron la Unidad de Terapia Intensiva (UTIP), la unidad de cuidados intensivos de neonatología (UCIN) y la Unidad de Medicina de Hombres XV.

## II. INTRODUCCIÓN

Durante la historia de la terapéutica con antibióticos se ha observado que los microorganismos pueden llegar a producir resistencia como defensa, por medio de distintos mecanismos. Uno de estos mecanismos es el de AmpC cromosómico inducible. Este gen es el encargado de producir una  $\beta$ -lactamasa.

El gen AmpD es el encargado de regular los niveles de peptidoglucanos provenientes del reciclaje normal de la pared, cuando estos niveles de peptidoglucanos se elevan a causa de la acción de un  $\beta$ -lactámico, comienza AmpD a no darse abasto. Cuando esto ocurre, provoca que AmpR deje de reprimir e induce a la codificación de AmpC para que se produzca una  $\beta$ -lactamasa que neutralice el antibiótico  $\beta$ -lactámico. Luego de una exposición prolongada esta derrepresión permanece constante aunque se le retire el antibiótico a la bacteria, a esto se le llama mecanismo AmpC derreprimido (1).

Este mecanismo puede quedarse derreprimido por medio de la estimulación de ciertas cefalosporinas de tercera generación, lo cual provoca que la bacteria produzca  $\beta$ -lactamasa constantemente y puede transmitirlo por medio de plásmidos a otras bacterias, lo cual puede desencadenar un problema nosocomial por resistencia. Las bacterias que se han descubierto que presentan este tipo de mecanismo Amp C derreprimido son del género *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Providencia* y *Serratia*.

Esta investigación consistió en determinar el mecanismo Amp C derreprimido en 5 especies de bacterias provenientes de muestras del laboratorio de microbiología del Hospital General San Juan de Dios recolectadas por un período de seis meses, identificando la sala de procedencia de la muestra y el origen de la de muestra donde se encuentra con mayor frecuencia.

### III. ANTECEDENTES

#### A La quimioterapia y la resistencia a través de los tiempos

El uso de agentes farmacológicos en el tratamiento de infecciones comienza cuando hace más de 2,500 años los chinos, utilizaron la cáscara enmohecida de soja en el tratamiento de carbuncos, forúnculos e infecciones similares (2).

En 1495 ya se utilizaban sales de mercurio para tratar la sífilis, aunque este tratamiento hizo famoso el dicho en latín: *Graviora quaedum sunt remedia periculus*, es decir "Es peor el remedio que la enfermedad" ya que determinados tratamientos, como es el caso del mercurio, son tóxicos para las células animales y humanas (3).

Para que un agente quimioterápico sea efectivo en el tratamiento de una enfermedad infecciosa no sólo debe de matar o inhibir al microorganismo causante de la infección sino que además debe ser relativamente inocuo para las células humanas al exhibir toxicidad selectiva. El primer gran descubrimiento en este sentido fue hecho por Paul Ehrlich a principios del siglo XX. Era un médico alemán que creía que era posible obtener un compuesto químico que pudiera curar específicamente la sífilis sin dañar al paciente. El conocía que el arsénico inhibía al microorganismo causante de la sífilis (*Treponema pallidum*) pero que también era tóxico para las células humanas. Ehrlich trabajó en la idea de que el arsénico podía incorporarse dentro de compuestos orgánicos de tal manera que perdiera su toxicidad para las células humanas manteniendo sus propiedades antimicrobianas. Después de ensayar 605 sustancias con estas características encontró un compuesto, el 606, que cumplía estos requisitos. A esta sustancia la llamó Salvarsan y fue el primer compuesto químico sintetizado en laboratorio que podía curar una enfermedad sin ser tóxico para el paciente. Gracias a este descubrimiento le concedieron el premio Nobel en 1908. Hoy en día ya no se utiliza salvarsan para tratar la sífilis ya que fue reemplazado por un producto mucho

más efectivo, el antibiótico penicilina (3,4).

En 1928 el microbiólogo inglés Alexander Fleming observó que en una placa de agar inoculada con *Staphylococcus aureus* que estaba contaminada con el hongo *Penicillium notatum*, las colonias de *Staphylococcus* eran destruidas por alguna actividad de las colonias del hongo. A partir de este hongo realizó la extracción de un compuesto que era el responsable del efecto inhibitorio al que llamó Penicilina. Si bien Fleming reconoció el enorme potencial terapéutico de la penicilina, encontró serios problemas para aislarla y purificarla (2,5).

Hasta 1935 no se realizó ningún nuevo avance en quimioterapia. En ese año Gerhard Domagk trabajando en Bayer, realizó un descubrimiento importante. Después de llevar a cabo experimentos con más de 1000 colorantes sintéticos para comprobar si alguno de ellos podía curar las infecciones causadas por estreptococos en ratones sin dañar a los animales, descubrió que un colorante rojo llamado Prontosil era efectivo. Este descubrimiento le valió el premio Nobel en 1939. Curiosamente, este colorante no era capaz de inhibir el crecimiento de las bacterias crecidas en laboratorio; solamente era efectivo cuando las bacterias crecían dentro del cuerpo del animal. Esta aparente contradicción fue resuelta en el mismo año por un químico francés Jacques Tréfouël al observar que el Prontosil era transformado en el cuerpo en un compuesto incoloro diferente que sí tenía actividad específica frente a bacterias. Esta nueva sustancia era la sulfonamida. En un corto período de tiempo se determinó su estructura siendo posible sintetizarla en gran escala y desarrollar nuevos compuestos que se denominaron sulfamidas que aún hoy en día se siguen utilizando (2).

En 1940 Abraham y Chain observaron por primera vez como desaparecía la actividad antibacteriana de la penicilina ante extractos de un acepa de *Echerichia coli*, y propusieron que esta bacteria tenía la producción de una enzima que hacia este trabajo, la cual le llamaron “penicilinasas” (6,7).

La llamada “Edad de Oro” de los antibióticos comienza en 1941 con la producción

de la penicilina a gran escala y su utilización con buenos resultados en ensayos clínicos (5).

En 1944, Kirby demostró la presencia de la penicilinasas en *Staphylococcus aureus* resistente a la penicilina G.

El término penicilinasas fue quedando en desuso con la aparición de las cefalosporinas que también son  $\beta$ -lactámicos, y se les cambió el nombre a betalactamasas (5).

En 1946 se tenía que apenas el 5 por ciento de *S. aureus* eran productoras de  $\beta$ -lactamasas; hoy en día se tiene que el 90 por ciento de los aislamientos producen la enzima (8, 9).

En la actualidad se calcula que aproximadamente el 40 % de todos los pacientes hospitalizados reciben tratamiento con antimicrobianos, por lo que en las últimas décadas se han obtenido numerosos compuestos de esta índole, los que resultan de utilidad incuestionable, sin embargo, su amplio uso fomenta el aumento de la resistencia por parte de los microorganismos, lo que crea una necesidad cada vez mayor de nuevas drogas, y se encarece el tratamiento (5).

En los últimos años se han incorporado al arsenal terapéutico alrededor de doscientos compuestos antibióticos, lo que aparentemente hacía suponer que las bacterias patógenas terminarían siendo derrotadas en todos los frentes, muchos de esos antibióticos ya son inútiles, cada vez la resistencia bacteriana a distintos antibióticos está más extendida, y ya existen enfermedades como la tuberculosis o la meningitis que no se pueden curar tan fácilmente. La alarma se está haciendo cada vez más generalizada, sobre todo desde que se han aislado varias cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina en hospitales de distintos lugares del planeta. Esta bacteria es el agente de múltiples infecciones hospitalarias, con frecuencia graves, y el aislamiento de cepas de *S. aureus* resistentes a todos los antibióticos salvo la vancomicina, una de las últimas líneas de defensa, no es frecuente; que

hayan aparecido cepas resistentes era de esperarse, y la resistencia a antibióticos ha ido creciendo de forma constante, y ya se han aislado cepas de *Enterococcus*, *Mycobacterium tuberculosis* o *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a todos los antibióticos disponibles en clínica(10).

## **B Resistencia natural y resistencia adquirida**

### 1. Definición de Antibiótico

Los antibióticos 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, tanto su uso como su abuso han hecho que los microorganismos hayan evolucionado desarrollando mecanismos de resistencia, que impiden que estos fármacos tengan efectos sobre ellos, y que en la mayoría de los casos conducen a fallos terapéuticos (11, 12).

Uno de los factores que limita la utilización de los antimicrobianos es la presencia de mecanismos de resistencia. Un microorganismo es sensible a la acción de un antibiótico cuando se inhibe su crecimiento o se produce la muerte celular. Por el contrario, la resistencia implica la ausencia del efecto inhibitorio o letal.

### 2. Mecanismos de Resistencia

Los mecanismos de resistencia surgen como un proceso de adaptación natural de los microorganismos a la acción inhibitoria o letal de los antibióticos. La resistencia bacteriana puede ser natural o adquirida (11, 12).

#### 2.1 Resistencia Natural

Se habla de resistencia natural, cuando se tienen bacterias de una misma especie que poseen en su antibiograma una concentración mínima inhibitoria frente a un antibiótico superior a la que inhibe normalmente a otras bacterias de características similares. Esto puede deberse a las características del antibiótico o de la bacteria que impiden el acceso normal del fármaco al lugar específico de acción, a modificaciones naturales de la diana de acción o cuando toda una población bacteriana produce de modo natural un mecanismo de resistencia (11, 12).

## 2.2 Resistencia Adquirida

En contraposición al concepto de resistencia natural está el de resistencia adquirida, que implica el desarrollo o adquisición de un mecanismo de resistencia en un microorganismo que carece de él, y solo estará presente en ciertas cepas o ciertas especies de un género. La resistencia adquirida puede producirse por la mutación de genes cromosómicos ya existentes o por la adquisición de material genético ajeno (plásmidos o transposones) (11, 12).

### a. Resistencia cromosómica

Esta resistencia se origina por la mutación de material genético, debido a la velocidad de multiplicación de las bacterias la cual las hace propensas a producir mutaciones y hace que por selección natural tenga resistencia cromosómica propia cuando estas están sometidas frente a un antibiótico (12,14).

### b. Resistencia extracromosómica

Este tipo de resistencia se debe a la incorporación de material genético distinto al que posee la bacteria y se sitúa por fuera del cromosoma, la cual le da características especiales. También se puede llamar resistencia transferida o resistencia mediada por plásmidos. Los plásmidos consisten en

moléculas ADN que se replican independiente del cromosoma bacteriano y tienen estructura circular (12- 15).

### **C Mecanismos bioquímicas de resistencia a antimicrobianos.**

Durante el transcurso del tiempo desde antes de que se lograra la fabricación del primer antibiótico, las bacterias por medio de selección natural lograron tener mecanismos de sobrevivencia los cuales le permitían existir en medios hostiles.

Con la llegada de una gran gama de antibióticos por más de un período de 50 años, donde se tiene que cada vez que sale un antibiótico nuevo tiene que ser más fuertes en su manera de acción a los ya existentes. Esto también lleva a los investigadores a conocer los distintos tipos de mecanismos que tienen los microorganismos y el efecto que tienen los antibióticos sobre ellos.

Para que un antibiótico pueda ejercer su acción, tiene que llegar a su lugar específico de actuación, 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 5 diversas formas:

1. Impidiendo el acceso del antibiótico al lugar específico de acción.
2. Expulsando el antibiótico para evitar que pueda acceder a su diana.
3. Inactivando o modificando la estructura química del antibiótico.
4. Alterando o hiperproduciendo la diana de acción.
5. Desarrollando vías metabólicas alternativas que suplan la inhibida por el antibiótico.

Los cuatro primeros mecanismos pueden ser debidos a mutaciones cromosómicas o mediados por plásmidos, mientras que el último se suele producir por la adquisición de plásmidos o transposones (5, 6, 11, 12, 16-18).

## **1. Alteración de la permeabilidad impidiendo el acceso del antibiótico.**

La membrana celular bacteriana es la primera barrera que tiene el microorganismo y debe superar el antibiótico para ejercer su acción. La diferencia entre la estructura de la membrana de las bacterias Gram positivo y Gram negativo explica las diferencias de actividad de algunos antibióticos frente a estos dos tipos de microorganismos (5, 6, 11, 12, 16).

Los antibióticos podrían penetrar al interior de la célula por difusión pasiva, aunque sería difícil ya que afectaría a la bacteria debido a que implica cambios en la estructura de la pared y podría ser letal; por transporte específico, necesita una proteína transportadora que suele tener una función fisiológica en la bacteria y que además se aprovecha para el transporte de algún antibiótico, por lo que la modificación de este transportador afecta a la entrada del antibiótico; por transporte activo dependiente de energía o a través de canales (porinas) en las bacterias Gram negativo, de lo que se puede concluir que cualquier alteración en estos mecanismos puede conducir a resistencia (11,17).

En los microorganismos Gram negativo la entrada de algunos antibióticos se facilita por la presencia de canales específicos denominados porinas. En las enterobacterias, la pérdida o la disminución del número de copias de la porina OmpF reduce la sensibilidad a ciertos beta-lactámicos, mientras que en *Pseudomona aeruginosa*, la pérdida de la porina OprD, conduce a la resistencia a imipenem (5, 19).

## **2. Expulsión del antibiótico.**

La expulsión del antibiótico antes de que pueda acceder a su diana de acción es un mecanismo de resistencia dependiente de energía. En la mayoría de las ocasiones la energía se obtiene de las diferencias de potencial en la membrana aunque en otras

depende del ATP. Se han descrito varios sistemas de expulsión o bombeo en los que participan distintas proteínas de membrana especializadas. En condiciones normales y en ausencia de antibióticos, estas proteínas tienen una función fisiológica de eliminación de sustancias metabólicas. La coexistencia de alteraciones en las porinas de entrada con un sistema eficaz de expulsión eleva notablemente los niveles de resistencia a los antimicrobianos, ya que es menor la cantidad de antibiótico a expulsar. El modelo de bomba de expulsión más conocido es el mexA-mexB-OprM, descubierto en *P. aeruginosa* y que confiere resistencia a las tetraciclinas, cloranfenicol, fluoroquinolonas y a algunos betalactámicos. Este sistema participa en el transporte al exterior de la pioverdina, compuesto que actúa como sideróforo (11).

Los determinantes genéticos de estos sistemas de expulsión activa pueden localizarse tanto en plásmidos como en el cromosoma bacteriano (11).

### **3. Inactivación o modificación enzimática**

Estos mecanismos suelen ser muy específicos, y afectan a una sola familia de antibióticos e incluso a un único antibiótico, ya que es necesario un reconocimiento del sustrato por parte de la enzima, lo que conduce a una acción hidrolítica o modificación de la estructura química del antibiótico. Las enzimas implicadas en este mecanismo de resistencia pueden ser hidrolasas, fosfotransferasas, adeniltransferasas y acetilasas (6, 11, 12).

Las hidrolasas suelen actuar en la superficie de la bacteria, ya sea en el periplasma (bacterias Gram negativo) o en el exterior (bacterias Gram positivo), como ocurre con las beta-lactamasas, enzimas que hidrolizan el anillo beta-lactámico, o las esterasas, que abren el anillo lactónico de la eritromicina. Por el contrario, el resto de las enzimas ejercen su efecto en el citoplasma, aunque se suelen situar en la membrana citoplasmática. Las fosfotransferasas y adeniltransferasas necesitan una fuente de grupos fosfato y adenilo, respectivamente, procedente del ATP. En el caso de los

aminoglucósidos, los grupos transferidos se unen covalentemente a radicales hidroxilo. Las acetilasas transfieren grupos acetilo del acetyl Co-A a grupos amino en los aminoglucósidos o hidroxilo en el cloranfenicol. Asimismo, se han descrito fosfotransferasas que afectan a los macrólidos y a la rifampicina, y adeniltransferasas que actúan sobre las lincosamidas (6, 11, 16).

El grado de resistencia que confieren estas enzimas es variable y depende de diferentes factores, y sus determinantes genéticos son de naturaleza cromosómica y plasmídica, y con relativa frecuencia, también se asocian a transposones, razón por la cual algunas de estas enzimas están muy difundidas, particularmente las  $\beta$ -lactamasas (5, 11).

#### **4. Alteración o hiperproducción de la diana de acción.**

La mayoría de los antibióticos ejercen su acción al unirse específicamente a diferentes proteínas que forman parte de procesos esenciales para la supervivencia de la bacteria. En los mutantes resistentes, la modificación de estas proteínas puede afectar a su afinidad por el antibiótico pero sin interferir con su funcionalidad. En la mayoría de los mutantes es suficiente un solo cambio de un aminoácido en la proteína para que se produzca este efecto. Las proteínas que se pueden modificar son las proteínas ribosómicas, la alteración de los precursores de la pared celular y la modificación de enzimas esenciales. La modificación de las proteínas ribosómicas confiere resistencia a los aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas, por lo que se impide la acción de todos estos antimicrobianos como inhibidores de la síntesis de proteínas. Ejemplos de este tipo de resistencia son la resistencia a estreptomina de *Mycobacterium tuberculosis*, la resistencia a eritromicina de estafilococos, estreptococos, enterococos y algunos microorganismos anaerobios y la resistencia a tetraciclina en microorganismos Gram positivo, Gram negativo e incluso *Mycoplasma* y *Ureaplasma* (11,16).

Respecto a la alteración de los precursores de la pared celular, en el género *Enterococcus*, la síntesis de péptidos con un residuo terminal D-alanina-D-lactato, en vez de los péptidos habituales del péptido glicano terminados en D-alanina-D-alanina, afecta a la unión de vancomicina y teicoplanina con estos precursores de la pared. Este mecanismo de resistencia tiene gran importancia epidemiológica, ya que los *Enterococcus* presentan resistencia intrínseca a múltiples antimicrobianos y los glicopéptidos son una de las pocas opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones producidas por estos microorganismos. En cuanto a las enzimas esenciales que participan en distintos procesos del metabolismo bacteriano y que son diana de múltiples antimicrobianos, su modificación puede dar lugar a la resistencia a betalactámicos, quinolonas, sulfamidas, trimetoprim, rifampicina y novobiocina. La alteración de las PBPs (proteínas fijadoras de penicilinas por sus siglas en inglés), y su función es catalizar la síntesis de peptidoglucano, determina resistencia a los beta-lactámicos. Este mecanismo es más importante en las bacterias Gram positivo que en las Gram negativo, y tiene particular importancia en *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus*, en las que determina resistencia a penicilina, y en *S. aureus*, que le confiere resistencia a todos los beta-lactámicos (11,16).

La mayor producción de la diana se ha observado en *Enterococcus*, en el que también la hiperproducción de PBPs puede contribuir a su resistencia a la ampicilina. Por último, existen mutantes que son resistentes y dependientes a la vez de un antibiótico determinado y que sólo son capaces de desarrollarse en presencia del antibiótico. Este hecho puede explicarse por la producción de dianas alteradas que solamente son funcionales cuando se modifican por el antibiótico. Entre éstas están algunas cepas de *Enterococcus* dependientes de vancomicina o de *M. tuberculosis* dependientes de estreptomycinina (11, 16).

##### **5. Desarrollo de vías metabólicas alternativas.**

Este mecanismo de resistencia se produce en mutantes que dependen del aporte de sustratos para la síntesis de productos que normalmente se obtienen a través de vías metabólicas en las que participan las enzimas que inhiben los antibióticos. Por

ello, el microorganismo es capaz de crecer a pesar de la inhibición enzimática ejercida por el antibiótico. Un ejemplo clásico es la resistencia a trimetoprim en bacterias dependientes de timina. Los microorganismos son capaces de sintetizar timidilato por el aporte externo de timina por una vía biosintética en la que actúa una timidina fosforilasa y una timidina quinasa que produce timidina, en vez de acudir a la vía habitual, que se encuentra bloqueada por la acción del trimetoprim (11).

#### **D Mecanismos de acción de la $\beta$ -lactamasa sobre el anillo $\beta$ -lactámico**

Las enzimas  $\beta$ -lactamasas se unen a un antibiótico  $\beta$ -lactámico con el cual forman un complejo no covalente, el cual sino se disocia produce una estructura acil unida a la enzima debido a la unión de la serina del centro activo del antibiótico con un grupo hidroxilo. Por último la enzima luego de haber producido esta hidrólisis se desprende y queda lista para actuar nuevamente.

Luego de la hidrólisis del antibiótico  $\beta$ -lactámico se produce el acil que en caso de la penicilina es un peniciloato, el cual es estable y fácilmente detectable. El producto generado por las cefalosporinas es un cefalosporato, pero son muy inestables y se degradan rápidamente en moléculas más sencillas y que son difíciles de detectar (6, 11).

#### **E Clasificación de las $\beta$ -lactamasas**

La primera clasificación que se hizo acerca de las  $\beta$ -lactamasas fue en 1968 por Sawai y colaboradores donde las clasificaron por penicilinasas o cefalosporinasas, dependiendo de la actividad hidrolítica de la enzima; luego una clasificación más real se hizo por Jack y Richmond en 1970, que fue continuada por Richmond y Sykes en 1973, que incluía todas las  $\beta$ -lactamasas de bacterias Gram negativo descritas en ese entonces (21-23).

Hacia 1976 Sykes y Mathew pusieron énfasis en las  $\beta$ -lactamasas mediadas por plásmidos, donde las podrían diferenciar por su punto isoeléctrico; en 1980 Ambler propuso la clasificación por estructura molecular cuando solo se conocían cuatro aminoácidos de la secuencia de las  $\beta$ -lactamasas. En 1981 los esquemas de Mitsuhashi e Inoue agregaron la

categoría de  $\beta$ -lactámicos que hidrolizan la cefuroxima y fue agregada a la clasificación de penicilinasas y cefalosporinasas. En 1989 se propuso una nueva clasificación por Bush y colaboradores donde incluían las enzimas de todas las bacterias y fue el primer esquema donde se trataba correlacionar el sustrato y las propiedades inhibitorias con la estructura molecular de las enzimas, y que luego la actualizaría en 1995, clasificando las  $\beta$ -lactamasas por su preferencia hacia un sustrato como penicilina, carbenicilina, oxacilina, cefaloridina, cefalosporinas de espectro extendido e imipenem, y además por su susceptibilidad a la inhibición por clavulanato (21, 22).

Las  $\beta$ -lactamasas del grupo 1 son las cefalosporinasas, o sea que prefieren sustratos de cefalosporinas, de los microorganismos Gram negativo no inhibidas por el ácido clavulánico. Incluye tanto a las  $\beta$ -lactamasas cromosómicas inducibles de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella* y *Providencia*, como a las cromosómicas constitutivas de *E. coli* y donde se incluye las  $\beta$ -lactamasas del mecanismo AmpC que se presenta en este estudio (22, 23).

El grupo 2 es el más numeroso y comprende a las  $\beta$ -lactamasas inhibidas por el ácido clavulánico o algún otro inhibidor activo de  $\beta$ -lactamasas y comprende la clase A y D de la clasificación molecular antigua. Incluye penicilinasas,  $\beta$ -lactamasas plasmídicas clásicas de enterobacterias (TEM-1 a TEM-26, SHV),  $\beta$ -lactamasas plasmídicas de espectro extendido capaces de hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación,  $\beta$ -lactamasas de algunas carbenpenicilinas, carbapenemes, oxacilinas y monobactames. Este grupo está subdividido además en a, b, be, br, c, f, donde se incluyen algunas que no tenían clasificación anterior (22, 24, 25).

El grupo 3 representa a las metalo- $\beta$ -lactamasas que son pobremente inhibidas por todos los inhibidores clásicos de  $\beta$ -lactamasas excepto EDTA y *p*-cloromercuribenzoato (pCMB). Por último, el grupo 4 son aquellas penicilinasas que no son inhibidas por el ácido clavulánico (22,23).

## **F Mecanismo resistencia AmpC inducible**

Las  $\beta$ -lactamasas tipo AmpC son clasificadas en el grupo 1 de la clasificación de Bush y colaboradores de 1995, y se presume que son mediadas cromosómicamente, en donde se ha descrito cepas de *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Chromobacterium violaceum*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Lysobacter lactamgenus*, *Morganella morganii*, *Ochrobactrum anthropi*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*, *P. rettgeri*, *Pseudomona aeruginosa*, *Psychrobacter immobilis*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Yersinia enterocolitica*, donde se producen de forma normal en niveles bajos, no asociados a resistencia de antibióticos (26, 33).

El mecanismo AmpC inducible cromosómico se produce de la siguiente forma: debido a que en condiciones normales el gen AmpC el cual es el encargado de codificar las enzimas necesarias para producir una  $\beta$ -lactamasa que provoca resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, permanece reprimido por la acción del gen AmpR. Por otra parte el gen AmpD se encarga de mantener un bajo nivel de los metabolitos derivados del reciclaje fisiológico normal del peptidoglucano. Cuando concentración de estos productos aumenta por la estimulación de un  $\beta$ -lactámico que atacan la pared celular, se sobrepasa la capacidad del gen AmpD de regular los metabolitos, provocando que el gen AmpR no solo deje de inhibir el gen AmpC sino que induce la producción de la  $\beta$ -lactamasa AmpC. Si el  $\beta$ -lactámico es hidrolizado por la enzima producida por el microorganismo será resistente al mismo. Estas cepas pueden mantener una producción de AmpC durante la exposición del antibiótico y los hace resistente a todos los  $\beta$ -lactámicos, excepto a los que no se hidrolizan como los carbapenemes y cefalosporinas de cuarta generación, aunque si el estímulo no es por un tiempo suficiente, la bacteria podría llegar de nuevo los niveles basales bajos de AmpC que producía antes de ser estimulado por el antibiótico; estas bacterias podrían en un momento dado, por plásmidos, transmitir esta resistencia a otras bacterias que podrían tener otros mecanismos implementados como por ejemplo la pérdida de porinas, adquiriendo resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, y también a los carbapenemes y cefalosporinas de cuarta generación por bloqueo de la diana de acción. Sin embargo si se estimula con el antibiótico por un tiempo suficiente, podría llegar a tenerse una producción constante de  $\beta$ -lactamasa, aun después de haber quitado la estimulación del  $\beta$ -

lactámico sin llegar de nuevo a sus niveles basales, a lo que se le llama mecanismo AmpC derreprimido (1, 12, 19-21, 27, 32).

### **G. Mecanismo AmpC derreprimido**

La resistencia con  $\beta$ -lactamasas comienza a observarse en organismos como *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* y *Pseudomonas aureuginosa* que podían por mutación sobreproducir  $\beta$ -lactamasas AmpC cromosomal, proveyendo de resistencia hacia oxiamino- y 7- $\alpha$ -metoxicefalosporinas y monobactames (26).

Luego la resistencia apareció en cepas con enzimas AmpC como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., y *Proteus mirabilis* y así se fue encontrando la resistencia mediada por plásmidos, codificando  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. Pero esta resistencia por plásmidos no incluía a 7- $\alpha$ -metoxi-cefalosporinas y fueron bloqueadas las  $\beta$ -lactamasas por sulbactam, clavulanato o tazobactam, cuando los antibióticos eran inefectivos contra enzimas AmpC (26).

Entre las cepas que actualmente se cree que su mecanismo es de AmpC derreprimido por inducción de cefalosporinas se encuentra *Entrobacter* sp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia* sp., *Serratia marcescens* (1, 26-30).

Estas bacterias producen grandes niveles de AmpC todo el tiempo y pueden llegar a ser encontradas por selección natural durante la terapia con inductores débiles como lo son cefalosporinas de segunda y tercera generación, así como aztreonam (33).

Según estudios clínicos que se han hecho en centros europeos entre los años 1997 y 2000 se encontró que la resistencia a Cefotaxima o Cefotaxima era del 11 al 34 por ciento y de piperacilina/tazobactam fue del 12 por ciento (34).

En otro estudio que se hizo también en Europa, se encontró que los mayores niveles de AmpC derreprimido fueron en la República Checa con un 55.4 por ciento y los menores

niveles fueron en Alemania con un 16.8 por ciento, esto entre los años 1997 al 2000; también se tienen datos de Bélgica, Italia, Rusia, Inglaterra con un 39.8, 51.2, 39.7 y 52.8 por ciento respectivamente (35).

La selección ocurre entre el 20 al 30 por ciento de Enterobacterias en casos de neumonía y bacteremia. En 1990 el 10 por ciento de los aislamientos de *Enterobacter* sp, *Citrobacter freundii* y *Serratia* spp. eran AmpC derreprimido (36).

En el caso de *Serratia*, *Providencia* y *Morganella* estas cepas naturalmente presentan niveles de AmpC 10 veces menores que en *Enterobacter* y *Citrobacter*, por lo cual pueden ser sensibles aún a la cefoxitin. *Enterobacter*, *Citrobacter* o *Serratia* puede ser complicado por su patrón de resistencia que suele depender del nivel de producción de AmpC; de esta forma, su espectro de resistencia es bastante amplio, pueden observarse perfiles muy sensibles así como cepas hospitalarias con multiresistencia. Particularmente en el caso de *Enterobacter cloacae* se ha evidenciado la presencia de  $\beta$ -lactamasas y múltiples mecanismos de resistencia. *Enterobacter* sp. y *C. freundii*, son menos susceptibles a selección clonal durante la terapia (31).

Se considera que en 1995 en EE.UU. los niveles de AmpC derreprimido están entre el 15 al 50 por ciento de los aislamientos de *E. cloacae* y *C. freundii*, y con menor porcentaje en *M. morgani* y *Serratia* spp.. Se ha considerado que los niveles aumentan aun más cuando se utilizan cefalosporinas de espectro extendido o sea cefalosporinas con acción a Gram positivo y negativo, casi de un 0 a un 5 por ciento (21).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad en Guatemala no se conocen estudios sobre la determinación de microorganismos con el mecanismo de resistencia Amp-C derreprimido de forma cromosómica, el cual se produce por la utilización de antibióticos  $\beta$ -lactámicos, principalmente cefalosporinas de tercera generación, en ciertas bacterias como lo son los géneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia* y *Serratia*.

Estas bacterias pueden llegar a tener poblaciones de microorganismos derreprimidos en ambientes hospitalarios, debido al tratamiento con cefalosporinas de segunda y tercera generación, que las hace resistentes a éstas y a todos los  $\beta$ -lactámicos con excepción de cefalosporinas de cuarta generación y carbapenems. Estas poblaciones de bacterias tienen la característica de que pueden llegar a ser muy estables y se pueden acumular en la atmósfera hospitalaria, lo cual hace que sean fácilmente diseminados, así como la posible adquisición de otros mecanismos de resistencia, haciendo bacterias resistentes a múltiples géneros de antibióticos, y además pueden transmitir esta multirresistencia a través de plásmidos a otras bacterias.

Por lo tanto, la determinación de cepas derreprimidas en un hospital puede evitar un problema nosocomial provocado por bacterias multirresistentes, que se estarían induciendo y diseminándose en este medio, y a la vez permite un mejor criterio en la elección del

tratamiento que se le da a los pacientes debido a una adecuada elección en la selección de antibióticos en un antibiograma.

## **V. OBJETIVOS**

### **A. Objetivo general**

Determinar la presencia del mecanismo AmpC dereprimido de los aislamientos de Enterobacter, Citrobacter, Morganella, Providencia, Serratia, del laboratorio del Hospital General San Juan de Dios.

### **B. Objetivos específicos**

1. Establecer el género más frecuente que produce mecanismo de resistencia AmpC dereprimido de los 5 géneros en estudio.
2. Determinar el servicios del hospital General San Juan de Dios que tenga mayor cantidad de microorganismos con mecanismo de resistencia AmpC dereprimido.
3. Determinar el origen de la muestra que presenta mayor porcentaje de aislamientos de microorganismos con el mecanismo AmpC dereprimido.

4. Determinar los perfiles de resistencia de los 5 géneros de bacterias hacia cefalosporinas, carbapenemes, quinolonas, penicilinas, aminoglicosidos.

## **VI. HIPÓTESIS**

Debido a que es un estudio descriptivo no presenta hipótesis

## VII. MATERIALES Y METODOS

### A. Universo

Cultivos de muestras de pacientes que provienen de los distintos servicios del Hospital General San Juan de Dios, que se analizaron en el laboratorio clínico.

### B. Muestra

Se tomaron en cuenta todos los cultivos del laboratorio clínico obtenidos durante un periodo de 6 meses y que contenían aislamientos de *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Morganella* sp., *Providencia* sp., y *Serratia* sp., para su análisis respectivo.

### C. Recursos

#### 1. Recursos Humanos

##### a) Tesista:

Luis Fernando Espinoza Pérez

##### b) Asesores:

Lic. Jorge Matheu

Licda. Kenia Caballeros

#### 2. Recursos Institucionales:

##### a) Laboratorio Nacional del Ministerio de Salud Publica

- b) Hospital General San Juan de Dios

### 3. Recursos Físicos

#### 3.1 Cristalería

- a) Tubos de ensayo con rosca de 10 X 150 mm
- b) Porta y Cubreobjetos
- c) Pipetas Pasteur

#### 3.2 Reactivos y Medios de Cultivo

- a) Agar Mueller Hinton con 4 mm de espesor
- b) Discos de distintos antibióticos (cefotaxima, ceftazidima, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina, cefepime, amikacina, imipenem, cefuroxima, cefalotina, ceftriaxone, ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol)
- c) Agar tripticasa soya

### 4. Equipo

- a) Refrigeradora
- b) Incubadora a 35 °C según la NCCLS
- c) Autoclave
- d) Mechero Bunsen

### 5. Control de Calidad

- c) *Escherichia coli* ATCC 25922 y 35218

### 6. Instrumentos y otros

- a) Cajas de petri descartables de 20 ml.
- b) Asas bacteriológicas
- c) Caja de guantes descartables
- d) Pinzas

- e) Marcadores rotuladores
- f) Hojas de papel bond 80 gramos
- g) Hisopos estériles
- h) Estandar de McFarland 0.5
- i) Gradilla

## **E. Metodología**

1. Se evaluaron todos los cultivos de las muestras que provenían de los distintos servicios del Hospital General San Juan de Dios, que se identificaron por el laboratorio de microbiología donde estaban presentes *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Morganella* sp., *Providencia* sp., *Serratia* sp.
2. Se realizó una ficha epidemiológica (anexo 2) donde se tomó en cuenta la procedencia de la muestra, datos generales del paciente, tipo de muestra, y fueron analizados junto con los resultados de la investigación.
3. Se cultivaron las muestras en agar tripticasa soya por un período de 24 horas a 35°C en una incubadora.
4. Luego de las 24 horas de incubación se colocaron en la refrigeradora hasta esperar su transporte al Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
5. En este laboratorio se llevaron a cabo las pruebas necesarias para la determinación del mecanismo Amp-C derreprimido por medio de la técnica de Kirby-Bauer:
  - a) Se tomaron las colonias de la bacteria a estudiar y se trasladó a un tubo con 4 ó 5 ml de caldo tripticasa soya y llevó a una turbidez de 0.5 del estándar de McFarland.
  - b) Con un hisopo estéril se esparció la muestra por el agar Mueller Hinton.
  - c) Se colocaron 6 discos de distintos géneros antibióticos en cada caja de petri (anexo 1), por cada bacteria en la siguiente forma: alineados se colocan aproximadamente a 2 cm. entre cada disco, en medio de la alineación ácido clavulánico, hacia los extremos cefotaxima y ceftazidima, luego se coloca la ampicilina perpendicular a la ceftazidima y cefoxitin perpendicular a cefotaxima y perpendicular a la amoxicilina/ácido

clavulánico el cefepime, se hizo su interpretación a las 24 horas, donde el halo de inhibición de ceftazidima se observó achatado hacia donde está la ampicilina, el cefoxitin y cefotaxima es resistente, en tal caso se pudo interpretar como positivo para AmpC derreprimido.

- d) El agar Mueller Hinton se preparó con un espesor de 4 milímetros, con un pH neutro de 7.2 a 7.4; se preparó de la siguiente forma: se disolvió el polvo del agar Mueller Hinton en polvo en agua desmineralizada, según especificaciones del fabricante, se calentó hasta ebullición y luego se colocó en el autoclave para esterilizarlo por 15 minutos a 121°C y 115 libras de presión, se vertió en cajas de petri y se dejó enfriar, luego se realizó control de esterilidad y crecimiento para Enterobacterias con cepas de *E. Coli* ATCC 25922 y 35218 para asegurar la calidad del medio preparado.

#### **E. Diseño de la investigación**

1. El muestreo se hizo por un período de 6 meses, tomando todas las muestras con los microorganismos de interés.
2. Tipo de estudio: Descriptivo y Transversal
3. Variables de interés:  
Bacterias con el mecanismo AmpC derreprimido.
4. Análisis de Resultados
  - a. Frecuencia de microorganismos con el mecanismo de resistencia en estudio, con respecto a género.
  - b. Porcentaje de bacterias que poseían este mecanismo, clasificándolas por tipo de muestra.
  - c. Porcentaje de bacterias con mecanismo de resistencia clasificadas por sala.
  - d. Introducción de datos y análisis en el programa de computación WHONET.
  - e. Perfil de resistencia de los géneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia* y *Serratia*.

### VIII. RESULTADOS

Se llevo a cabo la recolección de aislamientos, así como de datos de antibiograma por un período de 6 meses de muestreo comprendido del 31 de mayo al 30 de noviembre 2005, se recolectaron 83 aislamientos provenientes de distintas salas del Hospital General San Juan de Dios ingresadas al laboratorio de microbiología, a las cuales se les realizó el análisis respectivo para buscar Amp-C derreprimido.

De los 83 aislamientos recolectados se encontraron 26 microorganismos que presentaban mecanismo Amp-C derreprimido, de estos últimos, 15 poseían únicamente este mecanismo y los otros 11 tenían el mecanismo Amp-C derreprimido y además mecanismo  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) Tabla 1.

Tabla 1  
Microorganismos que presentan mecanismo Amp-C Derreprimido  
n=26

Genero y Especie	Número de microorganismos con Amp-C derreprimido	Porcentaje
<i>Enterobacter cloacae</i>	19	73.1
<i>Citrobacter freundii</i>	5	19.2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	7.7
Total de microorganismos	26	100

con mecanismos Amp C  
derreprimido

Fuente: Datos Experimentales

Como se puede observar en la Tabla 2 el microorganismo mas frecuente que presenta mecanismo Amp-C derreprimido es *Enterobacter cloacae*, lo que representa un 73.1 por ciento del total de los aislamientos con mecanismo Amp-C derreprimido (26 aislamientos).

Tabla 2  
Aislamientos con mecanismo de resistencia BLEE  
N=83, n = 31

Microorganismos	Microorganismos con BLEE
<i>Enterobacter cloacae</i>	19
<i>Citrobacter freundii</i>	5
<i>Morganella morgani</i>	3
<i>Providencia stuartii</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	3
Total de microorganismos con mecanismo BLEE	31

Fuente: Datos Experimentales

Con respecto a las salas en las que se obtuvo mayor cantidad de microorganismos con mecanismo de resistencia Amp C derreprimido, la Unidad de Terapia Intensiva de Pediatría (UTIP) es aquella en la que se recuperaron la mayoría de aislamientos (5 aislamientos); seguida por la unidad de Cuidados Intensivos de Neonatología (UCIN) (3 aislamientos) y la sala de Medicina de Hombres (3 aislamientos) Tabla 3.

Tabla 3  
Microorganismos con Mecanismo Amp C Derreprimido por Sala  
N=83, n=26

Sala	Número de aislamientos clasificados por sala	Número de aislamientos con microorganismos con Mecanismo Amp C Derreprimido por sala
Otras salas <sup>1</sup>	38	6
UTIP	7	5
UCIN	10	3
Medicina de Hombres XV	4	3
Emergencia de Pediatría	6	2
Cirugía de Mujeres 3	2	2
Cirugía de Hombres 2	4	1
Emergencia de Medicina	4	1
Sin Sala	4	1
Consulta Externa de Adulto	3	1
UCIA	1	1
Total	83	26

Fuente: Datos experimentales

<sup>1</sup>Incluye: consulta externa de ginecología, emergencia de ginecología, cirugía pediátrica, traumatología de hombres, unidad de cuidados intensivos de medicina, operaciones de emergencia

En la Tabla 4 y Gráfica 1, se presenta el origen de los distintos tipos de muestras obtenidas, que poseían microorganismos con el mecanismo de resistencia buscado, donde se obtuvo que las secreciones varias y hemocultivos son los tipos de muestras que más poseen microorganismos con este mecanismo, (8 y 6 aislamientos, respectivamente). Seguido por urocultivos y catéteres (5 y 3 aislamientos, respectivamente).

Gráfica 1  
Microorganismos con mecanismo Amp C derreprimido por origen de la muestra  
N=83, n=26

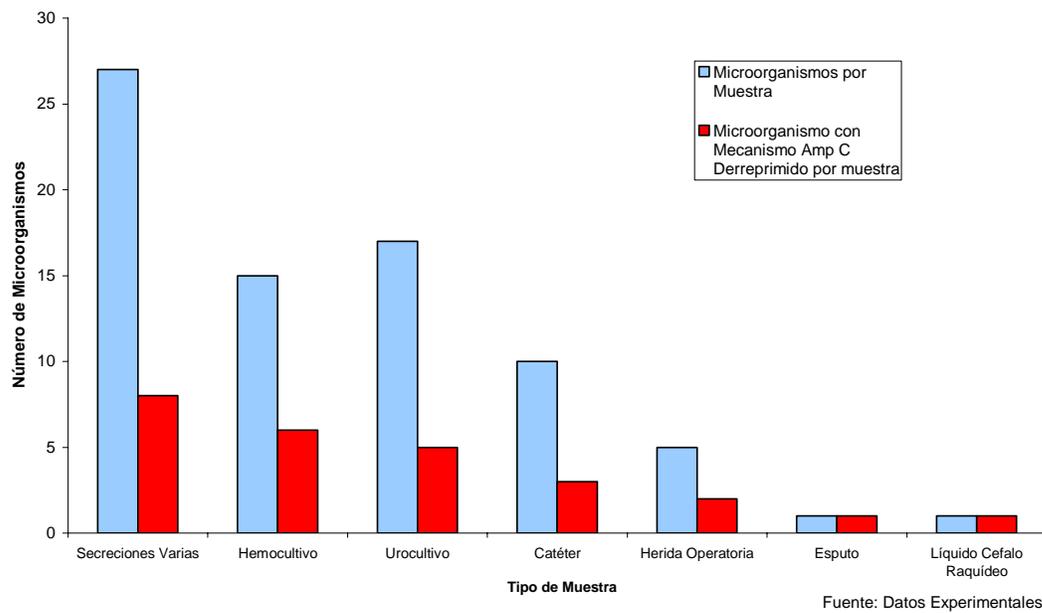


Tabla 4  
Microorganismos con Mecanismo Amp C Derreprimido por Origen de Muestra  
N=83, n=26

Muestra	Microorganismos por origen de muestra	Microorganismo con mecanismo de resistencia Amp C derreprimido
Secretiones Varias	27	8
Hemocultivo	15	6
Urocultivo	17	5

Catéter	10	3
Herida Operatoria	5	2
Espuito	1	1
Líquido Cefalorraquídeo	1	1
Otros	7	0
<b>Total</b>	<b>83</b>	<b>26</b>

Fuente: Datos Experimentales

Se puede observar para los antibióticos que se utilizaron para determinar la resistencia de los 5 géneros se encuentra representada en la Tabla 5, así como las resistencias obtenidas.

Para aminoglucósidos se tiene que la mayoría de esta familia posee una resistencia menor al 50 por ciento para los 5 géneros estudiados, a excepción de *Citrobacter* que tiene 50 por ciento de resistencia hacia gentamicina y tobramicina, y *Providencia* que tiene el 100 por ciento de resistencia.

Los monobactames presentan resistencia menor a 45 por ciento en cuatro de las bacterias en estudio y hacia *Providencia* no se tienen datos ya que no se evalúa en el antibiograma ningún antibiótico perteneciente a esta familia.

Tabla 5  
Perfil de resistencia de los 5 géneros en estudio  
N = 83

Familia	Antibiótico	<i>Enterobacter</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Morganella</i>	<i>Serraria</i>	<i>Providencia</i>
		n = 52	n = 10	n = 9	n = 11	n = 1
Aminoglucosidos	Amicacina	9.4	40	0	18.2	0
	Gentamicina	34	50	22.2	18.2	0
	Tobramicina	39.6	50	33.3	36.4	100
Monobactames	Aztreonam	45.5	25	33.3	0	N.R.*

Cefalosporinas de tercera generación	Cefotaxima	39.6	42.9	14.3	18.2	0
	Cefotetan	41.7	33.3	0	0	0
	Cefpodoxima	61.1	66.7	80	50	0
	Ceftazidima	50	70	11.1	18.2	0
	Ceftriaxona	49.1	40	11.1	36.4	0
Cefalosporinas de cuarta generación	Cefepima	24.5	40	11.1	9.1	0
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	11.3	30	55.6	0	100
	Gatifloxacina	8.3	60	25	0	N.R.*
	Levofloxacina	0	50	25	0	N.R.*
	Ofloxacina	13.5	33.3	100	0	0
Carbapenemes	Imipenem	0	0	0	0	0
Tetraciclinas	Tetraciclina	16.7	33.3	100	0	N.R.*
Trimetoprima	Trimetoprima	37.5	100	100	0	N.R.*
Sulfonamidas combinadas	Trimetoprima/Sulfametoxazol	47.2	80	88.9	9.1	0
Penicilinas de amplio espectro	Piperacilina	49	90	55.6	27.3	0
combinados con inhibidores de $\beta$ -lactamasas	Amoxicilina/Ácido clavulánico	100	83.3	66.7	100	N.R.*
	Ampicilina/Sulbactam	65.4	90	100	63.6	100
	Piperacilina/Tazobactam	22.6	40	0	9.1	N.R.*
	Ticarilina/Ácido clavulánico	30.2	50	0	18.2	0
Nitrofurantoina	Nitrofurantoina	75	100	0	N.R.*	N.R.*

\* N.R.= No Refiere

Fuente: Datos Experimentales

Las cefalosporinas de tercera generación se mantienen con una resistencia menor al 50 por ciento, aunque cefpodoxima presenta una resistencia entre el 50 y 80 por ciento en los distintos géneros estudiados y ceftazidima es resistente en un 70 por ciento para *Citrobacter*.

Cefepima es la cefalosporina de cuarta generación que se coloca en el antibiograma y se puede observar que presenta una resistencia menor al 40 por ciento hacia los 5 géneros.

Con lo que respecta a las fluoroquinolonas, ciprofloxacina y ofloxacina son resistentes en un 100 por ciento hacia *Providencia* y *Morganella* respectivamente. Para *Citrobacter* se presenta una resistencia para gatifloxacina y levofloxacina de 60 y 50 por ciento respectivamente. *Morganella* presenta una resistencia de 55.6 por ciento para ciprofloxacina. Los demás antibióticos presentan una resistencia menor al 30 por ciento en los diferentes géneros. Gatifloxacina y levofloxacina no presenta resultado para el género *Providencia*.

De la familia de los carbapenemes se coloca en el antibiograma a imipenem el cual no presenta resistencia hacia ninguno de los 5 géneros en estudio.

Las tetraciclinas presentan resistencia menor al 35 por ciento con excepción de *Morganella* que presenta un 100 por ciento de resistencia y *Providencia* que no presenta datos a cerca de su antibiograma.

Para timetoprima y trimetoprima/sulfametoxazol presenta resistencia entre 80 y 100 por ciento para *Citrobacter* y *Morganella*, los otros géneros presentan una resistencia menor al 50 por ciento.

Las penicilinas de amplio espectro y las penicilinas combinadas con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas presentan resultados variables de resistencia hacia los distintos microorganismos estudiados. Se presentó resistencia mayor al 60 por ciento hacia amoxicilina/ácido clavulánico y ampicilina sulbactam en los 5 géneros.

Nitrofurantoína tiene una resistencia mayor al 75 por ciento para *Enterobacter* y *Citrobacter*, para *Morganella* es de 0 por ciento de resistencia y para *Serratia* y *Providencia* no se reporta en el antibiograma.

## **IX. DISCUSIÓN**

El mecanismo Amp C es un mecanismo que provoca la producción de una enzima  $\beta$ -lactámica en la bacteria, confiriéndole resistencia a los microorganismos contra ampicilina, cefalosporinas de primera y segunda generación de una forma natural, esto se observa para los 5 géneros estudiados. Mientras que en el mecanismo Amp C reprimido le da resistencia además de las cefalosporinas de primera y segunda generación, a las de tercera

generación y todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, a excepción de carbapenemes y cefalosporinas de cuarta generación como cefepime (1, 2,19-21, 27,32).

El género del microorganismo que más presentaba mecanismo Amp C derreprimido fue *Enterobacter*, seguido por *Citrobacter* (73.1 y 19.2 por ciento respectivamente), del total de microorganismos que presentaban este tipo de mecanismo de resistencia. Además, como se ha reportado en otros estudios, estos dos géneros fueron los que más se presentaron de los 5 géneros en estudio (31).

*Enterobacter cloacae* puede desencadenar un problema de multirresistencia debido a que puede llegar a presentar en ocasiones múltiples mecanismos de resistencia. De los 52 aislamientos de este microorganismo, 19 presentaron Amp C derreprimido y 9 de los 33 restantes presentaban  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE). De estos primeros, 10 aislamientos también poseían BLEE (tabla 2).

La sala de UTIP es donde se encontró la mayor cantidad de microorganismos con el mecanismo Amp C derreprimido (5 aislamientos), seguido por la sala de UCIN (3 aislamientos). En ambas salas se manejan pacientes que pueden correr el riesgo debido a su corta edad de contraer enfermedades nosocomiales.

El origen de las muestras con mayor número de aislamientos con microorganismos que tenían mecanismo Amp C derreprimido fueron hemocultivos y urocultivos, además estos dos tipos de muestras fueron los que más se presentaron en el estudio. Se debe tomar en cuenta que este tipo de microorganismos presentes en los hemocultivos indican que una infección fuera del sistema circulatorio ya fue trasladada hacia él, lo que hace que el pronóstico del paciente sea poco prometedor, y además estos pacientes son tratados con antibióticos por largos periodos de tiempo, y si fueran cefalosporinas se puede dar una inducción del mecanismo Amp C de los microorganismos causantes de la infección provocando fallo en el tratamiento.

En secreciones varias también se presentó una cantidad considerable de microorganismos que poseían el mecanismo Amp C derreprimido, pero se encontró con la dificultad de que en este tipo de muestras se agrupan todo tipo de secreciones provenientes de cualquier parte del cuerpo, lo cual no permite diferenciar una muestra en especial, y además la proporción entre la cantidad de microorganismos que existe y los que poseían mecanismo Amp C derreprimido no es alta.

El conocer el origen de muestra que posee la mayor cantidad de microorganismos con mecanismo Amp C derreprimido, permite saber que las infecciones a nivel sanguíneo y del tracto urinario deben ser tratadas cuidadosamente cuando se utilice cefalosporinas y  $\beta$ -lactámicos para evitar la inducción de este mecanismo llevando un monitoreo constante del tratamiento de estos pacientes, y principalmente si la causa de la infección son cualquiera de los 5 géneros en estudio.

Los perfiles de resistencia pueden ayudar a ver las tendencias de los microorganismos hacia la resistencia de algún tipo de antibiótico o familias de antibióticos y éste se debe tomar en cuenta como referencia para dar un tratamiento más rápido y efectivo hacia algún tipo de microorganismo. El análisis de este porcentaje de resistencia para los géneros *Enterobacter*, *Citrobacter Morganella*, *Providencia* y *Serratia*, no incluyen penicilinas, ni cefalosporinas de primera y segunda generación, ya que se conoce que tiene resistencia natural hacia estos antibióticos como lo serían ampicilina, cefalotina, cefazolina, cefuroxima.

En lo que respecta a los aminoglucósidos, presentan una buena alternativa en el tratamiento contra estos microorganismos, debido a que no presentan resistencia considerablemente alta, a excepción de gentamicina y tobramicina para *Citrobacter*, y tobramicina para *Providencia*. Las cefalosporinas de cuarta generación como lo es cefepime también tienen una baja resistencia hacia estos microorganismos y las fluoroquinolonas representan una alternativa hacia *Serratia* debido a que no se encontró resistencia hacia estos antibióticos.

Como se puede observar en los resultados el género *Providencia* no presenta mecanismo Amp C derreprimido y no presenta resistencia hacia cefalosporinas de tercera generación lo que podría hacer una de las familias de antibióticos adecuadas para este género, pero se encontró que este microorganismo presenta mecanismo BLEE, lo que provoca que no se puedan utilizar este tipo de antibióticos ya que al poseer este mecanismo indica que es resistente por las características que le confiere el mecanismo en sí hacia la bacteria (26, 31,33)

Como se puede observar en la tabla 5, imipenem que pertenece a los carbapenemes es el único que no presenta resistencia ante estos microorganismos debido a que no se conoce hasta el momento resistencia natural ni adquirida hacia este antibiótico por ninguno de los 5 géneros en estudio, lo cual lo hace el antibiótico más recomendable cuando se presentan infecciones por este tipo de microorganismos (21).

Tanto *Morganella*, *Serratia* y *Providencia*, no tuvieron mecanismo Amp C derreprimido, debido a que se ha reportado que estos tres microorganismos lo presentan muy variable y en bajas cantidades, aproximadamente unas 10 veces menos que *Enterobacter* y *Citrobacter*. Aunque se logró observar que en algunos aislamientos se presentaron microorganismo con mecanismo de resistencia BLEE lo que les confiere una resistencia mayor que la de Amp C derreprimido (31).

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos podrían aumentar su porcentaje de resistencia, si los aislamientos que poseían BLEE se les hiciera el cambio en el reporte del antibiograma de susceptible por resistente, que es lo que se tiene que hacer al encontrar aislamientos con este tipo de mecanismos de resistencia, esto sería que a todas las cefalosporinas, penicilinas, y monobactames que se presentaban como susceptibles se cambien a resistentes, ya que *in vitro* pueda que sean susceptibles pero *in vivo* no, lo cual daría que las tendencias cambiarían un poco más hacia la resistencia. Esto pasaría con los 19 aislamientos que poseían BLEE y que pertenecían al género de *Enterobacter*.

De los 83 aislamientos estudiados se observaron que 31 poseían mecanismo BLEE lo cual corresponde a 37.35 por ciento de los microorganismos estudiados. *In vitro* no se puede observar completamente una resistencia hacia todos los  $\beta$ -lactámicos, pero *in vivo* este mecanismo puede llegar a provocar fallos en el tratamiento y además conlleva a la reducción en el número de antibióticos que respondan al tratamiento de una paciente con microorganismos con este tipo de resistencia.

Como se puede observar, hay mayor porcentaje de mecanismo BLEE (37.4 por ciento) que Amp C derreprimido (31.3 por ciento), esto nos indica que se está transfiriendo de una manera más fácil el mecanismo BLEE entre los microorganismos; por lo regular una de las principales formas de transmisión de BLEE es por plásmidos, mientras el mecanismo Amp C es debido a una selectividad de las cepas, a causa de tratamientos prolongados principalmente con cefalosporinas de tercera generación, lo cual provoca una derrepresión. Esto implica que se debe tener un seguimiento del paciente con este tipo de microorganismos, para que no se produzca una propagación en la sala o hacia otras salas, que pueda provocar un problema nosocomial.

En las unidades de cuidados intensivos de pediatría, también se debe tomar en cuenta la presencia de microorganismos con mecanismo de resistencia BLEE. De los 7 aislamientos de *Enterobacter cloacae* que se encontraron en UTIP, 3 poseían mecanismo Amp C derreprimido y únicamente 2 presentaban BLEE y mecanismo Amp C derreprimido.

Entre las dificultades que se tuvieron para la realización de este estudio fue la falta de información sobre este tipo de mecanismo de resistencia, ya que ha sido muy poco estudiada. Otro de los problemas que se tuvo fue con la aparición del mecanismo BLEE lo cual hizo un poco difícil visualizar los aislamientos que poseían también mecanismo de resistencia Amp C derreprimido.

Se debe continuar haciendo estudios de mecanismo Amp C derreprimido y de BLEE en pacientes provenientes de la comunidad, para conocer hasta donde se han expandido los niveles de resistencia fuera de los límites del hospital.

También se debe buscar mecanismos de resistencia hacia otras familias de antibióticos que puedan haber adquirido los microorganismos principalmente *Enterobacter*, para continuar haciendo un perfil de resistencia más adecuada hacia los géneros estudiados que se encuentren en el hospital e incluir para la familia de carbapenemes el meropenem para ver su comportamiento junto a imipenem y lograr observar algún tipo de resistencia si se llegara a presentar y para observar de una manera más directa la terapéutica hacia niños con este antibiótico.

## **X. CONCLUSIONES**

1. Se encontró mecanismo de resistencia Amp C derreprimido en 2 de los géneros estudiados que fueron *Enterobacter*, *Citrobacter*.
2. *Enterobacter cloacae* es el microorganismo que más presenta mecanismo de resistencia Amp C derreprimido de los 5 géneros estudiados.
3. Los servicios del Hospital General San Juan de Dios que más presentan microorganismos con mecanismo Amp C derreprimido fueron la Unidad de Terapia Intensiva (UTIP), la unidad de cuidados intensivos de neonatología (UCIN) y la Unidad de Medicina de Hombres XV.
4. Las muestras que más presentan microorganismos con el mecanismo en estudio fueron los hemocultivos y secreciones varias.
5. Los carbapenemes son los antibióticos con mejor respuesta *in vitro* ante las cepas estudiadas debido a que no posee resistencia hacia estos microorganismos, seguido por aminoglucósidos y fluoroquinolonas.
6. Los géneros *Serratia*, *Morganella* y *Providencia* no presentaron mecanismo Amp C derreprimido, aunque sí mecanismo BLEE.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de resistencia con respecto a Amp C derreprimido y BLEE en pacientes de la comunidad, para establecer el comportamiento las cepas en estudio fuera del hospital.
2. Implementar el estudio constante de los mecanismos de resistencia en los aislamientos del Hospital General San Juan de Dios, que permita conocer la tendencia con respecto a la resistencia de los microorganismos y se puedan implementar planes de control y prevención, contra microorganismos multirresistentes o que pueden llegar a serlo.
3. Continuar con nuevos estudios donde se intente determinar el mecanismo BLEE, en Enterobacterias, para saber como se encuentran la resistencia para este tipo de género, así como también un estudio que haga esta determinación en poblaciones de la comunidad.

## **XII. REFERENCIAS**

1. Martinez L. Cefalosporinas inducibles: AmpC a las cefamicinas plasmídicas. Consultado enero 2004. [http://www.seq.es/seq/html/revista\\_seq/0197/ponens.html](http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0197/ponens.html)
2. Goodmand A, Rall T, Nies A, Taylor P. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8 ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Panamericana, 1991. 2020 p.
3. Mateos, P. Generalidades y desarrollo histórico de la microbiología. Consultado noviembre 2003 <<http://coli.usal.es/web/educativo/micro2/tema01.html>>
4. Jawetz E, *et. al.* Microbiología Médica. 14 ed. México: Manual Moderno. 1992. 700 p.
5. Jackson L, Reyes L Dr, Cordiés M Dra. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. Acta Med. Cub.1998; 8:13-27.
6. Puertas J. Caracterización molecular del gen de la  $\beta$ -lactamasa SHV-1 en *Klebsiella pneumoniae*. España: Universidad de Barcelona, (tesis de graduación de doctorado, Facultad de Biología) 2001. 527p.
7. Abraham E, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature 1940; 146:837.
8. Sánchez J. Genética de la resistencia bacteriana. Consultado diciembre 2003 <<http://www.insp.mx/silva/9714/sal97142.html>>
9. Recoletos Cia. Editorial.  $\beta$ -lactamasas aumentan la resistencia bacteriana. Consultado diciembre 2003 <<http://www.diario-medico.com/grandeshits/invierno2001/nieve.html>>
10. Moreno A. Resistencia bacteriana frente a antimicrobianos, ¿los está haciendo inútiles el mal uso y el abuso? Consultado diciembre 2003

<<http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/encuentros87/resistencia.htm>>

11. Cercenado E Dr. Resistencia a los antimicrobianos. Consultado diciembre 2003. <[http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/lecciones/resistencia\\_bacteriana\\_mecanismos\\_resistencia.html](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/lecciones/resistencia_bacteriana_mecanismos_resistencia.html)>
12. Bergoglio R. Antibióticos. 5 ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panamericana, 1996
13. Contreras E. Los plásmidos. Consultado diciembre 2003. <<http://www.laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/plasmidos.html>>
14. Sausa E. Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. Ciencia Hoy. 1999; 9: 5-7.
15. Raciman J. Control de la expresión de los genes. Consultado enero 2004. <<http://www.gened.emc.maricopa.edu/bio/bioBioBookPROTSYN.html>>
16. Lañez E. Curso de microbiología general. Consultado diciembre 2003. [http://www.ugr.es/~eianez/microbiologia/21\\_micro.html](http://www.ugr.es/~eianez/microbiologia/21_micro.html)
17. Pacheco J. Los mecanismos de la resistencia microbiana. Consultado noviembre 2004. <http://www.ucsm.edu.pe/ciemucsm/larev/selan.htm>
18. Riveron F, Hernandez J, Ponce L, Machado C. Resistencia bacteriana. Rev. Cubana Med. Milit. 2003; 32: 44-48.
19. Matinez L. Inducción de resistencia a los antimicrobianos. Rev. Hosp. Virgen Macarena. 2003; 1:1-5.

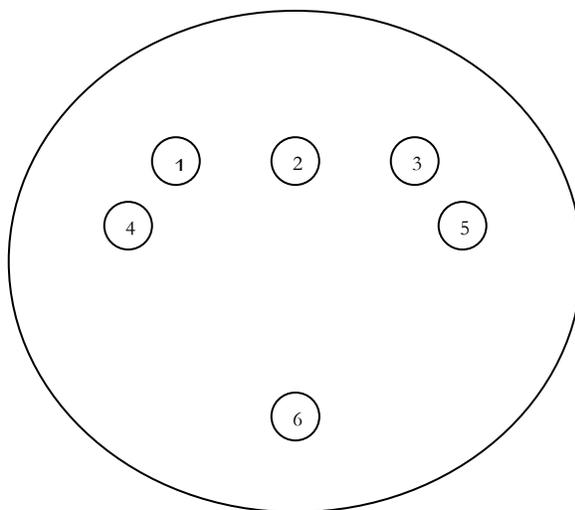
20. Marin M, Guliol F. Antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Consultado en enero 2004. <<http://www.drscope.com/pac/infecto-1/c3/index.ht>>
21. Livermore, D.  $\beta$ -lactamases in laboratory an clinical resístanse. Clin. Microbiol. Rev. October 1995; 8: 557-584.
22. Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases an its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents Chemother. June 1995; 39: 1211-1233.
23. Otero R, Moriega E. Enterobacterias de espectro extendido: su importancia como patógenos nosocomiales. Enf. Infect. y Microbiol. Mayo-junio 1999; 19: 111-156.
24. Chanoine M. Inhibitor-resistant  $\beta$ -lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 1997; 40:1-3.
25. Bus K, Jacoby G. Nomenclatura of TEM  $\beta$ -lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 1997; 39: 1-3.
26. Philippon A, Arlet G, Jacoby G. Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. January 2002; 46: 1-11.
27. Raimondi A, Sisto F, Nikaido H. Mutation in *Serratia marcescens* AmpC  $\beta$ -lactamases producing high-level resistance to ceftazidime and cefpirome. Antimicrob. Agents Chemother. August 2001; 45: 2331-2339.
28. Hanson N. AmpC  $\beta$ -lactamases: what do we need to know for the future?. J. Antimicrob. Chemother. May 2003; 52: 2-4.

29. Medicus abc. Uso racional de antibióticos: mecanismos de resistencia y su impacto clínico. Consultado en enero 2004. [http://www.abcmedicus.com/articulo/id/185/pagina/2/uso\\_racional\\_antibioticos.html](http://www.abcmedicus.com/articulo/id/185/pagina/2/uso_racional_antibioticos.html)
30. Livermore D, Okton K, Carter M, Warner M. Activity of Activity of Ertapenem (MK-0826) versus *Enterobacteriaceae* with Potent  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob. Agent. Chemother.* October 2001; 45:2831-2837.
31. Crespo M. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colom. Med.* 2002; 33: 179-193.
32. Langae T, Gagnon L, Huletsky A. Inactivation of the *ampD* gene in *Pseudomona aeruginosa* leads to moderate-basal-level and hyperinducible AmpC  $\beta$ -lactamase expression. May 2000; 44: 583-589.
33. Pitout, J. The clinical significance of AmpC  $\beta$ -lactamases. *Micro. Newsletter.* January 2002; 1-2.
34. Pfaller M, Jones R. Antimicrobial susceptibility of inducible AmpC  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* form Meropenem yearly susceptibility test information collection (MYSTIC) programme, Europe 1997-2000. Consultado en febrero 2004. <http://www.publimer/indexed/12007846.html>.
35. Rodriguez J, Jones R. Antimicrobial resistance in Gram-negative isolates from European intensive care units: data from the Meropenem yearly susceptibility test information collection (MYSTIC) programme. *J. of Chermot.* January 2002; 14: 25-32.
36. Livermore D, Yuan M.  $\beta$ -lactamases and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* 38:1-11.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo No. 1

Disposición especial de los discos en el antibiograma para encontrar el mecanismo AmpC



1. Ceftazidima
2. Acido clavulánico
3. Cefotaxima
4. Ampicilina
5. Cefoxitin
6. Cefepime

Fuente: Asociación de Microbiología de Argentina. Manual de Antimicrobianos. Boletín No. 13. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Argentina. 1998.

**Anexo 2**  
Ficha Epidemiológica

No.	ANTIBIOTICO	Abrev.	Aislamiento No. _____
1	Amikacina	AK	
2	Amoxicilina/Clavulonato	AUG	
3	Ampicilina/Sulbactam	A/S	
4	Aztreonam	AZT	
5	Cefotaxima	CFT	
6	Cefepime	CPE	
7	Cefotetan	CTN	
8	Cefpodoxime	CPD	
9	Ceftazidima	CAZ	
10	Ceftriaxona	CAX	
11	Ciprofloxacina	CP	
12	Nitrofurantoina	FD	
13	Gatifloxacina	GAT	
14	Gentamicina	GM	
15	Imipenem	IMP	
16	Levofloxacina	LVX	
17	Norfloxacina	NOR	
18	Ofloxacina	OFL	
19	Piperacilina	PI	
20	Piperacilina/tazobactam	P/T	
21	Tetraciclina	TE	
22	Ticarcilina/Clavulonato	TIM	
23	Tobramicina	TO	
24	Trimetoprim	T	
25	Trimetoprim/Sulfametoxazol	TS	

Aislamiento No. _____	Día de aislamiento _____	
Nombre del paciente: _____		Hx Clínica _____
Sala _____	Tipo de muestra: _____	No. Mx _____
Microorganismo aislado _____		