

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Determinación de genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1} en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos aisladas de pacientes con infección adquirida en la comunidad de la ciudad de Guatemala

Jose Fernando Rosales Hidalgo

Maestría en Microbiología de Enfermedades Infecciosas

Guatemala, septiembre de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Determinación de genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1} en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos aisladas de pacientes con infección adquirida en la comunidad de la ciudad de Guatemala

Trabajo de tesis presentado por

Jose Fernando Rosales Hidalgo

Para optar al grado de Maestro en Ciencias

Maestría en Microbiología de Enfermedades Infecciosas

Guatemala, septiembre de 2018

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	DECANO
MA. Elsa Julieta Salazar de Ariza	SECRETARIA
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	VOCAL II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	VOCAL III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	VOCAL IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D

María Ernestina Ardón Quezada, MSc.

Jorge Mario Gómez Castillo, MA.

Clara Aurora García González, MA.

Silvia María Morales Cabrera, MSc.

Dedicatoria

A mi Dios por darme vida, salud y discernimiento para terminar con éxito esta etapa de mi vida, por demostrarme que siempre estarás conmigo.

Guarda los preceptos de Jehová tu Dios, andando en sus caminos, y observando sus estatutos y mandamientos, sus decretos y sus testimonios, de la manera que está escrito en la ley de Moisés, para que prosperes en todo lo que hagas y en todo aquello que emprendas. 1 Reyes 2:3

A mis padres Adolfo Rosales de la Rosa, Elizabeth Hidalgo López, por su ejemplo como padres, su apoyo incondicional en el trayecto de mi vida profesional y por jamás perder la esperanza en mí.

A mis tíos Javier Hernández y Guadalupe Hidalgo López, por su apoyo incondicional, cariño y por su enseñanza de principios y valores

A David Echeverría, Claudia Elizabeth Rosales y a Luis David, por su apoyo incondicional.

Agradecimientos

A M en C Tamara Ileana Velásquez Porta, por aceptar asesorarme y brindarme tiempo, dedicación y esfuerzo, para poder realizar esta tesis.

A Licda Carolina Richter, a Licda Gabriela Penados y al Lic Leonel Penados, por asesorarme y brindarme el espacio y material necesario en BIOLAB, para poder realizar esta investigación.

A Licda Ingrid Tabarini y la Licda Patricia Díaz, por su apoyo en la elaboración de esta investigación.

A el Laboratorio de análisis clínicos de BIOLAB: Stefany, Sury, Alejandra, Cesia y Susy.

A mis amigos Claudia Marina, Ericka, Gaby, Rosita, Walter y Lenin por su ayuda y amistad incondicional en este proceso de mi vida profesional.

RESUMEN

El surgimiento y la diseminación de la resistencia microbiana entre patógenos clínicamente importantes, se reconoce como una grave amenaza para la salud pública, que afecta a los seres humanos en todo el mundo. Los microorganismos multirresistentes no sólo han surgido en el entorno hospitalario, sino que ahora se identifican a menudo en entornos comunitarios, debido al uso indiscriminado de antibióticos en la producción agrícola, veterinaria y la contaminación ambiental por aguas residuales de hospitales.

Pseudomonas aeruginosa es un uno de los patógenos más importantes, con resistencia a múltiples clases de antibióticos, incluidos los β -lactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y polimixinas. Entre los diversos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, la producción de carbapenemasas es uno de los mecanismos más importantes por los cuales *P.aeruginosa* adquiere resistencia a los β -lactámicos, debido a que las carbapenemasas hidrolizan eficazmente a los antibióticos β -lactámicos, limitando las opciones terapéuticas para el tratamiento de infecciones por microorganismos Gram negativo multirresistentes (Munita & Arias, 2016).

Esta investigación tuvo como objetivos determinar la presencia de los genes Imipenem metallo- β -lactamase (*bla*_{IMP-1}) y Verona imipenemase (*bla*_{VIM-1}), en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes de la comunidad, que acudieron al laboratorio clínico BIOLAB y un hospital privado en la ciudad de Guatemala, describir las características demográficas de los pacientes con infección de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos y caracterizar los casos de infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem, según el tipo de muestra clínica biológica. Se utilizó la técnica de biología molecular de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final. El estudio fue descriptivo transversal, con muestreo por conveniencia.

Se recolectaron 31 cepas de *P. aeruginosa* de origen comunitario, 11 cepas fueron analizadas por su resistencia a imipenem y meropenem; de estos 11 aislamientos, 2 (18.18%) cepas fueron productoras de metalo- β -lactamasas, pero no se detectó la presencia de los genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1}. En 9 aislamientos de *P. aeruginosa* (81.82%), no se detectó la producción de metalo- β -lactamasas, o la presencia de los genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1}.

Se observó que los pacientes con edades mayores a 60 años fueron los más afectados por cepas de *P. aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos, con una frecuencia de 54.55% y que las muestras de orina fue en donde se aisló la mayor frecuencia de cepas resistentes a β -lactámicos. Esto concuerda con publicaciones anteriores, donde se describe que los adultos mayores son más susceptibles a contraer infecciones debido a su deficiencia inmunitaria y procesos invasivos a los cuales son sometidos en la atención de su salud.

Los resultados de este estudio demuestran la existencia de cepas *P. aeruginosa* portadoras de genes productores de metalo- β -lactamasas en la comunidad de Guatemala, que ponen en riesgo a más personas fuera de los hospitales. Por ello, se recomienda implementar técnicas de secuenciación que permitan de forma precisa, el diagnóstico de la resistencia a los β -lactámicos observada en cepas de *P. aeruginosa* aisladas de la comunidad, así como la implementación de normas para el control de distribución, venta de antibióticos y el control de aguas residuales de hospitales.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	3
A. Generalidades de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
B. Mecanismos de Resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a los β - lactámicos	4
1 Antibióticos β -lactámicos.....	4
C. Mecanismos de Resistencia a los β -lactámicos	6
1 Pérdida de la porina OprD.....	6
2 Carbapenemasas	6
D. Situación Actual de Resistencia a β -lactámicos en Guatemala.....	11
E. Infecciones Multirresistentes Adquiridas en la Comunidad	11
1 Contaminación por antibióticos en el medio ambiente	12
2 Antibióticos en la producción animal	13
3 Antibióticos en animales de compañía	13
III. JUSTIFICACIÓN.....	15
IV. OBJETIVOS.....	16
A. Objetivo General	16
B. Objetivos Específicos	16
V. METODOLOGÍA	17
A. Unidades de Análisis.....	17
B. Tipo de Estudio	17
C. Recursos	17

D. Materiales.....	17
E. Procedimiento	19
VI. RESULTADOS	22
VII. DISCUSIÓN.....	27
VIII.CONCLUSIONES	32
IX. RECOMENDACIONES.....	33
X. BIBLIOGRAFÍA.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>P. aeruginosa</i> en agar ceftrimida _____	3
Figura 2. Bacilos Gram negativos de <i>P.aeruginosa</i> _____	3
Figura 3. Rango funcional y ambiental de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> _____	5
Figura 4. Interacciones entre grupos _____	12
Figura 5. Interpretación fenotípica de metalo- β -lactamasa a través de la técnica de doble disco EDTA-imipenem en cepa 1 _____	23
Figura 6. Interpretación fenotípica de metalo- β -lactamasa a través de la técnica de doble disco EDTA-imipenem en cepa 2 _____	24
Figura 7. Resultado de electroforesis en gel de agarosa al 1% para la detección del gen <i>bla</i> _{VIM-1} _____	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de carbapenemasas _____	7
Tabla 2. Valores de concentración mínima inhibitoria considerados para la determinación de la sensibilidad y resistencia de <i>P. aeruginosa</i> aisladas _____	19
Tabla 3. Resultados de susceptibilidad a antibióticos β -lactámicos en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aisladas de pacientes de la comunidad. _____	22
Tabla 4. Resultados de determinación de genes <i>bla</i> _{IMP-1} y <i>bla</i> _{VIM-1} en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes a imipenem y/o meropenem al utilizar la técnica de PCR _____	24
Tabla 5. Datos demográficos de pacientes con aislamientos de <i>P.aeruginosa</i> productoras de metalo- β -lactamasas _____	26
Tabla 6. Muestras clínicas en donde se aisló <i>Pseudomonas eruginosa</i> resistente a antibióticos β -lactámicos _____	26

I. INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo, relacionado ampliamente con infecciones nosocomiales. Esta clase de infecciones se presentan en pacientes inmunocomprometidos, hospitalizados y que especialmente, se encuentran en cuidados intensivos.

La terapia antimicrobiana para tales infecciones es cada vez más compleja, porque *Pseudomonas aeruginosa* es intrínsecamente resistente a una amplia cantidad de antibióticos, y presenta una notable capacidad de adquirir genes de resistencia a antibióticos β -lactámicos (Lister, Wolter, & Hanson, 2009).

Las metalo- β -lactamasas (MBL) como: imipenem metallo- β -lactamase (IMP), Verona imipenemase (VIM), São Paulo metallo- β -lactamase (SPM), German imipenemase (GIM) y Adelaide imipenemase (AIM), representan el principal mecanismo adquirido a los antibióticos β -lactámicos en *P. aeruginosa*. Estas enzimas hidrolizan la mayoría de los antibióticos y comprometen la utilidad clínica de los carbapenémicos, en infecciones graves por cepas resistentes a múltiples antibióticos (Polotto et al., 2012).

Este problema no se limita al ámbito hospitalario. La presencia de antibióticos en la producción animal, la agricultura y la contaminación por aguas residuales de hospitales, ha ocasionado el incremento de la prevalencia de microorganismos Gram negativo (*Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas*) resistentes a múltiples antibióticos en los distintos nichos ecológicos (suelo, aguas y alimentos), que exponen al humano a contraer infecciones con resistencia a un amplio grupo de antibióticos en la comunidad (Munita & Arias, 2016).

Por ello, en este estudio se determinó la presencia de genes de resistencias blaIMP-1 y blaVIM-1 en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas de pacientes con infección adquirida en la comunidad, que presentan resistencia a antibióticos β -lactámicos, utilizando la técnica de PCR punto final. No existen

estudios previos en Guatemala que determinen la presencia de estos genes de resistencia en cepas aisladas en comunidad, por lo cual los resultados obtenidos de esta investigación serán de beneficio para el personal y autoridades de salud pública en Guatemala, para conocer la magnitud del problema y emitir alarmas epidemiológicas para aplicar medidas de control.

II. MARCO TEÓRICO

A. Generalidades de *Pseudomonas aeruginosa*

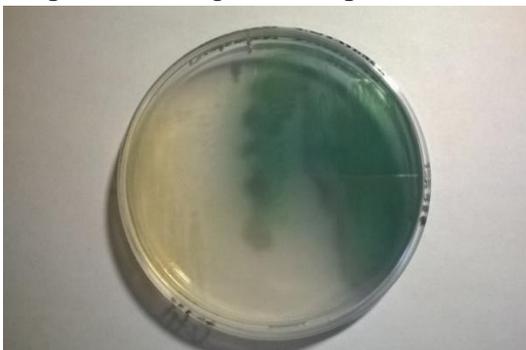
El género *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) pertenece a la familia *Pseudomonadaceae* y se destaca dentro del género debido a su gran implicación clínica. Su nombre proviene del griego *pseudes* (falso), *monas* (una unidad) y *aeruginous* (el color de cobre oxidado) (figura 1).

P.aeruginosa es un bacilo Gram negativo móvil (figura 2), aerobio, catalasa y oxidasa positivo, no fermentador de lactosa y metabólicamente versátil, lo cual le permite crecer a temperaturas superiores a 40°C (Morrison & Wenzel, 1984).

P. aeruginosa se caracteriza por ser un microorganismo ubicuo (figura 3) que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, por lo que se puede encontrar en diversos tipos de ambientes como: tierra, materia orgánica en descomposición, vegetación, agua y ambientes hospitalarios (Gaytán-Alcocer, n.d.; Silby, Winstanley, Godfrey, Levy, & Jackson, 2011).

P. aeruginosa posee una gran capacidad para defenderse, por sus numerosos factores de virulencia, tales como: estructurales (flagelos polares, pilis) que permiten la adhesión y motilidad, sistemas de secreción tipo III que inhiben la fagocitosis (ExoY, ExoS, ExoT y ExoU) (Hauser, 2009), toxigénicos (exotoxina A),

Figura 1. *P. aeruginosa* en agar cetrimida



Fuente: Propia del estudio

Figura 2. Bacilos Gram negativos de *P.*



Fuente: Propia del estudio

enzimáticas (lipasas y fosfolipasas) que causan la represión de la respuesta inmune y rompen los lípidos de las membranas celulares del hospedador (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2014), y la capacidad de formar biofilms, que permite a *P. aeruginosa* colonizar nuevos nichos y sobrevivir en ambientes hostiles (Karatan & Watnick, 2009).

La importancia clínica de *Pseudomonas aeruginosa*, es que logra afectar a pacientes inmunosuprimidos, diabéticos y ancianos (Andueza et al., 2015), con infecciones del tracto respiratorio, bronconeumonía necrotizante, infecciones otorrinolaringológicas (Chiappe, Astocondor, Chávez, García, & Montalvo, 2016), queratitis infecciosa bacteriana (Ruiz Caro, Cabrejas, de Hoz, Mingo, & Duran, 2017), sepsis en pacientes quemados y pacientes con heridas de gran extensión (Urquijo, Rodríguez, Pérez, Manzanar, & González, 2014).

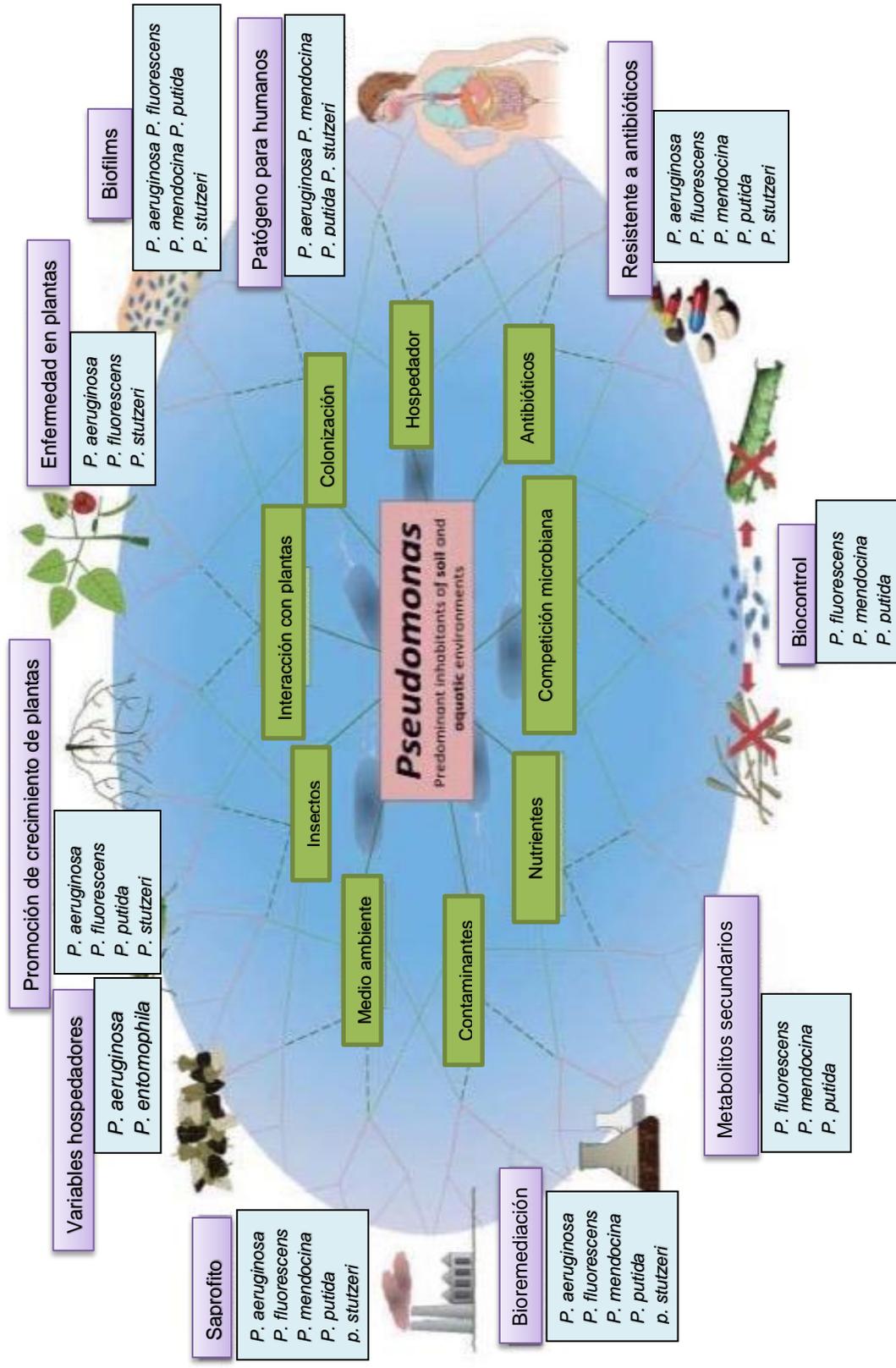
B. Mecanismos de Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los β -lactámicos

1 Antibióticos β -lactámicos

Los β -lactámicos son los antibióticos más utilizados, debido a su facilidad de administración, eficacia, baja toxicidad y amplio espectro terapéutico. Su mecanismo consiste en unirse irreversiblemente a las proteínas de unión de penicilina (enzimas que construyen y mantienen la integridad de la pared celular bacteriana), para interrumpir la síntesis de la pared celular (Worthington & Melander, 2013).

Aunque estos antibióticos presentan una gran importancia terapéutica, la aparición y diseminación de la resistencia a los β -lactámicos, ha llevado al punto en el que muchos betalactámicos comercializados dejen de ser clínicamente efectivos (Qin, Panunzio, & Biondi, 2014).

Figura 3. Rango funcional y ambiental de *Pseudomonas aeruginosa*



Fuente: Silby, Winstanley, Godfrey, Levy B, & Jackson, 2011

C. Mecanismos de Resistencia a los β -lactámicos

1 Pérdida de la porina OprD

Uno de los mecanismos de resistencia a los carbapenémicos es la pérdida de la porina OprD; la pérdida de esta membrana externa, confiere a *P. aeruginosa* una resistencia a carbapenémicos a nivel basal, especialmente a imipenem, por la mutación en el bucle 2 y/o el bucle 3, en la porina OprD (Li, Luo, Williams, Blackwell, & Xie, 2012).

2 Carbapenemasas

Las carbapenemasas son enzimas que pertenecen a la familia de las betalactamasas, capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo de los antibióticos betalactámicos, que provoca la inactivación de las propiedades antibacterianas de la molécula (Bahar, Jamali, & Samadikuchaksaraei, 2010).

Según la clasificación molecular de Ambler (Tabla 1), estas enzimas se agrupan en cuatro familias: A, C y D (dependientes de serina) y B (dependientes de zinc) (Jeon et al., 2015). Las familias A, C y D se denominan serina- β -lactamasas (SBLs), ya que utilizan un residuo de serina para hidrolizar el anillo de los betalactámicos y la familia B, en donde están agrupadas las enzimas llamadas metalo- β -lactamasas (MBLs), que dependen de una molécula de agua condicionada con un catión divalente Zn (II), para romper el anillo betalactámico (Feng et al., 2017).

a) Betalactamasas tipo A, C y D

Las β -lactamasas de clase A, C y D son enzimas basadas en serina, su mecanismo de acción se logra por una serina conservada en un intermedio de acil-enzima covalente, que actúa como el nucleófilo para atacar el enlace C-N de los betalactámicos (Queenan & Bush, 2007).

Tabla 1. Clasificación de Carbapenemasas

Clase Ambler	Sustratos preferidos	Inhibidos por		Enzimas representativas
		AC	EDTA	
C	Cefalosporinas	No	No	AmpC, ACT-1, CMY-2, FOX-1
C	Cefalosporinas	No	No	GC-1, CMY-37
A	Penicilinas	Si	No	PC-1
A	Penicilinas, Cefalosporinas	Si	No	TEM-1, TEM-2, SHV-1
A	Cefalosporinas, monobactámicos	Si	No	TEM-3, SHV-2, PER-1, CTMXM-15, VEB-15
A	Penicilinas	No	No	TEM-30, SHV-10
A	Cefalosporinas, monobactámicos	No	No	TEM-50
A	Carbenicilinas	Si	No	PSE-1, CARB-3
A	Carbenicilinas y Cefepime	Si	No	RTG-4
D	Cloxacilina	Variable	No	OXA-1, OXA-10
D	Cefalosporinas	Variable	No	OXA-11, OXA-15
D	Carbapenémicos	Variable	No	OXA-23, OXA-48
A	Cefalosporinas	Si	No	CepA.
A	Carbapenémicos	Variable	No	KPC-2, IMI-1, SME-1
B	Carbapenémicos	No	Si	IMP-1, VIM-1, CrA, NDM-1
B	Carbapenémicos	No	Si	CphA, Sfh-1

Fuente (Bush & Jacoby, 2010. con modificaciones)

Las carbapenemasas de tipo A se pueden dividir en 5 grupos: GES, KPC, SME, IMI, y NMC-A. Estos grupos comparten identidades de secuencias de aminoácidos con una variación del 32% al 70%, son inhibidas por el clavunato a excepción de algunas enzimas de tipo KPC como KPC2. Estas enzimas son capaces de hidrolizar cefalosporinas y carbapenémicos (Jeon et al., 2015).

Las β -lactamasas de clase C, se caracterizan por conferir resistencia a cefamicinas, penicilinas, imipenem y cefalosporinas. Esta clase está integrada por

las enzimas ACT-1, AmpC, DHA y CMY. Las estructuras generales entre las β -lactamasas de tipo C, son muy similares y consisten en dos dominios principales, de los cuales el dominio 1 tiene una sola α -hélice y el dominio 2 comprende un dominio α / β , así como la conservación en todas las enzimas de la clase C (Bush & Jacoby, 2010).

Las carbapenemasas de tipo D se denominaron OXA, porque hidrolizan comúnmente la isoxazolilpenicilina oxacilina mucho más rápido que la bencilpenicilina. Las enzimas de tipo OXA incluyen más de 400 tipos de enzimas; en base a su secuencia de aminoácidos, las carbapenemasas de clase D se clasificaron en 12 subgrupos: OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-52, OXA-58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 y OXA-235 (Evans & Amyes, 2014). Las identidades de secuencias entre los miembros de los subgrupos son de 90%, mientras que las identidades entre enzimas que pertenecen a diferentes subgrupos son inferiores al 70% (Walther-Rasmussen & Høiby, 2006).

b) Betalactamasas de tipo B

Las carbapenemasas de tipo B son conocidas como metalo- β -lactamasas (MBL), ya que requieren de zinc u otro metal pesado para la catálisis. Las MBL tienen un amplio espectro de sustratos y pueden catalizar la hidrólisis de todos los antibióticos β -lactámicos, con excepción de los monobactámicos (Palzkill, 2013). Estas enzimas se encuentran codificadas en plásmidos lo que les otorga la capacidad de transferencia de material genético a diferentes bacterias (Bennett, 2008).

Las MBL se descubrieron hace más de 40 años; ellas, no se consideraban un problema grave, porque se encontraban codificadas cromosómicamente y en organismos no patógenos. Esto cambió en la década de 1990, cuando se identificaron en una serie de bacilos Gram negativo clínicamente importantes como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (Laraki et al., 1999).

Las primeras MBL cromosómicas detectadas, se encontraron en bacterias patógenas ambientales tales como *Bacillus cereus*, *Aromonas ssp.* y *Stenotrophomonas maltophilia* (Saino, Kobayashi, Inoue, & Mitsuhashi, 1982). Posteriormente, se han identificado hasta ocho tipos de MBL plasmídicas, en una serie de bacilos Gram negativos clínicamente importantes, de las cuales las más extendidas son las IMP y VIM (Walsh, Toleman, Poirel, & Nordmann, 2005).

i. Metallo- β -lactamasas tipo IMP

Las MBL de tipo IMP, fueron las primeras carbapenemasas descritas como capaces de integrarse y dispersarse horizontalmente en elementos transferibles. Las enzimas de tipo IMP tienen una longitud, generalmente, de 246 residuos de aminoácidos excepto IMP-9,-11, -21, -31, 41,-45, que contiene 245 residuos e IMP-37, que contiene 248 aminoácidos de longitud. La proteína madura de IMP-1 contiene 228 residuos y tiene una masa molecular aproximada de 25 kDa (Mojica, Bonomo, & Fast, 2016).

El gen *bla*_{IMP-1} que codifica para las enzimas IMP-1, se detectó por vez primera en 1988 en Japón en la cepa GN17203 de *P. aeruginosa*, en un integrón de clase 1 localizado en un plásmido conjugado. Esta cepa produjo una β -lactamasa que hidrolizó imipenem, gentamicina y sulfonamida (Watanabe, Iyobe, Inoue, & Mitsuhashi, 1991). Tres años más tarde se encontró un gen idéntico en la cepa TN9106 de *Serratia marcescens*, aislada de una infección del tracto urinario en el Hospital de Aichi en Okazaki Japón (Osano et al., 1994). Después de haber sido aislado en Japón, IMP-1 se aisló en varios países asiáticos, en Europa y América del Sur.

IMP-2 se aisló por primera vez de *Acinetobacter baumannii* en Italia en 1997. La identidad de secuencias de IMP-2 con IMP-1 es de 87%, lo que sugiere que tienen diferentes orígenes filogenéticos (Riccio et al., 2000).

La primera enzima IMP que se descubrió en América fue *imp-7*, que se aisló de *Pseudomonas aeruginosa* en Canadá en 1995 y 1996 (Gibb et al., 2002).

Posteriormente las variantes IMP-15 e IMP-18, se aislaron por primera vez en Hospitales de Estados Unidos y México (Martin et al., 2008).

ii. Metallo- β -lactamasas tipo VIM

Son el segundo grupo de MBL adquiridas con mayor frecuencia y presentan resistencia a los betalactámicos, monobactámicos y carbapenémicos. Las enzimas de tipo VIM tienen una longitud generalmente de 266 residuos de aminoácidos, excepto VIM-7 y VIM-18, que contienen 265 y 262 residuos, respectivamente.

La primera enzima de este grupo, fue encontrada en *Pseudomonas aeruginosa*, aislada de una herida quirúrgica de un paciente hospitalizado en el Hospital Universitario de Verona, en el norte de Italia en 1997. Se encontró que el gen *bla*_{VIM-1} que codificaba esta enzima se transmitió por un integrón, lo que dio lugar a su nombre Verona metallo- β -lactamasa 1 o VIM-1. Este aislado clínico, era resistente a una serie de betalactámicos y a antibióticos que incluían piperacilina, ceftacidima, imipenem y aztreonam. El análisis bioquímico, reveló una actividad hidrolizante de carbapenémicos que fue inhibida por EDTA y restaurada con la adición de Zn^{+2} (Lauretti et al., 1999).

La enzima VIM-2 se informó en Francia, también en *Pseudomonas aeruginosa*. La similitud en su secuencia de aminoácidos es de 90% con VIM-1, e hidroliza todos los antibióticos betalactámicos, excepto el monobactámicos (aztreonam) (Poirel et al., 2000a). Después se reportaron cepas de *P. aeruginosa* productoras de VIM en otros países, como Japón, Corea del Sur, Portugal, España, Polonia, Croacia, Chile, Venezuela, Argentina y Bélgica (Cardoso et al., 2002; Mendes et al., 2004; Sardelic, Pallecchi, Punda-Polic, & Rossolini, 2003). En los Estados Unidos y México, también se ha reportado la presencia de las enzimas tipo VIM en Hospitales públicos (Rojas, 2009).

D. Situación Actual de Resistencia a β -lactámicos en Guatemala

Para el año 2010 se comenzó a aplicar en Guatemala, el protocolo regional para la detección de carbapenemasas descrita por la Red de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA), con la participación del Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala.

En el año 2011 se reportaron los primeros dos casos de presencia de MBL tipo NDM-1 en *K. pneumoniae*. El primer caso fue de una niña de 1 año de edad, con neumonía y choque séptico, en donde se logró aislar *K. pneumoniae* con resistencia a meropenem y vancomicina. El segundo caso fue de un adulto, con traumatismo causado por una herida de bala; se aisló *K. pneumoniae* de secreciones traqueales. Las dos cepas aisladas fueron analizadas y se implementó la técnica de PCR la cual confirmó la presencia del gen *bla*_{NDM-1} en las dos cepas aisladas (Pasteran et al., 2012).

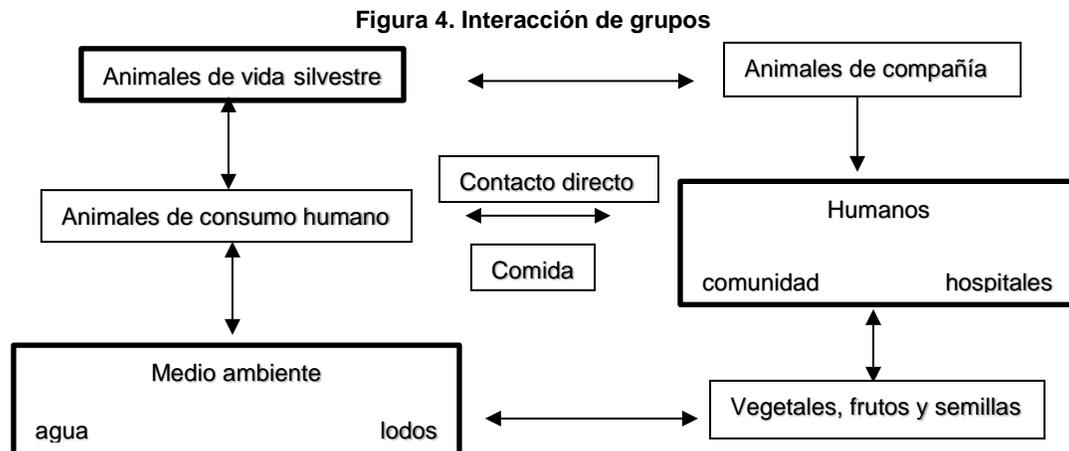
Después se comenzaron a realizar más estudios enfocados a la detección de carbapenemasas y MBL en Guatemala; en cepas de Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE+) aisladas en hospitales privados de Guatemala se detectó la presencia de carbapenemasas NDM-1 y KPC-2 (Chinchilla Puente, Tomas Barrios, & Morales Santizo, 2013).

Tres años después se detectaron, por técnica de PCR, 54 aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a imipenem y meropenem, en Hospital General San Juan de Dios, en el cual se detectaron 49 (91%) cepas de *K. pneumoniae* con la presencia del gen *bla*_{NDM-1} (Velázquez Porta & Lau Bonilla, 2017).

E. Infecciones Multirresistentes Adquiridas en la Comunidad

Típicamente, las bacterias multirresistentes (MR) son asociadas con infecciones nosocomiales; sin embargo, algunas de estas bacterias se han convertido prevalentes en infecciones adquiridas en la comunidad que conducen a un aumento de población en riesgo y, posteriormente, aumenta el número de

infecciones causadas por estas bacterias. Existen factores de riesgo que se asocian a la prevalencia y diseminación de bacterias MR en la comunidad; dentro de ellos, está la presencia de antibióticos en el medioambiente, en la cadena alimentaria y veterinaria (Figura 4.) (van Duin & Paterson, 2016).



Fuente: Basado en da Costa y McEwen et al. con modificaciones

1 Contaminación por antibióticos en el medio ambiente

Tradicionalmente, la resistencia bacteriana se ha visto como un problema clínico; actualmente se ha destacado que los entornos no clínicos son un factor importante en la diseminación de genes de resistencia a los antibióticos (Hocquet, Muller, & Bertrand, 2016).

Los antibióticos pueden ingresar al medio ambiente a través de diferentes rutas, como efluentes de aguas residuales de hospitales en sistemas de tratamiento de aguas y fabricación farmacéutica, que se caracterizan por concentraciones extremadamente altas de bacterias, junto a concentraciones subterapéuticas de antibióticos (Watkins & Bonomo, 2016). A partir de ese punto, los antibióticos o metabolitos pueden terminar en lodos que se utilizan en campos, como fertilizantes o son liberados, hacia aguas superficiales, rutas por las cuales el ser humano puede entrar en contacto con estas bacterias (Liakopoulos, Mevius, Olsen, & Bonnedahl, 2016).

2 Antibióticos en la producción animal

Los antibióticos, en la producción de animales, son administrados por una variedad de razones, que incluyen tanto el tratamiento de enfermedades, como la prevención, control y promoción de crecimiento (Marshall & Levy, 2011). El principal uso de los antibióticos es la promoción del crecimiento, ya que el uso de los antibióticos durante toda la fase de crecimiento, beneficia la tasa y la eficiencia de la ganancia de peso corporal con reducción de la mortalidad. Esta práctica ha exacerbado la aparición y propagación de bacterias resistentes a antibióticos entre animales y de animales a humanos (Granados-Chinchilla & Rodríguez, 2017; Sharma et al., 2009).

Varios estudios han demostrado la aparición de cepas resistentes en animales de consumo humano. En el año 1972, se reportó el aislamiento de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, con un nuevo linaje clonal 398, capaz de infectar a los humanos (Price et al., 2012) y la aparición de cepas de *E. coli* en carne cruda de cerdo con el gen *mcr-1*, mediado por un plásmido estable el cual confiere resistencia a la colistina transferible de animales a humanos (Liu et al., 2016; Rhouma, Beaudry, Thériault, & Letellier, 2016)

3 Antibióticos en animales de compañía

El número de animales domésticos ha aumentado sustancialmente en la sociedad moderna y se dedica cada vez más a la atención del bienestar de las mascotas. Debido a estos cambios, los agentes antimicrobianos se utilizan con mayor frecuencia en la práctica veterinaria, con animales pequeños.

Los antibióticos utilizados incluyen los de amplio espectro, ácido clavulánico y fluoroquinolonas, que a menudo se utilizan de forma indiscriminada en clínicas veterinarias; esto, incrementa la carga de resistencia bacteriana en la comunidad y la propagación de estas cepas patógenas a los humanos, con el contacto directo de piel con piel o el contacto indirecto, a través del ambiente doméstico.

Distintos estudios longitudinales en hospitales veterinarios han indicado la presencia de resistencia a diversos antibióticos en animales de compañía; entre los aislados se encuentran *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* los cuales son patógenos en humanos (da Costa, Loureiro, & Matos, 2013; Guardabassi, Schwarz, & Lloyd, 2004).

III. JUSTIFICACIÓN

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista que se encuentra disperso en una amplia gama de hábitats bióticos, abióticos y causa numerosas infecciones agudas y crónicas en humanos, especialmente en personas con inmunodeficiencia (Varga et al., 2015).

La resistencia a los antimicrobianos de esta especie es una preocupación cada vez más creciente y limita las alternativas terapéuticas. Esta resistencia, es generada por un origen cromosómico y por la aparición de genes transferibles (*bla_{IMP}* y *bla_{VIM}*), que codifican metalo- β -lactamasas (MBL) capaces de hidrolizar la mayoría de los antibióticos β -lactámicos (Felipe, 2010).

En Guatemala, existe un incremento en el aislamiento de cepas de *P. aeruginosa*, en pacientes que adquirieron infección en la comunidad; estos aislamientos presentan resistencia a múltiples antibióticos y en especial los β -lactámicos. Actualmente, no se han realizado estudios relacionados con la determinación de genes de resistencia *bla_{IMP-1}* y *bla_{VIM-1}*, en cepas de *P. aeruginosa* con resistencia a antibióticos β -lactámicos. Por lo tanto, este estudio puede ayudar los profesionales de laboratorio clínico y a las autoridades de salud en Guatemala, a estudiar e implementar programas epidemiológicos, de cepas resistentes a β -lactámicos fuera de los hospitales en Guatemala.

IV. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Identificar la presencia de los genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1} en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem.

B. Objetivos Específicos

1. Identificar la presencia de los genes de resistencia *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1} en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos en pacientes con infección adquirida en la comunidad.
2. Describir las características demográficas de los pacientes con infección de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem.
3. Caracterizar los casos de infección de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem, según el tipo de muestra clínica biológica.

V. METODOLOGÍA

A. Unidades de Análisis

Treinta y una cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas de pacientes que acudieron a laboratorio de análisis clínicos BIOLAB y a un laboratorio clínico de un hospital privado de la ciudad de Guatemala.

B. Tipo de Estudio

Descriptivo trasversal.

C. Recursos

1. Recursos institucionales

Área de microbiología del laboratorio clínico BIOLAB y del laboratorio clínico del hospital privado de Guatemala.

Laboratorio de biología molecular del laboratorio clínico BIOLAB.

D. Materiales

1. Recursos e insumos

- a) Refrigerador.
- b) Congelador.
- c) Incubadora.
- d) Termobloque.
- e) Termociclador.
- f) Cámara de electroforesis.
- g) Fuente de poder.
- h) Microcentrifuga.
- i) Vortex.
- j) Tubos plásticos

- k) Horno de microondas.
- l) Balanza analítica.
- m) Micropipetas.
- n) Puntillas para micropipetas con filtro.
- o) Asas desechables
- p) Guantes desechables de nitrilo sin talco
- q) Cajas Petri con agar sangre y medio de cultivo de transporte

2. Reactivos

- a) Buffer TBE 1X.
- b) Gel de Agarosa.
- c) Agua grado molecular.
- d) Amonio cuaternario al 3% y desinfectante.
- e) dNTP Mix.
- f) $MgCl_2$.
- g) Proteinaza K.
- h) Kit de extracción de ADN: High Pure PCR Template Preparation Kit de Roche ®.
- i) Escalera molecular PCR Markers de Novagen®
- j) GoTaq® polimeraza

3. Primers

- a) blaIMP-1 (F 5_-GGAATAGAGTGGCTTAATTC-3_ R 5_ GCCAAGCTTCTATATTTGCG-3_) con bp de 277 (Garza-Ramos et al., 2008).
- b) blaVIM-1 (F 5_-TTATGGAGCAGCAACCGATGT-3_ R 5_- CAAAAGTCCCGCTCC AACGA-3_) con bp de 920 (Renata Gomes Franco, Hélio Hehl Caiiffa-Filho, & Marcelo Nascimento Burattini, n.d.).

E. Procedimiento

1. Obtención de cepas

Se recuperaron cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos (imipenem y meropenem), provenientes de diversas muestras clínicas aisladas de pacientes, que acudieron al laboratorio de análisis clínicos BIOLAB y a un laboratorio clínico de un hospital privado de la ciudad de Guatemala.

2. Determinación de susceptibilidad antibiótica

La interpretación de resultados de antibiograma se realizó por el método automatizado MicroScan® y el método de disco con la técnica de Kirby-Bauer.

Tabla 2. Valores de concentración mínima inhibitoria considerados para la determinación de la sensibilidad y resistencia de *P. aeruginosa* aisladas

Método	Sensible		Resistente	
	imp	mem	imp	mem
MicroScan®	CIM<4	CIM<4	CIM>8	CIM>8
Kirby-Bauer	16mm	19mm	<13mm	<15mm

imipenem (imp), meropenem (mem).

3. Preparación de las cepas

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem, se conservaron en agar de transporte Stuart, a una temperatura de 12.4 °C. Previo a la extracción de ADN, las cepas aisladas fueron sembradas en agar sangre e incubadas con una temperatura de 32°C.

4. Extracción de ADN bacteriano

La extracción de ADN bacteriano se realizó por medio del Kit de extracción de ADN, High Pure PCR Template Preparation Kit de Roche®.

Se comenzó a partir de un cultivo puro en placa de agar sangre de 24 horas, se recogieron con el asa desechable de 2 a 3 colonias y se resuspendieron en 200 μ l de (PBS, pH 7.4) tampón fosfato salino, con ayuda de vortex. Se agregaron 0.02 mg de Proteinasa K y se incubó a 37°C durante 15 minutos. Se añadieron 200 μ l de reactivo Binding Buffer + 40 μ l de proteinasa K reconstituida, se mezcló inmediatamente varias veces y se incubó a 70°C por 10 minutos. A continuación, se agregaron 100 μ l de Isopropanol; la solución se mezcló con ayuda de la micropipeta, la cual se transfirió a un tubo estéril con filtro, se centrifugó a 10,000 rpm durante 60 segundos y se eliminó el filtrado. Se añadieron 500 μ l de Inhibitor Removal Buffer y se centrifugó 10,000 rpm por 1 minuto y se descartó el filtrado. A continuación se añadieron 500 μ l de Wash Buffer y se centrifugó a 10,000 rpm por 1 minuto, este procedimiento se repitió en dos ocasiones, se finalizó con la adición de 200 μ l de Prewarmed Elution Buffer y se centrifugó a 10,000 rpm por 1 min. El ADN obtenido se guardó a 2°C para su próximo uso.

Para comprobación de una extracción de ADN, se realizó una electroforesis en gel de agarosa con una concentración de 1.5%.

5. Protocolo de amplificación

a) Protocolo de Nov*Taq* Hot Start DNA Polymeras

Se comenzó con la hidratación de primers con 1 ml de agua grado molecular. Para la realización de la Mastermix se tomaron los siguientes parámetros

36.25 μ l de agua grado molecular

1 μ l de dNTP mix.

0.25 μ l de GoTaq® polimeraza

1.25 μ l de primers F

1.25 μ l de primers R

5 μ l de Taq Buffer

4 μ l de MgCl₂

1 µl de ADN bacteriano, con un total de 50 µl, de Mastermix.

b) Protocolo de amplificación

Se programó el termociclador con los siguientes parámetros de temperatura y ciclos para los genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1}:

95°C de iniciación durante 10 min, se continuó con 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 1 minuto, 60°C de alineación para IMP-1 y VIM-1, durante 45 segundos, 72°C de extensión por un 1 minuto con 30 segundos y 72°C de extensión final por 10 minutos (Renata Gomes Franco, Hélio Hehl Caiiffa-Filho, & Marcelo Nascimento Burattini, n.d.).

c) Electroforesis

Los productos de PCR se analizaron por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2%, con una corriente constante de 99v y 50 amp por 45 min. El gel fue teñido con el GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain de Biotium®. Se utilizó la escalera PCR Markers de Novagen® (250 µl PCR Markers 50 lanes 1 ml 6X Loading Buffer), con los valores de bandas: 2000 bp, 1500 bp, 1000 bp, 750 bp, 500 bp, 300 bp, 150 bp y 50 bp, los cuales fueron visualizados bajo luz ultravioleta.

d) Características de tipo de muestra, susceptibilidad antibiótica y demográfica de los pacientes.

La información fue tomada del sistema de registros y base de datos del área de microbiología, del laboratorio clínico BIOLAB y del laboratorio clínico del hospital privado en Guatemala.

VI. RESULTADOS

Durante el periodo Junio-Diciembre de 2017, se aislaron en el área de microbiología del laboratorio BIOLAB, 31 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes que adquirieron infección en la comunidad, las cuales fueron sometidas a ensayos de susceptibilidad a antibióticos por el método de difusión en disco (Kirby Bauer) y por el método automatizado MicroScan®. Se Observó que, 11 (35.48%) aislamientos de *P. aeruginosa* fueron resistentes a antibióticos β -lactámicos (imipenem y meropenem) (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de susceptibilidad a antibióticos β -lactámicos en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes de la comunidad.

Susceptibilidad a antibióticos β -lactámicos	Cepas aisladas (n)	%
Resistentes a imipenem y meropenem	11	35.48%
Sensibles a imipenem y/o meropenem	20	64.52%
Total	31	100%

Las 11 cepas fueron sometidas a la técnica fenotípica para la determinación de producción de metalo- β -lactamasas y a la técnica genotípica PCR; dentro de esas 11 cepas, 2 cepas produjeron metalo- β -lactamasas, al observarse una inhibición de crecimiento con la presencia del disco de EDTA, mientras que en 9 cepas (81.82%), no se observó inhibición de crecimiento, así como la presencia de los genes estudiados, a pesar de que 2 presentaron una alta resistencia a un amplio grupo de antibióticos, que incluían imipenem y meropenem.

La primera cepa (cepa 1) con producción de metalo- β -lactamasa, se aisló de una paciente de género femenino, con edad de 85 años, que acudió al

laboratorio clínico por una infección con secreción en el pie, en donde se tomó a la secreción como muestra clínica. La cepa de *P. aeruginosa* presentó resistencia a 22 antibióticos donde se incluyen los antibióticos- β -lactámicos (imipenem, meropenem, ertapenem y aztreonam), quinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina) y aminoglucósidos (tobramicina). Se realizó la prueba fenotípica de doble disco en donde el crecimiento de la cepa de *P. aeruginosa* fue inhibido por la presencia del disco de EDTA (Figura 5).

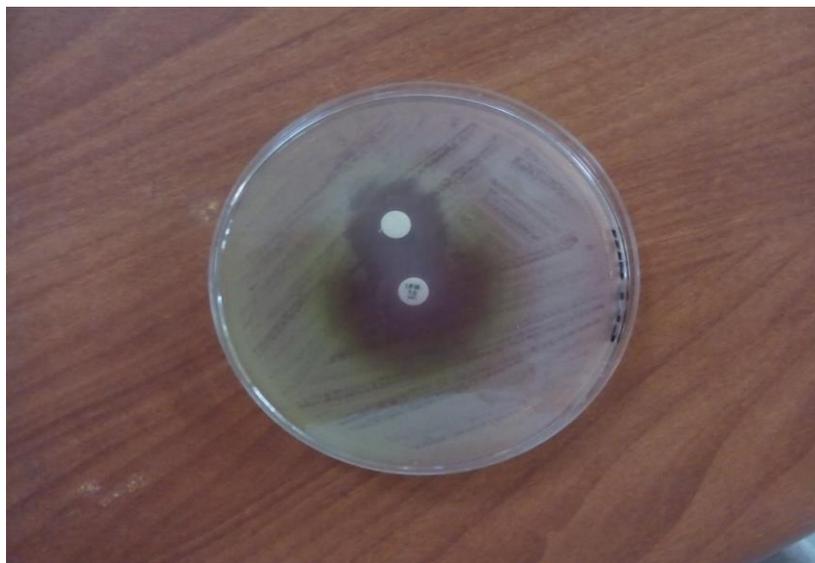
La segunda cepa (cepa2), fue aislada de una paciente de género femenino, con edad de 3 años, la cual presentaba una secreción en el oído, en donde se tomó la muestra clínica. La cepa fue sometida a estudios de susceptibilidad antibiótica con 22 antibióticos que incluían antibióticos- β -lactámicos, (imipenem, meropenem, ertapenem y aztreonam), quinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina) y aminoglucósidos (tobramicina), la cepa presentó resistencia a todos los antibióticos mencionados. Se realizó la prueba fenotípica de doble disco en donde el crecimiento de la cepa de *P. aeruginosa* fue inhibido por la presencia del disco de EDTA (Figura 6).

Figura 4. Interpretación fenotípica de metalo- β -lactamasa a través de la técnica de doble disco EDTA-imipenem en cepa 1



Fuente: Propia del estudio

Figura 5. Interpretación fenotípica de metalo-β-lactamasa a través de la técnica de doble disco EDTA-imipenem en cepa 2



Fuente: Propia del estudio

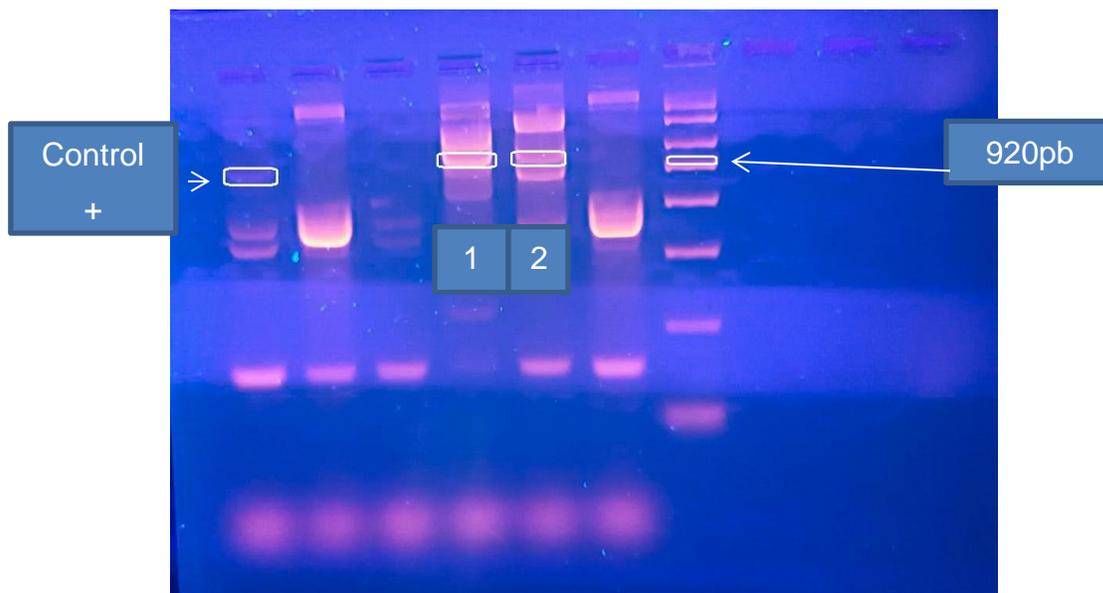
Las dos cepas fueron sometidas a la técnica de PCR, en donde no se observó la presencia del gen *bla*_{IMP-1}. En la determinación de la presencia del gen *bla*_{VIM-1}, se observaron bandas inespecíficas cercanas al peso molecular de 920 pb (Figura 7). Al observar estas bandas inespecíficas, se optó por contar con los servicios del Laboratorio Nacional de Guatemala, los cuales confirmaron la producción de metalo-β-lactamasas, pero sin la presencia del gen *bla*_{VIM-1}, en estas dos cepas, lo cual da lugar a que la resistencia a los antibióticos β-lactámicos puede ser generada por la presencia de otros genes como *bla*_{NDM} y la variante *bla*_{VIM-2} (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de determinación de genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1} en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem, al utilizar la técnica de PCR

Inhibición con EDTA	Número de cepas (n)	%	<i>bla</i> _{IMP-1}	<i>bla</i> _{VIM-1}
+	2	18.18	-	-
-	9	81.82	-	-
Total	11	100%		

Positivo (+) Negativo (-).

Figura 6. Resultado de electroforesis en gel de agarosa al 1% para la detección del gen *bla_{VIM-1}*



1 (cepa numero 1 productora de metalo- β -lactamasas), 2 (cepa numero 2 productora de metalo- β -lactamasas). Fuente: Propia del estudio.

La distribución de cepas resistentes a imipenem y meropenem según el género de los pacientes, fue mayor en el sexo masculino con 6 cepas aisladas (54.55%), pero no se detectó la presencia de cepas productoras de metalo- β -lactamasas. Para el género femenino, el aislamiento fue menor con 5 (45.45%) cepas resistentes, pero se detectó la presencia de 2 cepas productoras de metalo- β -lactamasas, con ausencia de los genes estudiados (Tabla 5).

Se observó que la distribución de cepas resistentes a carbapenémicos, fue mayor en adultos mayores de 60-90 años, con un porcentaje de 54.55%, seguido de adultos de 18-50 años con un porcentaje de 36.36% y, finalmente, en niños con edad de 1-12 años con un porcentaje de 9.09% (Tabla 5).

En las muestras de orina se obtuvo mayor número de aislamientos resistentes, con 7 (63.64%) aislamientos, seguido de 1 (9.09%) aislamiento en los distintos tipos de muestras (Tabla 6).

Tabla 5. Datos demográficos de pacientes con aislamientos de *P.aeruginosa* productoras de metalo- β -lactamasas

Datos demográficos	Número de cepas (n)	%	Cepas con producción de metalo- β -lactamasas	Gen <i>bla</i> presente	
				IMP-1	VIM-1
Genero					
Femenino	5	45.45	2	-	-
Masculino	6	54.55	0	-	-
Edad					
1-12	1	9.09	1	-	-
13-15	0	0	0	-	-
18-30	1	9.09	0	-	-
40-50	3	27.27	0	-	-
60-90	6	54.55	1	-	-

Positivo (+), Negativo (-).

Tabla 6. Muestras clínicas en donde se aisló *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos

Tipo de muestra	n	%
Orocultivo	1	9.09%
Secreción de oído	1	9.09%
Secreción de pie	1	9.09%
Secreciones varias	1	9.09%
Urocultivo	7	63.64%
Total	11	100%

VII. DISCUSIÓN

La propagación en todo el mundo y la creciente prevalencia de bacterias resistentes a múltiples agentes antimicrobianos en hospitales, se ha convertido en una grave amenaza para la salud pública. Sin embargo esta amenaza se ha vuelto prevalente en infecciones adquiridas en la comunidad (Hong et al., 2015).

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo oportunista, que causa infecciones en pacientes inmunosuprimidos. Se encuentra ampliamente disperso por el medio ambiente, ya que se adapta fácilmente a diferentes condiciones ambientales (Krylov, Shaburova, Krylov, & Pleteneva, 2012).

A principios del año 2017 la OMS presentó su primera lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos, en la que se incluyeron las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. En esta lista se incluyó a *Pseudomonas aeruginosa*, como una bacteria que provoca infecciones graves y a menudo letales, por su adquisición de resistencia a un elevado número de antibióticos, como los carbapenémicos (Kahlmeter & Singh, n.d.).

En esta investigación se observó que 11 cepas de *P. aeruginosa* (35.48%) aisladas de pacientes de la comunidad, fueron resistentes a antibióticos β -lactámicos; datos similares fueron reportados en un estudio epidemiológico realizado en América Latina, en donde Guatemala reportó una prevalencia de 36% de cepas de *P. aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos (Labarca, Salles, Seas, & Guzmán-Blanco, 2014).

Los resultados obtenidos en esta investigación, exponen la presencia de cepas en la comunidad que portan genes de resistencia, al aislarse 2 (18.18%) cepas de *P.aeruginosa* productoras de metalo- β -lactamasas. Un estudio previo realizado en Grecia, reportó también el aislamiento de 45 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo- β -lactamasas. Estas, fueron aisladas de adultos mayores que adquirieron infección en la comunidad; los aislamientos fueron

sometidos a pruebas genotípicas; se obtuvo resultados positivos para el gen *bla_{vim-2}* (Tsakris et al., 2009). Esto ejemplifica la diseminación que han tenido los genes de resistencia en el entorno extrahospitalario y la posibilidad de transmisión de persona a persona en la comunidad.

En la investigación se observó que 2 cepas de *P. aeruginosa* fueron productoras de metalo- β -lactamasas, pero no se detectó la presencia de los genes tipo *bla_{IMP-1}* y *bla_{VIM-1}*; esta resistencia, puede ser generada por la presencia de otros genes incluidos dentro de la clasificación de carbapenemasas de clase B, como *bla_{NDM-1}* y variantes en la clase VIM, como *bla_{VIM-2}* que se han diseminado en todo el mundo y comienzan a ser predominantes.

El gen *bla_{NDM-1}* fue aislado por primera vez en un paciente que ingresó previamente a un hospital en Nueva Delhi, India en 2009. Desde entonces se han identificado seis variantes adicionales de NDM (NDM-2 a NDM-7) en *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *E. coli* (Jovcic et al., 2011). El primer reporte de aislamiento en América del Norte de cepas de *P. aeruginosa* productora de NDM-1, se realizó en Canadá en el año 2016, al aislarse de un paciente de 70 años de edad que viajó a la india. Esto demuestra que determinantes génicos (transposones, integrones y plásmidos) son transferibles a otras especies Gram negativo, así como la propagación de estas cepas, a causa de viajes de pacientes a zonas endémicas, que extienden las tasas de resistencia y complican el tratamiento en pacientes infectados (Mataseje et al., 2016).

Los primeros reportes de la presencia del gen *bla_{NDM-1}* en Guatemala, fueron realizados en el año 2011, en cepas de *K. pneumoniae* aisladas de dos pacientes ingresados a cuidados intensivos en el hospital Roosevelt (Pasteran et al., 2012). En 2017, se reportó el aislamiento de 54 cepas de *K. pneumoniae* resistentes a imipenem y meropenem en el Hospital General San Juan de Dios, en el cual se detectaron que 49 cepas de *K. pneumoniae*, fueron positivas al gen *bla_{NDM-1}* (Velázquez Porta & Lau Bonilla, 2017), esto demuestra que el gen *bla_{NDM-1}*

es el gen más frecuente en aislamientos de cepas resistentes a imipenem y meropenem. Con estos datos reportados, el gen *bla*_{NDM-1} se puede considerar como un posible generador de la resistencia observada en las cepas aisladas en este estudio.

La variante *bla*_{VIM-2}, fue descrita por primera vez en Marsella Francia en 1996, en una cepa de *P. aeruginosa* aislada de un hemocultivo de una mujer tratada con imipenem (Poirel et al., 2000b). Con el tiempo se ha reportado la presencia del gen *bla*_{VIM-2} en 25 países que incluyen México y Estados Unidos. Estos hallazgos y estudios previos, demuestran que la variante *bla*_{VIM-2}, es el gen más dominante y es asociado con brotes en todo el mundo (Zafer, Al-Agamy, El-Mahallawy, Amin, & El Din Ashour, 2015).

En este estudio no se observó la presencia del gen *bla*_{IMP-1}, a pesar de ser la primera MBL descrita que contaba con mayor predominio y expansión clonal en el mundo (Queenan & Bush, 2007). Los países del continente Americano, en donde se han aislados cepas con presencia del gen *bla*_{IMP-1} y sus variantes han sido, Brasil, México, Estados Unidos, Canadá y Puerto Rico (Gibb et al., 2002; Lister et al., 2009; Martins, Zavascki, Gaspareto, & Barth, 2007; Quinones-Falconi et al., 2010), pero a pesar de esto la ausencia del gen *bla*_{IMP-1}, puede atribuirse a un cambio en la prevalencia de tipos de MBL dominantes, debido a mayor propagación clonal de las MBL de tipo VIM, NDM que se propagan rápidamente en el mundo. (Siarkou, Vitti, Protonotariou, Ikonomidis, & Sofianou, 2009; Tsakris et al., 2009).

En 9 de los 11 aislamientos de *P. aeruginosa*, no se detectó la presencia de metalo- β -lactamasas y de los genes estudiados, a pesar de su resistencia a imipenem y meropenem. Esto puede explicarse por los diversos mecanismos de resistencia intrínsecos y adquiridos que posee *P. aeruginosa* ante los antibióticos β -lactámicos, como la deficiencia de la membrana externa OprD, sobre expresión

de bombas de eflujo (Hong et al., 2015), así como la producción de otras carbapenemasas de tipo A, C y D que no son inhibidas con la presencia de EDTA.

Los integrones móviles han sido los contribuyentes en la propagación de la resistencia a los antibióticos, particularmente entre bacterias Gram negativo. Los integrones han acumulado un gran número de genes de resistencia y estos han aumentado en abundancia, lo que aumenta la posibilidad de interacciones con otros ADN y así generar elementos nuevos móviles y cada vez más complejos que portan resistencia a múltiples antibióticos, desinfectantes y metales pesados (Gillings, 2014).

Los pacientes mayores de 60 años de edad, fueron quienes presentaron mayor frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos y en quienes se aisló una cepa productora de metalo- β -lactamasa. Esta mayor frecuencia quizá puede ser generada por la existencia de diversos factores que favorecen las infecciones causadas por *P. aeruginosa*, como la presencia de debilitamiento del sistema inmunitario (inmunosenescencia), el incremento de la comorbilidad, en especial de enfermedades crónicas (diabetes, insuficiencia cardíaca e insuficiencia renal), aislamiento social y elevada frecuencia de procedimientos agresivos (sondas y catéter) (Masanés, Sacanella & López, 2002). También se observó cepa con producción de metalo- β -lactamasa en una paciente con edad de tres años; esto, puede ser asociado a enfermedades subyacentes que deterioran el sistema inmunitario, como tumores malignos, quemaduras, neutropenia febril, quimioterapias y desnutrición (Zhang, Smith, Zhu, Guo, & MacDonald, 2012).

P. aeruginosa se caracteriza como patógeno oportunista en pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos, capaz de causar múltiples infecciones como neumonía, infecciones del tracto urinario, otitis media, queratitis y en tejidos blandos con quemaduras y cirugías (Sousa & Pereira, 2014).

Las infecciones de tracto urinario son de las más frecuentes, tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad. En el 82% de los casos, las infecciones urinarias son ocasionadas por *Enterobacteriaceae*. Sin embargo *P. aeruginosa* ha desempeñado un papel importante al verse cada vez más en infecciones del tracto urinario asociadas a catéter y al considerarse como el tercer patógeno más frecuente en infecciones urinarias complicadas (Tielen et al., 2013). Esta información concuerda con los datos obtenidos correspondientes al tipo de muestra, en donde se observó que las muestras de orina presentaron el mayor aislamiento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos.

Esta investigación tuvo la limitación en la consulta del historial clínico de los pacientes, ya que estos acudieron a laboratorios clínicos privados, los cuales cumplen sus normas de protección de identidad de los pacientes, así como la limitación económica, ya que no se examinaron más genes incluidos en la clasificación B.

A pesar de esta limitación, los resultados obtenidos de la investigación son muy importantes ya que muestran el incremento de cepas *P. aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos. También se encontró que la aparición y propagación de genes de resistencia en *P. aeruginosa* en la comunidad es una realidad que afecta a pacientes con inmunodeficiencia o inmunosupresión.

Para controlar esta propagación y prevenir una epidemia en Guatemala, es necesario implementar una vigilancia dedicada a patógenos capaces de producir carbapenemasas aislados en comunidad e implementar normas para el control de venta de antibióticos.

VIII. CONCLUSIONES

1. Se aislaron 11 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes a imipenem y/o meropenem, de las cuales ninguna cepa fue positiva para los genes *bla*_{IMP-1} y *bla*_{VIM-1}; sin embargo se detectaron 2 cepas productoras de metalo- β -lactamasas (18.18%). Ello, demuestra la propagación de los genes de resistencia a antibióticos β -lactámicos en el entorno extrahospitalario y el riesgo de transmisión de persona a persona en Guatemala.
2. En 9 (81.82%) aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem y/o meropenem no se detectó ningún gen de los estudiados, ni la producción de metalo- β -lactamasas.
3. Los aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia a antibióticos- β -lactámicos fue mayor en adultos mayores, con edades de 60 a 90 años (54.55%).
4. El aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a antibióticos β -lactámicos se observó con mayor frecuencia en muestras de orina (63.64%).

IX. RECOMENDACIONES

1. Implementar la vigilancia epidemiológica de infecciones multirresistentes en la comunidad.
2. Implementar una red de información en el tema de resistencia bacteriana entre instituciones públicas y privadas.
3. Investigar la presencia de otros genes de carbapenemasas en microorganismos de importancia clínica aislados en la comunidad.
4. Informar a la sociedad sobre los riesgos del uso indiscriminado de antibióticos de usos clínico, veterinario y plaguicidas.
5. Implementar normas para la venta y almacenamiento de antibióticos a cargo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
6. Aumentar la conciencia en intensificar las prácticas de control de infecciones en el hospital, así como en el entorno comunitario, para reducir la propagación de estos microorganismos resistentes a antibióticos β -lactámicos.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Andueza, F., Albuja, A., Arguelles, P., Escobar, S., Espinoza, C., Araque, J., & Medina, G. (2015). Resistencia antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de aguas termales de la provincia del Chimborazo, Ecuador. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. Recuperado el 2 de enero del 2018, de <https://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/viewFile/1545/1673>
- Bahar, M., Jamali, S., & Samadikuchaksaraei, A. (2010). Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains carry metallo- β -lactamase gene blaVIM in a level I Iranian burn hospital. *Burns*. Recuperado el 4 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.10.011>
- Bennett, P. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*. Recuperado el 4 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707607>
- Bush, K., & Jacoby, G. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 12 enero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Cardoso, O., Leitão, R., Figueiredo, A., Sousa, J., Duarte, A., & Peixe, L. (2004). Metallo- β -Lactamase VIM-2 in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Portugal. *Microbial Drug Resistance*. Recuperado el 8 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1089/107662902760190635>
- Chiappe, A., Astocondor, L., Chávez, G., García, Y., & Montalvo, R. (2016). Otitis externa maligna con ectima gangrenoso en un paciente con infección por VIH. *Infectio*. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.06.003>
- Chinchilla, A., Tomas, B., & Morales, R. (2013). *Detección de carbapenemasas tipo NDM-1 y KPC-2 en Enterobacterias BLEE+: evaluación fenotípica con confirmación genotípica* (Tesis de Medico Cirujano). Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado el 5 de Febrero del 2018, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_9215.pdf
- Da Costa, P., Loureiro, L., & Matos, A. (2013). Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: the interface between humans, animals and the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. Recuperado el 6 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.3390/ijerph10010278>
- Evans, B, & Amyes, S. (2014). OXA β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* Recuperado el 3 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
- Felipe, M. (2010). Determinación de metaloenzimas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* Provenientes del Hospital General San Juan de Dios (Tesis de Química Bióloga). Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado el 17 de febrero del 2018, el http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2986.pdf

- Feng, H., Liu, X., Wang, S., Fleming, J., Wang, D.-C., & Liu, W. (2017). The mechanism of NDM-1-catalyzed carbapenem hydrolysis is distinct from that of penicillin or cephalosporin hydrolysis. *Nature Communications*. Recuperado el 3 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02339-w>
- Garza-Ramos, U., Morfin-Otero, R., Sader, H., Jones, R., Hernández, E., Rodríguez-Noriega, E., & Silva-Sanchez, J. (2008). Metallo- β -lactamase gene blaIMP-15 in a class 1 integron, In95, from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a hospital in Mexico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 15 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/AAC.00679-07>
- Gaytán-Alcocer. (2015). Diagnóstico Molecular de *Pseudomonas aeruginosa*. Recuperado el 2 de febrero del 2018 de [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/59130/Diagnóstico molecular de *Pseudomonas aeruginosa*.pdf?sequence=1](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/59130/Diagnóstico%20molecular%20de%20Pseudomonas%20aeruginosa.pdf?sequence=1)
- Gibb, A., Tribuddharat, C., Moore, R., Louie, T., Krulicki, W., Livermore, D., & Woodford, N. (2002). Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with a new bla(IMP) allele, bla(IMP-7). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 25 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/AAC.46.1.255-258.2002>
- Gillings, M. (2014). Integrons: past, present, and future. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*. Recuperado el 12 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1128/MMBR.00056-13>
- Gomes, M., Caiaffa-Filho, H., & Burattini, M. (2010). Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital. Recuperado el 3 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1590/S1807-59322010000900002>
- Granados-Chinchilla, F., & Rodríguez, C. (2017). Tetracyclines in Food and Feedingstuffs: From Regulation to Analytical Methods, Bacterial Resistance, and Environmental and Health Implications. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. Recuperado el 7 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1155/2017/1315497>
- Guardabassi, L., Schwarz, S., & Lloyd, D. (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria: Review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Recuperado el 25 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1093/jac/dkh332>
- Hauser, A. (2009). The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nature Reviews. Microbiology*. Recuperado el 12 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1038/nrmicro2199>
- Hocquet, D., Muller, A., & Bertrand, X. (2016). What happens in hospitals does not stay in hospitals: antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. *Journal of Hospital Infection*. Recuperado el 23 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.01.010>
- Hong, D. J., Bae, I. K., Jang, I.-H., Jeong, S. H., Kang, H.-K., & Lee, K. (2015). Epidemiology and Characteristics of Metallo- β -Lactamase-Producing *Pseudomonas*

- aeruginosa. *Infection & Chemotherapy*. Recuperado el 23 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.3947/ic.2015.47.2.81>
- Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C.-R., ... Lee, S. H. (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. Recuperado el 19 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.3390/ijms16059654>
- Jovcic, B., Lepsanovic, Z., Suljagic, V., Rackov, G., Begovic, J., Topisirovic, L., & Kojic, M. (2011). Emergence of NDM-1 metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Serbia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 12 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1128/AAC.00226-11>
- Kahlmeter, G., & Singh, N. (2017). Global Priority List Of Antibiotic-Resistant Bacteria To Guide Research, Discovery, And Development Of New Antibiotics. Recuperado el 13 de abril del 2018, de http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1
- Karatan, E., & Watnick, P. (2009). Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*. Recuperado el 24 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1128/MMBR.00041-08>
- Krylov, V., Shaburova, O., Krylov, S., & Pleteneva, E. (2012). A genetic approach to the development of new therapeutic phages to fight *pseudomonas aeruginosa* in wound infections. *Viruses*. Recuperado el 15 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.3390/v5010015>
- Labarca, J., Salles, M., Seas, C., & Guzmán-Blanco, M. (2014). Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America. *Critical Reviews in Microbiology*. Recuperado el 4 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.940494>
- Laraki, N., Galleni, M., Thamm, I., Riccio, M., Amicosante, G., Frère, J., & Rossolini, G. (1999). Structure of In31, a blaIMP-containing *Pseudomonas aeruginosa* integron phyletically related to In5, which carries an unusual array of gene cassettes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 14 de marzo del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10103196>
- Lauretti, L., Riccio, M., Mazzariol, A., Cornaglia, G., Amicosante, G., Fontana, R., & Rossolini, G. (1999). Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 21 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10390207>
- Li, H., Luo, Y., Williams, B., Blackwell, T., & Xie, C. (2012). Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*. Recuperado el 15 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2011.10.001>
- Liakopoulos, A., Mevius, D., Olsen, B., & Bonnedahl, J. (2016). The colistin resistance *mcr-1* gene is going wild: Table 1. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.

Recuperado el 18 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1093/jac/dkw262>

- Lister, P., Wolter, D., & Hanson, N. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*. Recuperado el 24 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1128/CMR.00040-09>
- Liu, Y.-Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L.-X., Zhang, R., Spencer, J., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. Recuperado el 18 de febrero del 2018, de [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- Marshall, B., & Levy, S. (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*. Recuperado el 19 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-11>
- Martin, C., Morita, K., Ribes, J., Deshpande, L., Sader, H., & Castanheira, M. (2008). IMP-15-producing *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated in a U.S. medical center: a recent arrival from Mexico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 18 de febrero del 2018 de <https://doi.org/10.1128/AAC.00299-08>
- Martins, A., Zavascki, A., Gaspareto, P., & Barth, A. (2007). Dissemination of *Pseudomonas aeruginosa* Producing SPM-1-like and IMP-1-like Metallo- β -lactamases in Hospitals from Southern Brazil. *Infection*. Recuperado el 5 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1007/s15010-007-6289-3>
- Masanés, F., Sacanella, E., López-Soto, A. (2002). Infecciones en el anciano. *Med Integral*, Recuperado el 23 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1016/B978-84-9022-917-0/00315-2>
- Mataseje, L., Peirano, G., Church, D., Conly, J., Mulvey, M., & Pitout, J. (2016). Colistin-Nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* Sequence Type 654 with blaNDM-1 Arrives in North America. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 24 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/AAC.02591-15>
- Mendes, R., Castanheira, M., Garcia, P., Guzman, M., Toleman, M. A., Walsh, T. (2004). SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. (2004). First isolation of bla(VIM-2) in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 20 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/AAC.48.4.1433-1434.2004>
- Mojica, M., Bonomo, R., & Fast, W. (2016). B1-Metallo- β -Lactamases: Where Do We Stand? *Current Drug Targets*. Recuperado el 22 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424398>
- Morrison, A., & Wenzel, R. (1984). Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Reviews of Infectious Diseases*, 6 Suppl 3, Recuperado el 15 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6443765>
- Munita, J., & Arias, C. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology*

- Spectrum*. Recuperado el 12 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Murray, P., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2014). *Microbiología médica*. España: Elsevier Editora.
- Osano, E., Arakawa, Y., Wacharotayankun, R., Ohta, M., Horii, T., Ito, H., & Kato, N. (1994). Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 13 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8141584>
- Palzkill, T. (2013). Metallo- β -lactamase structure and function. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Recuperado el 24 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x>
- Pasteran, F., Albornoz, E., Faccone, D., Gomez, S., Valenzuela, C., Morales, M., & Corso, A. (2012). Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Guatemala. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Recuperado el 27 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1093/jac/dks101>
- Poirel, L., Naas, T., Nicolas, D., Collet, L., Bellais, S., Cavallo, J. D., & Nordmann, P. (2000a). Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 2 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10722487>
- Polotto, M., Casella, T., de Lucca Oliveira, M., Rúbio, F., Nogueira, M., de Almeida, M., & Nogueira, M. (2012). Detection of *P. aeruginosa* harboring bla CTX-M-2, bla GES-1 and bla GES-5, bla IMP-1 and bla SPM-1 causing infections in Brazilian tertiary-care hospital. *BMC Infectious Diseases*. Recuperado el 15 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-176>
- Porta, T., & Bonilla, D. (2017). Detección de los genes de carbapenemasas *bla*_{KPC} y *bla*_{NDM} en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala. *Revista Científica (Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas)* (Vol. 26). Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado el 5 de marzo del 2018, de <http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt/index.php/qyf/article/view/474/425>
- Price, L., Stegger, M., Hasman, H., Aziz, M., Larsen, J., Andersen, P., & Aarestrup, F. (2012). *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *mBio*. Recuperado el 6 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1128/mBio.00305-11>
- Qin, W., Panunzio, M., & Biondi, S. (2014). β -Lactam Antibiotics Renaissance. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. Recuperado el 5 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.3390/antibiotics3020193>
- Queenan, A., & Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clinical*

Microbiology Reviews. Recuperado el 7 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>

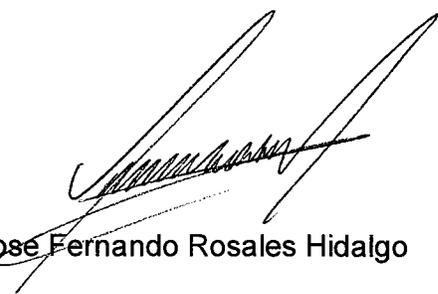
- Quinones-Falconi, F., Galicia-Velasco, M., Marchiaro, P., Mussi, M., Ballerini, V., Vila, A., & Limansky, A. (2010). Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing metallo- β -lactamases of the IMP-15 and VIM-2 types in Mexico. *Clinical Microbiology and Infection*. Recuperado el 24 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02780.x>
- Rhouma, M., Beaudry, F., Thériault, W., & Letellier, A. (2016). Colistin in Pig Production: Chemistry, Mechanism of Antibacterial Action, Microbial Resistance Emergence, and One Health Perspectives. *Frontiers in Microbiology*. Recuperado el 6 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01789>
- Riccio, M. L., Franceschini, N., Boschi, L., Caravelli, B., Cornaglia, G., Fontana, R., ... Rossolini, G. M. (2000). Characterization of the metallo-beta-lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of bla(IMP) allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 13 de marzo del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10770756>
- Rojas, F. (2009). Identificación de Genes Responsables de Resistencia a Carbapenemicos en Cepas Nosocomiales de *Pseudomonas aeruginosa* Aisladas en Algunos Hospitales de México(Tesis Maestria en Ciencias Médicas). Universidad de Colima. Recuperado el 15 de marzo del 2018, de http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/ROJAS_LARIOS_FABIAN.pdf
- Ruiz, J., Cabrejas, L., de Hoz, M., Mingo, D., & Duran, S. (2017). Características clínicas y microbiológicas en queratitis infecciosas bacterianas en un hospital de tercer nivel. *Archivos de La Sociedad Española de Oftalmología*. Recuperado el 12 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.ofal.2017.01.004>
- Saino, Y., Kobayashi, F., Inoue, M., & Mitsunashi, S. (1982). Purification and properties of inducible penicillin beta-lactamase isolated from *Pseudomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 24 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6983856>
- Sardelic, S., Pallecchi, L., Punda-Polic, V., & Rossolini, G. (2003). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*-carrying VIM-2 metallo-beta-lactamase determinants, Croatia. *Emerging Infectious Diseases*. Recuperado el 26 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.3201/eid0908.020373>
- Sharma, R., Larney, F., Chen, J., Yanke, L., Morrison, M., Topp, E., & Yu, Z. (2009). Selected Antimicrobial Resistance during Composting of Manure from Cattle Administered Sub-Therapeutic Antimicrobials. *Journal of Environment Quality*. Recuperado el 23 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.2134/jeq2007.0638>
- Siarkou, V., Vitti, D., Protonotariou, E., Ikonomidis, A., & Sofianou, D. (2009). Molecular epidemiology of outbreak-related *pseudomonas aeruginosa* strains carrying the novel variant blaVIM-17 metallo-beta-lactamase gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 6 de enero del 2018, de

<https://doi.org/10.1128/AAC.01230-08>

- Silby, M., Winstanley, C., Godfrey, S., Levy, S., & Jackson, R. (2011). *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiology Reviews*. Recuperado el 24 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00269.x>
- Sousa, A., & Pereira, M. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* Diversification during Infection Development in Cystic Fibrosis Lungs-A Review. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. Recuperado el 10 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.3390/pathogens3030680>
- Tielen, P., Rosin, N., Meyer, A.-K., Dohnt, K., Haddad, I., Jänsch, L., & Jahn, D. (2013). Regulatory and metabolic networks for the adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to urinary tract-like conditions. *PloS One*. Recuperado el 9 de marzo del 2018 de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071845>
- Tsakris, A., Poulou, A., Kristo, I., Pittaras, T., Spanakis, N., Pournaras, S., & Markou, F. (2009). Large dissemination of VIM-2-metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains causing health care-associated community-onset infections. *Journal of Clinical Microbiology*. Recuperado el 7 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/JCM.01099-09>
- Urquijo, A., Rodríguez, J., Pérez, R., Manzanos, R., & González, G. (2014). Comportamiento y pronóstico de la sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* en heridas por quemaduras. *Acta Médica Del Centro*. Recuperado el 4 enero del 2018, de <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/146>
- Van Duin, D., & Paterson, D. (2016). Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned. *Infectious Disease Clinics of North America*. Recuperado el 8 de marzo del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.004>
- Varga, J., Barbier, M., Mulet, X., Bielecki, P., Bartell, J., Owings, J., & Goldberg, J. (2015). Genotypic and phenotypic analyses of a *Pseudomonas aeruginosa* chronic bronchiectasis isolate reveal differences from cystic fibrosis and laboratory strains. *BMC Genomics*. Recuperado el 23 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2069-0>
- Walsh, T., Toleman, M., Poirel, L., & Nordmann, P. (2005). Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clinical Microbiology Reviews*. Recuperado el 12 de enero del 2018, de <https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.306-325.2005>
- Walther-Rasmussen, J., & Høiby, N. (2006). OXA-type carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Recuperado el 19 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1093/jac/dki482>
- Watanabe, M., Iyobe, S., Inoue, M., & Mitsuhashi, S. (1991). Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Recuperado el 11 de febrero del 2018, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1901695>
- Watkins, R., & Bonomo, R. (2016). Overview: Global and Local Impact of Antibiotic Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*. Recuperado el 6 de febrero

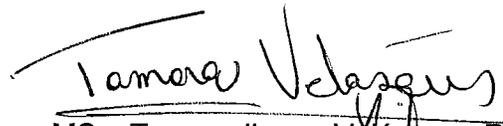
del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.001>

- Worthington, R., & Melander, C. (2013). Overcoming resistance to β -lactam antibiotics. *The Journal of Organic Chemistry*. Recuperado el 5 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1021/jo400236f>
- Zafer, M., Al-Agamy, M., El-Mahallawy, H., Amin, M., & El Din Ashour, S. (2015). Dissemination of VIM-2 producing *Pseudomonas aeruginosa* ST233 at tertiary care hospitals in Egypt. *BMC Infectious Diseases*. Recuperado el 4 de febrero del 2018, de <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0861-8>
- Zhang, Q., Smith, J., Zhu, Q., Guo, Z., & MacDonald, N. (2012). A five-year review of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in children hospitalized at a single center in southern China. *International Journal of Infectious Diseases : IJID : Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*. Recuperado el 23 de abril del 2018, de <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.03.014>



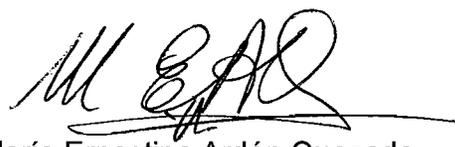
José Fernando Rosales Hidalgo

AUTOR



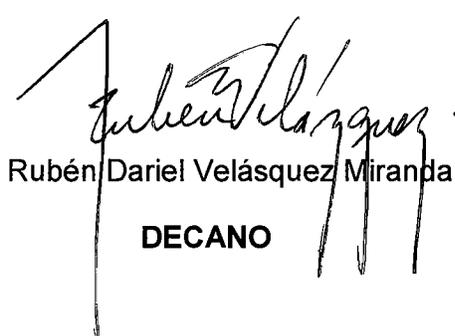
MSc. Tamara Ileana Velásquez Porta

ASESORA



MSc. María Ernestina Ardón Quezada

DIRECTORA



Dr. Rubén Daríel Velásquez Miranda

DECANO