

P. 1644
M. S. A.

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LOS ANDES

POSTGRADO DE MEDICINA INTERNA

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS β -LACTAMASAS DE
ESPECTRO EXTENSO EN ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE
INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN ADULTOS:**

**SERVICIOS DE HOSPITALIZACIÓN DEL INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL
UNIVERSITARIO DE LOS ANDES, MÉRIDA VENEZUELA MARZO-JULIO 2013.**

www.bdigital.ula.ve

ABREU CORONADO SANTINA ISABEL

TUTORES: ESPC. II. RAIMONDO CALTAGIRONE

DRA. MARÍA DEL CARMEN ARAQUE.

MÉRIDA, VENEZUELA

2013.

DONACION

SERBIULA
Tullo Febres Cordero

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS β -LACTAMASAS DE
ESPECTRO EXTENSO EN ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE
INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN ADULTOS:**

**SERVICIOS DE HOSPITALIZACIÓN DEL INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL
UNIVERSITARIO DE LOS ANDES, MÉRIDA VENEZUELA MARZO-JULIO 2013.**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO POR EL MEDICO
CIRUJANO SANTINA ISABEL ABREU CORONADO CI: 15.993.779, ANTE EL
CONSEJO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LOS
ANDES, COMO CREDENCIAL DE MÉRITO PARA LA OBTENCIÓN DEL
GRADO DE MEDICINA INTERNA.

AUTOR:**Santina I. Abreu C.**

Médico Cirujano, residente del tercer año del post-grado de Medicina interna de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes.

TUTORES:**Raimondo Caltagirone.**

Médico Internista Intensivista. Profesor asistente, adjunto de la Unidad de Medicina Interna, IAHULA. Departamento de Medicina. ULA.

María del Carmen Araque de Della Prugna.

Médico Cirujano, Doctor en Ciencias Médicas Fundamentales. Magister Scientiae en Ciencias Médicas Fundamentales. Profesor Titular. Universidad de Los Andes. Departamento de Microbiología y Parasitología. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Financiamiento

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo de Desarrollo Científico Humanístico, Tecnológico y de las Artes .Universidad de Los Andes (CDCHTA-ULA) Proyecto N° 529-13-03-EE y por el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT). Fortalecimiento del Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Proyecto No. 2012002321.

www.bdigital.ula.ve

Dedicado a:

Miguel José Asuaje Álvarez y a Miguel José Asuaje Abreu.

Extiendo mis agradecimientos a aquellos que contribuyeron con esta investigación:

A DIOS todo poderoso que permite en su infinita bondad que culmine esta etapa en mi vida, fuente de fuerza, esperanza y baluarte de mi ser.

A la Ilustre Universidad de Los Andes, que me asistió en parte del financiamiento del proyecto.

A mi Miguel José Asuaje, mi ayuda idónea, quien con su amor, esfuerzo y paciencia me aupó para realizar este trabajo.

A mi hijo cuya mirada y tiernos abrazos de amor me inspiran a seguir adelante.

A mi madre hermosa eres una bendición y hermanas Katherine y Febe, gracias por sus oraciones, buenos deseos cuidados e interés.

A las profesoras María del Carmen Araque y Beatriz Millán, orientadoras de la investigación, ejemplos de excelencia y dedicación, impecables en su trabajo sin aportes no fuese sido posible este trabajo.

A la Lic. Josefina Solorzano quien me ayudo a la recolección de las muestras.

Al profesor Raimondo Caltagirone que con sus buenos ánimos, y su ejemplo de ejercicio es motivo de mi admiración, juicio y criterio clínico lógico, influencia importante en estos tres años de formación.

Al Servicio de Medicina Interna cuyos adjuntos me han enseñado la disertación y aproximación clínica, la valoración global del paciente, sin dejar a un lado la humanidad.

Al Laboratorio de Bilogía Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, fuente de los resultados de este trabajo.

Al Laboratorio de Microbiología del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes que me brindó su apoyo en la recolección de las muestras a pesar de las dificultades.

A los pacientes quienes me inspiran para continuar aprendiendo y estudiando e intentando entender los fenómenos clínicos observados.

Santina I. Abreu

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE CONTENIDO.

Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de Contenido	viii
Lista de tablas	x
Lista de figuras	xii
Lista de abreviaturas	xiii
Resumen	xiv
Summary	xv
I. Introducción	1
✓ Justificación	1
✓ Antecedentes	2
✓ Marco teórico	3
✓ Objetivos	16
II. Marco metodológico	18
✓ Modelo de la investigación	18
✓ Población y muestra	
✓ Materiales y métodos	19
III. Resultados	23
IV. Discusión	38
V. Conclusiones	43
VI. Recomendaciones	44
VII. Referencias Bibliográficas.	45

www.bdigital.ula.ve

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las β -lactamasas según Bush Jacoby Medeiros.	7
Tabla 2. Iniciadores empleados en la amplificación de los genes de BLEE tipo: TEM, SHV y CTX-M.	22
Tabla 3. Datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes adultos con infección nosocomial del IAHULA.	23
Tabla 4. Distribución de los diferentes tipos de muestras clínicas procesadas de acuerdo al área de hospitalización.	26
Tabla 5. Distribución de la frecuencia de aislamiento de las cepas de <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> de acuerdo a los diagnósticos clínicos de los pacientes adultos con infección nosocomial hospitalizados en el IAHULA.	28
Tabla 6. Distribución de la frecuencia de aislamiento de las cepas de <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> de acuerdo al área de hospitalización del IAHULA	29
Tabla 7. Susceptibilidad de 14 cepas de <i>K. pneumoniae</i> aisladas en pacientes recluidos en las áreas de hospitalización del IAHULA frente a β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos.	30
Tabla 8. Susceptibilidad de 12 cepas de <i>E. coli</i> aisladas en pacientes recluidos en el IAHULA frente a β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos.	31
Tabla 9. Características fenotípicas y genéticas de las cepas <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> aisladas en pacientes adultos recluidos en las áreas de hospitalización de medicina interna del IAHULA.	33

Tabla 10. Características fenotípicas y genéticas de las cepas <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> aisladas en pacientes adultos recluidos en las áreas de hospitalización de medicina interna del IAHULA.	35
Tabla 11. Distribución de los genes <i>bla</i> _{BLEE} y sus asociaciones en las cepas de <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> aisladas en pacientes adultos con Infecciones Nosocomiales recluidos en las áreas del IAHULA	36

www.bdigital.ula.ve

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de acción de las β lactamasa	5
Figura 2. Amplificación de DNA usando reacción de cadena de polimerasa	15
Figura 3. Distribución del tipo de muestras procesadas	25
Figura 4. Distribución de la frecuencia de aislamiento de las cepas de <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> provenientes de las muestras clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.	26

www.bdigital.ula.ve

LISTA DE ABREVIATURAS

BLEE: belactamasa de espectro extenso.

EA: Emergencia de Adultos.

IAHULA: Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes.

IN: infección Nosocomial.

LBM: Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Farmacia.

PCR: Reacción en Cadena de Polimerasa.

TS: Trauma Shock.

T3: piso 3.

T5: piso 5.

T6: piso 6.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

ULA: Universidad de Los Andes.

RESUMEN

Objetivo: Caracterizar mediante PCR las BLEE en las enterobacterias productoras de infecciones nosocomiales en adultos en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes en el período marzo-julio del 2013.

Materiales y métodos: se realizó un estudio analítico de 26 cepas aisladas BLEE positivas obtenidas de Laboratorio de Microbiología del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes en el periodo marzo julio del 2013, se confirmaron en el Laboratorio de Biología Molecular por prueba de doble disco, se les realizó antibiograma, concentraciones inhibitorias mínimas y se determinaron los genes para BLEE mediante PCR.

Resultados: La infección nosocomial más frecuentes en este centro fue la Neumonía, se detectó la presencia de *bla*_{BLEE} TEM en el 23% de las cepas estudiadas, y *bla*_{BLEE} CTX-M en el 100% de las cepas, con mayor frecuencia se aisló el gen *bla*_{BLEE} CTX-M-1, seguido en frecuencia de CTX-M-8, se observaron las siguientes asociaciones de genes *bla*_{BLEE} TEM+CTX-M, TEM+CTX-M-1, TEM+CTX-M-2, TEM+CTX-M-8, TEM+CTX-M-8+CTX-M-9 SHV+CTX-M, con patrón de sensibilidad conservado para carbapemens.

Discusión: La multirresistencia en patógenos nosocomiales plantea retos importantes, este estudio se pudo demostrar que todas las cepas fueron sensibles a los carbapenemos, por lo tanto se plantea como una opción válida para el tratamiento, la BLEE tipo CTX-M-1 y CTX-M-8 son las enzimas prevalentes en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de infección nosocomial, esta es la primera descripción del gen *bla*_{CTX-M-8} en *E. coli* y su asociación con otras BLEE como TEM y CTX-M-9. **Palabras clave:** enterobacterias, infecciones nosocomiales, genes *bla*_{BLEE}.

SUMMARY

Objective: To characterize PCR in ESBL producing Enterobacteriaceae nosocomial infections in adults in the Institute University Hospital of Los Andes in the period from March to July 2013.

Materials and methods: an analytical study of 26 ESBL positive isolates obtained from the Microbiology Laboratory of University Hospital Institute of Los Andes in the period March July 2013, were confirmed in the Laboratory of Molecular Biology double disk test, susceptibility testing was performed, and minimum inhibitory concentrations were determined for ESBL genes by PCR. Results: The most frequent nosocomial infection in this center was pneumonia, detected the presence of TEM bla_{BLEE} in 23% of the strains studied, and bla_{BLEE} CTX-M in 100% of the strains most frequently isolated gene bla_{BLEE} CTX-M-1, followed in frequency of CTX-M-8, were observed following gene associations bla_{BLEE} CTX-M TEM + TEM + CTX-M-1, TEM + CTX-M-2, TEM + CTX -M-8, TEM + CTX-M-8 + CTX-M-9 CTX-M + SHV pattern with preserved sensitivity to carbapenems.

Discussion: The multidrug resistance in nosocomial pathogens poses significant challenges, this study was able to show that all strains were sensitive to carbapenems therefore arises as an option for treatment, the BLEE CTX-M-1 and CTX-M-8 are enzymes prevalent strains of *K. pneumoniae* and *E. coli* producing nosocomial infection, this is the first description of the gene blaCTX-M-8 in *E. coli* and its association with other ESBL such as TEM and CTX-M-9.

Keywords: enterobacteria, nosocomial infections, bla_{BLEE} genes.

I. INTRODUCCIÓN

✓ JUSTIFICACIÓN

La invención de los antimicrobianos generó consigo el fenómeno de la resistencia bacteriana¹, que se extendió posteriormente con la difusión de dichos fármacos. Cerca de 12 millones de personas anualmente mueren a causa de enfermedades infecciosas, y de forma más alarmante se ha acrecentado el número de enfermedades infecciosas causadas por bacterias multirresistente datos reportados por la OMS en el 2011.²

Las infecciones intrahospitalarias, o también llamadas nosocomiales, son un problema de salud pública mundial y constituyen la mayor preocupación para las autoridades sanitarias; principalmente debido a que son extraordinariamente costosas en términos de la alta morbilidad y mortalidad³. De acuerdo a la resolución de la Organización Mundial de la Salud², se define como infección nosocomial todas aquellas infecciones que no se habían hecho manifiestas, ni se encontraban en su período de incubación al momento del ingreso a los servicios de salud, es decir, que se adquieren durante su estancia intrahospitalaria o se evidencian en los primeros 10 días después del egreso hospitalario. Afirman que entre un 4% al 13% de los pacientes que ingresan a instituciones hospitalarias desarrollan infecciones nosocomiales⁴. En base a esto y a los múltiples trabajos realizados en el campo, se planteó la realización de este trabajo, con la finalidad de establecer las características moleculares de las enterobacterias en infecciones nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro extenso.

✓ ANTECEDENTES

Las Infección Nosocomiales son una consecuencia del tipo de atención médica que reciben los pacientes dentro de los hospitales, esto conlleva a la prolongación de los días de estancia hospitalaria y al uso de recursos diagnósticos y de tratamiento costosos^{3, 4}.

La mayoría de los agentes causantes de las Infecciones Nosocomiales son patógenos oportunistas, entre los cuales destacan los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y los bacilos gramnegativos no fermentadores. Varios investigadores reportaron como agentes más frecuentes los siguientes: *Acinetobacter sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Moraxella catarrhalis* y *Pseudomonas aeruginosa*^{6- 10}. En este contexto, Tabata¹¹ describió en el año 2009, en el área de hospitalización del Servicio de Medicina Interna del IAHULA los porcentaje de distribución de los principales microorganismos involucrados en Infecciones Nosocomiales: *P. aeruginosa* 21%, *E. coli* 19%, *K. pneumoniae* 17% y *Acinetobacter baumannii* 10%. Posteriormente, este mismo estudio reportó en el 2010, 64% bacilos gramnegativos cuya distribución por orden de frecuencia fue la siguiente: *E. coli* 20%, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* con 18% y *A. baumannii* 8%. Luego, señaló que durante los seis primeros meses del año 2011, la frecuencia fue *P. aeruginosa* 24%, *E. coli* 22%, *K. pneumoniae* 13% y *A. baumannii* 10%, lo que permitió evidenciar que en la microbiota circulante en los servicios de hospitalización de Medicina Interna predominan los bacilos gramnegativos.

✓ MARCO TEÓRICO

Las Infecciones Nosocomiales son más frecuentes en pacientes con inmunocompromiso establecido, tal es caso de pacientes diabéticos, oncológicos o en aquellos que siendo inmunocompetentes tienen una estancia hospitalaria prolongada. De acuerdo al órgano o sistemas involucrado, el orden de frecuencia de las Infecciones Nosocomiales es el siguiente: tracto urinario, tracto respiratorio, piel y tejidos blandos y sistema cardiovascular, siendo las patologías más comunes: infección del tracto urinario, neumonías, infecciones de heridas quirúrgicas, endocarditis y sepsis en diferentes estadios de gravedad como sepsis severa y shock séptico.³

Es importante destacar que el principal reservorio de *K. pneumoniae* y *E. coli* dentro de los hospitales, lo constituye la colonización del tracto digestivo inferior de los pacientes, los cuales puede incrementarse por la presión selectiva ejercida por el uso y abuso de los agentes antimicrobianos en estos ambientes¹³. Por otra parte, el instrumental médico-quirúrgico contaminado, las manos del personal de salud, también son reservorios que favorecen la transmisión de patógenos nosocomiales en las diferentes áreas hospitalarias. Así mismo, la movilización de pacientes entre los diferentes servicios hospitalarios y el personal médico, enfermeras, técnicos, entre otros, representan unas de las principales formas y vías de diseminación de microorganismos nosocomiales³.

La gravedad de las Infecciones Nosocomiales se incrementa, cuando las bacterias implicadas son resistentes a múltiples antibióticos^{13, 14}. Muchos de los brotes de infección nosocomial ocurridos en diversos hospitales se deben a la diseminación de cepas resistentes a los antibióticos β -lactámicos, especialmente los relacionados a *K. pneumoniae* y *E. coli*. Diversos estudios, han demostrado que esta resistencia antimicrobiana reside principalmente en la producción de enzimas como las β -lactamasas

de espectro extenso (BLEE), las cuales desde su aparición en 1983, marcaron el inicio de una nueva era en la historia de la resistencia antimicrobiana^{1, 9, 15}.

Los antibióticos β -lactámicos constituyen una amplia familia, en la que se incluye a las penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenems y monobactámicos. Los antibióticos β -lactámicos tienen acción bactericida, actúan sobre la fase final de la síntesis del peptidoglicano, impidiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, a través de la inactivación de una o varias proteínas de unión a penicilina (PBP); esto es debido a la similitud estructural que presenta con el extremo D-alanina-D-alanina del pentapéptido que enlaza las cadenas de *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina del peptidoglicano.^{15,}

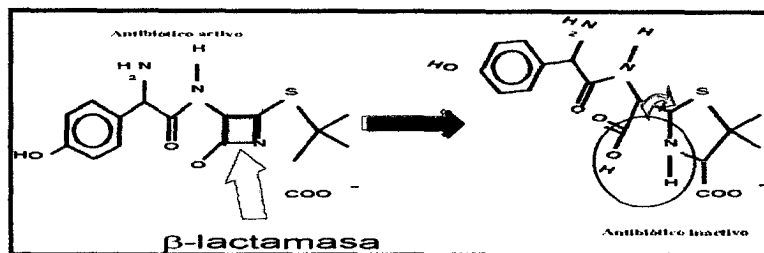
16

En presencia del antibiótico, las transpeptidasas hidrolizan el enlace amida del anillo β -lactámico y se forma un éster estable entre el compuesto hidrolizado y un grupo hidroxilo de la serina del sitio activo de enzima, con ello se inhibe la transpeptidación, impidiendo la adhesión entre las cadenas de *N*-acetilmurámico y de *N*-acetilglucosamina para la formación de la mureina, se desestabiliza la pared celular y finalmente se produce la lisis bacteriana.^{16, 17}

La resistencia bioquímica a los antibióticos β -lactámicos se puede atribuir a cuatro mecanismos principales:

1. Alteración de la diana (PBP)
2. Disminución de la permeabilidad
3. Mecanismos de eflujo o expulsión del antibiótico
4. Inactivación enzimática por β -lactamasas: β -lactamasas cromosómicas y β -lactamasas plasmídicas. El mecanismo de resistencia más utilizado por los bacilos gramnegativos para adquirir resistencia a los antibióticos β -lactámicos, es la inactivación de las

drogas por las enzimas denominadas β -lactamasas. Estas enzimas hidrolizan el enlace amida del anillo β -lactámico, formando compuestos inactivos^{15, 16, 18}.



Fuente: Tenover 2006.

Figura 1. Mecanismos acción de las β -lactamasas. Hidrolizan el anillo β -lactámico convirtiendo la molécula activa en inactivo¹⁹.

β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las BLEE son enzimas que hidrolizan las penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos. Son inhibidas por los inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam y no afectan las cefamicinas, ni los carbapenemos²⁰⁻²². Las BLEE han evolucionado como resultado de mutaciones en el centro activo de las β -lactamasas plasmídicas clásicas TEM y SHV excepto la CTX-M. Estas mutaciones originan cambios en la secuencia de la cadena aminoacídica, como respuesta a la presión ejercida por el amplio uso de las cefalosporinas de tercera generación, permitiendo modificar su perfil de sustrato, mejorando su capacidad de hidrólisis frente a los β -lactámicos de amplio espectro. Estas enzimas son principalmente codificadas por elementos extracromosómicos como los plásmidos^{13, 15-17}.

Las BLEE son clasificadas de acuerdo con dos sistemas generales, el de Ambler (1980) basado en la estructura molecular (secuencia de aminoácidos) y el de Bush, Medeiros y Jacoby (1995), sustentado en similitudes funcionales (sustratos, propiedades

fenotípicas). De acuerdo con el esquema de Ambler las β -lactamasas pueden dividirse en cuatro clases moleculares diferentes (A, B, C y D), cada una con una secuencia de aminoácidos distinta, donde las BLEE derivadas de SHV y TEM pertenecen a las enzimas de clase A, mientras que las BLEE derivadas de OXA pertenecen a la clase D (Tabla 1). En la clasificación de Bush, Medeiros y Jacoby, las BLEE se localizan en dos subgrupos del grupo 2, llamados 2be y 2d, en los cuales se ubican las BLEE derivadas de TEM, SHV y CTX-M y las derivadas de OXA, respectivamente ¹³.

www.bdigital.ula.ve

TABLA1. Clasificación de las β -lactamasas según Bush Jacoby Medeiros.

Grupo Bush-Jacoby (2009)	Clase molecular (subclase)	Substratos preferidos	Inhibidos por:		Principales Características	Enzimas representativas
			AC ¹	EDTA		
1	C	Cefalosporinas	No	No	Mejor hidrólisis de cefalosporinas que de benzylpenicilina	AmpC, P99, ACT-1, CYM-2, FOX-1, MIR-1.
1e	C	Cefalosporinas	No	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	Sí	No	Mejor hidrólisis de benzilpenicilina que de cefalosporinas	PC1
2b	A	Penicilinas, cefalosporinas	Sí	No	Hidrólisis similar de benzilpenicilinas y de cefalosporinas	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	Sí	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	No	No	Resistencia a ácido clavulánico, sulfabactam y tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	No	No	Hidrólisis incrementada hacia oximino-beta-lactámicos combinados con resistencia a AC, sulfabactam y tazobactam	TEM-50
2c	A	Carbenicilinas	Sí	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilinas, cefepime	Sí	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina, cefepime y cefpirome	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	Variable	No	Hidrólisis incrementada de la cloxacilina o de la oxacilina	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y oximino-beta-lactámicos	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	Sí	No	Hidrólisis de cefalosporinas. Inhibido por ácido clavulánico pero no por aztreonam	CepA
2f	A	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis incrementada de carbapenems, oximino-beta-lactámicos, cefamicinas	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B (B1)	Carbapenems	No	Sí	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems pero no monobactams	IMP-1, VIM-1, CrA, IND-1
	B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	B (B2)	Carbapenems	No	Sí	Hidrólisis preferente de carbapenems	CphA, Sfh-1

Adaptado de : Bush y Jacoby, 2010⁽⁸⁾.

¹ AC: ácido clavulánico

Fuente: Tenover F C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med.* 2006.

Tipos de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

1) **TEM:** Las β -lactamasas TEM-1 se encuentran diseminadas en todo el mundo, y son en la actualidad, el mecanismo de resistencia más común de las bacterias gramnegativas

al grupo de los β -lactámicos, aislándose con mayor frecuencia en cepas de *E. coli* y en *Klebsiella pneumoniae*. La detección de la enzima TEM-1 se reportó por primera vez en 1965 a partir de un aislado de *E. coli*. En la actualidad existen al menos unas 150 β -lactamasas tipo TEM^{13, 23}.

2) SHV: La mayoría de las enzimas SHV se encuentran en cepas de *K. pneumoniae*. Sin embargo, también se han identificado en *Citrobacter diversus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. En la actualidad existen alrededor de 100 tipos diferentes de SHV. La enzima progenitora, SHV-1, sólo tiene actividad contra penicilinas de amplio espectro, y las cefalosporinas de espectro reducido como cefalotina y cefaloridina, pero como resultado de mutaciones puntuales, su espectro ha sido ampliado a cefalosporinas de tercera generación, denominándose así SHV-2. Esta enzima fue descrita por primera vez en Alemania en 1983, a partir de una cepa de *Klebsiella ozaenae*^{13, 21, 23}

3) CTX-M: En 1989, se informó la existencia de un aislamiento clínico de una cepa de *E. coli* resistente a la cefotaxima, con características de ser productora de BLEE no TEM, no SHV, por lo cual fue designada como CTX-M-1 (conocida como MEN-1 desde 1992), por su actividad hidrolítica frente a la cefotaxima^{13, 23, 24}.

En la actualidad, las β -lactamasas de tipo CTX-M, son consideradas las más ampliamente diseminadas en el mundo. Estas se encuentran codificadas en plásmidos transferibles y la mayoría se han identificado en enterobacterias tales como *Salmonella* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* y *E. aerogenes*. Estas enzimas denominadas cefotaximasas, se caracterizan por hidrolizar eficientemente la cefotaxima, y pueden conferir a las bacterias que las producen altos niveles de resistencia contra otras cefalosporinas de tercera generación. De igual forma, también presentan altos niveles de resistencia a los monobactámicos, y niveles variables de

resistencia contra cefalosporinas de cuarta generación. Estas enzimas son inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (Cortés, *et al*, 2006; Harada, *et al*, 2008; Mantilla, *et al*, 2009; Dubois, *et al*, 2009)^{13, 23-25}.

Actualmente, se han descrito más de 110 variantes de CTX-M, clasificadas de acuerdo con la similitud de sus secuencias de aminoácidos en 5 grupos filogenéticos: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25. El grupo CTX-M-1 incluye 6 enzimas mediadas por plásmidos (CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-10, CTX-M-12, CTX-M-15 y FEC-1) y las enzimas no publicadas CTX-M-22, CTX-M-23 y CTX-M-28; el grupo CTX-M-2 está conformado por 8 enzimas (CTX-M-2, CTX-M-4, CTX-M-4L, CTX-M-5, CTX-M-6, CTX-M-7, CTX-M-20 y Toho-1), mientras que el grupo CTX-M-8 está representado por una sola enzima. El grupo CTX-M-9 consta de 9 enzimas (CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-16, CTX-M-17, CTX-M-19, CTX-M-21, CTX-M-27 y Toho-2) y otras dos enzimas no publicadas, una de ellas es la CTX-M-24 y por último, el grupo CTX-M-25 que incluye sólo 2 enzimas (CTX-M-25 y CTX-M-26)^{24, 26}.

Esta familia de BLEE se encuentra estrechamente relacionada con las β -lactamasas cromosómicas (AmpC) provenientes de distintas especies del género *Kluyvera*. Se considera que los grupos CTX-M-1 y CTX-M-2 derivan de las β -lactamasas cromosómicas de *Kluyvera ascorbata*, mientras que los grupos CTX-M-8 y CTX-M-9 derivan de las β -lactamasas cromosómicas de *Kluyvera georgiana*^{23, 24}.

Hasta finales de los años noventa la mayoría de las BLEE se aislaban en cepas de *K. pneumoniae* implicadas en brotes nosocomiales. Sin embargo, estudios recientes afirman que ha ocurrido un cambio epidemiológico en cuanto a los tipos de BLEE más prevalentes y su distribución en la población bacteriana. En este contexto, *E. coli* emerge como uno de los patógenos extraintestinales más frecuentes productores de BLEE tipo CTX-M en infecciones urinarias y bacteriemias nosocomiales^{16, 23, 27}.

Actualmente se desconoce la prevalencia real de *E. coli* productoras de BLEE, pero su incidencia es creciente. Los últimos datos registrados por el Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos de Europa (*por sus siglas en inglés* EARSS), organismo que se encarga de monitorear las resistencias antibióticas en patógenos invasivos, muestra un aumento en la frecuencia de *E. coli* resistente a cefalosporinas de tercera generación en Europa entre los años 2006 y 2008, con una prevalencia de *E. coli* productora de BLEE entre el 1-5%, siendo algo más alta en España con un 5-10%. Mientras que en países como Irlanda, Italia y Portugal, ya se sitúan en una frecuencia del 10-25%^{16, 27}.

En Estados Unidos la situación es distinta y en las conclusiones del estudio MYSTIC apuntan hacia una tendencia a la baja en los aislamientos de cepas productoras de BLEE tanto en *E. coli* como en *K. pneumoniae*. Sin embargo, las enzimas CTX-M que eran extremadamente raras, en los últimos años se han incrementado de modo notable, principalmente en cepas de *E. coli* en algunas zonas de dicho país^{17, 28, 29}.

En Latinoamérica, las BLEE representan un importante problema de salud pública, con proporciones alarmantes, debido a su rápida propagación, por lo que se reportan altas tasas de prevalencia en países como Colombia, Guatemala, Uruguay, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil. Las enzimas más comunes en

esta región son SHV-2, SHV-4, SHV-5, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, PER-2 y recientemente la presencia de CTX-M-15 en aislados de *E. coli*^{11,20,30-32}.

En Venezuela, se realiza la vigilancia de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos desde el año 1987, cuando se creó el Programa Venezolano de Vigilancia de Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos. Desde entonces, se ha observado un incremento marcado en la producción de BLEE en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae*, con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas de tercera generación, con frecuencias del 29% y 39% para ceftazidima y cefotaxima, respectivamente³³.

Para los años 2000 y 2004, se determinó la presencia de BLEE SHV-5 y TEM-1 en cepas de *K. pneumoniae* procedentes de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal del Hospital Universitario de Los Andes, en el estado Mérida^{34,35}. Posteriormente realizaron la detección fenotípica y molecular de BLEE en 224 aislados de enterobacterias procedentes de ocho centros de salud de Caracas³⁶, reportando 91, 1% de las cepas analizadas como productoras de BLEE, y de esta, el 72% fueron del grupo SHV y el 21% del grupo CTX-M. Esta investigación permitió realizar el primer reporte conocido de la presencia de CTX-M en Venezuela. En un estudio posterior evaluaron la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE en la Maternidad “Concepción Palacios” Caracas³⁷, en aislados de hemocultivos, puntas de catéter, orina y secreciones, reportado un 80% de enterobacterias productoras de BLEE. En el mismo año determinaron la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE aisladas de hemocultivos en el Hospital Universitario de Maracaibo³⁸, registrando un 39, 48% de enterobacterias productoras de BLEE, siendo *K. pneumoniae* y *E. coli* las especies predominantes. También en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo del Hospital Universitario de Maracaibo¹⁶, se evidenció una alta incidencia de

BLEE en las especies de enterobacterias procedentes de pacientes hospitalizados en Terapia Intensiva. Mientras que en el Estado Sucre³⁹ detectaron la presencia de BLEE (TEM-1, SHV-5-2a y CTX-M-2) en cepas de *K. pneumoniae* aisladas de pacientes con infección nosocomial.

Ulteriormente, en pacientes de la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del Hospital Universitario de Los Andes⁴⁰ lograron determinar la presencia de CTX-M-2 en cepas de *K. pneumoniae* aisladas. En el 2011 en un estudio comunitario reportaron la presencia de CTX-M-14 en una cepa de *Citrobacter freundii*, en el estado Mérida⁴¹.

Sin duda, la prevalencia de los diferentes tipos de BLEE y su distribución no es un fenómeno estático, sino que se observa una intensa dinámica de expansión territorial de las distintas cepas, producto de los cambios en el ámbito clínico en el que se aíslan y al surgimiento de bacterias que co-expresan varios tipos de BLEE¹⁷.

Con base en una exhaustiva revisión bibliográfica realizada, en Venezuela aún se desconoce la distribución de la producción de BLEE tipo CTX-M, y los subgrupos de CTX-M en patógenos bacterianos que circulan en las unidades hospitalarias del país.

El estudio epidemiológico molecular de las infecciosas nosocomiales tiene por objeto determinar la relación clonal que existe entre varios aislados de una misma especie. Esta información es muy útil, sobre todo cuando se producen brotes epidémicos causados por cepas multirresistentes, porque permite determinar el número de clones circulantes, identificar la fuente de contaminación o reservorio y los vehículos de transmisión, evaluar la eficacia de las medidas de control dirigidas a evitar la diseminación de clones y diferenciar entre infección y recidiva⁴².

Los métodos de tipificación se clasifican en dos grandes grupos: fenotípicos (basados en características fisiológicas o bioquímicas) y genotípicos (fundamentados en el estudio del

ADN). En la investigación de brotes de Infecciones Nosocomiales, resulta difícil relacionar los aislados de origen humano, de alimentos y de ambiente por técnicas fenotípicas convencionales de tipificación, ya que estas son menos reproducibles y poseen menor poder de discriminación que los métodos genotípicos. Ello se debe a que la expresión de un carácter fenotípico es el resultado de la interacción del genotipo con el ambiente, por tanto, es susceptible de modificarse cuando las condiciones ambientales varían⁴².

El extraordinario avance de la biología molecular en los últimos años ha permitido desarrollar nuevos métodos genotípicos de tipificación. Estos métodos se sustentan en el estudio del ADN cromosómico o extracromosómico. Utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus variantes, se han diseñado varias técnicas de tipificación bacteriana.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *Polymerase Chain Reaction*), se fundamenta en la amplificación de genes o secuencias de ADN polimórficas, a través de ciclos repetidos y duplicados llevados a cabo por una enzima, llamada ADN polimerasa y la subsiguiente separación electroforética de los productos de la amplificación (figura 2)⁴². Desde su aparición se ha aplicado en biología molecular, y en la detección de patógenos en el hombre, animales, plantas y alimentos⁴³.

Existen diversas variantes de la PCR como método de tipificación bacteriana dependiendo de ciertas modificaciones en el protocolo de trabajo: las técnicas de amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD), la amplificación de elementos repetitivos (REP-PCR) y el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP), las cuales han sido utilizadas ampliamente en estudios epidemiológicos.

La técnica de PCR se fundamenta en los siguientes pasos:

1. El aislamiento: separación total o parcialmente los ácidos nucleicos del resto de los componentes de una muestra clínica.
2. La amplificación permite obtener más de un millón de copias idénticas de una porción específica (secuencia blanco) del ácido nucleico aislado. Confiere alta sensibilidad a la técnica. A su vez está conformada por:
 3. Separación de cadenas: es imprescindible para permitir la unión del cebador (primer) y la posterior polimerización, por el aumento de temperatura de la muestra.
 4. Pegado de los cebadores: disminuir la temperatura permite el pegado específico de los cebadores a la secuencia por copiar.
 5. Polimerización: síntesis de la nueva cadena por acción de enzimas polimerasas. La utilización de cebadores específicos que reconocen la secuencia blanco les permite ser altamente específicas.
6. La detección: pone en evidencia el ácido nucleico de interés y en ciertas situaciones permitiendo cuantificarlo (ver Figura 2).

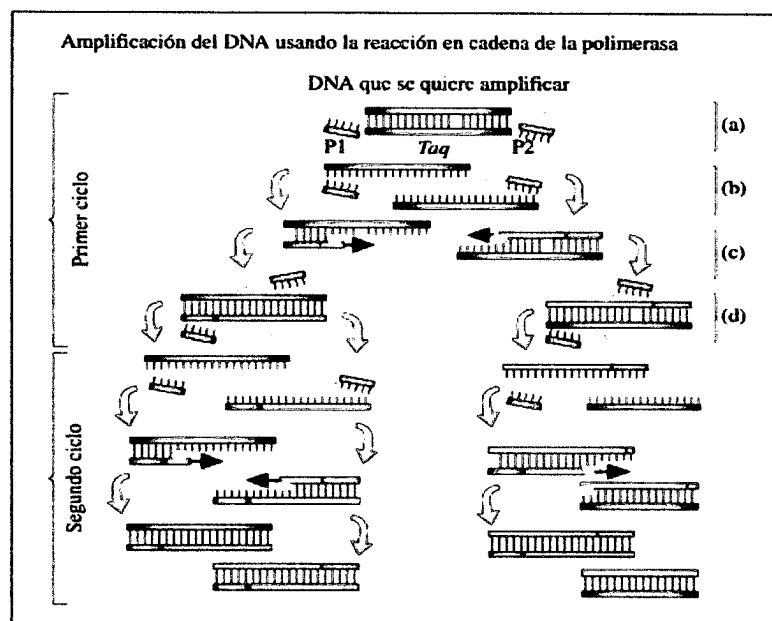


Figura 2. PCR proceso de ampliación. a). La mezcla de reacción contiene la secuencia de DNA que se quiere amplificar, dos oligonucleótidos sintéticos (P1 y P2) que servirán como cebadores, una DNA polimerasa termoestable (Taq) y los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfato -dATP, dGTP, dCTP y dTTP-. b). La mezcla de reacción se somete a ciclos sucesivos, cada uno correspondiente a una fase de desnaturalización, una de hibridación y una de elongación. Durante la desnaturalización, que se realiza por calentamiento de la mezcla a 95 °C, se separan las dos cadenas del DNA molde. c). Durante la hibridación, la temperatura de incubación se reduce para permitir el apareamiento de las bases de ambos cebadores en el sitio donde encuentran una secuencia complementaria. d). Durante la fase de elongación, la mezcla se calienta a 72 °C, temperatura a la cual la DNA polimerasa extiende la cadena complementaria a partir del extremo 3' de los cebadores. Al finalizar cada ciclo, la cantidad de DNA molde disponible para el ciclo siguiente aumenta al doble⁴⁴.

Con base a lo expuesto anteriormente, resulta de gran importancia estudiar las estrategias adoptadas por los microorganismos en la adquisición y mantenimiento de los determinantes de resistencia, así como las relaciones genéticas o clonales entre cepas aisladas en una población o área determinada mediante diversos métodos de tipificación. Por tanto, estudios como el que se presenta a continuación permitirán orientar y evaluar las políticas que se adopten para el control, prevención y vigilancia de patógenos nosocomiales.

✓ OBJETIVOS.**Objetivo General**

Caracterizar mediante pruebas moleculares las BLEE presentes en las enterobacterias involucradas en la infección nosocomial de pacientes adultos de los servicios de hospitalización del IAHULA

Objetivos Específicos

1. Registrar en una ficha diseñada los datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes incluidos en el estudio.
2. Recolectar de acuerdo a la entidad clínica nosocomial diagnosticada y condiciones del paciente una o varias muestras clínicas para ser enviadas al laboratorio de Microbiología de IAHULA para el estudio microbiológico.
3. Coleccionar las bacterias gramnegativas con fenotipo compatible con BLEE aisladas de las muestras clínicas de los pacientes con infección nosocomial y enviarlas al laboratorio de microbiología molecular de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA.
4. Confirmar la identificación microbiológica de las bacterias, aisladas de pacientes con infección nosocomial.
5. Determinar las características fenotípicas de resistencia antimicrobiana (prueba del sinergismo del doble disco) en las cepas aisladas
6. Determinar mediante pruebas moleculares las diferentes BLEE en las cepas nosocomiales aisladas.

7. Determinar el perfil de BLEE presentes en las bacterias nosocomiales que circulan en los servicios de hospitalización del IAHULA.

www.bdigital.ula.ve

II. MARCO METODOLÓGICO

✓ **MODELO DE INVESTIGACIÓN:** Analítico trasversal serie microbiológica hospitalaria.

✓ **POBLACIÓN Y MUESTRA:**

Se incluyeron dentro del trabajo todos los cultivos reportados desde 01 marzo a 31 julio 2013 del Laboratorio de Microbiología del IAHULA de aquellos pacientes que cumplieron con los siguientes criterios:

1. Muestras de cultivos de pacientes mayores de 16 años independientemente de la especialidad y del diagnóstico de ingreso, que desarrollen procesos infecciosos posterior a 3 días de hospitalización, por enterobacterias.
2. Se admitió cualquier tipo de muestra biológica de pacientes que ingresaron por infecciones comunitarias superadas, o que hayan empeorado debido la adición de gérmenes intrahospitalarios como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

Quedaron excluidos del estudio:

1. Todas aquellas muestras de cultivos que se procesaron en medios privados.
2. Pacientes de los que se admitió una muestra biológica con enterobacterias, que en una nueva muestra biológica se demostró la presencia del mismo patógeno con el mismo patrón de resistencia.

✓ MATERIALES Y MÉTODOS

1. **Cepas bacterianas:** Se estudiaron 26 cepas de bacterias gramnegativas: 14 *Klebsiella pneumoniae* y 12 *Escherichia coli* con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas de amplio espectro, aisladas de diferentes muestras clínicas de pacientes adultos, femeninos y masculinos hospitalizados en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, (IAHULA) Mérida-Venezuela, que cursaron con una infección nosocomial de acuerdo a los criterios mencionados en el marco teórico y criterios de inclusión^{2,4}. Todas las cepas bacterianas fueron recolectadas durante el lapso Marzo a Julio de 2013, inicialmente identificadas en el Laboratorio de Microbiología del IAHULA. Posteriormente estas cepas se enviaron al Laboratorio de Microbiología Molecular (LMM) de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA para continuar con su caracterización fenotípica y molecular.

A todos los pacientes quienes se le recolectaron las cepas antes mencionadas se les registraron sus datos clínicos y epidemiológicos en una ficha diseñada para tal efecto (anexo 1).

2. Caracterización fenotípica

2.1 Confirmación de la identificación microbiología: Todas las cepas incluidas en este estudio se les confirmó la identificación microbiológica utilizando las galería API 20E (BIOMÉRIEUX), de acuerdo a lo descrito en el protocolo del proveedor.

2.2 Detección fenotípica de BLEE: Las cepas con resistencia a los antibióticos β -lactámicos de amplio espectro fueron evaluadas fenotípicamente para la detección de BLEE, mediante la prueba del doble disco, según lo descrito por en CLSI 2011⁴⁵. Para

ello, se inocularon las placas de agar Mueller Hinton (Himedia) con las cepas problemas, a partir de un inóculo equivalente al patrón de 0, 5 de McFarland. Posteriormente, se colocó un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (BD BBLTH) (20/10 μ g) en el centro de la placa y a los lados, a 15 mm de distancia (de borde a borde), se ubicaron los discos de ceftazidima (BD BBLTH) (30 μ g) y cefotaxima (BD BBLTH) (30 μ g). Luego, se incubaron a 37°C por 24 horas y se realizó la lectura de la prueba.

Una visible distorsión e incremento del halo inhibitorio entre los discos de cualquiera de las cefalosporinas y el disco de amoxicilina/ácido clavulánico se consideró como positivo para la presencia de BLEE. Para la detección fenotípica de BLEE se utilizó como control negativo la cepa de *E. coli* ATCC 25922 y como control positivo *K. pneumoniae* LMM60 (BLEE +).

2.3 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana: La susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, se realizó por concentración inhibitoria mínima (CIM), mediante el método de dilución en agar de acuerdo a lo establecido por CLSI 2012⁴⁵. Los antimicrobianos ensayados fueron los siguientes: ceftazidima (Distriquímica S.A), cefotaxima (Genven), piperacilina/tazobactam (Wyeth), aztreonam (Bristol Myers Squibb, SL), ertapenem (Merck Sharp and Dohme), imipenem (GenVen), meropenem (Richet), amikacina (Renochem-AG) gentamicina (Quim-Farm C.A), tobramicina (Eurofarm Limited), ácido nalidixico (Sigma) y ciprofloxacina (Bayer) Se utilizó como cepa control para estos ensayos *E. coli* ATCC 25922. Se consideraron como fenotipos multirresistentes todas aquellas cepas que presentaron resistencia por lo menos a 3 antibióticos de grupos diferentes.

3. Caracterización molecular de BLEE

3.1 Extracción de ADN genómico:

Las colonias de cada una de las cepas frescas fueron resuspendidas en 200 μ l de agua destilada esteril, las cuales se mezclaron por vortex por algunos segundos y luego se llevó la suspensión al congelador (-20°C) durante 30 min. Posteriormente, la suspensión fue sometida a ebullición (100°C) durante 15 min. Los residuos celulares se separaron por centrifugación (13.000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente) y el ADN disuelto en el sobrenadante se recuperó en un tubo eppendorf estéril, el cual se preservó a -20°C hasta el momento de su uso.

3.2 Detección de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}

La detección de los genes que codifican para la familia de β -lactamasas TEM, SHV y CTX-M, se realizó por amplificación a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando los iniciadores que se describen en la Tabla 2. La mezcla de reacción se ajustó a un volumen final de 25 μ L, y estuvo compuesta por 2, 5 μ L del buffer de reacción (10X), 1, 25 μ L de MgCl₂ (50 Mm), 1, 5 de dNTPs (10 m μ ; FUNDAIM), 2, 5 μ L de cada iniciador (10 pmol/ μ L), 0, 3 μ L de la Taq polimerasa (5 U/ μ L; FUNDAIM), 11, 45 μ L de agua bidestilada ultrapura y 3 μ L del ADN extraído. Las PCR se realizaron en un termociclador Perkin Elmer. Los productos de amplificación se observaron en geles de agarosa al 1%, en TAE 50X, teñidos con 50 μ g/ml bromuro de etidio (Sigma), y se fotografiaron a través del sistema UVP Biodoc-It System. Como marcador de peso molecular se utilizó una escalera de 100 pb (BIONEER). La corrida electroforética se realizó a 80 V por 30 min.

3.3 Detección de los genes *bla*_{CTX M-1}, *bla*_{CTX M-2}, *bla*_{CTX M-8} y *bla*_{CTX M-9}

Las cepas que resultaron positivas a la detección de genes CTX-M, se les identificó en un segundo paso el grupo al cual pertenecen, para ello, se realizaron las amplificaciones de PCR en un volumen final de 25 μ L. La mezcla de reacción fue igual a la descrita anteriormente y los iniciadores que se utilizaron se describen en la Tabla 2. Las condiciones de amplificación se realizaron según lo descrito en estudios anteriores.^{46, 47}

Tabla 2.

Gen	Iniciador
<i>bla</i> _{TEM}	F: 5'- ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA - 3' R: 5'- GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC A - 3'
<i>bla</i> _{SHV}	F: 5'- GGG TTA TTC TTA TTT GTC GC - 3' R: 5'- TTA GCG TTG CCA GTG CTC - 3'
<i>bla</i> _{CTX-M}	F: 5'- ATG TGC AGY ACC AGT AAR GTK ATG GC - 3' R: 5'- CCG CTG CCG GTY TTA TCV CCB AC - 3'
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	F: 5'- ATG GTT AAA AAA TCA CTG C - 3' R: 5'- GGT GAC GAT TTT AGC CGC - 3'
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	F: 5'- TTA ATG ATG ACT CAG AGC ATT C - 3' R: 5'- GAT ACC TCG CTC CAT TTA TTG C - 3'
<i>bla</i> _{CTX-M-8}	F: 5'- TGA ATA CTT CAG CCA CAC G - 3' R: 5'- TAG AAT TAA TAA CCG TCG GT - 3'
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	F: 5'- AAC ACG GAT TGA CCG TCT TG - 3' R: 5'- TTA CAG CCC TTC GGC GAT - 3'

Fuente: Pallecchi L (2004)⁴⁶

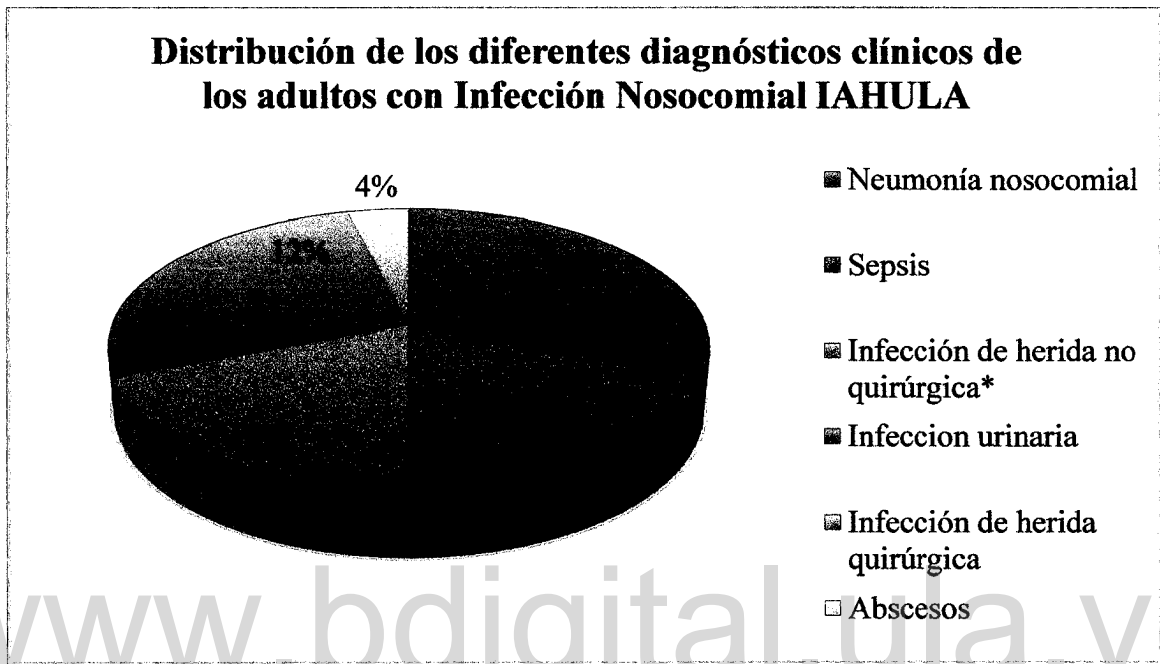
III. RESULTADOS.

Tabla 3. Datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes adultos con infecciones nosocomiales IAHULA.

Fecha de aislamiento	Nº de Cepa	Edad	Género	Área Hospitaliz.	Diagnóstico
03/13	2206	35	F	T3	Quemadura de II grado infectada
03/13	2215	34	M	UCI	Sepsis
03/13	2796	50	M	UCI	Sepsis
04/13	2805	81	F	T3	Infección de herida quirúrgica
04/13	2806	81	F	T3	Infección de herida quirúrgica
04/13	2919	32	F	EA	Neumonía nosocomial
04/13	2936	22	M	UCI	Quemadura de II grado infectada
04/13	2976	18	M	EA	Infección urinaria
04/13	2980	21	F	T5	Infección de herida cortante de muslo derecho
05/13	3002	48	F	EA	Infección de cáncer exofítico de mama derecha ulcerado
05/13	3608	32	M	T6	Infección urinaria
05/13	3740	59	F	UCI	Neumonía nosocomial
06/13	3939	60	F	T5	Infección de herida quirúrgica
06/13	3960	52	F	T3	Infección urinaria
06/13	4088	26	M	T5	Sepsis
06/13	4762	30	M	T6	Infección urinaria
06/13	4861	47	M	TS	Sepsis
06/13	4990	71	M	T5	Neumonía nosocomial
07/13	5040	55	F	T6	Neumonía nosocomial
07/13	5042	22	M	TS	Neumonía nosocomial
07/13	5157	60	M	T6	Sepsis
07/13	5497	64	F	UCI	Neumonía nosocomial
07/13	5587	20	M	EA	Neumonía nosocomial
07/13	5724	25	F	T5	Neumonía nosocomial
07/13	5817	25	F	T5	Infección de úlcera en pie izquierdo
07/13	5901	30	M	EA	Absceso glúteo derecho

Hospitaliz: hospitalización; EA: emergencia de adultos; TS: trauma shock; UCI; unidad de cuidados intensivos; T3: hospitalización Piso 3; T5: hospitalización Piso 5; T6: hospitalización Piso 6.

Un total de 26 pacientes con Infección Nosocomial fueron incluidos en este estudio. Estos se distribuyeron de acuerdo al género en 50% masculinos y 50% femeninos. La edad promedio de los pacientes incluidos en el estudio fue de 42 años



*incluye quemaduras sobre infectadas, úlceras de miembros inferiores y heridas cortantes.

Fuente: Ficha de recolección de datos Santina Abreu.

Figura 3. Distribución de la frecuencia de los diferentes diagnósticos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio de hospitalizados en las áreas de Medicina Interna del IAHULA.

Seis diferentes diagnósticos relacionados con IN fueron registrados (figura 3). Siendo la neumonía nosocomial la más frecuente (31 %), mientras que el segundo, lugar con un 19 %, lo compartieron la sepsis y las infecciones de heridas no quirúrgicas. En el tercer lugar fueron ubicadas las infecciones del tracto urinario con un 15 %.

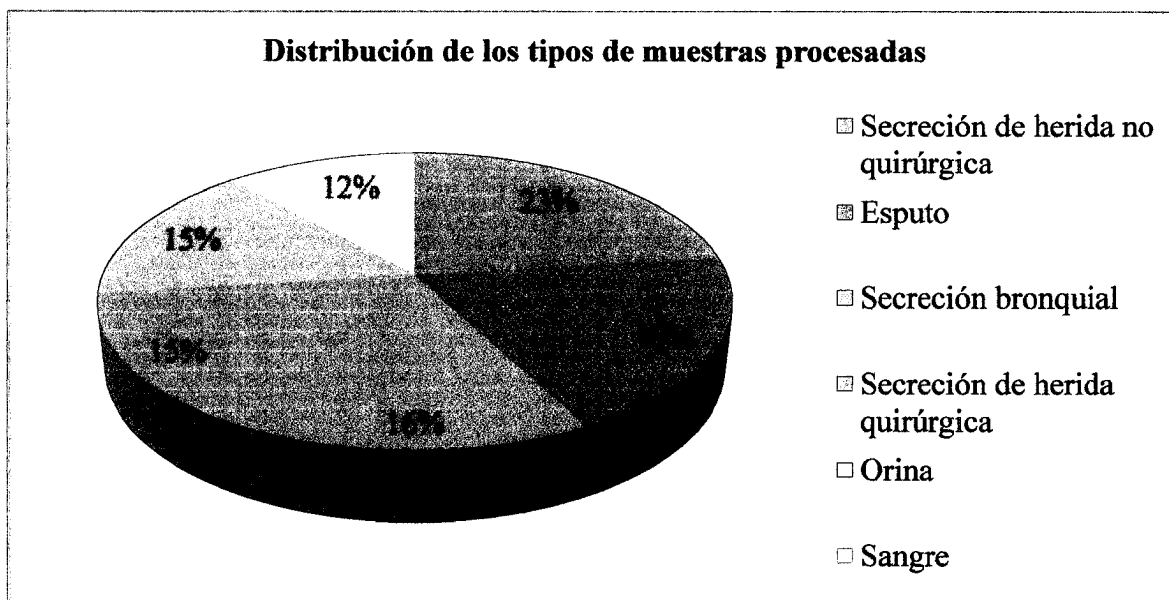


Figura 4. Distribución de la frecuencia de los diferentes tipos de muestras clínicas procesadas en este estudio.

Desde el punto de vista del tipo de muestra clínica procesada, predominaron las secreciones de heridas no quirúrgicas infectadas con un 23 %, seguidas por las muestras de esputo (19 %), secreción bronquial en pacientes intubados (16 %) y, las secreciones de heridas quirúrgicas y de orina estuvieron representadas con un 15 % de frecuencia cada una. Las muestras de sangre fueron analizadas en un 12 % (Fig. 4).

Tabla 4. Distribución de los diferentes tipos de muestras clínicas procesadas de acuerdo al área de hospitalización.

Tipo de muestra Clínica	Área de hospitalización						Total N° / %
	EA	TS	UCI	T3	T5	T6	
Secreción de herida no quirúrgica	1	0	2	0	3	0	6/23, 07
Espujo	2	0	0	0	3	0	5/19, 23
Aspirado de secreción bronquial	0	2	2	0	0	0	4/15, 38
Orina	1	0	0	1	0	2	4/15, 38
Secreción de herida quirúrgica	0	0	0	2	1	0	3/11, 53
Sangre	0	1	0	0	1	1	3/11, 53
Secreción de absceso	1	0	0	0	0	0	1/3, 84
Total N° / %	5/19, 23	3/11, 53	4/15, 38	3/11, 53	8/30, 76	3/11, 53	26/100

EA: emergencia de adultos; TS: trauma shock; UCI; unidad de cuidados intensivos; T3: hospitalización Piso 3; T5: hospitalización Piso 5; T6: hospitalización Piso 6. Secreción de herida no quirúrgica incluye: quemaduras, úlceras.

Independientemente del tipo de muestra clínica (Tabla 4), el 30% (8/26) de éstas fueron provenientes de pacientes con IN recluidos en el piso 5 de hospitalización, 19% (5/26) de las muestras se obtuvieron del área de emergencia y el 15, 38% (4/26) fueron enviadas de la UCI. El resto de las áreas: TS, T3 y T6 aportaron cada una el 11, 53% (3/26) del material clínico analizado. Las muestras de heridas no quirúrgicas fueron recolectadas de pacientes que principalmente se ubicaron en las áreas T5, UCI y EA (23, 07%; 6/26). La única muestra proveniente de absceso procesada perteneció a un paciente hospitalizado

en la emergencia de adultos (3, 84%). En general, no se observó una distribución particular de las muestras clínicas analizadas y el área de hospitalización.

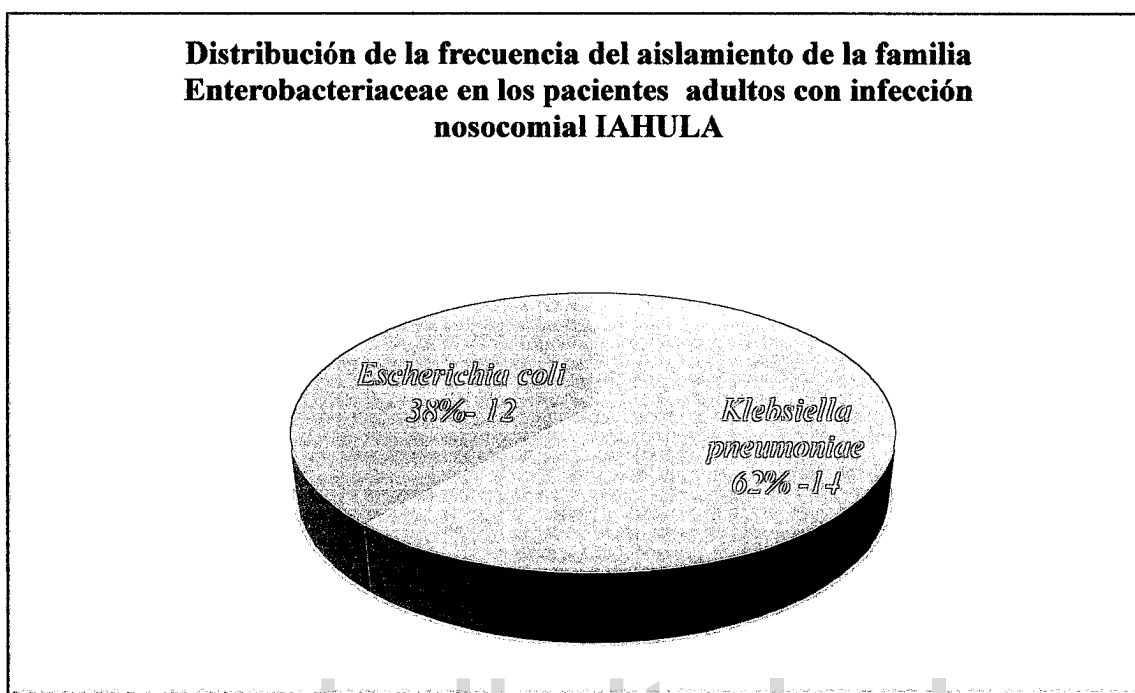


Figura 4. Distribución de la frecuencia de aislamiento de las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* provenientes de las muestras clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

Los resultados del análisis microbiológico demostraron que en más de la mitad de las muestras clínicas se aisló *K. pneumoniae* (62%; 14/26), seguida por *E. coli* con 38% (12/26) (Fig. 4). De acuerdo a la frecuencia de aislamiento de estas bacterias y su frecuencia según diagnóstico clínico (Tabla 5), se pudo observar que ambas enterobacterias se distribuyeron en igual número de casos en pacientes con neumonía nosocomial e infección urinaria (4 y 2 casos, respectivamente). Sin embargo, *K. pneumoniae* predominó en pacientes con sepsis (4/5) e infección de heridas quirúrgicas (2/3), mientras que *E. coli* se aisló con más frecuencia en infecciones de heridas no quirúrgicas (3/5).

Tabla 5. Distribución de la frecuencia de aislamiento de las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* de acuerdo a los diagnósticos clínicos de los pacientes adultos con infección nosocomial hospitalizados en el IAHULA.

Diagnóstico Clínico	<i>Klebsiella pneumoniae</i> N° / %	<i>Escherichia coli</i> N° / %
Neumonía nosocomial	4 / 28, 57	4 / 33, 33
Sepsis	4 / 28, 57	1 / 08, 33
Infección de herida no quirúrgica*	2 / 14, 29	3 / 25, 00
Infección urinaria	2 / 14, 29	2 / 16, 67
Infección de herida quirúrgica	2 / 14, 29	1 / 08, 33
Abscesos	0 / 00, 00	1 / 08, 33
Total (N° / %)	14 / 100	12 / 100

* incluye quemaduras sobre infectadas, úlceras de miembros inferiores y heridas cortantes.

Fuente: Ficha de recolección de datos Santina Abreu.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 6. Distribución de la frecuencia de aislamiento de las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* de acuerdo al área de hospitalización del IAHULA.

Área de Hospitalización	<i>Klebsiella pneumoniae</i> N° / %	<i>Escherichia coli</i> N° / %
Emergencia adultos	1 / 07, 14	4 / 33, 33
Trauma shock	2 / 14, 28	0
UCI	3 / 21, 43	2 / 16, 67
Piso T3	2 / 14, 28	2 / 16, 67
Piso T5	3 / 21, 43	3 / 25, 00
Piso T6	3 / 21, 43	1 / 08, 33
Total (N° / %)	14 / 100	12 / 100

K. pneumoniae se aisló en pacientes recluidos en todas las áreas de hospitalización que se incluyeron en este estudio, predominando con igual número de casos (3/14 con 21, 43%) en UCI, T5 y T6. Los aislamientos de *E. coli* se concentraron en las áreas EA y T5 (4/12; 33, 33% y 3/12; 25%). En el área de TS no se reportaron infecciones por *E. coli* en el periodo estudiado (Tabla 6).

Tabla 7. Susceptibilidad de 14 cepas de *K. pneumoniae* aisladas en pacientes reclusos en las áreas de hospitalización del IAHULA frente a β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos.

Antibiótico	CIM	Nº de cepas			% Resistencia
	Rango $\mu\text{g/ml}$	S	I	R	(N=14)
Piperacilina/Tazobactam	8 -> 128	8	4	2	14, 28
Cefotaxime	8 ->128	0	0	14	100
Ceftazidima	8 - 64	0	3	10	71, 43
Aztreonam	32 -> 64	0	0	14	100
Ertapenem	0.004 - 0.5	14	0	0	0
Imipenem	0.012 - 0.5	14	0	0	0
Meropenem	0.016 - 0.125	14	0	0	0
Ácido nalidixico	1 -> 64	5	0	9	64, 29
Ciprofloxacina	0.25 -> 8	2	2	10	71, 43
Amikacina	8 -> 64	7	0	7	50
Gentamicina	1 ->16	3	0	11	78, 57
Tobramicina	4 -> 16	6	0	8	57, 14

S: sensible; I: intermedia; R: resistente

Tabla 8. Susceptibilidad de 12 cepas de *E. coli* aisladas en pacientes reclusos en el IAHULA frente a β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos.

Antibiótico	CIM	Nº de cepas			% Resistencia (N=12)
	Rango $\mu\text{g/ml}$	S	I	R	
Piperacilina/Tazobactam	2 - > 128	9	2	1	8, 33
Cefotaxime	2 - >128	0	1	11	91, 66
Ceftazidima	2 - 128	1	4	7	58, 33
Aztreonam	2 - > 64	1	0	11	91, 66
Ertapenem	0.008 - 0.064	12	0	0	0
Imipenem	0.032 - 0.125	12	0	0	0
Meropenem	0.032 - 0.125	12	0	0	0
Ácido nalidixico	2 - > 64	2	0	10	83, 33
Ciprofloxacina	0.064 - > 8	2	2	8	66, 66
Amikacina	2 - 16	12	0	0	0
Gentamicina	0.25 - >16	3	0	9	75, 00
Tobramicina	0.25 - > 16	6	0	6	50, 00

S: sensible; I: intermedia; R: resistente

En las tablas 7 y 8 se muestran los resultados de la susceptibilidad de las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* a los antibióticos β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos. El análisis de la antibiograma permitió evidenciar que tanto las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* presentaron resistencia a las cefalosporinas de amplia espectro con concentraciones inhibitorias que oscilaron entre 8 - >128 y 2 - >128 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. En ambos casos la resistencia a cefotaxima fue mayor al 90% y para la ceftazidima la resistencia superó el 58%. Todas las cepas tuvieron muy baja sensibilidad al aztreonam demostrando resistencia entre 91, 66 y 100%. Las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* presentaron bajo niveles de resistencia a piperacilina/tazobactam (8, 33 y 14, 28%, respectivamente). El

grupo de las quinolonas (ácido nalidíxico y ciprofloxacina) fueron poco efectivas, evidenciándose resistencias que superaron el 64% de las cepas. Más de la mitad de las cepas presentaron disminución de la susceptibilidad a gentamicina y tobramicina, mientras que amikacina fue efectiva contra todas las cepas de *E. coli* con rangos inhibitorios no mayores al 16 $\mu\text{g/ml}$, pero el 50% de las cepas de *K. pneumoniae* fueron resistentes a este antibiótico. Todas las cepas fueron inhibidas por el grupo de carbapenemos en rangos iguales o inferiores a 0.5 $\mu\text{g/ml}$.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 9. Características fenotípicas y genéticas de las cepas *K. pneumoniae* y *E. coli* aisladas en pacientes adultos recluidos en las áreas de hospitalización de medicina interna del IAHULA.

Enterobacteria	Código de Cepa	Perfil de resistencia	PSDD	TEM	SHV	Detección de genes de β -lactamasas			
						CTX-M			
						CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-8	CTX-M-9
<i>K. pneumoniae</i>									
	3740	BLEE, CIP, GEN	+	-	ND	+	-	-	-
	4088	BLEE, ACN, CIP, AMK, GEN	+	-	ND	+	-	-	-
	2976	BLEE, ACN, CIP ¹ , GEN, TOB	+	-	ND	-	+	-	-
	2980	BLEE, PIP/TZ ¹ , CIP	+	+	ND	+	-	-	-
	3608	BLEE, PIP/TZ ¹ , ACN, CIP, GEN, TOB	+	-	ND	-	-	+	-
	2806	BLEE, ACN, CIP, AMK, GEN, TOB	+	-	ND	+	-	-	-
	2206	BLEE, PIP/TZ, ACN, CIP ¹ , AMK, GEN, TOB	+	-	ND	+	-	-	-
	2796	BLEE, PIP/TZ, AMK	+	-	ND	-	+	-	-
	5157	BLEE, ACN, CIP, AMK, GEN, TOB	+	-	ND	-	-	+	-
	4861	BLEE	+	+	ND	-	-	+	-
	5040	BLEE, PIP/TZ ¹ , ACN, CIP, AMK, GEN	+	+	ND	-	-	+	-
	5042	BLEE, CIP ¹ , GEN, TOB	+	-	ND	-	-	+	-
	3939	BLEE, ACN, CIP, GEN, TOB	+	-	ND	+	-	-	-
	5497	BLEE, ACN, CIP, AMK, GEN, TOB	+	+	ND	+	-	-	-
<i>E. coli</i>									
	5817	BLEE, ACN, CIP, AMK, GEN,	+	-	-	-	-	+	-
	3960	BLEE, ACN, GEN	+	-	-	-	-	+	+
	2919	BLEE, CAN	+	-	-	-	+	-	-
	2936	BLEE, PIP/TZ ¹ , ACN, GEN, TOB	+	-	+	+	-	-	-
	2805	BLEE, ACN, CIP, GEN, TOB	+	-	-	-	-	+	-
	2215	BLEE, ACN, CIP, GEN, TOB	+	-	-	-	-	+	-
	3002	BLEE, PIP/TZ ¹ , ACN, CIP, GEN, TOB	+	-	-	-	-	+	-
	4990	BLEE, GEN	+	+	-	-	-	+	+
	4762	BLEE, ACN, CIP, GEN, TOB	+	+	-	-	+	-	-
	5587	BLEE, PIP/TZ, ACN, CIP, GEN	+	-	-	+	-	-	-
	5724	BLEE, ACN, CIP	+	-	+	-	+	-	-
	5901	BLEE, ACN, CIP	+	-	-	+	-	-	-

PIP/TZ: piperacilina/tazobactam; PIP/TZ¹: piperacilina/tazobactam fenotipo intermedio; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; AZT: aztreonam; ERT: ertapenem; IMP: imipenem; MER: meropenem; ACN: ácido nalidixico; CIP: ciprofloxacina; ; CIP¹: ciprofloxacina fenotipo intermedio; AMK: amikacina; GEN: gentamicina; TOB: tobramicina. ND: no determinado sobre la cepa aislada.

De acuerdo a las características fenotípicas y genéticas de cada cepa (Tabla 9), se pudo observar que todas presentaron un perfil típico compatible con la producción de BLEE. Resultado que fue demostrado fenotípicamente por el patrón de resistencia (resistencia a cealosporinas y sensibilidad a los carbapenemos) y la positividad de la prueba del sinergismo del doble disco (PSDD). La caracterización molecular evidenció que estas cepas eran portadoras de una o más BLEE. La BLEE de tipo CTX-M estuvo presente en todas las cepas. La presencia de BLEE siempre estuvo asociada a la resistencia de quinolonas y/o aminoglucósidos. Sin embargo, solo en una cepa de *K. pneumoniae* (Cepa N° 4861) su perfil de resistencia estuvo exclusivamente representado por la combinación de una β -lactamasa del grupo TEM y una de tipo CTX-M-8.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 10. Distribución de los genes *bla*_{BLEE} y sus asociaciones en las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* aisladas en pacientes adultos con Infecciones Nosocomiales recluidos en las áreas del IAHULA

Presencia de genes <i>bla</i> _{BLEE}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N° 14)		<i>Escherichia coli</i> (N° 12)	
	n°	%	n°	%
CTX-M-1	7	50,00	3	25,00
CTX-M-2	2	14,29	3	25,00
CTX-M-8	5	35,71	6	50,00
CTX-M-9	0	0	2	16,66
TEM	4	28,57	2	16,66
SHV*	ND	ND	2	16,66
Asociaciones genes <i>bla</i>_{BLEE}				
CTX-M-8 + CTX-M-9	0	0	1	8,33
TEM + CTX-M	4	28,57	2	16,66
TEM + CTX-M-1	2	14,29	0	0
TEM + CTX-M-2	0	0	1	8,33
TEM + CTX-M-8	2	14,29	0	0
TEM + CTX-M-9	0	0	0	0
TEM + CTX-M-8 + CTX-M-9	0	0	1	8,33
SHV* + CTX-M	ND	ND	2	16,66
SHV* + CTX-M-1	ND	ND	1	8,33
SHV* + CTX-M-2	ND	ND	1	8,33
SHV* + CTX-M-8	ND	ND	0	0
SHV* + CTX-M-9	ND	ND	0	0

*Determinaciones solo hechas en *E. coli*; ND: no determinado sobre la cepa aislada

Fuente: Ficha de resultados Laboratorio de Biología Molecular.

Tabla 11. Distribución de las BLEE y sus asociaciones en las diferentes áreas de hospitalización del IAHULA.

Presencia de genes <i>bla</i> _{BLEE}	Área de hospitalización de Medicina Interna					
	EA	TS	UCI	T3	T5	T6
CTX-M-1	2	0	3	2	3	0
CTX-M-2	2	0	1	0	1	1
CTX-M-8	1	2	1	2	2	3
CTX-M-9	0	0	0	1	1	0
TEM	0	1	1	0	2	2
SHV*	0	0	1	0	1	0
Asociaciones genes <i>bla</i>_{BLEE}						
CTX-M-8 + CTX-M-9	0	0	0	1	1	0
TEM + CTX-M	0	1	1	0	1	2
TEM + CTX-M-1	0	0	1	0	1	0
TEM + CTX-M-2	0	0	0	0	0	1
TEM + CTX-M-8	0	1	0	0	0	1
TEM + CTX-M-9	0	0	0	0	0	0
TEM + CTX-M-8 + CTX-M-9	0	0	0	0	1	0
SHV* + CTX-M	0	0	1	0	0	1
SHV* + CTX-M-1	0	0	1	0	0	0
SHV* + CTX-M-2	0	0	0	0	0	1
Total (N° / %)	5/19, 23	5/19, 23	11/42, 31	6/23, 08	13/50, 00	12/46, 15

*Determinaciones solo hechas en *E. coli*. EA: emergencia de adultos; TS: trauma shock; UCI; unidad de cuidados intensivos; T3: hospitalización Piso 3; T5: hospitalización Piso 5; T6: hospitalización Piso 6.

Fuente: Ficha de resultados Laboratorio de Biología Molecular.

La presencia de los genes *bla*_{BLEE} y sus diversas asociaciones observadas en los dos grupos bacterianos, así como su distribución en las diferentes áreas de hospitalización se muestran en las tablas 10 y 11. Independientemente de la especie bacteriana la BLEE más frecuentemente detectada fue la CTX-M-1 (10/26) en segundo lugar la CTX-M-8 (11/26) y en tercer lugar la β -lactamasa tipo TEM (6/26). Este mismo orden de frecuencia invariablemente fue observado en el grupo de *K. pneumoniae*, pero en el caso de *E. coli* el orden fue el siguiente: CTX-M-8 (50, 0%), CTX-M-1 y CTX-M-2 (25, 0% cada una) y el resto con 16, 66% se distribuyeron CTX-M-9, TEM y SHV. El mayor número de posibles combinaciones de β -lactamasas se observó en *E. coli*, incluso en este grupo bacteriano se determinó en una cepa la asociación de tres tipos de β -lactamasas (TEM + CTX-M-8 + CTX-M-9). En el caso *K. pneumoniae* la asociación más frecuente fue TEM + CTX-M (4/14) y de estas 2 cepas presentaron TEM + CTX-M-2 y otras 2 tenían la combinación TEM + CTX-M-8. La detección de la BLEE tipo SHV solo fue posible determinarla en las cepas *E. coli*, encontrándose 2 tipos de asociación: SHV + CTX-M-1 y SHV + CTX-M-2. Las cepas productoras de BLEE con o sin asociaciones de genes *bla* fueron aisladas con mayor frecuencia en las áreas T5 (50%, 13/26), seguido por T6 (12/46, 15) y la UCI (42, 31%; 11/26).

IV. DISCUSIÓN.

Las infecciones asociadas a los cuidados de salud han adquirido mucha importancia en los últimos años debido al aumento de sus prevalencia, y a que en muchas oportunidades, son producidas por microorganismos multirresistentes. Los géneros pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, son unos de los más frecuentes y se asocian principalmente a las infecciones del tracto urinario y de heridas quirúrgicas.^{48, 49, 3, 50, 51}

En este estudio realizado sobre una muestra de 26 pacientes adultos se encontró un característico perfil de infección de nosocomial donde destacó en primer lugar, la neumonía seguida por sepsis e infecciones de heridas no quirúrgicas y en tercer lugar las infecciones del tracto urinario, por el contrario a lo que algunos autores refieren a las infecciones urinarias como la primera causa de infección nosocomial asociada a los cuidados de salud.^{3, 52}

Los patrones de prevalencia de las infecciones nosocomiales en los hospitales pueden obedecer a diversas causas de distinta índole tales como: disponibilidad del presupuesto otorgado para la atención de la salud en instituciones hospitalarias, creación y funcionamiento del comité de infecciones nosocomiales⁹, conductas aplicadas para la contención de la transmisión de patógenos, criterios para la utilización de los agentes antimicrobianos, uso correcto y oportuno de dispositivos de soporte de vías áreas y hemodinámia, técnicas de terapia respiratoria, así como los días de estancia hospitalaria, entre otros.³

Estudios epidemiológicos señalan a las unidades de cuidado intensivo y las quirúrgicas como las áreas de mayor riesgo de adquirir infecciones nosocomiales^{3, 6- 8, 17}. Sin embargo,

en este trabajo se encontró que las áreas con mayor número de casos de pacientes con infección nosocomial correspondieron a T5, seguido por UCI y la EA. Es probable que esta distribución de pacientes con infección nosocomial esté principalmente relacionada a los días de estancia hospitalaria.

Las enterobacterias como *K. pneumoniae* y *E. coli* fueron los patógenos principalmente involucrados en las infecciones nosocomiales incluidos en este estudio, con un 62% (14/26) y 38% (12/26) respectivamente en acuerdo con los resultados reportados.⁴⁸

La multirresistencia en microorganismos productores de BLEE, es en la actualidad uno de los principales problemas en los hospitales de Latinoamérica y el mundo, debido a la disminución de las opciones de tratamiento antimicrobiano y al aumento de la morbi-mortalidad^{53, 54}. El estudio de la susceptibilidad a los antibióticos β -lactámicos en las cepas *K. pneumoniae* y *E. coli*, reveló un perfil fenotípico compatible con la producción de BLEE. Las cepas productoras de BLEE son un grave problema terapéutico porque además de ser resistentes a la gran mayoría de β -lactámicos presentan altas tasas de resistencia a otros grupos de antibióticos⁵⁵. Los resultados de este trabajo avalan esta afirmación, cepas *K. pneumoniae* y *E. coli* además de ser productoras de BLEE, presentaron resistencia asociada a otros antibióticos como gentamicina (>75%), ciprofloxacina (>66%) y tobramicina (>50%) y en menor frecuencia a amikacina. Resultados similares fueron reportados en una investigación en el Hospital San Juan de Dios de Costa Rica¹⁷, determinaron que el 18% de la cepas de *K. pneumoniae* y el 40% de *E. coli* eran productoras de BLEE e invariablemente se asociaron con resistencia a otros antibióticos. Es posible que la distribución de las cepas estudiadas con diversos patrones de susceptibilidad, se deba a la presencia de determinantes de resistencia adicionales que median la producción

de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, bombas de expulsión, alteraciones de la permeabilidad de la pared celular, entre otros mecanismos.⁵⁶

Independientemente de la especie bacteriana aislada, todas las cepas fueron productoras de BLEE de tipo CTX-M. Sin embargo, en este estudio se pudo observar que la BLEE CTX-M-1 fue predominante en *K. pneumoniae* y la CTX-M-8 en *E. coli*. Recientemente, se reportó la presencia de *K. pneumoniae* productora CTX-M-1 en neonatos con septicemia nosocomial en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes⁵⁷ y se confirmó en el 2013 la presencia de enterobacterias productoras de CTX-M-1 en varios hospitales públicos de Caracas.⁵⁸

Es importante destacar, que cepas de *E. coli* productoras de CTX-M-8 no han sido reportadas en el país, por lo cual este sería el primer aislamiento de enterobacterias de origen nosocomial productoras de esta particular BLEE.

La asociación de diferentes tipos de BLEE fue un hallazgo común, pudiéndose observar que la combinación TEM + CTX-M fue frecuente en ambos grupos bacterianos. Por otra parte, se encontró que asociaciones entre diferentes grupos de CTX-M, tales como CTX-M-8 + CTX-M-9 también fue observado. Una sola cepa de *E. coli* (N° 3960) presentó la combinación de tres β -lactamasas; TEM + CTX-M-8 + CTX-M-9. Este perfil de BLEE es hasta el momento, en el ámbito nacional, el primero en ser reportado.

El hecho de que se haya encontrado diversas asociaciones de genes *bla* en las cepas estudiadas y que estas fueron aisladas en pacientes con infección nosocomial recluidos en diferentes áreas de hospitalización, podría indicar que existen mecanismos moleculares que facilitan los intercambios y/o re-arreglos genéticos entre bacterias y cuya transmisibilidad

podiera estar siendo favorecida por elementos transmisibles como los plásmidos, transposones o integrones en la población bacteriana.³⁵

La multirresistencia en patógenos nosocomiales plantea retos importantes desde el punto de vista terapéutico. En este estudio se pudo demostrar que todas las cepas fueron sensibles a los carbapenemos, por lo tanto se plantea como una opción válida para el tratamiento y control de las infecciones nosocomiales, con el riesgo de que el uso abusivo o inapropiado conduzca a la aparición de resistencia para este grupo de antibióticos⁴⁸. Otras alternativas posibles son el uso de tigeciclina y el colistin, sin embargo su utilización se reserva en los casos en que las bacterias involucradas en la infección intrahospitalaria demuestren a través de pruebas de laboratorio confiables resistencia a los antibióticos de primera línea y/o los carbapenemos^{48, 51}.

Los hallazgos de este estudio permiten concluir que la BLEE tipo CTX-M-1 y CTX-M-8 son las enzimas prevalentes en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de infección nosocomial. De acuerdo a nuestro conocimiento, esta es la primera descripción del gen *bla*_{CTX-M-8} en *E. coli* y su asociación con otras BLEE como TEM y CTX-M-9. En este contexto, podríamos asumir que cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de CTX-M-1 y CTX-M-8, respectivamente asociadas o no a otras BLEE, así como a determinantes de resistencia diferentes a los β -lactámicos, están circulando en las áreas de hospitalización de adultos en el IAHULA. Por tanto, es necesario implementar programas de vigilancia epidemiológica que permitan racionalizar el uso de antimicrobianos de amplio espectro basados en la epidemiología local y el mecanismo de resistencia presente, así como aplicar técnicas de caracterización molecular para la identificación de genes de resistencia y la

tipificación de microorganismos, para reducir el surgimiento y diseminación de clonas resistentes.

www.bdigital.ula.ve

V. CONCLUSIONES

1. Los diagnósticos más frecuentes de los pacientes con infección nosocomial fueron la neumonía seguida por sepsis e infecciones de heridas no quirúrgicas y en tercer lugar las infecciones del tracto urinario, durante el periodo de estudio de marzo a julio 2013.
2. Enterobacterias como *K. pneumoniae* y *E. coli* fueron los agentes causales de infección nosocomial en pacientes adultos recluidos en diferentes áreas de hospitalización de medicina interna, principalmente en T5 con 50% de las muestras.
3. Todas las cepas aisladas demostraron un perfil de multirresistencia predominando la presencia de BLEE y una variable asociación con resistencia a la ciprofloxacina y aminoglucósidos.
4. Independiente del grupo bacteriano, todas las cepas produjeron BLEE de tipo CTX-M y en algunos casos se asociaron a otras β -lactamasas como TEM y SHV.
5. Los genes *bla*_{CTX-M-1} y *bla*_{CTX-M-8} fueron detectados con mayor frecuencia en *K. pneumoniae* y *E. coli*, respectivamente
6. En este estudio se reporta por primera vez en Venezuela, cepas multirresistentes de *E. coli* productoras de CTX-M-8 y una cepa con un perfil genotípico particular conformado por la presencia de tres β -lactamasas TEM + CTX-M-8 + CTX-M-9.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Ampliar los estudios de caracterización molecular para la determinación de un mapa bacteriológico de la infección nosocomial en el IAHULA.
- ✓ Incluir el estudio molecular de otras BLEE como las metalo- β -lactamasas y/o carbapenemasas.
- ✓ Realizar estudios de epidemiología molecular para determinar las áreas de alto riesgo hospitalario de sufrir brotes o epidemias de infección nosocomial causadas por bacterias multirresistentes productoras de BLEE.
- ✓ Intensificar las medidas de control para la contención de patógenos multirresistentes intrahospitalario.
- ✓ Controlar el uso de los antibióticos y optimizar su indicación con base en estudios epidemiológicos y pruebas de susceptibilidad.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez A, C. Resistencia bacteriana, transmisión cruzada y control de la infección asociada a la atención en salud. *Rev. Medical Infection*. 2010; 14(2): 91-92.
2. Organización Mundial de la Salud. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Disponible en: www.antibioticos.msc.es/.../resist_OMS_estrategia_mundial_contra_resistencias.pdf. (Consultado el 15/05/2012).
3. Ponce S, Soto J. Infecciones intrahospitalarias. Buenos Aires: Mc Graw Hil Interamericana; 1996.
4. Lossa G R, Lerena R G, Fernández L E, Vairetti J, Díaz C, Arcidicono D, Peralta N. Prevalencia de infecciones nosocomiales en unidades de cuidado intensivo para adultos. Argentina: *Rev. Panem. Salud Pública*. 2008; 24(5):324-30.
5. De La Parte P M, Brito A, Guzmán, M. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela: Análisis de una década. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 2001; 21: 2:14-22.
6. López F J. Frecuencia de resistencia bacteriana a los antibióticos en cepas aisladas de pacientes admitidos en el servicio de emergencia del Instituto Universitario de Los Andes periodo julio-diciembre 2005. [Trabajo especial de grado- no publicado]. Mérida. Universidad de los Andes;2005.
7. Sánchez U M, Bello T H, Domínguez Y M, Mella M S, Zemelman Z R, González R G. Transferencia de β -lactamasas de espectro extendido desde cepas hospitalarias de *Klebsiella pneumoniae* a otras especies de enterobacterias. *Revista Médica de Chile*. 2006; 134: 415-420.

8. Briceño I, Suarez M. Resistencia Bacteriana en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario de los Andes. *MEDICRIT*. 2006; 3(2): 30 – 42.
9. Miranda M, Pérez F, Zuluaga T, Olivera M, Correa A, Reyes S, Villegas M, Grupo de resistencia nosocomial de Colombia. Resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram Negativo en unidades de cuidados intensivos en hospitales de Colombia WHONET 2003, 2004 Y 2005. *Biomédica*. 2006; 26: 424-433.
10. Tabata O E. Resistencia bacteriana intrahospitalaria de Bacilos Gramnegativos en los pacientes internados en los pisos de medicina interna del IAHULA Mérida Estado Mérida 2008-2010. [Trabajo especial de grado- no publicado]. Mérida. Universidad de los Andes.
11. Andrade S, Sader H, Jones R, Pereira A, Pignatari A, Gales A. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: Time for local guidelines?. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2006; 101 (7): 741-748.
12. Luna L C, Gherardi C, Famiglietti A, Vay C. Resistencia bacteriana y antibioticoterapia en Medicina respiratoria y terapia intensiva Hospital de Clínicas José de San Martín. Buenos Aires. 2001; 61: 603-613.
13. Cortés J A, Cuervo S I, Urdaneta A M, Potdevin G, Arroyo P, Bermúdez, *et al*, . Identifying and controlling a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a latin-american Cancer Centre and its associated risk factors. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2009; 13: 99-103.
14. Labarca L. J, Araos B.R. Resistencia antimicrobiana: Problema en aumento y soluciones escasas. *Revista Chilena de Infectología*. 2009; 26: 8-9.

15. Perozo A, Castellano M. Detección de Betalactamasas de espectro extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*. *Kasmera*.2009; 37 (1): 25-37.
16. García A, García E, Hernández A., Ruiz J, Yagüe G, Herrero J, Gómez J. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp Quimioter*. 2011; 24 (2): 57-66.
17. Araya C, Boza R, Arguedas L, Badilla G, García F. Infecciones nosocomiales por bacterias productoras de β -lactamasa de espectro ampliado: prevalencia, factores de riesgo y análisis molecular. *AMC*. 2007; 49 (2): 90-96.
18. Zemelman R, Valenzuela L, Domínguez M, Bello H, González G, Zemelman C. Detección de β -lactamasas de espectro extendido en el laboratorio de microbiología. *Rev Chil Infect*.2002; 19 (Supl 2):92-95.
19. Tenover F C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med*. 2006; 119:S3-10; discussion S62-70.
20. Morales J, Reyes K., Monteghirfo M, Roque, M, Irey. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en dos Hospitales de Lima, Perú. *An Fac Med Lima*.2005; 66 (1): 24-32.
21. González L, Ramos A, Nadal L, Morffi J, Hernández E, Álvarez A., Marchena J, González M, Vallin, C. (2007). Identificación fenotípica y molecular de β -lactamasas de espectro extendido TEM y SHV producidas por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. aislados clínicos en hospitales. *Rev Cubana Med Trop*.2007; 59 (1): 52-58.
22. De Oliveira C, Frazzon N, Almeida I, Horta J, Rieger A, Hartz, S. Prevalência das famílias TEM, SHV e CTX-M de β -lactamases de espectro extendido em *Escherichia*

coli e *Klebsiella* spp no Hospital Universitário de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.*2009 42 (5): 556-560.

23. Harada, S, Ishii, Y, Yamaguchi K. Extended-spectrum β -lactamases: Implications for the Clinical Laboratory and Therapy. *Korean J Lab Med.*2008 28: 401-412.

24. Mantilla J, Barreto E, Reguero M, Velandia D. Identificación por PCR-SSCP de genes de cefotaximasas en aislamientos hospitalarios de *Enterobacteriaceae*. *Rev colomb. Biotecnol.* 2009 11 (2): 57-65.

25. Dubois D, Prasadarao N, Mittal R, Bret L, Roujou M, Bonnet R. CTX-M β -lactamase production and virulence of *Escherichia coli* K1. *Emerg Infect Dis.*2009 15 (12): 1988-1990.

26. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *AAC.*2004; 48 (1): 1-14.

27. Pitout, J. (2010). Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs*, 70 (3): 313-33.

28. McGettigan, Sh, Hu B, Andreacchio K., Nachamkin I, Edelstein P. Prevalence of CTX-M β -lactamases in Philadelphia, Pennsylvania. *J Clin Microbiol.*2009; 47: 2970-2974.

29. Sidjabat H, Paterson D, Adams J, Ewan L, Pasculle A, Muto C, Tian G, Doi, Y. Molecular epidemiology of CTX-M- producing *Escherichia coli* isolates at a tertiary medical center in Western Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother.*2009; 53: 4733-4739.

30. Vignoli R, Cordeiro N, Seija V, Schelotto F, Radice M, Ayala A, Power P, Gutkind G. Entorno genético de CTX-M-2 en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de pacientes hospitalizados en Uruguay. *Rev Argent Microbiol.* 2009 38: 84-88.
31. Castro N, Carreón D, Moreno M, Alarcón L. Caracterización molecular de β -lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 28 (3): 114-120.
32. Gaitán S, Espinal M. Caracterización molecular de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en Hospitales de la Región Caribe, Colombia. *Rev Chil Infect.* 2009; 26 (3): 239-246.
33. Comegna M, Guzmán M, Carmona O, Molina M. Grupo Colaborativo del Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela-Nuevos hallazgos. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2000; 20 (1): 88-88.
34. Araque M, Nieves B, Lauretti L, Rossolini G. Molecular basis of extended-spectrum β -lactamase production in nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Mérida, Venezuela. *Int J Antimicrob Agents.* 2000; 15 (1): 37-42.
35. Araque M, Rivera I. Simultaneous presence of *blaTEM* and *blaSHV* genes on a large conjugative plasmid carried by extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Am J Med Sci.* 2004; 327 (3): 118-22.
36. Torres L, Gagliotta V, Torres O, Benítez M, Domínguez M, Pedroza R. β -Lactamasas de Espectro Extenso en Enterobacterias aisladas en Centros de Salud de Caracas. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2006; 26 (2): 80-88.
37. Vergara V, Rodríguez Y, Benítez E, Garmendia Y, Morales M, López R, Torres L. Enterobacterias productoras de Beta Lactamasa de espectro extenso en pacientes

críticos de la Maternidad «Concepción Palacios» *Act Cient de la Soc Venz de Bioanal Espec.*2007; 10 (1): 33-38.

38. Andrea L, Paz A, Piña E, Perozo A. Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario de Venezuela. *Kasmera.* 2007; 35 (1): 15-25.

39. Guzmán M, Alonso G. Caracterización de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas nosocomiales de *K. pneumoniae* Sucre-Venezuela. *Invest Clin.*2009;50 (4): 419-431.

40. Ghiglione B, Millán B, González A, Gutkind G, Araque M. *Klebsiella pneumoniae* productora de CTX-M-2 aislada en una unidad de alto riesgo neonatal en Venezuela. *Memorias del XX Congreso Latinoamericano de Microbiología.*2010 (pp. 178). Uruguay.

41. Millán B, Ghiglione B, Díaz T, Gutkind G, Araque M. CTX-M-14 β -lactamase producing *Citrobacter freundii* isolated in Venezuela. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*2011; 10 (22).

42. Fernández F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*2004; 22(6): 355-360.

43. Martín L, Calvo J. El problema creciente de la resistencia antibiótica en bacilos gramnegativos: situación actual. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*2005; 28 (supl 2): 25-31.

44. Novoa D M. Epidemiología Clínica. Venezuela. 2007;1 2: 516-30.

45. Clinical and laboratory Standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 22th informational supplement. 2012. Document M100-S19. Wayne, PA.

46. Pallecchi L, Malossi M, Mantella A, Gotuzzo E, Trigoso C, Bartoloni A, Paradisi F, Kronvall G, Rossolini G. Detection of CTX-M-type β -lactamase genes in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy Children in Bolivia and Perú. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48 (12): 4556- 61.
47. Ma L., Chang F, Fung C, Chen T, Lin J, Lu P, Huang L, Chang J, Siu L. Variety of TEM, SHV, and CTX-M tipe β -lactamasa presente in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* from Taiwan. *Microb Drug Resist.* 2005; 11: 31-39.
48. Díaz M, Hernandez JR, Martinez-Martinez L, Rodriguez- Baño J, Pascual A, GEIH. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasa de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico proyecto GEIH- BLEE. *Enferm Infecc Microbiolol Clin* 2009; 27(9):503-10.
49. Martínez R P, Espinal M P, Bustos G A, Velilla S. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. *Med Unab.*2005;(8):15-22.
50. Villegas MV. Epidemiology of nosocomial gram (-) bacteria in Colombia: an update. 3rd International Symposium on Antimicrobial Resistance. Cartagena, 2004.
51. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamases phenotype of isolates from Europe, the Americas and the Western Pacific Region. *Clin Infect Dis.* 2001; 32:94-103.
52. Perozo-Mena A, Castellano-González M, Ginestre-Pérez M, Harris B. Caracterización molecular y detección de beta-lactamasas de espectro extendido en cepas

de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas en las unidades de cuidado intensivo de un hospital universitario. *Kasmera*. 2007; 35:91-106.

53. Alpuche A C, Daza T C. Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. *Enfermedades infecciosas y microbiología*. 2002; 22(4): 192-199.

54. Wilson S J, Knipe C J, Zieger M J, Gabehart K, Goodman J E, Volk H. M. et al. Direct costs of Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* In the burn unit of a public teaching hospital. *Americal Journal of Infection Control*. 2004; 32(6):342-4.

55. Calderón R, Sacsquispe R, Pasterán F, Galas M, Soto J, RiverosJ, Valencia A, Silva N, Suárez V, Montoya Y. Caracterización molecular de *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido tipo SHV-5 en una unidad de cuidados intensivos neonatal de Lima. *Rev. Peruana Med. Exp, Salud Pública*. 2003; 20:121-127.

56. Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Front Microbiol* 2012; 3 DOI: 10.3389/fmicb.2012.00110.

57. Millán B, Castro D, Ghiglione B, Gutkind G, Araque M. ISCR1 asociado a genes *bla*_{CTX-M-1} y *bla*_{CTX-M-2} en plásmidos IncN e IncFIIA aislados en *Klebsiella pneumoniae* de origen nosocomial en Mérida, Venezuela. *Biomédica* 2013; 33(2): 268-275.

58. Redondo C, Chalboud A, Alonso G. Frequency and diversity of CTX-M enzymes among extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates from Caracas, Venezuela. *Microb Drug Resist* 2013; 19(1):42-47.

VIII. ANEXOS:

www.bdigital.ula.ve

Anexo 1.

PARTE I

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA IAHULA

N° De muestra	Historia clínica		Ubicación	Género		Edad
				M	F	
Ubicación previa	Antibióticos previos?		Antibiótico	Comorbilidad?		Cuál comorbilidad?
	S	N		S	N	

a) BACTERIA AISLADA

b) Tipo De Muestra Marcar Con X

Tipo de muestra	Espuito	Líquido ascítico	Líquido cefalor.	Líquido pleural	Orina	Sangre	Secreción bronquial	Secreción de piel
-----------------	---------	------------------	------------------	-----------------	-------	--------	---------------------	-------------------

c) Susceptibilidad antimicrobiana.

Antimicrobianos	1	2	3		1	2	3
Acido nalidixico				Claritromicina			
Amikacina				Amox. /clav.			
Ampicilina				Clindamicina			
Amoxicilina				Cloranfenicol			
Azitromicina				Eritromicina			
Aztreonam				Gentamicina			
Cefaclor				Imipenem			
Cefalotina				Levofloxacin			
Cefepime				Meropenem			
Cefixime				Pip/tazobact			
Cefoxitina				Ampic. /sulbc			
Cefotaxime				Cefope /Sulb			
Ceftazidima				TMP/SMX			
Ceftibuten				Tetraciclina			
Ceftriaxone				Teicoplanina			
Cefuroxima				Tobramicina			
Ciprofloxacina				Colistin			

PARTE II

LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR ULA:

A) BACTERIA
AISLDA

B) Susceptibilidad antimicrobiana:

Antimicrobianos	S	R	CIM
Cefotaxima			
Ceftazidime			
Ceftriaxone			
Piperacilina/tazobactam			
Ertapenem			
Meropenem			
Gentamicina			
Tobramicina			
Aztreonam			
Colistin			
Tigeciclina			

C) Caracterización molecular

ENZIMA	CARACTERIZACIÓN MOLECULAR					
	β lactamasa TEM, SHV CTX-M	bla _{TEM}		bla _{SHV}		bla _{CTX-M}
β lactamasa CTX-M	bla _{CTX-M1}	bla _{CTX-M2}	bla _{CTX-M8}	bla _{CTX-M9}	bla _{CTX-M25}	

CONCENTRACIONES INHIBITORIAS MÍNIMAS

Determinación de la concentración inhibitoria mínima a β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos de las cepas de *K. pneumoniae* aisladas en pacientes Adultos del IAHULA.

No. cepa	CIM (μ g/ml)											
	PIP/TZ	CTX	CAZ	AZT	ERT	IMP	MER	ACN	CIP	AMK	GEN	TOB
3740	16	64	32	> 64	0.032	0.012	0.064	8	4	8	> 16	4
4088	8	> 128	64	32	0.016	0.125	0.064	> 64	4	> 64	> 16	4
2976	4	8	16	> 64	0.032	0.125	0.064	> 64	2	8	> 16	16
2980	32	> 128	32	> 64	0.064	0.064	0.125	8	4	16	1	4
3608	32	> 128	64	64	0.064	0.064	0.125	> 64	> 8	16	> 16	> 16
2806	16	128	32	> 64	0.016	0.125	0.032	> 64	> 8	64	> 16	> 16
2206	> 128	> 128	32	64	0.016	0.032	0.125	> 64	2	> 64	> 16	> 16
2796	> 128	> 128	8	> 64	0.5	0.5	0.125	4	0.5	> 64	1	4
5157	16	> 128	8	> 64	0.064	0.064	0.064	> 64	> 8	> 64	> 16	16
4861	16	128	8	64	0.004	0.032	0.016	1	0.25	8	1	4
5040	32	> 128	64	> 64	0.125	0.125	0.064	> 64	> 8	> 64	> 16	4
5042	32	> 128	64	> 64	0.125	0.125	0.125	4	4	8	> 16	16
3939	16	64	16	32	0.008	0.032	0.016	> 64	4	8	> 16	> 16
5497	16	32	32	64	0.064	0.064	0.064	> 64	4	> 64	> 16	> 16

PIP/TZ: piperacilina/tazobactam; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; AZT: aztreonam; ERT: ertapenem; IMP: imipenem; MER: meropenem; ACN: ácido nalidixico; CIP: ciprofloxacina; AMK: amikacina; GEN: gentamicina; TOB: tobramicin.

Determinación de la concentración inhibitoria mínima a β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos de las cepas de *E. coli* aisladas en pacientes reclusos en las áreas de hospitalización de Medicina Interna del IAHULA.

No. cepa	CIM ($\mu\text{g/ml}$)											
	PIP/TZ	CTX	CAZ	AZT	ERT	IMP	MER	ACN	CIP	AMK	GEN	TOB
5817	8	8	8	32	0.016	0.125	0.064	> 64	4	16	> 16	4
3960	2	2	2	2	0.016	0.125	0.064	> 64	0.64	8	> 16	4
2919	4	16	16	32	0.016	0.125	0.125	> 64	2	8	1	0.5
2936	32	32	32	> 64	0.032	0.025	0.032	> 64	2	8	> 16	16
2805	4	16	16	32	0.064	0.125	0.064	> 64	> 8	8	> 16	> 16
2215	16	128	8	64	0.016	0.064	0.032	> 64	> 8	8	> 16	> 16
3002	32	> 128	64	64	0.008	0.064	0.125	> 64	4	16	> 16	> 16
4990	4	128	8	32	0.064	0.064	0.064	2	0.125	8	> 16	4
4762	2	4	8	16	0.008	0.032	0.032	> 64	> 8	8	> 16	> 16
5587	> 128	> 128	64	> 64	0.008	0.032	0.032	> 64	4	16	> 16	4
5724	16	> 128	32	> 64	0.064	0.125	0.064	16	4	8	4	2
5901	16	> 128	128	64	0.064	0.064	0.064	> 64	> 8	2	0.25	0.25

PIP/TZ: piperacilina/tazobactam; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; AZT: aztreonam; ERT: ertapenem; IMP: imipenem; MER: meropenem; ACN: ácido nalidixico; CIP: ciprofloxacina; AMK: amikacina; GEN: gentamicina; TOB: tobramicina.*Pendiente resultado