



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Académica Profesional de Microbiología y Parasitología

Determinación fenotípica de enterobacteriáceas productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras de heces de pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga, Microbióloga

Parasitóloga

AUTOR

María del Carmen MOLINA CARPIO

ASESORES

Javier SOTO PASTRANA

Ruth GARCÍA DE LA GUARDA

Lima, Perú

2013

RESUMEN

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos, y en particular la producción de β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido (BLEE), es un grave problema, debido a que ya no incluye únicamente al ámbito hospitalario, sino también el comunitario. La producción de BLEE se ha observado principalmente en enterobacteriáceas, primero en ambientes hospitalarios, más tarde en los hogares de ancianos, y desde el año 2000 en la comunidad (pacientes ambulatorios, portadores sanos, animales enfermos y sanos, productos alimenticios). Las especies más frecuentes productoras de BLEE son *E. coli* y *K. pneumoniae*. Sin embargo, todas las otras especies de enterobacterias clínicamente relevantes son también productores de BLEE comunes. La prevalencia de cepas BLEE positivas depende de una serie de factores como especie, localidad geográfica, hospital, sala, grupo de los pacientes y el tipo de infección, y otras variaciones reportadas en diferentes estudios. Sin embargo, no existen muchos datos sobre la prevalencia y capacidad de difusión de estas resistencias en pacientes ambulatorios. Por ello, los objetivos de esta tesis se enmarcaron en un proyecto coordinado cuya finalidad ha sido detectar fenotípicamente las enterobacteriáceas productoras de BLEE en muestras de pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”. Otros objetivos fueron determinar la capacidad del agar Karmali para la detección de bacterias productoras de BLEE, la frecuencia de las enterobacteriáceas más comunes que presentan BLEE y, finalmente, determinar mediante una regla empírica el tipo de BLEE.

Entre abril y octubre del 2011 fueron analizadas 233 muestras de heces correspondientes a pacientes ambulatorios que presentaban problemas gastrointestinales que procedían de Unidad de Rehidratación Oral del HONADOMANI “San Bartolomé”. De las placas de agar Karmali se seleccionaron las colonias que presentaban las características de

enterobacteriáceas, para purificarlas en Mac Conkey y luego identificarlas con pruebas bioquímicas en tubo. Para la detección de BLEE se tomó en cuenta los criterios de la CLSI 2010 y el método de Jarlier de la SFM que incluía discos de AMC, CTX CAZ y ATM en Müller Hinton; finalmente para la diferenciación del tipo de BLEE se tomó en cuenta la regla empírica de Jacoby, *et al.* (2006); donde se relaciona la medida del diámetro del disco de CTX con el diámetro del disco de CAZ.

Al finalizar el estudio de las 149 enterobacteriáceas con fenotipo BLEE se pudo determinar , 128 *E. coli*, 11 *Klebsiella pneumoniae*, 4 *Proteus mirabilis*, 3 *Enterobacter cloacae*, 2 *Shigella sonnei "D"*, 1 *Proteus vulgaris*, que representaron 85.9% (128/149), 7.4% (11/149), 2.7% (4/149), 2% (3/149), 1.3% (2/149), 0.7% (1/149). Finalmente, se logró identificar presuntivamente el tipo de enzima β -lactámica mediante una regla empírica, encontrando 85 (57%) CTX-M y 64 (43%) TEM o SHV.

Palabras clave: Betalactámicos, BLEE, CTX-M, diseminación, Enterobacteriáceas, fenotípico, heces, Karmali, pacientes ambulatorios, SHV oTEM.

ABSTRACT

Bacterial resistance to antimicrobials, particularly the production of extended spectrum beta lactamase (ESBL), is a serious problem, because it no longer includes only the hospital setting, but also the community one. ESBL production has been observed mostly in Enterobacteriaceae, first in hospital environments, later in nursing homes, and since around 2000 in the community environment (outpatients, healthy carriers, sick and healthy animals, food products). The most frequent ESBL-producing species are *E. coli* and *K. pneumoniae*. However, all other clinically-relevant Enterobacteriaceae species are also common ESBL-producers. The prevalence of ESBL-positive isolates depends on a range of factors including species, geographic locality, hospital/ward, group of patients and type of infection, and large variations have been reported in different studies.

However, there is not many data available on prevalence and dissemination capabilities of this resistance in outpatients. Therefore, the objectives of the thesis were part of a coordinated project whose aim was to phenotypically detect ESBL-producing Enterobacteriaceae in samples of outpatients from the National Teaching Hospital Mother Child "San Bartolome". Other aims were to determine the ability of the Karmali medium to detect ESBL-producing bacteria, the frequency of the most common ESBL producing Enterobacteriaceae and finally to determine the type of ESBL by an empirical rule.

From April to and October 2011 were analyzed 233 samples from outpatients who showed gastrointestinal problems that coming from the HONADOMANI URO "San Bartolome". From Karmali medium plates colonies that showed the characteristics of Enterobacteriaceae, were selected purified in Mac Conkey medium and then identified by biochemical tests. For the detection of ESBL it was taken into account the CLSI 2010 criteria and the Jarlier method from SFM discs including AMC, CTX CAZ and ATM in

Müller Hinton and finally to differentiate the type of ESBL considering the empirical rule used Jacoby, *et al.* (2006), which relates diameter measurements CTX with CAZ disk.

Following the study of the 149 Enterobacteriaceae with ESBL phenotype could be determined, *E. coli* 128, *Klebsiella pneumoniae* 11, *Proteus mirabilis* 4, *Enterobacter cloacae* 3, *Shigella sonnei* "D" 2, *Proteus vulgaris* 1, which represented 85.9% (128/149), 7.4% (11/149), 2.7% (4/149) , 2% (3/149), 1.3% (2/149), 0.7% (1/149), respectively.

Finally, was possible to identify presumptively the type of enzyme β -lactam by an empirical rule, finding 85 (57%) CTX-M and 64 (43%) TEM or SHV.

Keywords: beta-lactams, ESBL, CTX-M, dissemination, Enterobacteriaceae, phenotypic, feces, Karmali, outpatient, SHV or TEM.