

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

E.A.P. DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

**Prevalencia de enterobacteriáceas productoras de
betalactamasas de espectro extendido (Blee) en la clínica
Good Hope durante el periodo marzo – agosto del 2012**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo

AUTOR

Rolando Paredes Gago

ASESOR

Ruth Garcia de la Guarda

Lima – Perú

2013

DEDICATORIA

Dedico mi Tesis:

En primera instancia a mi padre celestial, Dios por guiar cada paso que he dado en mi vida ya que cada uno de ellos lo ha conducido con la certeza de que está a mi lado alegrando mi corazón con la luz de tu espíritu y es por ello que he alcanzado cada meta propuesta.

Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón papá y mamá, y a ti en especial mamá por darme la confianza empuje y todo tu amor, así mismo tu paciencia cuando más la necesite.

A mi abuela ya que como una madre siempre he visto, gracias a su sabiduría influyeron en mi la madurez para lograr todos los objetivos en la vida, ya que me distes el pilar de mi formación e inculcaste en mí el deseo de superación.

A mi enamorada por su paciencia y comprensión, preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Por tu bondad y sacrificio me inspiraste a ser mejor, ahora te digo gracias por estar siempre a mi lado.

A esas personas importantes en mi vida, familiares y amigos que siempre estuvieron listos para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial a mi asesora Ruth García de la Guarda directora de esta investigación, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continua de la misma, por la motivación y el apoyo.

Especial reconocimiento merece la oportunidad dada en este trabajo por parte de los miembros de la Clínica Good Hope, siendo intermediario mis Jefe el Blgo. Oscar Vasquez Macedo y Blga. Marjorie Vela Perez, encuentro en deuda por el ánimo infundido y la confianza en mí depositada. También me gustaría agradecer la ayuda recibida por parte de los miembros supervisores que fueron tan atentos profesores, quienes me han ayudado, sugerido y han contribuido a poder culminar este trabajo.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de todos mis amigos.

A todos ellos, muchas gracias.

INDICE

	Pág
1.-INTRODUCCIÓN	1
2.- MARCOTEÓRICO	3
2.1. ANTIBIÓTICOS β - LACTÁMICOS	3
2.2. RESISTENCIA A LOS β - LACTÁMICOS	5
2.2.1 β - LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)	7
2.3. INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS (IIH) O NOSOCOMIALES	12
GENERALIDADES	12
INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS EN EL PERÚ	14
FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE Y SU IMPORTANCIA EN LAS INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS	16
ANTECEDENTES	19
METODOLOGÍA DE DETECCIÓN DE BLEE	26
2.5.1 TÉCNICAS DE TAMIZAJE	26
TÉCNICAS CONFIRMATORIAS	27
3.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	31
4.- MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1 MATERIALES	32
4.2 MÉTODOS	34
5.- RESULTADOS	38
6.- DISCUSIÓN	53
7.- CONCLUSIONES	60
8.- RECOMENDACIONES	62
9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
10.- ANEXOS	71

INDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla N° 01 Clasificación de las betalactamasas según Bush, Jacoby, Medeiros y según Ambler.	11
Tabla N° 02 Prevalencia de Enterobacteriáceas BLEE (+) entre marzo-agosto del 2012 en la Clínica Good Hope de Miraflores.	38
Tabla N° 03 Distribución de los pacientes según edad y sexo con enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas.	40
Tabla N° 04 Enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas según procedencia de muestra (ambulatorio/hospitalizado).	41
Tabla N° 05 Exámenes practicados para la detección de las enterobacteriáceas BLEE (+) según procedencia de la muestra (ambulatorio/hospitalizado).	43
Tabla N° 06 Servicios hospitalarios que solicitaron exámenes para detección de enterobacteriáceas BLEE (+).	44
Tabla N° 07 Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de enterobacteriáceas BLEE(+).	45
Tabla N° 08 Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de enterobacteriáceas BLEE(+).	46
Tabla N° 09 Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de enterobacteriáceas BLEE(+).	47
Tabla N° 10 Porcentaje de resistencia de las enterobacteriáceas BLEE(+) a otros antibióticos en muestras de pacientes ambulatorios.	49
Tabla N° 11 Porcentaje de resistencia de las enterobacteriáceas BLEE(+) a otros antibióticos en muestras de pacientes hospitalizados.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág
Figura N°01	Estructura química de los betalactámicos.	5
Figura N° 02.	Frecuencia de enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas de pacientes según sexo.	38
FiguraN° 03	Frecuencia de enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas de pacientes según edad.	39
FiguraN° 04	Distribución de las enterobacteriáceas BLEE (+) según germen aislado y procedencia de la muestra.	42
FiguraN° 05	Porcentaje de resistencia/sensibilidad a otros antibióticos de las enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas de pacientes ambulatorios de la clínica Good Hope.	50
FiguraN° 06	Nivel de resistencia/sensibilidad a otros antibióticos de las enterobacteriáceas .BLEE(+) aisladas de pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope.	52

ABREVIATURAS

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

CLSI: Clinical Laboratory and Standards Institute

CMI: Concentración mínima inhibitoria

CO₂: Dioxido de carbono

CTA: Cefotaxima/ácido clavulánico

CTI: Ceftazidima/ácido clavulánico

C3G: Cefalosporinas de tercera generación

DGE: Dirección General de Epidemiología

DNA: Ácido desoxirribonucleico

h: horas

HTLV: T-lymphotropic virus

IEF: isoelectroenfoque

IIH: Infeccion intrahospitalaria

ITU: Infección del tracto urinario

kD: kiloDalton

LIA: Lysine Iron Agar

MINSA: Ministerio de Salud

mm: milímetro

PCR: Polymerase Ch Reaction

PCR-SSCP: Single Stand Conformation Polymorphisms

PCR-RSI: Restriction Site Insertion

PCR-RFLP: Restriction fragment length polymorphisms

pI: Punto isoelectrico

SIM: Sulfuro-Indol-Motilidad

SMART: Análisis de Seguimiento de Tendencias de Resistencia a los antimicrobianos

TSI: Triple Sugar Iron Agar

UCI: Unidades de Cuidados Intensivos

°C: Grados centígrados

µg: Microgramo

1. INTRODUCCIÓN

La aparición de la resistencia antimicrobiana representa un gran problema en la atención de salud (Lindsay, 2011), especialmente en nuestro país por lo que es importante hacerle frente mediante la vigilancia tanto a nivel regional como local (Borg *et al.*, 2009). Para ello es necesario conocer la prevalencia de la resistencia microbiana en nuestra área geográfica y algunas características epidemiológicas de las infecciones en las que se presentan para establecer la dimensión del problema y analizar su evolución (Guirao *et al.*, 2009).

La aparición y propagación de las bacterias que producen las enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) se han descrito en todo el mundo como punto crítico de urgencia debido a la alta propagación de estas cepas en diferentes tipos de infecciones, y que los estudios demuestran que se presenta mayormente en las enterobacteriáceas y confieren resistencia a las penicilinas, a todas las cefalosporinas y al aztreonam, pero no a los carbapenemes ni a las cefamicinas, además la mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico. Por ello las BLEE son un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil (Winokur *et al.*, 2001; Máttar y Martínez, 2007). En el Perú no se cuenta con suficiente información de la real prevalencia de la resistencia antimicrobiana mediada por BLEE en enterobacteriáceas debido a la falta de estudios y a la dificultad técnica para su detección (Lezameta *et al.*, 2010).

Para evaluar el alcance del problema causado por BLEE se puede aplicar la siguiente analogía: Cuando se desea determinar el calibre del problema, se hacen mediciones de amplitud, profundidad y anchura. Se puede considerar anchura microbiológica (el tipo de microorganismo involucrado), la profundidad del antibiótico (el número de antibióticos inactivados por BLEE), y la amplitud geográfica (la carga global de la resistencia) (Rajal 2000).

El panorama actual es mucho más complejo que el que existía años atrás, la presencia de microorganismos multirresistentes es cada vez más frecuente. Se desconoce la prevalencia real de las BLEE, pero como ya reflejaba el estudio del Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY, su incidencia es creciente principalmente en enterobacteriáceas (García *et al.*, 2011). En nuestro país hay pocos estudios sobre la real prevalencia de betalactamasas de espectro extendido en muestras clínicas (Calderón *et al.*, 2003).

Las infecciones con BLEE han experimentado importantes cambios epidemiológicos en los últimos tiempos y actualmente la atención se centra en el aumento de infecciones y colonizaciones en pacientes procedentes de la comunidad. La principal repercusión clínica de las BLEE parece ser la mayor frecuencia con la que estos pacientes con infecciones graves reciben un tratamiento empírico inadecuado (García *et al.*, 2011).

Por la problemática antes explicada y siendo los antibióticos betalactámicos las drogas más utilizadas para el tratamiento de infecciones bacterianas tanto a nivel ambulatorio como a nivel hospitalario, es que se planteó el presente estudio orientado a determinar la prevalencia de enterobacteriáceas productoras de BLEE en la Clínica Good Hope durante el periodo Marzo – Agosto del 2012, a fin de generar conocimientos sobre la magnitud y distribución de este tipo de bacterias resistentes y contribuir en la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS

Son antibióticos bactericidas, es decir bloquean los procesos de síntesis y reparación de la pared bacteriana produciendo la lisis de la célula.

Una consecuencia de este mecanismo de acción es que estos antibióticos actúan siempre en la fase de reproducción celular y por tanto no son efectivos contra formas latentes ni contra gérmenes sin pared bacteriana como los micoplasmas (Marín y Gudiol, 2003).

Penicilinas:

Esta sustancia actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular de la bacteria. Son activas frente a cocos Gram positivos aunque se inactiva por la enzima penicilinasasa que poseen ciertas cepas de *Staphylococcus*. El espectro de acción cubre las bacterias Gram negativas incluyendo las enterobacteriáceas.

También existen penicilinas de amplio espectro como la ampicilina y la amoxicilina, estas también pueden ser utilizadas con inhibidores de betalactamasas como son el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam (Suarez y Gudiol, 2009).

Cefalosporinas:

Son un derivado semisintético de un antibiótico obtenido originalmente del microorganismo *Cephalosporium acremonium*. Las cefalosporinas tienen una estructura similar a las penicilinas, pero posee un anillo beta-lactama-dehidrotiacina en lugar del anillo beta-lactama-tiazolidina de la penicilina (Suarez y Gudiol, 2009).

Estas se clasifican por generaciones:

Primera generación: Son activas principalmente frente a cocos Gram positivos, también poseen actividad frente a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*.

Segunda generación: Poseen mayor actividad frente a enterobacteriáceas y *Haemophilus influenzae*.

Tercera generación: Son muy activas frente a enterobacteriáceas, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae*. Algunos son activos frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Cuarta generación: Son más activas y más resistentes a la acción de betalactamasas.

Monobactámicos

Son betalactámicos monocíclicos cuyo principal representantes es el aztreonam. Son estables frente a la mayoría de betalactamasas de Gram negativos excepto a las de espectro extendido, limitándose su espectro de actividad a las bacterias Gram negativas. Usado principalmente en infecciones urinarias o sepsis demostradas por Gram negativas (Suarez y Gudiol, 2009).

Carbapenemasas

Están formados por un anillo betalactámico unido a un anillo insaturado de cinco miembros, los representantes más utilizados son imipenem y meropenem a los que se les añadió el ertapenem. Presentan un amplio espectro de actividad y una gran resistencia a todas las betalactamasas, tanto cromosómicas como plasmídicas, pero se inactivan por las denominadas carbapenemasas, en general no deben utilizarse como tratamiento de primera línea, excepto para tratar infecciones por bacterias multirresistentes (Suarez y Gudiol, 2009).

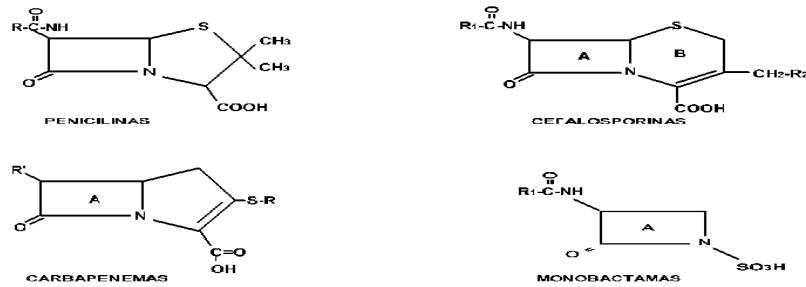


Figura N°01 Estructura química de los betalactámicos

2.2 RESISTENCIA A LOS BETALACTÁMICOS

La resistencia se produce en todas las clases de microorganismos (bacterias, hongos, parásitos y virus). La resistencia a los antimicrobianos en bacterias actualmente es una importante preocupación tanto para las infecciones adquiridas en la comunidad y en la atención sanitaria (Suarez y Gudiol, 2009).

La resistencia bacteriana es la producida por rasgos del microorganismos codificados genéticamente y es el tipo de resistencia que prueban los métodos de sensibilidad *in vitro*.

La resistencia bacteriana puede dividirse en resistencia intrínseca o inherente y resistencia adquirida.

Resistencia Intrínseca

Es la resistencia a los antimicrobianos del estado genético, estructural o fisiológico normal de un microorganismo, este tipo de resistencia es una característica natural y heredada de forma invariable que se asocia con la inmensa mayoría de las cepas que constituyen un grupo, un género o una especie. Estos son útiles para determinar qué agentes antimicrobianos deben incluirse en la batería de fármacos que se probarán contra tipos específicos de microorganismos.

Los perfiles de resistencia intrínseca son marcadores útiles para ayudar a la identificación de ciertas bacterias o grupos bacterianos (Forbes, 2009).

Resistencia Adquirida

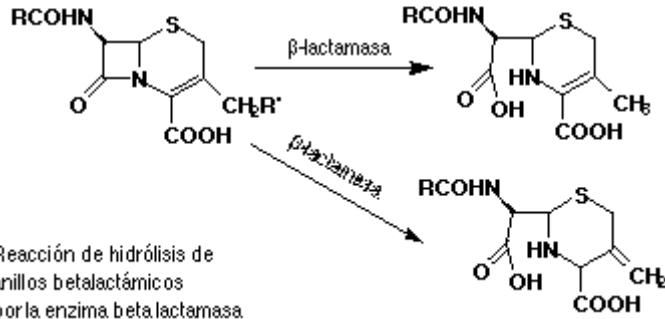
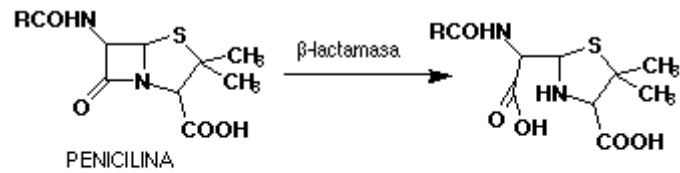
Es la resistencia a los antibióticos como resultado de la alteración fisiológica y la estructura de las células a causa de cambios en la composición genética habitual. A diferencia de la resistencia intrínseca, la adquirida puede ser un rasgo asociado con algunas cepas de un grupo o especie de microorganismos pero no con otras. Todos los mecanismos de resistencia adquirida están codificados genéticamente (Forbes, 2009). La resistencia puede adquirirse por:

- Mutaciones genéticas exitosas
- Mecanismo de transferencia génica
- Combinación de mutación y de transferencia génica

Vías frecuentes de la resistencia a los antimicrobianos

- Degradación enzimática o modificación del agente antimicrobiano
- Disminución de la captación o acumulación del agente antimicrobiano
- Alteración del sitio de acción antimicrobiano
- Evasión de las consecuencias del efecto antimicrobiano
- Desconexión de las interacciones agente- antimicrobiano - sitio de acción

Las betalactamasas catalizan la hidrólisis del anillo betalactámico separando el enlace amida e impidiéndole al antibiótico inhibir la síntesis de la pared celular.



En las bacterias Gram negativas las betalactamasas se encuentran en el espacio periplásmico entre la pared celular y la membrana externa.

2.2.1 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

No existe una definición precisa de las BLEE, así Bush-Jacoby-Medeiros las define como aquellas enzimas capaces de conferir resistencia a las penicilinas, a todas las cefalosporinas y al aztreonam, pero no a los carbapenemes ni a las cefamicinas y que son inhibidas por el ácido clavulánico. Según esta clasificación la mayoría de las BLEE son derivadas de TEM-1, TEM-2 y SHV-1, ellas difieren entre sí de sus progenitoras por unos escasos aminoácidos por lo que su filogenia es bien cercana (Hawser *et al.*, 2011; Gaurav, 2012; Villegas *et al.*, 2011).

La aparición de las betalactamasas es un fenómeno natural, se conoce desde 1940 cuando fue identificada la primera enzima en *Escherichia coli*. La ocurrencia natural de las betalactamasas se debe a sustancias bacterianas naturales (bacteriocinas o colicinas) que producen ellas para competir por un nicho con otro microorganismo.

Las BLEE son enzimas que producen algunas bacterias. Son comúnmente encontradas en *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, y *Proteus mirabilis*, no obstante, existen otras BLEE que difieren filogenéticamente de TEM y SHV, como las CTX-M, las carbapenemasas tipo OXA común en *Acinetobacter* y las metalo- β -lactamasas VIM e IMP, típicamente encontradas en especies de *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia sp* y *Enterobacter sp* (Hawser *et al.*, 2011; Gaurav, 2012; Villegas *et al.*, 2011).

La primera betalactamasa mediada por plásmidos fue descrita en 1965 la cual se denominó TEM-1 y se diseminó rápidamente a otros miembros de las enterobacteriáceas. Poco tiempo después fue encontrada la betalactamasa SHV-1 (sulfhidrilo-variable). La aparición e introducción de los antibióticos betalactámicos de espectro extendido (ceftazidima, cefotaxima, aztreonam) en los años 80s conllevó a la emergencia de una nueva clase de enzimas betalactamasa, las de espectro extendido (Knothe *et al.*, 1983). La primera de estas enzimas BLEE mediadas por plásmidos fue SHV-2 descrita en Alemania en 1983 a partir de un aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* capaz de hidrolizar las oxymino-cefalosporinas (ceftazidima, cefpodoxima, ceftriaxona, cefotaxima) y aztreonam. Actualmente se han descrito más de 200 BLEE (Ríaz *et al.*, 2012).

- CLASIFICACIÓN

Basándose en datos de secuencia parcial del ADN de las betalactamasas, Ambler en 1980 propone clasificarlas en cuatro clases: A, B, C y D. Las enzimas de clase A, cuyo prototipo es la enzima TEM-1, (actualmente presente en más del 50% de los aislamientos de enterobacteriáceas en general), están codificadas en plásmidos y su peso molecular oscila entre 25 y 30 kD., al igual que las de clase B y D (Morales *et al.*, 2005).

Las enzimas de clase C, están generalmente codificadas en el cromosoma bacteriano y son típicamente inducibles por betalactámicos. Se trata de proteínas que presentan unos 100 aminoácidos más que la de los otros grupos, por lo que su peso molecular suele rondar los 40 kD. o más. En algunas especies, la región reguladora del gen ha desaparecido y en consecuencia la enzima se expresa constitutivamente.

Las enzimas de clase B requieren zinc para su actividad y son consideradas por ello metalo-betalactamasas. En general son plasmídicas, inhibibles por EDTA, incluyéndose aquí las enzimas que confieren resistencia a los carbapenemes.

Las enzimas de clase D constituyen un grupo reducido de enzimas plasmídicas, con actividad incrementada sobre oxacilina (OXA-1), inhibibles por iones cloruros y de forma variable por inhibidores del tipo ácido clavulánico o sulbactam. Estas enzimas, al igual que lo observado en las enzimas de clase A, han ampliado su espectro de acción mediado por mutaciones puntuales a partir de enzimas con actividad reducida a penicilinas como es el caso de las OXA derivadas. En 1995 Bush, Jacob y Medeiros proponen una clasificación funcional para las betalactamasas. Esta se basa en el peso molecular de la enzima, su punto isoeléctrico, el perfil de sustrato y la propiedad de ser inhibidas por la presencia de ácido clavulánico o EDTA. En base a este esquema

surgen cuatro grupos funcionales que se correlacionan bien con la clasificación de Ambler, denominándose: 1, 2, 3 y 4 (Bush *et al.*, 2004).

Las del grupo 1 corresponden a enzimas con acción cefalosporinasa, no inhibibles ni por ácido clavulánico ni por EDTA, y que se correlacionan con las enzimas cromosómicas de bacilos Gram negativos de tipo AmpC.

Las del grupo 2 están constituidas por penicilinasas y cefalosporinasas inhibibles por ácido clavulánico, y coinciden mayoritariamente con el tipo A de Ambler.

Las del grupo 3 son inhibibles por EDTA pero no por ácido clavulánico, se corresponden con las metaloenzimas de tipo B.

Por último, un grupo poco importante no descrito por Ambler, *las del grupo 4*, que incluye penicilinasas no inhibibles por ácido clavulánico encontradas en *Burkholderia cepacea* (Bush *et al.*, 2004).

Tabla N°1 Clasificación de betalactamasas según Bush, Jacoby, Medeiros y según Ambler

β-lactamasas	Bush, Jacoby, Medeiros	Molecular (Ambler)	Familias de β-lactamasas	Sustratos
Espectro ampliado	2b	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1	Bencilpenicilinas, Aminopenicilinas, Carboxipenicilinas, Ureidopenicilinas, Cefalosporinas de espectro estrecho**
	2d	D	OXA-1 a OXA-10, PSE-2 (OXA-10)	El mismo sustrato de TEM-1, TEM-2, SHV-1, más cloxacilina, metilicina y oxacilina
Espectro extendido (BLEE)	2be	A	TEM-3 a TEM-26 SHV-2 A SHV-6, K1 de <i>Klebsiella oxytoca</i>	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefalosporinas de tercera generación** y aztreonam
	2br		TEM-30 a TEM-36, TRC-1	
	2d	D	OXA-1 a OXA-10	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefepima para algunas enzimas
	ND*	A	Familia CTX-M Otras (BES-1, familia GES/IBC, PER-1, PER-2, SFO-1, TLA-1, VEB-1 y VEB-2)	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefepima para algunas enzimas El mismo sustrato de la familia TEM y SHV.
AmpC	ND*	C	ACC-1, ACT-1, CFE-1, familia CMY, DHA-1, DHA-2, familia FOX, familia LAT, MIR-1, MOX-1 y MOX-2	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefamicinas**
Carbapenemasas	ND*	B	Familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1	El mismo sustrato del grupo de espectro extendido más cefamicinas**, y carbapenémicos
	ND*	A	KPC-1, KPC-2 y KPC-3	El mismo sustrato del grupo de la familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1
	ND*	D	OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40 y OXA-48	El mismo sustrato del grupo de la familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1

2.3 INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS (IIH) O NOSOCOMIALES EN EL PERÚ

2.3.1 GENERALIDADES

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) o nosocomiales son consideradas como uno de los mejores indicadores de calidad de la atención debido a su frecuencia, la gravedad que conllevan, el aumento significativo de los costos que implica su ocurrencia y porque reflejan el resultado de acciones del equipo de salud, susceptibles de ser modificadas de acuerdo a los estándares vigentes. Se estima que un tercio de ellas pueden prevenirse con un programa adecuado de control de infecciones (Montoya *et al.*, 2010).

Las bacterias son las más frecuentes, las cuales presentan ciertas características que favorecen su ataque.

- CARACTERÍSTICAS

La capacidad de la multiplicación de los bacilos Gram negativos en reservorios húmedos.

- *Pseudomonas aeruginosa*: Agua destilada y sobrevida en soluciones desinfectadas.
- *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*. soluciones glucosadas.
- Supervivencia y multiplicación de *Candida* en soluciones de hiperalimentación parenteral.
- Multirresistencia a los antimicrobianos

- FACTORES DE RIESGO DE IIH

Los factores de riesgo de IIH están relacionados al hospedero, al ambiente físico y a la atención hospitalaria. Respecto al hospedero, es decir, el paciente, los factores son importantes, pero difícilmente modificables y tienen que ver con condiciones como la edad, género, el estado nutricional, el estado inmune, nivel socioeconómico, peso al nacer, estilo de vida (Montoya *et al.*, 2010).

Respecto al ambiente, son importantes como fuentes potenciales de IIH: el aire, el agua, superficies (muros, suelos, cielos), los objetos (jabones, ropa, juguetes) y los desechos hospitalarios, entre otros. El ambiente tiene importancia en la medida que se ponga en contacto con la puerta de entrada de un hospedero susceptible y a diferencia de las condiciones del paciente, el ambiente puede y debe modificarse según las recomendaciones vigentes en cada caso. Es así, como por ejemplo en el caso del aire, existen recomendaciones claras de uso de aire filtrado en áreas de pabellones quirúrgicos, uso de campana de flujo laminar en preparación de soluciones estériles como nutrición parenteral o drogas de quimioterapia y uso de presión negativa en caso de aislamientos respiratorios en el caso de manejar pacientes con tuberculosis pulmonar bacilífera (Castañeda *et al.*, 2011). Las IIH son más frecuentes en los servicios que atienden a pacientes de mayor riesgo y con patologías complejas como:

- Unidad de cuidados intensivos (UCI)
- Cirugía
- Recién nacidos y/o prematuros

Se localizan con mayor frecuencia en:

- Heridas operatorias
- Sistema respiratorio
- Piel y quemaduras
- Vías urinarias
- Gastrointestinal
- Sistema circulatorio
- Endometrio

Las fuentes de origen son:

- Animadas: personas y animales
- Inanimadas: equipos, medicamentos, elementos de aseo, alimentos y mamadera.

2.3.2 INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS EN EL PERÚ

Con el propósito de contribuir a la prevención y control de las infecciones intrahospitalarias (IIH), la Dirección General de Epidemiología (DGE) tiene la función de normar y conducir el sistema de vigilancia epidemiológica hospitalaria.

El objetivo general es proporcionar información actualizada sobre la magnitud de las infecciones intrahospitalarias, sus factores relacionados, de esa forma, orientar la toma de decisiones y acciones dirigidas a la disminución de estos daños. Los objetivos específicos son:

- a. Determinar la incidencia de las infecciones intrahospitalarias y monitorear sus tendencias.
- b. Detectar y controlar oportunamente la ocurrencia de brotes epidémicos de las infecciones intrahospitalarias.
- c. Establecer las bases para la formulación de políticas, estrategias e intervenciones de prevención y control de las infecciones intrahospitalarias.
- d. Evaluar los resultados/impacto de las medidas de prevención y control realizadas.
- e. Determinar las prioridades que orienten la investigación de las IIH.

La notificación de las infecciones intrahospitalarias es mensual, durante la primera semana siguiente al mes vigilado, incluye la notificación negativa hasta la Dirección General de Epidemiología. La obligatoriedad de la notificación de las infecciones intrahospitalarias es para los hospitales e institutos especializados.

Infección intrahospitalaria

- Infección de tracto urinario en pacientes con catéter urinario en los servicios de medicina, cirugía y unidad de terapia intensiva.
 - Neumonía en pacientes con ventilación mecánica en los servicios de neonatología y unidad de terapia intensiva.
 - Infección de torrente sanguíneo en pacientes con catéter venoso central y/o catéter venoso periférico en los servicios de neonatología y unidad de terapia intensiva.
 - Endometritis puerperal en mujeres post parto vaginal o cesárea o hernioplastía inguinal en el servicio de cirugía y en mujeres post parto por cesárea en el servicio de gineco-obstetricia.
- EPIDEMIOLOGÍA

Más de cuatro mil pacientes sufren infecciones intrahospitalarias cada año en los sanatorios del país, según el Ministerio de Salud (MINSA). Sin embargo, esta cifra puede ser lejana a la realidad, pues solo 231 nosocomios menos de la mitad de los existentes a nivel nacional suelen notificar estos contagios. (MINSA, 2013)

De acuerdo con cifras de la Dirección General de Epidemiología del MINSA, en el año 2012 se reportaron 4,404 casos en 231 nosocomios. (MINSA, 2013)

Dicha entidad advirtió que, desde enero de 2009 a diciembre de 2012, se registraron más de 15,679 infecciones nosocomiales en 238 centros. (MINSA, 2013)

En las unidades de cuidados intensivos se detectaron 3,264 casos durante ese periodo. La mayoría (1,911) se trató de neumonía contagiada por la inoperatividad de los ventiladores mecánicos. También se registraron 489 infecciones por torrente sanguíneo y 864 por tracto urinario. (MINSA, 2013)

En el área de neonatología se reportaron 2,335 casos. Del total, 1,928 están relacionados a infecciones por torrente sanguíneo y 407 a neumonía. (MINSA, 2013)

En esos ambientes hospitalarios se mantiene la presencia de microorganismos que pueden generar graves molestias como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, entre otros. Eso no es todo, según cifras del Ministerio de Salud, el 70% de las enfermedades intrahospitalarias es detectado en los centros de salud ubicados en la capital (MINSA, 2013).

2.3.3 FAMILIA ENTEROBACTERIÁCEAE Y SU IMPORTANCIA EN LAS INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS

Los miembros de la familia Enterobacteriáceae son bacilos o cocobacilos Gram negativos, se caracterizan fenotípicamente por ser no esporulados, no móviles o móviles por flagelos de inserción peritrica, anaerobios facultativos, oxidasa negativo, con requerimientos nutricionales relativamente simples (Koneman,1999; Madigan *et al.*, 2004). La formación o la producción de cápsula está limitada a los géneros *Klebsiella* y *Enterobacter* (Koneman, 1999). Según la segunda edición 2001 del Manual de Bergey y de Bacteriología Sistemática, está conformada por 41 géneros y más de 100 especies (Quinn *et al.*, 2002).

Los géneros principales incluidos en esta familia son: *Shigella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Salmonella*, *Arizona*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Cedecea*, *Koserella*, *Arenilla* y *Tatumella* (Zwadyk, 1983).

Como grupo, las enterobacteriáceas son las responsables de una tercera parte de los aislamientos en las bacteriemias, de dos tercios de los aislamientos en gastroenteritis, y de tres cuartas partes de los aislamientos en infecciones del tracto urinario (Aguado y Lumbreras, 1998).

Habitualmente colonizan las diferentes mucosas, especialmente las del tracto gastrointestinal y urinario, por lo que las infecciones suceden a partir de estas localizaciones.

Diferentes factores han contribuido al incremento de las infecciones por enterobacteriáceas en nuestros hospitales. Entre los factores de riesgo que se estima pueden tener influencia en la colonización y/o infección se encuentran: la edad y la gravedad del paciente; la duración de la hospitalización y de la estancia en la UCI, el uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas (catéteres intravasculares, urinarios, de gastrostomía o yeyunostomía, endoscopias, la intubación orotraqueal y la ventilación mecánica; la hemodiálisis y en general cualquier prueba o tratamiento invasivos), la nutrición parenteral total; el desarrollo de úlceras por presión; la malnutrición; la procedencia de una residencia asistida; el empleo de potentes inmunosupresores, las estancias hospitalarias prolongadas, ciertas enfermedades predisponentes como enfermedades hematológicas, neoplasias, cirrosis, insuficiencia renal crónica, diabetes y en los neonatos, el haber nacido con bajo peso (Aguado y Lumbreras, 1998; Sánchez, 2004).

Las formas clínicas dependen del contexto epidemiológico en que se produce cada infección. Fuera de las UCI y en los casos esporádicos tanto intra como extra hospitalarios, producen fundamentalmente infecciones urinarias y de las heridas quirúrgicas (Sánchez, 2004).

Las manifestaciones producidas por la bacteriemia debida a estos microorganismos son muy similares entre unos y otros. La bacteriemia puede ser transitoria y acontecer tras diferentes manipulaciones (por ejemplo de las vías urinarias) o por factores locales predisponentes (por ejemplo diverticulitis, enfermedad prostática) la cual puede confundirse con un síndrome gripal y puede no tener mayor trascendencia o ser más prolongada dando lugar incluso a una sepsis por Gram negativos con un cuadro clínico mucho más grave acompañándose de fiebre que puede llegar a 41 °C (que puede faltar en los ancianos y en los pacientes urémicos o tratados con glucocorticoides), cefalea, malestar general, artromialgias, náuseas y vómitos. En ocasiones las primeras manifestaciones de la bacteriemia o sepsis por enterobacteriáceas pueden consistir en ansiedad, taquipnea y taquicardia. En los ancianos no es raro que la bacteriemia por Gram negativos se manifieste sobre todo por confusión mental, estupor, delirio o agitación. Posteriormente es posible que se presenten signos de hipoperfusión de otros órganos, oliguria y finalmente hipotensión, shock séptico. En contraste con el plazo relativamente largo de varios días que precede al shock de otras infecciones, el de la sepsis por Gram negativos suele presentarse al cabo de sólo 4-10 h de las manifestaciones iniciales (Aguado y Lumbreras, 1998).

En la bacteriemia por enterobacteriáceas puede producirse tanto leucocitosis como leucopenia, que casi siempre cursa con trombopenia. La aparición de shock conduce a la insuficiencia renal por necrosis tubular. Los estudios de hemoquímica traducirán afectación en cada órgano disfuncional o en falla, como aumento de bilirrubina sérica y de las enzimas hepáticas, trastornos hidroelectrolíticos y del equilibrio ácido/base, evidencia de injuria pulmonar en la gasometría, entre otras.

En el contexto clínico de una infección grave, el aislamiento de estas bacterias en muestras válidas (sangre, esputo, orina) suele ser suficiente para hacer el diagnóstico etiológico. Más problemático resulta el aislamiento de un microorganismo BLEE (+) en una herida, por ejemplo en una úlcera por presión, sin que haya signos aparentes de infección intra o perilesional y donde puede ser un mero contaminante (Sánchez, 2004).

2.4 ANTECEDENTES

La resistencia a antibióticos es un problema de relevancia mundial, y más concretamente a los antibióticos betalactámicos tan ampliamente utilizados (Mensa *et al.*, 1995; García y Picazo, 2003). De los diferentes mecanismos, las betalactamasas son la principal causa de resistencia a estos antibióticos hidrolizando diferentes drogas (Bush *et al.*, 1995; Máttar y Martínez, 2011).

La explosión de betalactamasas sucede con la aparición de resistencias a cefalosporinas de tercera generación a principios de los años 80 que se denominaron betalactamasas de espectro ampliada. Las BLEE tienen un espectro de resistencia más amplio, en el cual está contenido al dominio de las cefalosporinas de primera, segunda tercera y cuarta generación así como monobactams.

Aunque varios informes indican que hay un aumento de prevalencia de BLEE en todo el mundo, en la medida el problema no se reconoce por desconocimiento y por los pobres reportes del laboratorio, sin embargo diversos trabajos alrededor del mundo muestran la importancia de este tipo de resistencia y los tipos de enterobacteriáceas que la presentan. Esta es una razón importante a favor de todos los esfuerzos dirigidos a la detección de BLEE (Rajal, 2000).

En la región de Asia y el Pacífico durante el año 2007, se realizó un gran estudio de 3,004 bacilos Gram negativos recogidos de las infecciones intra-abdominales encontrando que el 42.2% y el 35.8% de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* presentaron betalactamasas de espectro extendido. Por otra parte las tasas de BLEE en la India para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* fueron 79%, 69.4% y 100%, respectivamente, mientras en china Las tasas de BLEE para *Escherichia coli* fue de 55% y en Tailandia fue de 50.8% (Hawser *et al.*, 2009). En Pakistán un estudio determinó la prevalencia de *Escherichia coli* y de *Klebsiella sp* a partir de fuentes clínicas y ambientales durante el año 2007 y 2008, las producción de BLEE se confirmó por la prueba de sinergia de doble disco utilizando augmentin, ceftazidima, cefuroxima y aztreonam. De un total de 300 cepas bacterianas se encontró 260 *Escherichia coli* y 40 *Klebsiella sp*, de éstas el 39.27% de *E. coli* y 26.10% de *Klebsiella sp* fueron productores de BLEE (Ríaz *et al.*, 2012). En la India un estudio realizado en un hospital de tercer nivel donde se determinó la prevalencia de la producción de BLEE en bacterias Gram negativas en su población entre 2010 y 2011 mediante el método de sinergia de doble disco y prueba confirmativa de difusión por disco obteniendo como resultado que el 61,6% de sus cepas resultaron ser productores de BLEE por el primer método y 57,5% por el método confirmatorio. De estos aislados el 73.5% de *Escherichia coli* fue el más común, seguido por el 60% de *Proteus vulgaris*, el 58.1% de *Klebsiella pneumoniae* y otros (Gaurav, 2012).

En España se investigaron los aislamientos clínicos positivos para bacterias productoras de BLEE en un hospital de tercer nivel de Madrid durante un período de 2 años (2007- 2008). Las pruebas de identificación y susceptibilidad se determinaron utilizando el Micro ScanNeg MIC tipo panel 32, las pruebas confirmatorias para BLEE se realizaron por microdilución en caldo siguiendo las recomendaciones de CLSI 2010, 219 pacientes se incluyeron en este estudio todos hospitalizados, de estos 124

(56.6%) eran pacientes ingresados a salas de medicina interna, 61 (28%) a las salas de cirugía y 34 (15.5%) a la UCI. De los 219 aislados, 158 (72%) fueron *Escherichia coli*, 40 (18%) fueron *Klebsiella pneumoniae*, 9 (4%) fueron *Enterobacter cloacae*, 7 (3%) *Enterobacter aerogenes*, 3 (2%) *Klebsiella oxytoca* y 1 (0.5%) *Proteus vulgaris* (Rubio *et al.*, 2012).

En México se realizó un estudio prospectivo donde se analizaron 1,412 aislamientos obtenidos durante un año (2008-2009) donde la detección de productores de BLEE se realizó por el método de sinergia de doble disco con y sin ácido clavulánico, el cual fue el método confirmatorio para la detección de BLEE. De los 1412 aislamientos 1184 (83.9%) fueron *Escherichia coli* y 228 (16.1%) *Klebsiella pneumoniae*, de los anteriores, 239 (44.7%) y 102 (20.2%) correspondieron con aislamientos hospitalarios respectivamente. (Navarro *et al.*, 2011).

En América latina se realizó una investigación de Análisis de Seguimiento de Tendencias de Resistencia a los antimicrobianos (SMART) donde se evaluaron los patrones de susceptibilidad de enterobacteriáceas en América Latina en el 2008, con énfasis en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Los aislamientos clínicos fueron recuperados de infecciones intra-abdominales de 23 centros en 10 países de América Latina. Los aislamientos fueron enviados a un laboratorio central para confirmación de identificación, la susceptibilidad a los antimicrobianos y pruebas para detectar BLEE. De los 1003 Gram negativos recogidos de infecciones intra-abdominales, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* fueron los microorganismos más frecuentemente aislados, encontrándose el 26.8% de *Escherichia coli* y 37.7% de *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE (Villegas *et al.*, 2011). En diferentes países de América latina se han realizado estudios de enterobacteriáceas productores de BLEE, estudiando principalmente la prevalencia en función de sus especies. Uno de los

estudios más grande se encontró en Ecuador, aquí se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, cuyo objetivo fue conocer la epidemiología de las infecciones por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* productoras de betalactamasas de espectro extendido en el Hospital Vozandes Quito, de 2005 a 2009. En una población de 8718 pacientes, con una muestra de 1200, se encontró una prevalencia del 3%, con un incremento gradual, 1.1% en el 2005, 5.7% en el 2009 donde *Escherichia coli* fue la enterobacteriácea más frecuentemente aislada, seguido de *Klebsiella pneumoniae*; no existieron aislamientos de *Klebsiella oxytoca* productora de BLEE (Pacheco y León, 2011).

En Venezuela se realizaron dos estudios, en el primero se evaluó la frecuencia de enterobacteriáceas nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes recluidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná-Venezuela, durante el período septiembre-noviembre del 2005, utilizando el método de sinergismo de doble disco y el de difusión en disco, se obtuvieron 35 aislados clínicos encontrando que *Klebsiella pneumoniae* fue la especie más frecuente en la producción de éstas, con 14/35 (40,0%) (Alvarado *et al.*, 2009). En el segundo estudio se determinó la frecuencia de enterobacteriáceas productoras de BLEE aisladas de hemocultivos. Se procesaron 21023 hemocultivos en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo durante el período Junio 2002 a Junio 2006, Del total de hemocultivos procesados, 2371 (11.28%) dieron positivos y en 384 (16.20%) de ellos se aislaron enterobacteriáceas resultando ser BLEE (+) 152 cepas (39.48%), *Klebsiella pneumoniae* fue la especie predominante y de 158 cepas, 97 (61.39%) fueron BLEE (+), seguida de *Escherichia coli* con 122 aislamientos, de estas 37 (30,33%) fueron BLEE (+) (Sandrea *et al.*, 2007).

En 3 estudios realizados en Venezuela se encontró que *Klebsiella pneumoniae* es la especie que se ha encontrado con mayor prevalencia como cepa productora de BLEE (Albarado *et al.*, 2009; García *et al.*, 2009; Sandrea *et al.*, 2007).

En el Perú se realizó un estudio sobre la presencia de un brote intrahospitalario de *Salmonella typhimurium* productora de betalactamasa de espectro extendido ocurrido en el Hospital San Bartolomé, entre el 17 de febrero y el 6 de marzo del año 2001 donde se realizaron aislamientos bacterianos provenientes de pacientes lactantes, se caracterizó la resistencia antimicrobiana, determinando la presencia de betalactamasas de espectro extendido mediante la prueba de sinergia de doble disco encontrándose betalactamasas de espectro extendido en los aislamientos de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* (Del pozo, *et al.*, 2006). En otra investigación se estudió la presencia de betalactamasas de espectro extendido producidas por cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en dos hospitales de Lima, en dicho estudio se recolectó consecutivamente entre julio y septiembre de 2000, 137 cepas de *Escherichia coli* y 18 cepas de *Klebsiella pneumoniae*. 2.9% del total de *Escherichia coli* y 44.4% del total de *Klebsiella pneumoniae* aisladas fueron confirmadas como productoras de BLEE (Morales *et al.*, 2005). Un estudio muy importante se realizó en el departamento de Cajamarca sobre presencia de cepas positivas a betalactamasas de espectro extendido, donde se obtuvieron muestras mediante hisopado de grifos, lavatorios, mesas, camas y tablillas de historia clínica en las áreas de cirugía y pediatría se recuperaron, aislaron e identificaron 45 cultivos de importancia clínica: 14 *Enterobacter cloacae*, 11 *Escherichia coli*, 5 *Citrobacter freundii*, 4 *Klebsiella pneumoniae* y 11 de otros géneros. De los aislados, 12 cultivos presentaron resistencia por BLEE, 4 *Escherichia coli* y 4 *Enterobacter cloacae* fueron los más resaltantes (Rivera *et al.*, 2011).

Inicialmente los microorganismos productores de BLEE eran sólo vistos a causa de infecciones nosocomiales (Schiappa *et al.*, 1996). Más tarde se demostró que los productores de BLEE también se presentaban a largo plazo en la comunidad. Así mismo se ha encontrado que la diabetes mellitus, el uso previo de quinolonas, infecciones recurrentes del tracto urinario, el ingreso hospitalario previo y la edad avanzada son factores de riesgo independientes (Rodríguez *et al.*, 2004). En diversos estudios los tipos más comunes de infecciones incluyen infecciones del tracto urinario y el absceso intra-abdominal. En los diversos estudios de investigación realizados alrededor del mundo se muestra a detalle cada punto importante a estudiar. En investigaciones realizadas en Asia y Pacífico, en la India, en México, en América latina y Perú se determinó que los carbapenemes fueron los fármacos más activos ensayados, mostrando inhibición de más del 90% de todas las especies productoras de BLEE (Gaurav, 2012; Hawser *et al.*, 2012; Navarro *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2011; Villegas *et al.*, 2011). En el estudio realizado en México se observó una mayor prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE hospitalarios (31.8 y 35.3%) que comunitarios (14.4 y 0.0%) (Navarro *et al.*, 2011). Por otro lado en el estudio de América latina también confirmaron la creciente frecuencia con que cepas productoras de BLEE se encuentran en el entorno de la comunidad, con un 31,4% (Villegas *et al.*, 2011).

En 2 estudios diferentes realizados en Pakistán y en la India los productores de BLEE se aislaron mayoritariamente en orina (Ríaz *et al.*, 2012; Gaurav, 2012). En el estudio de Pakistán también determinaron que la prevalencia de BLEE que produce *Escherichia coli* fue alta en los grupos de edad entre 50 y 70 en hombres, mientras que en las mujeres, era más prevalente entre 30 y 50. Las *Klebsiella* productoras de BLEE tenían alta frecuencia en los grupos de edad entre los 50 y 70 en hombres. Por

otro lado, la alta frecuencia en las mujeres fue en los grupos de edad mayores a 70 y entre 20 y 30. (Ríaz *et al.*, 2012).

En una investigación un análisis de regresión de Cox mostró que la edad mayor de 60 años, el sexo masculino y admisiones en el hospital anteriormente fueron factores de riesgo significativos para la muerte dentro de los 30 días de aislamiento de cepas productoras de BLEE, La co-resistencia a otras clases de agentes antimicrobianos fue más común en los productores de BLEE de los residentes de centros de larga estancia en comparación con pacientes que vivían en la casa (Fennell *et al.*, 2012).

En un estudio de Perú se encontraron que todas las cepas productoras de BLEE fueron multirresistentes y presentaron co-resistencia a sulfametoxazol/trimetoprim, amikacina, gentamicina y ciprofoxacino (Morales *et al.*, 2005).

Las técnicas para la detección de las BLEE van de lo simple con aspectos fenotípicos hasta las pruebas complejas moleculares de geno-detección específica (Villegas *et al.*, 2011; Pacheco y León, 2011).

2.4 METODOLOGÍA DE DETECCIÓN DE BLEE

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, antes NCCLS) ha establecido recomendaciones para el tamizaje y confirmación de BLEE en *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* Sin embargo, a pesar que no han sido estandarizados los métodos por parte del CLSI para detectar BLEE en otros microorganismos Gram negativos, estas técnicas han sido adaptadas por los microbiólogos a otros gérmenes de importancia clínica. Básicamente, las pruebas para la detección de BLEE se agrupan en las de tamizaje inicial y las de confirmación (Cockerill *et al.*, 2011) . El CLSI ha aprobado las pruebas fenotípicas de tamizaje de difusión de disco y confirmatorias de CMI (Hawser *et al.*, 2009, Gaurav, 2012; Villegas *et al.*, 2011). El tamizaje para detección de BLEE por la técnica de difusión de disco se detalla a continuación:

Antibióticos	Difusión de disco	CMI
Ceftazidima	≤22 mm	≥ 2 µg/ml
Ceftopodoxima	≤17 mm	≥ 8 µg/ml
Cefotaxima	≤27 mm	≥ 2 µg/ml
Ceftriaxona	≤25 mm	≥ 2 µg/ml
Aztreonam	≤27 mm	≥ 2 µg/ml

2.5.1 TÉCNICAS DE TAMIZAJE DE BLEE- La técnica fenotípica inicial más utilizada en el laboratorio de microbiología clínica para establecer la presencia de las BLEE es la de aproximación de doble disco. La prueba consiste en colocar un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg/ml) en el centro de una placa de Mueller Hinton a una distancia de 30 mm de uno de ceftazidima (30 µg) y cefotaxima (30 µg) (Cockerill *et al.*, 2011). El sinergismo observado entre algunas de las cefalosporinas y la amoxicilina/ácido clavulánico expresa la producción de BLEE. Esta prueba ha sido modificada para mejorar su eficiencia con la disminución en la distancia entre los discos de 20 mm y la utilización de cefepima para detectar BLEE en los microorganismos productores de betalactamasas AmpC que podrían ocultar la

expresión de BLEE. Este método presenta dificultades para la interpretación del sinergismo de los halos de inhibición, debido a la hiperproducción de enzimas SHV-1 por lo que genera resultados falsos positivos (Gaurav, 2012; Villegas *et al.*, 2011).

2.5.2 TÉCNICAS CONFIRMATORIAS DE BLEE

CMI. Esta técnica utiliza las cefalosporinas (ceftazidima, cefotaxima) con la adición de una concentración de 4 µg/ml de ácido clavulánico; una disminución en la CMI de ≥ 3 diluciones dobles de ceftazidima y cefotaxima en combinación con el ácido clavulánico comparada con la CMI de las cefalosporinas sin el inhibidor confirma la producción de BLEE. (Hawser *et al.*, 2011; Villegas *et al.*, 2011).

Etest (prueba Epsilon) Beta-ESBL (**AB Biodisk, Solna, Sweden**). Son tiras impregnadas de antibióticos, poseen una excelente sensibilidad y especificidad para detectar y confirmar las BLEE. Actualmente el uso de la tira cefepime y cefepime/ ácido clavulánico es útil conjuntamente con las tiras ceftazidima y ceftazidima/ ácido clavulánico y cefotaxima y cefotaxima/ ácido clavulánico para detectar la producción de BLEE en microorganismos productores de enzimas AmpC. Esto debido a que esta cefalosporina es muy estable a la hidrólisis de las enzimas AmpC, y el sinergismo con el ácido clavulánico puede observarse en las cepas productoras de AmpC y BLEE. La utilización de las tiras Etest® presentan algunas veces dificultades de interpretación por la producción de zonas fantasmas ocasionadas por las bajas CMI expresadas a las cefalosporinas y la difusión del ácido clavulánico hacia el lado de la tira que contiene la cefalosporina sin el inhibidor. A pesar de ser la prueba más fácil de usar para detectar las BLEE, su uso rutinario en los laboratorios clínicos es limitado por su alto costo (Gaurav, 2012; Villegas *et al.*, 2011).

Pruebas automatizadas para la detección de BLEE. Existen pruebas confiables el sistema Micro-Scan ESBL plus (Dade Behring, Ca, USA) permite confirmar las BLEE en *Klebsiella sp* y *Escherichia coli*. También está disponible la tarjeta Vitek ESBL (Biomeriux, Durham, NC, USA), que permite la detección inicial de betalactamasas por la resistencia a cualquier cefalosporina de amplio espectro y el reporte de resistencia extendida a todas las cefalosporinas (Villegas *et al.*, 2011; Pacheco y León, 2011).

Tanto en las pruebas de tamizaje como las de confirmación de BLEE, no debe usarse un solo antibiótico como representante del grupo de las cefalosporinas, ya que existen BLEE que hidrolizan preferentemente un antibiótico y otro no. En este sentido, algunos autores han sugerido que la resistencia a ceftazidima se considere como un importante marcador de BLEE. Sin embargo, aunque esto podría aplicarse para Norte América y Europa donde la mayoría de microorganismos productores de BLEE son resistentes a este antibiótico (BLEE tipo TEM), recientemente en estas zonas han sido encontrados microorganismos productores de BLEE que hidrolizan más eficientemente cefotaxima que ceftazidima (BLEE tipo CTX-M). Estas últimas se encuentran al parecer mayoritariamente distribuidas en Sudamérica (Villegas *et al.*, 2011; Pacheco y León, 2011).

Métodos bioquímicos para la identificación de BLEE. Uno de los procedimientos para confirmar las BLEE es el isoelectroenfoco (IEF), el análisis del perfil de antibióticos y la cinética enzimática. El IEF permite conocer el punto isoeléctrico (pI) de las BLEE, su limitación actual se debe a la existencia de diferentes BLEE con pI idéntico. No obstante, conjuntamente con el análisis del fenotipo de sensibilidad antibiótica es importante para la caracterización de estas enzimas. Las BLEE tipo TEM poseen valores de pI entre 5.2 y 6.5, las SHV entre 7 y 8.2 y las CTX-M entre 7.6 y 9.

Las BLEE tipo PER poseen pl similares al de las BLEE tipo TEM (Villegas *et al.*, 2011; Pacheco y León, 2011).

Métodos moleculares para la identificación de BLEE. Se aplican cuando ha sido confirmado el fenotipo de BLEE. Entre ellas está la de PCR fácil de realizar y están bien estandarizadas, algunas permiten la secuenciación del producto siendo las más importantes actualmente para la identificación de las BLEE, estas técnicas utilizan “cebadores” específicos para detectar mutaciones puntuales bajo ciertas condiciones estrictas de laboratorio. Permiten la identificación de todas las BLEE existentes especialmente las más prevalentes en Latinoamérica como TEM, SHV y CTX-M (Villegas *et al.*, 2011).

Otras técnicas moleculares han sido introducidas recientemente como la técnica de PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphisms) o análisis del polimorfismo de los fragmentos largos de restricción con diferentes enzimas del producto de PCR, es utilizada principalmente con la familia SHV. La técnica PCR-SSCP (Single Strand Conformation Polymorphisms) el producto de PCR es digerido con endonucleasas con apertura de las hebras de ADN y la electroforesis de los fragmentos amplificados. La técnica PCR-RSI (Restriction Site Insertion) o amplificación con cebadores que crean lugares de restricción próximos al extremo 3' o LCR (Ligase Chain Reaction) para la caracterización de las BLEE tipo SHV. Se ha propuesto la utilización de la PCR en tiempo real para la detección y caracterización de las BLEE tipo SHV. En esta técnica se utilizan sondas marcadas con diferentes fluorocromos según el tipo de mutación (Lezameta *et al.*, 2010). Sin embargo, dado el alto número de variantes BLEE ninguna de estas técnicas asegura la identificación final de las BLEE al menos que se realice la secuenciación de los genes que codifican las enzimas, que continua siendo el método de referencia para la identificación plena de las BLEE (Hawser *et al.*, 2011; Gaurav, 2011; Villegas *et al.*, 2011).

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Esta investigación es de tipo descriptivo, por lo que no se plantea hipótesis.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- ✓ Establecer la prevalencia de enterobacteriáceas productoras de BLEE entre Marzo a Agosto del 2012 en la Clínica Good Hope.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Determinar el porcentaje de especies productoras de BLEE según tipo de muestra.
- ✓ Determinar la presencia de especies productoras de BLEE según tipo de servicios hospitalarios.
- ✓ Señalar la resistencia mediada por BLEE de especies aisladas en los pacientes captados en consultorio ambulatorio y en pacientes hospitalizados.
- ✓ Describir la presencia de productoras de BLEE en función de los factores predisponentes del paciente (edad, sexo, comorbilidades).
- ✓ Visualizar la distribución de la resistencia a varios antibióticos en las cepas productoras de BLEE.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Materiales Físicos

Botellas de dilución bacteriológica.

Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.

Placas Petri de 10 x 100 mm.

Hisopos estériles.

Asa bacteriológica.

Pinzas de laboratorio.

Laminas portaobjetos.

Guantes de látex estériles.

Papel toalla

Bata blanca.

Material Biológico

Cepa de *Bacillus subtilis*

Cepas de enterobacteriáceas aisladas de las muestras que llegan al laboratorio de microbiología de la Clínica Good Hope de Marzo a Agosto del 2012.

Reactivos

Placas de agar Mueller-Hinton (4mm de espesor) almacenadas de 2 a 8 °C.

Placas de Agar para aislamiento de enterobacteriáceas almacenadas de 2 a 8 °C (MacConckey, Cled; Agar Sangre).

Estándar 0.5 de McFarland.

Discos de antibióticos.

(Amoxicilina/ácido clavulánico (20 µg/10 µg), Ampicilina/sulbactam (20 µg/10 µg), Cefaclor (30 µg), Cefuroxima (30 µg), Cefpodoxima (30 µg), Ceftriaxona (30 µg), Ceftazidima (30 µg), Cefotaxima (30 µg), Cefepima (30 µg), Cefoxitina (30 µg), Aztreonam (30 µg), Ceftazidima/ácido clavulánico (CTI) (30 µg/10 µg), Cefotaxima/ácido clavulánico (CTA) (30 µg/10 µg), Ciprofloxacino (5 µg), Gentamicina (10 µg), Amicacina (30 µg), Imipenem (10 µg), Sulfametropin (25µg), Nitrofurantoina (300 µg).

Solución salina estéril al 0.85%.

Colorante para Gram (Cristal violeta, Lugol, Alcohol acetona, Safranina).

Aceite de inmersión

Pruebas Bioquímicas (TSI, LIA, Citrato, SIM, Rojo de fenol)

Tarjetas Vitek de identificación y de sensibilidad para Gram negativos (Biomeriux)

Equipo

Campana para CO₂.

Incubadora (37 °C).

Refrigeradora.

Mechero de Bunsen.

Microscopio óptico compuesto.

Sistema automatizado VITEK 2.

4.2 MÉTODOS

Tipo de estudio: Estudio descriptivo y transversal.

Zona de Estudio: El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Clínica Good Hope durante marzo – agosto del 2012.

La Población/muestra

La población del estudio estuvo conformada por 1672 pacientes con enterobacteriáceas aisladas durante el periodo de estudio. De los cuáles 354 casos presentaron enterobacteriáceas BLEE (+) ingresando todos al estudio.

Se realizó un muestreo por conveniencia de los 354 casos teniendo en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- **Criterio de Inclusión:** Todas las cepas de enterobacteriáceas aisladas en el periodo indicado.
- **Criterios de Exclusión:** Cepas no enterobacteriáceas.

Instrumentos de la Investigación

Se empleó un cuestionario de recolección de datos que se elaboró para tal fin, el mismo que registró los datos referentes a la edad, sexo, procedencia de la muestra (ambulatoria u hospitalaria) bacteria aislada, servicio que solicitó la prueba y nivel de resistencia a fármacos no betalactámicos (Anexo 1).

Para el estudio, se tomaron en cuenta las siguientes características:

Aislamientos bacterianos y pruebas microbiológicas

Recepción de muestra e inoculación en medios de cultivo.

Se hicieron las siembras en los medios indicados para cada tipo de muestra (Urocultivo: Agar sangre, Agar Mac Conckey, Agar Cled; Cultivo de secreciones varias: Agar Sangre de Carnero, Agar Mac Conckey, Agar Manitol Salado; Cultivo de líquidos estériles: Agar Chocolate, Agar Sangre, Agar Mac Conckey ; Hemocultivo (bact/alert): Agar Sangre de Carnero, Agar Mac Conckey (Koneman, 1999; Madigan *et al.*, 2004).

Incubación: 37 °C/18-24 h.

Las incubaciones de hicieron a 37 °C por 18-24 horas en un ambiente microaerofílico para cepas sembradas en Agar Sangre de Carnero, y en ambiente aerobio para cepas sembradas en Agar Mac Conckey y otros (Koneman, 1999; Madigan *et al.*, 2004).

Identificación de enterobacteriáceas.

Los aislamientos en los que hubo crecimiento bacteriano, se procesaron en el Sistema Automatizado Vitek 2, tomando las colonias sospechosas de acuerdo a la morfología de las mismas y la tinción Gram que presentaron (enterobacteriáceas: bacilos Gram negativo). Este sistema realiza numerosas pruebas bioquímicas que permiten identificar a la bacteria estudiada (Ligozzi *et al.*, 2002; Romeu *et al.*, 2010). Algunas veces cuando la identificación es dubitativa se procede a realizar las pruebas manuales (Pruebas bioquímicas) (Mac Faddin, 2003).

Determinación de la sensibilidad antimicrobiana y producción de BLEE.

La sensibilidad antimicrobiana se determinó por medio del sistema Vitek 2 (Biomeriux), con la tarjeta AST GN. Una vez establecido el perfil de susceptibilidad, el sistema expone la bacteria contra los diferentes antibióticos betalactámicos y no betalactámicos, clasificándola como resistente, intermedia o susceptible de acuerdo a la concentración mínima inhibitoria (MIC) que presenta, a la vez que indica la sospecha de BLEE las cuales son confirmadas por el método de combinación de discos el cual es confirmatorio de este tipo de resistencia (CLSI-USA) (Cockerill *et al.*, 2011; Delfín, 2010; Lezameta *et al.*, 2010).

Prueba de combinación de discos.

Utilización de discos con cefalosporinas de 3^o generación, sola y con ácido clavulánico. Actualmente, se cuenta con discos de ceftazidima/ácido clavulánico (30/10 µg), Cefotaxima/ácido clavulánico (30/10 µg). Se confirma la presencia de BLEE cuando el halo de inhibición de la combinación es ≥ 5 mm respecto de la cefalosporina sola (Delfín, 2010; Pavón *et al.*, 2011).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. Base de datos informática

Se elaboró una base de datos informática e ingresaron los datos en el programa SPSS. 21, Microsoft Word y Microsoft Office Excel 2007 para obtener las tablas y los gráficos.

2. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo univariado y bivariado, estableciéndose dos grupos para compararlos (según la procedencia de la muestra: ambulatorios y hospitalizados). Se obtuvieron las medidas de tendencia central (media \pm desviación estándar) de las variables numéricas con significancia estadística de $p < 0,05$ e Intervalo de confianza del 95% y la prueba de T de Student. En tanto que las variables categóricas fueron evaluadas mediante distribución porcentual con significancia estadística de $p < 0,05$ e Intervalo de confianza del 95% y la prueba del Chi cuadrado.

3. Permisos

Se obtuvo el permiso de las autoridades de la Clínica Good Hope para realizar el estudio en sus instalaciones, en especial del servicio de microbiología (Anexo 2).

5. RESULTADOS

Entre los meses de marzo-agosto del 2012 se aislaron 1672 enterobacteriáceas, de las cuales, el 21.2% (354 casos) fueron enterobacteriáceas BLEE (+) (Tabla N° 02).

Tabla N° 02. Prevalencia de enterobacteriáceas BLEE (+) entre marzo-agosto del 2012 en la Clínica Good Hope de Miraflores.

Enterobacteriáceas aisladas	N°	%
Enterobacteriáceas BLEE (-)	1318	78.8
Enterobacteriáceas BLEE (+)	354	21.2
Total	1672	100.0

El 85% (301) fueron del sexo femenino y 15% (53) fueron del sexo masculino (Figura N° 02).

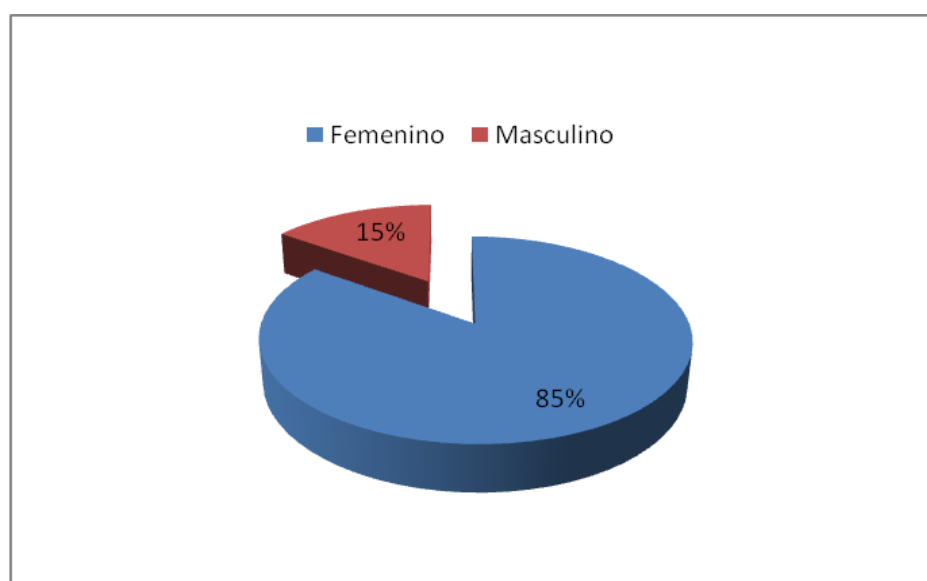


Figura N° 02: Frecuencia de enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas de pacientes según sexo

La edad media de los pacientes con enterobacteriáceas BLEE (+) fue de 57.03 ± 26.17 años (Figura N° 03)

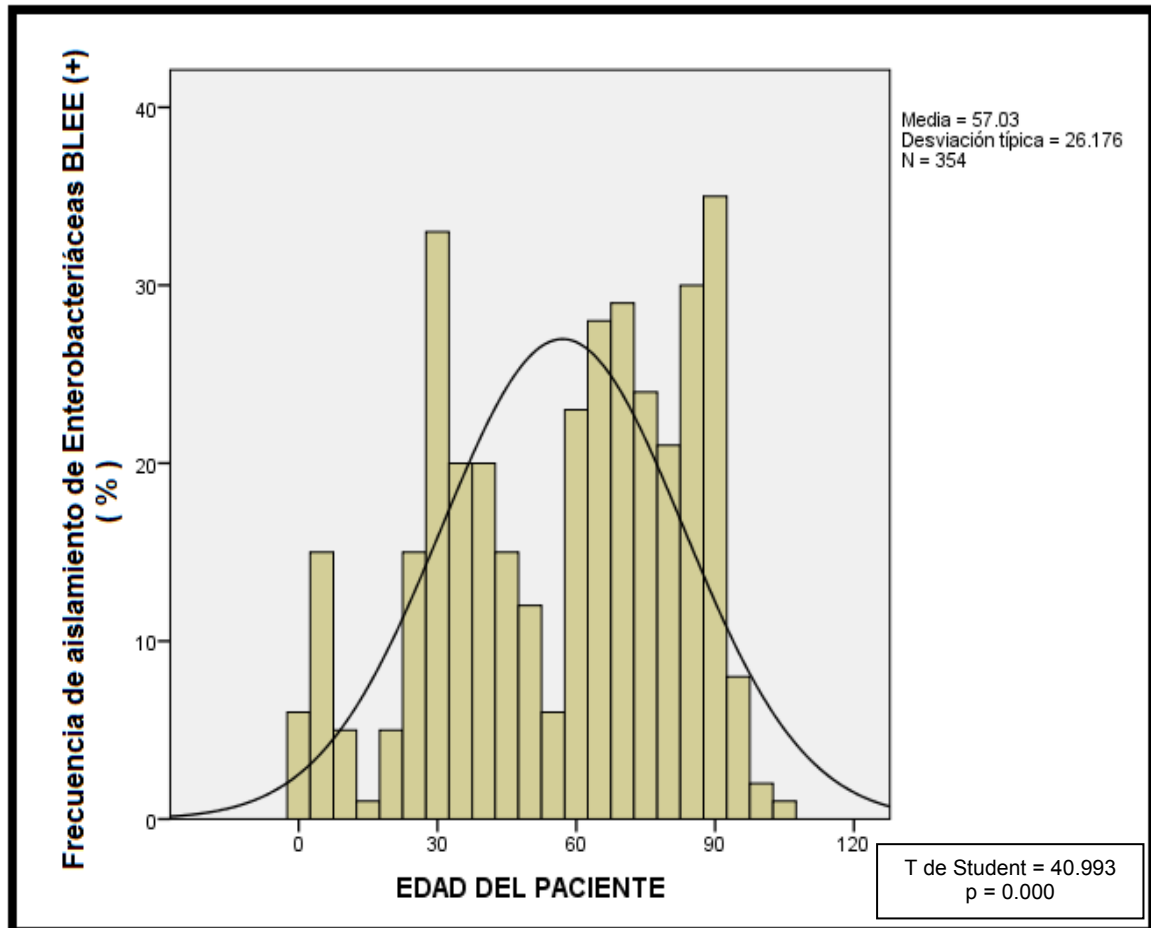


Figura N° 03: Frecuencia de enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas de pacientes según edad

Las enterobacteriáceas BLEE (+) fueron más frecuentes en los pacientes con edades > 61 años (52.5%) y entre 20-60 años (43.5%). En el sexo femenino las pacientes con enterobacteriáceas BLEE (+) se presentaron mayormente en el grupo etario > 61 años (48.2%), así mismo en el sexo masculino las enterobacteriáceas BLEE (+) se presentaron en el grupo etario > 61 años (77.4%). Estadísticamente significativo, ya que existe diferencias en las BLEE (+) en adultos mayores respecto a los otros grupos de edad. Se hallaron enterobacteriáceas BLEE (+) en 2 casos del sexo femenino menores de 1 año (Tabla N° 3).

Tabla N° 03. Distribución de los pacientes según edad y sexo con enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas.

Grupos etáreos	Sexo				Total	Chi cuadrado P
	Femenino		Masculino			
	N°	%	N°	%	N°	%
< 1 año	2	0.7	0	0.0	2	0.6
1-3 años	8	2.7	1	1.9	9	2.5
4-6 años	8	2.7	1	1.9	9	2.5
7-11 años	6	2.0	0	0.0	6	1.7
12-19 años	1	0.3	0	0.0	1	0.3
20-60 años	131	43.5	10	18.9	141	39.8
> 61 años	145	48.2	41	77.4	186	52.5
Total	301	100.0	53	100.0	354	100.0

El 91.5% (324/354) correspondieron a muestras de pacientes ambulatorios y el 8.5% (30/354) fueron muestras de los pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope. Las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas más importante fueron *Escherichia coli* (80.5%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (11.3%) y *Proteus mirabilis* (3.4%). Al hacer el análisis según la procedencia, se mantuvo la misma proporción tanto en los pacientes ambulatorios como en los hospitalizados. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes ambulatorios y los hospitalizados (Tabla N° 04 y figura N° 04).

Tabla N° 04. Enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas según procedencia de muestra (ambulatorio/hospitalizado).

Enterobacteriácea aislada	Procedencia de muestra				Total		Chi cuadrado p
	Ambulatorios		Hospitalizados				
	N°	%	N°	%	N°	%	
<i>E. coli</i>	260	80.2	25	83.3	285	85	4.008 0.983
<i>K. pneumoniae</i>	36	11.1	4	13.3	40	11.3	
<i>P. mirabilis</i>	12	3.7	0	0.0	12	3.4	
<i>K. oxitoca</i>	3	0.9	1	3.3	4	1.1	
<i>E. cloacae</i>	3	0.9	0	0.0	3	0.8	
<i>C. freundii</i>	3	0.9	0	0.0	3	0.8	
<i>S. flexneri</i>	2	0.6	0	0.0	2	0.6	
<i>M. morgani</i>	2	0.6	0	0.0	2	0.6	
<i>E. aerogenes</i>	2	0.6	0	0.0	2	0.6	
<i>E. flavus</i>	1	0.3	0	0.0	1	0.3	
TOTAL	324	100	30	100	354	100	

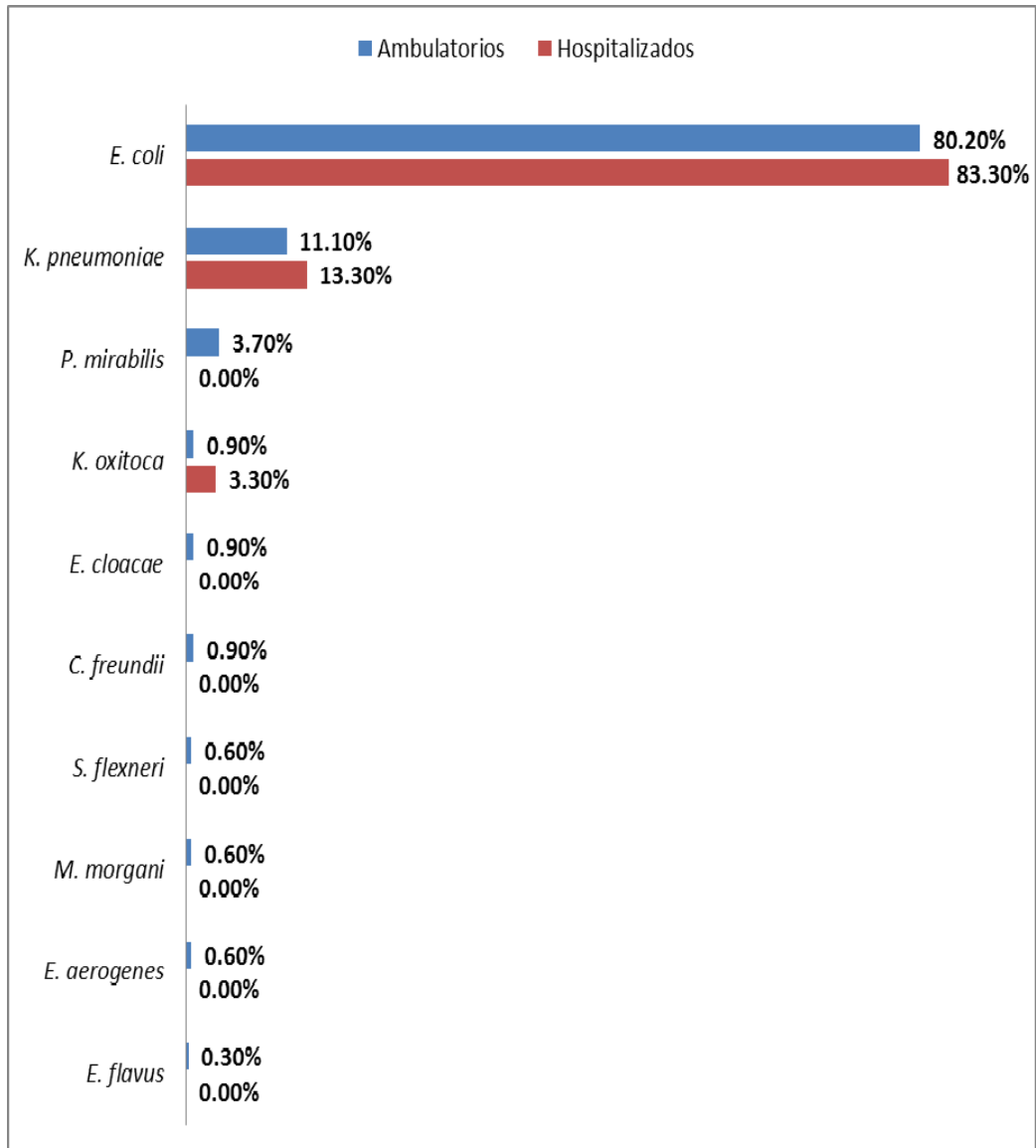


Figura N° 04: Distribución de las enterobacteriáceas BLEE (+) según especie aislada y procedencia de la muestra.

El 87.3% de las enterobacteriáceas BLEE (+) fueron detectadas mediante urocultivo y el 11% por cultivo de la secreción vaginal. Con menor frecuencia se realizaron coprocultivos, hemocultivos y cultivos de la secreción de heridas. El urocultivo fue más frecuente entre los pacientes hospitalizados que en los ambulatorios (96.7% y 86.4%), diferencias estadísticamente no significativas (Tabla N° 05).

Tabla N° 05. Exámenes practicados para la detección de las enterobacteriáceas BLEE (+) según procedencia de la muestra (ambulatorio/hospitalizado)

Examen practicado	Procedencia de muestra				Total	Chi cuadrado P
	Ambulatorios		Hospitalizados			
	N°	%	N°	%	N°	%
Urocultivo	280	86.4	29	96.7	309	87.3
Secreción vaginal	38	11.7	1	3.3	39	11.0
Coprocultivo	2	0.6	0	0.0	2	0.6
Hemocultivo	2	0.6	0	0.0	2	0.6
Secreción de herida	2	0.6	0	0.0	2	0.6
TOTAL	324	100	30	100	354	100

Las muestras de pacientes ambulatorios con enterobacteriáceas BLEE (+) fueron solicitados por los servicios de Ginecología (22.6%), Medicina interna (19.5%), Urología (18.6%) y Pediatría (6.2%). En un 19.2% el servicio solicitante no fue precisado. Para los pacientes hospitalizados, el servicio de Medicina Interna fue el que más casos de enterobacteriáceas BLEE (+) presentó. Estas diferencias fueron estadísticamente muy significativas (Tabla N° 06).

Tabla N° 06. Servicios hospitalarios que solicitaron exámenes para detección de enterobacteriáceas BLEE (+)

Servicio hospitalario	Procedencia de muestra				Total	Chi cuadrado P
	Ambulatorios		Hospitalizados			
	N°	%	N°	%	N°	%
Ginecología	73	22.5	7	23.3	80	22.6
Medicina interna	58	17.9	11	36.7	69	19.5
Urología	62	19.1	4	13.3	66	18.6
Pediatría	21	6.5	1	3.3	22	6.2
Cirugía general	12	3.7	0	0.0	12	3.4
Endocrinología	11	3.4	1	3.3	12	3.4
Nefrología	5	1.5	0	0.0	5	1.4
Neumología	5	1.5	1	3.3	6	1.6
Traumatología	2	0.6	2	6.7	4	1.1
Infectología	4	1.2	1	3.3	5	1.4
UCI	0	0.0	1	0.3	2	0.3
Geriatría	2	0.6	0	0.0	2	0.6
Oncología	2	0.6	0	0.0	2	0.6
No precisada	68	21.0	0	0.0	68	19.2
TOTAL	324	100.0	30	100.0	354	100.0

Los factores predisponentes de los pacientes más frecuentes para la *Escherichia coli* BLEE (+) aislados de pacientes ambulatorios fueron: la diabetes mellitus (14.6%), ITU recurrente (6.5%) y la gestación (5.8%). Para la *Escherichia coli* BLEE (+) de los pacientes hospitalizados fueron: Diabetes mellitus (36%) y gestación (20%) (Tabla N° 07).

Tabla N° 07. Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de *Escherichia coli* BLEE(+)

Enterobacteriácea	Comorbilidad	Procedencia de la muestra				Total	Chi cuadrado p
		Ambulatorio		Hospitalizado			
		N°	%	N°	%	N°	%
	Sin comorbilidad	162	62.3	8	32.0	170	59.6
	Anemia	1	0.4	1	0.4	2	0.7
	Cáncer	13	5.0	0	0.0	13	4.6
	Cirrosis, ascitis	1	0.4	0	0.0	1	0.4
	Diabetes mellitus	38	14.6	9	36.0	47	16.5
	Gestación	15	5.8	5	20.0	20	7.0
<i>Escherichia coli</i>	Hipertrofia prostática	5	1.9	0	0.0	5	1.8
	Hipotiroidismo	5	1.9	0	0.0	5	1.8
	HTLV-1	0	0.0	1	4.0	1	0.4
	ITU recurrente	17	6.5	1	4.0	18	6.3
	Litiasis renal	2	0.8	0	0.0	2	0.7
	VIH	1	0.4	0	0.0	1	0.4
TOTAL		260	100.0	25	100.0	285	100.0

Los factores predisponentes de los pacientes más frecuentes para *la Klebsiella pneumoniae* BLEE (+) aisladas de los pacientes ambulatorio fueron: la diabetes mellitus (27.8%), el cáncer (8.3%) e ITU recurrente (8.3%). Para *la Klebsiella pneumoniae* BLEE (+) de pacientes hospitalizados fue el cáncer (25%) (Tabla N° 08).

Tabla N° 08. Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de *Klebsiella pneumoniae* BLEE(+)

Enterobacteriácea	Comorbilidad	Procedencia de la muestra				Total	Chi cuadrado p
		Ambulatorio		Hospitalizado			
		N°	%	N°	%		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Sin comorbilidad	16	44.4	3	75.0	19	47.5
	Cáncer	3	8.3	1	25.0	4	10.0
	Diabetes mellitus	10	27.8	0	0.0	10	25.0
	Gestación	2	5.6	0	0.0	2	5.0
	Hepatitis	1	2.8	0	0.0	1	2.5
	Hipotiroidismo	1	2.8	0	0.0	1	2.5
	ITU recurrente	3	8.3	0	0.0	3	7.5
	TOTAL	36	100.0	4	100.0	40	100.0

Los factores predisponentes de los pacientes más frecuentes para el *Proteus mirabilis* fueron: Cáncer (16.7%) y gestación (16.7%), no se presentó en pacientes hospitalizados. (Tabla N° 09).

Tabla N° 09. Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de *Proteus mirabilis* BLEE(+)

Enterobacteriácea	Comorbilidad	Procedencia de la muestra				Total		Chi cuadrado p
		Ambulatorio		Hospitalizado		N	%	
		N°	%	N	%	N	%	
<i>Proteus mirabilis</i>	Sin comorbilidad	6	50.0	0	0.0	6	5.0	
	Cáncer	2	16.7	0	0.0	2	16.7	
	Gestación	2	16.7	0	0.0	2	16.7	-
	ITU recurrente	1	8.3	0	0.0	1	8.3	-
	Pancreatitis	1	8.3	0	0.0	1	8.3	
	TOTAL		12	100.0	0	0.0	12	100.0

Respecto a la resistencia a otros antibióticos en las muestras de los pacientes ambulatorios tenemos que *Escherichia coli* presentó: 97.3% eran resistentes a amoxicilina/Ac. clavulánico, 88.8% resistentes a ciprofloxacino y 81.2% resistentes a sumetropin. Fueron sensibles a imipenem (99.6%), nitrofurantoína (72.3%) y amikacina (60.4%). *Klebsiella pneumoniae* fue: 97.2% resistente a amoxicilina/ácido clavulánico, 88.9% resistente a sumetropin y 86.1% resistentes a ciprofloxacino. Fue sensible a imipenem (100%) y amikacina (61.1%). *Proteus mirabilis* fue: 100% resistente a amoxicilina/ácido clavulánico, 91.7% resistente a sumetropin y 75% a nitrofurantoina, mientras que fue sensible a amikacina (91.7%). Resultados estadísticamente muy significativos, excepto para gentamicina en el que no fue significativo (Tabla N° 10 y Figura N° 05).

Respecto al nivel de resistencia a fármacos no betalactámicos en las muestras de los pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope tenemos que la *Escherichia coli* presentó: 96% de resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, 88% a sumetropin y 84% a ciprofloxacino, siendo sensible a imipenem (100%) y amikacina (72%). Respecto a *Klebsiella pneumoniae*, el 75% fue resistente a amoxicilina/ácido clavulánico, 75% a sumetropin, 75% a gentamicina y 75% a ciprofloxacino, siendo sensible a imipenem (100%), amikacina (75%) y nitrofurantoína (75%). Los resultados fueron estadísticamente significativo para la amikacina (Tabla N° 11 y Figura N° 06).

**Tabla N°10. Porcentaje de resistencia de las enterobacteriáceas
BLEE (+) a otros antibióticos en muestras de pacientes ambulatorio**

Enterobacteriácea	Nivel de resistencia	Amikacina		Amoxicilina /Ácido clavulánico		Imipenem		Nitrofurantoína		Sumetropin		Gentamicina		Ciprofloxacino	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
<i>Escherichia coli</i>	Intermedio	90	34.6	3	1.2%	0	0.0 %	42	16.2%	0	0.0%	5	1.9%	0	0.0%
	Resistente	13	5.0	253	97.3	1	0.4	30	11.5	211	81.2	138	53.1	231	88.9
	Sensible	157	60.4	4	1.5	259	99.6	188	72.3	49	18.9	117	45.0	29	11.2
	Total	260	100	260	100	260	100	260	100	260	100	260	100	260	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Intermedio	4	11.1	0	0.0	0	0.0	3	8.3	0	0.0	2	5.6	0	0.0
	Resistente	10	27.8	35	97.2	0	0.0	23	63.9	32	88.9	20	55.6	31	86.1
	Sensible	22	61.1	1	2.8	36	100	10	27.8	4	11.1	14	38.9	5	13.9
	Total	36	100	36	100	36	100	36	100	36	100	36	100	36	100
<i>Proteus mirabilis</i>	Intermedio	1	8.3	0	0.0	2	16.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	Resistente	0	0.0	12	100	4	33.3	12	100.0	11	91.7	7	58.3	6	50.0
	Sensible	11	91.7	0	0.0	6	50.0	0	0.0	1	8.3	5	41.7	6	50.0
	Total	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0	12	100.0
Chi cuadrado		71.315		120.798		139.427		97.256		30.173		14.113		46.101	
P		0		0		0		0		0.001		0.897		0	

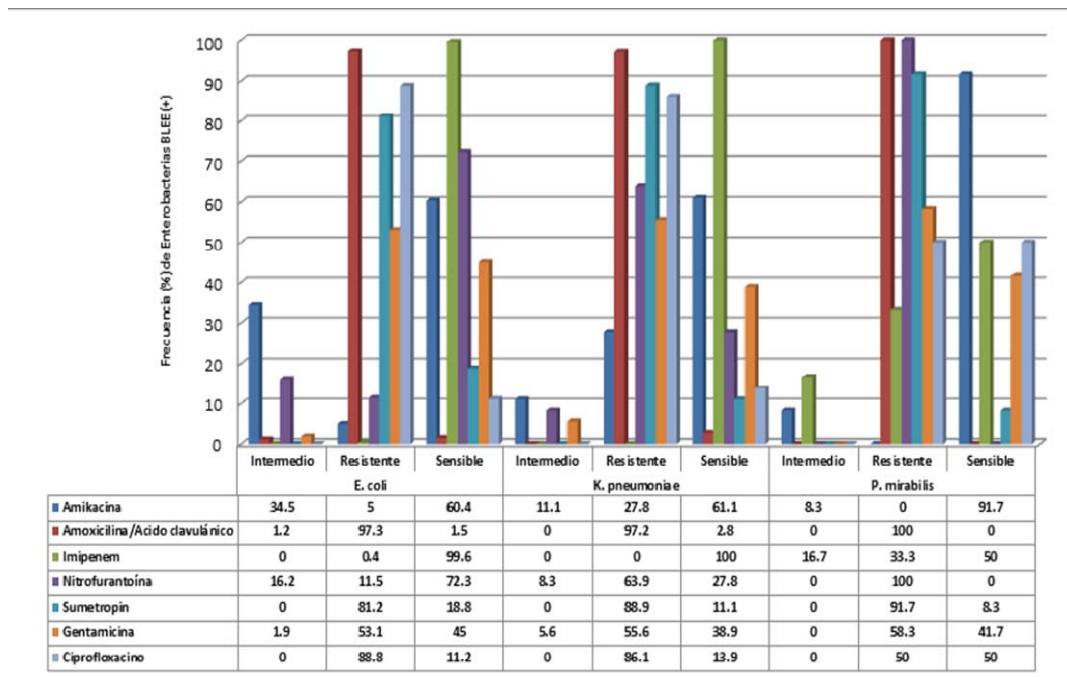


Figura N° 05: Porcentaje de resistencia/sensibilidad a otros antibióticos de las enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas de pacientes ambulatorios de la clínica Good Hope

Porcentaje de resistencia/sensibilidad de las enterobacteriáceas BLEE(+) *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* aisladas de los pacientes ambulatorios durante el periodo de estudio para poder visualizar la co-resistencia a cada uno de los antibióticos usados.

Tabla N° 11 Porcentaje de resistencia de las enterobacteriáceas BLEE(+) a otros antibióticos en muestras de pacientes hospitalizados.

Enterobacteriácea	Nivel de resistencia	Amikacina		Amoxicilina/ Ácido clavulánico		Imipenem		Nitrofurantoína		Sumetropin		Gentamicina		Ciprofloxacino	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
<i>Escherichia coli</i>	Intermedio	7	28.0	1	4.4	0	0.0	4	16.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	Resistente	0	0.0	24	96.0	0	0.0	7	28.7	22	88.0	15	60.0	21	84.0
	Sensible	18	72.0	0	0.0	25	100	14	56.0	3	12.0	10	40.0	4	16.0
	Total	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Intermedio	1	25.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	Resistente	0	0.0	3	75	0	0.0	1	25.0	3	75.0	3	75.0	3	75.0
	Sensible	3	75.0	1	25.0	4	100.0	3	75.0	1	25.0	1	25.0	1	25.0
	Total	4	100.0	4	100.0	4	100.0	4	100.0	4	100.0	4	100.0	4	100.0
Chi cuadrado		30.016		6.868		--		3.306		0.663		0.933		0.408	
P		0		0.143		--		0.508		0.718		0.627		0.815	

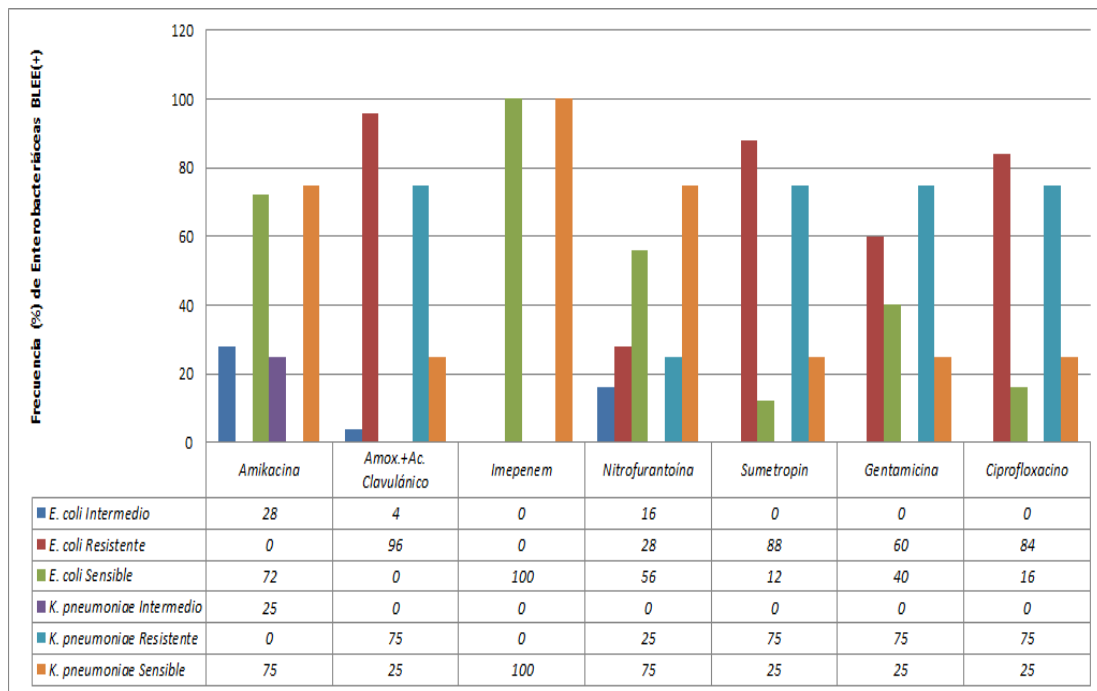


Figura N° 06: Nivel de resistencia/sensibilidad a otros antibióticos de las enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas de pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope.

Porcentaje de resistencia/sensibilidad de las enterobacteriáceas BLEE(+) *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* aisladas de los pacientes hospitalizados durante el periodo de estudio para poder visualizar la co-resistencia a cada uno de los antibióticos usados.

6. DISCUSIÓN

La prevalencia de resistencia entre las enterobacteriáceas es alta en todo el mundo y la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) constituye el mecanismo más importante y un serio problema que afecta el uso de varios betalactámicos incluyendo cefalosporinas de tercera generación (C3G). Además, los genes que codifican estas enzimas pueden ser trasmisibles por plásmidos y por lo general se acompañan de co-resistencias frente a otros antibióticos, limitando las opciones terapéuticas.

La familia *Enterobacteriaceae* constituye el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia médica. En las últimas décadas, estos bacilos han adquirido mayor importancia como agentes causantes de infecciones intrahospitalarias, debido a que han desarrollado fenotipos de resistencia bastante amplios frente a los antimicrobianos situación que ha sido reportada en prácticamente todo el mundo. Las prevalencias a nivel latinoamericano son desconocidos, en el Perú tampoco se conoce la prevalencia de la resistencia antimicrobiana mediada por BLEE en enterobacteriáceas por la falta de estudios y la dificultad técnica para su detección según Lezameta *et al.*, 2010. Diversas series reportan frecuencias variables de bacilos productoras de BLEE. Así, Hawser *et al.*, 2009 reporta que en la región de Asia y el Pacífico el 42.2% de *Escherichia coli* y el 35.8% de *Klebsiella pneumoniae* fueron BLEE(+), en la India el 79% de *Escherichia coli* y 69.4% de *Klebsiella pneumoniae* fueron BLEE(+), en la China fue 55% y en Tailandia fue 50.8% para *Escherichia coli* fueron BLEE(+). En Pakistán, Ríaz *et al.*, 2012 reporta cerca al 30% de prevalencia de BLEE(+) en su estudio, así mismo que el 39.27% de *Escherichia coli* y 26.10% de *Klebsiella* fueron BLEE (+). Gaurav, 2012 reporta que en un hospital de tercer nivel de la India el 61.6% de sus cepas resultaron ser productores de BLEE por el primer método y 57.5% por el método confirmatorio, siendo los más frecuentes la *Escherichia*

coli, *Proteus vulgaris* y *Klebsiella pneumoniae*. García *et al.*, 2011 reporta en su revisión que la prevalencia de BLEE en España es cerca al 10%. Villegas *et al.*, 2011 en América Latina realizó la investigación SMART (Análisis de Seguimiento de Tendencias de Resistencia a los antimicrobianos) en el que se aislaron muestras de pacientes con infecciones intra-abdominales de 23 centros en 10 países de América Latina. Encontrando que el 26.8% de *Escherichia coli* y el 37.7% de *Klebsiella pneumoniae* eran productores de BLEE. Pacheco y León, 2011 en Ecuador reporta un incremento gradual de la prevalencia de bacilos BLEE (+) siendo un 1.1% en el 2005 y un 5.7% en el 2009 donde *Escherichia coli* fue el germen más frecuentemente aislado seguido de *Klebsiella pneumoniae*. Albarado *et al.*, 2009 reporta que en Venezuela la *Klebsiella pneumoniae* (40%) fue la enterobacteriácea más aislada en los hemocultivos que fue similar al estudio de Sandrea *et al.*, 2007 que halló BLEE (+) al 61.39% de *Klebsiella pneumoniae* y al 30.33% de las *Escherichia coli*. En el Perú, Del Pozo, *et al.*, 2006 reporta casos de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* BLEE(+), Morales *et al.*, 2005 en su estudio realizado en dos hospitales de Lima señala que 44.4% de las *Klebsiella pneumoniae* y el 2.9% de las *Escherichia coli* eran productoras de BLEE. Rivera *et al.*, 2011 realizó en el departamento de Cajamarca un estudio para detectar la presencia de cepas positivas a BLEE en muestras de grifos, lavatorios, mesas, camas y tablillas de historia clínica en las áreas de cirugía y pediatría, aislando e identificaron 45 cultivos de importancia clínica: 14 *Enterobacter cloacae*, 11 *Escherichia coli*, 5 *Citrobacter freundii*, 4 *Klebsiella pneumoniae* y 11 de otros géneros. De los aislados 12 cultivos presentaron resistencia por BLEE, 4 *Escherichia coli* y 4 *Enterobacter cloacae* fueron los más relevantes.

Nuestra investigación encontró una frecuencia de enterobacteriáceas productoras de BLEE en el 21.2% de todas las enterobacteriáceas aisladas en el servicio de Microbiología de la Clínica Good Hope de Lima el cual es menor al de Pakistan y en la India según Ríaz *et al.*, 2012 y Gaurav, 2012 respectivamente, pero mayor que en

España según García *et al.*, 2011 lo cual nos hace pensar que los países en vía de desarrollo muestran niveles de resistencia mayores debido a que cuentan con menores recursos para desarrollar estrategias de contención. Estas enterobacteriáceas BLEE (+) fueron aisladas predominantemente en las muestras de los pacientes ambulatorios (91.5%) frente a los bacilos aislados en muestras de pacientes hospitalizados en la Clínica (8.5%). A su vez, nuestra serie determinó que las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas en nuestro estudio más importantes fueron *Escherichia coli* (80.5%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (11.3%) y *Proteus mirabilis* (3.4%). Resultados que guardan similitud y diferencias a la mayoría de referencias señaladas anteriormente y esto probablemente tiene relación con el hecho de que nuestra población hospitalaria es población asegurada y difiere en el tamaño de las muestras y en la exposición a los antimicrobianos frente a los estudios de referencia. Pero, a pesar de esto, nuestra investigación confirma que *Escherichia coli* es la enterobacteriácea con mayor producción de BLEE, contraponiendo los reportes de los estudios venezolanos en los que predominan las *Klebsiella pneumoniae*.

Schiappa *et al.*, 1996 demostró que los microorganismos productores de BLEE eran sólo vistos a causa de infecciones nosocomiales, pero posteriormente se demostró que también eran causados a largo plazo en la comunidad. Navarro *et al.*, 2011 en México encontró una mayor prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE hospitalarios (31.8 y 35.3%) que comunitarios (14.4 y 0.0%). Por otro lado en el estudio de Villegas *et al.*, 2011 realizado en América Latina también confirmaron la creciente frecuencia con que cepas productoras de BLEE se encuentran en el entorno de la comunidad, con un 31.4%. Pero nuestra investigación determinó que existe una mayor proporción de enterobacteriáceas productoras de BLEE en el medio extrahospitalario (ambulatorios) que en el intrahospitalario (91.5% vs. 8.5% respectivamente), lo cual debe ser confirmado con estudios poblacionales y podría traducir que los bacilos productores de BLEE están presentes con mayor

frecuencia e importancia de la que suponemos, percepción que puede estar sesgada por el concepto de que la generación de resistencia de los bacilos se originan tras exponerse a los antibióticos de amplio espectro y estos generalmente se dan en los pacientes hospitalizados con cuadros sépticos o que tengan alguna situación que los esté inmunosuprimiendo.

Múltiples estudios indican que el amplio, inadecuado y muchas veces irracional uso de antimicrobianos, así como la falta de programas integrales de vigilancia y control, son causas de la selección de bacterias resistentes siendo las personas más expuestas las que están en los hospitales, lo que puede empeorar su pronóstico e incrementar los costos de atención incluyendo un mayor tiempo de estancia hospitalaria. Pero, en nuestro medio la automedicación y la venta indiscriminada de antibióticos sin prescripción médica en las farmacias podrían tener responsabilidad para el incremento de la resistencia.

La investigación permite establecer la asociación que existe entre los factores edad adulta y adulta mayor, sexo femenino y comorbilidad del paciente con el desarrollo de enterobacteriáceas BLEE (+) que son similares a los reportados por la literatura.

Así, la edad media de nuestra serie fue de 57.03 ± 26.17 , y el grupo etario más frecuente fue el de los adultos mayores seguidos por el de los adultos. Se encontró que no existe diferencia significativa cuando se discrimina la edad según el sexo, así, para los del sexo masculino y las del sexo femenino Las enterobacteriáceas BLEE (+) se presentaron en el grupo etario de los adultos mayores pero cabe resaltar que en las féminas se encontró un gran porcentaje en el grupo adulto y especialmente en edad sexual. Para Fennell *et al.*, 2012 la edad mayor de 60 años, el sexo masculino y admisiones en el hospital anteriormente fueron factores de riesgo significativos para la muerte dentro de los 30 días de aislamiento de cepas productoras de BLEE, para Ríaz *et al.*, 2012 y Rubio *et al.*, 2012 la prevalencia de BLEE es mayor en mujeres que en varones, también en el estudio de Ríaz *et al.*, 2012 la producción de BLEE en

Escherichia coli fue alta en los grupos de edad de 50, seguido de 60 y 70 en hombres, mientras que en las mujeres, era más prevalente entre 30 y 50 años, así mismo en las *Klebsiella* productoras de BLEE tenían alta frecuencia en los grupos de edad entre los 50 y 70 en hombres mientras la alta frecuencia en las mujeres fue en los grupos de edad de 70 y 20-30.

En cuanto a los factores predisponentes de los pacientes asociada a enterobacteriáceas productoras de BLEE, nuestra investigación permite afirmar que los estados de inmunosupresión como edad adulta mayor, diabetes mellitus y gestación estuvieron presentes en gran número de aquellos pacientes de quienes se aislaron las enterobacteriáceas BLEE (+). Al evaluar estos factores predisponentes según la enterobacteriácea tenemos que *Escherichia coli* BLEE (+) se asoció en los casos ambulatorios a diabetes mellitus, ITU recurrente y gestación, en tanto que para los hospitalizados sólo fueron diabetes mellitus y gestación. Para *Klebsiella pneumoniae* los factores predisponentes presentes en los pacientes ambulatorios se asoció con diabetes mellitus, cáncer e ITU recurrente y para los pacientes hospitalizados fue el cáncer. Para *Proteus mirabilis* que fue observado solo en los ambulatorios, se asociaron a cáncer y gestación. Nuestros resultados son similares a lo reportado por Rodríguez et al., 2004 quien además señala el uso previo de quinolonas y el ingreso hospitalario previo como factores asociados a la presencia de este tipo de resistencia.

La investigación determinó que las muestras de pacientes ambulatorios con enterobacteriáceas BLEE(+) fueron solicitados por los servicios de Ginecología, Medicina interna, Urología y Pediatría, mientras que en los pacientes hospitalizados fueron solicitados por Medicina Interna. En otros servicios también se encontraron las enterobacteriáceas BLEE (+) como reporta el de Rubio et al., 2012 el cual evidencia que en España se estudiaron 219 pacientes hospitalizados, de estos 56.6% eran pacientes de medicina interna, 28% de cirugía y 15.5% de UCI.

La presencia de enterobacteriáceas BLEE (+) fue detectada en mayor porcentaje en muestras para urocultivos, de ahí, la importancia del manejo de las infecciones urinarias, que como se conoce es tratada inicialmente con terapia empírica mientras llega el urocultivo y el antibiograma para modificar la terapia antibiótica de tener resistencia al fármaco ya iniciado. Es necesario que los médicos consideren la presencia de enterobacterias BLEE (+) y establezcan nuevas alternativas con antibióticoterapia empírica para estos casos. Los estudios de Gaurav, 2012; Hawser *et al.*, 2012 y Villegas *et al.*, 2011 también reportan que las enterobacterias del tracto urinario son las que más BLEE producen.

Se determinó que en las muestras de los pacientes ambulatorios con *Escherichia coli* BLEE (+) y *Klebsiella pneumoniae* BLEE (+) presentaron co-resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, sumetropin y ciprofloxacino; así se evidenció que *Proteus mirabilis* fue resistente a amoxicilina/ácido clavulánico, sumetropin y nitrofurantoina. Por lo que estos fármacos deben ser restringidos en las terapias empíricas en los casos con enterobacteriáceas como causa de infección. Debido a que todavía son sensibles a imipenem y amikacina, estos antibióticos se supone deberían de ser considerados como una gran alternativa sin embargo estos deben ser obviados en primera instancia ya que estos son antibióticos guardados en caso una resistencia total a los otros antibióticos antes expuestos.

En el caso de los pacientes hospitalizados, *Escherichia coli* BLEE (+) y *Klebsiella pneumoniae* BLEE(+) fue resistente a amoxicilina/ácido clavulánico, sumetropin y ciprofloxacino. Ambos gérmenes también son sensibles a imipenem y amikacina. Nuestros resultados también son similares a los descritos por otros investigadores, así los estudios de Gaurav, 2012 (en Asia y Pacífico); Hawser *et al.*, 2012 (en la India); Navarro *et al.*, 2011 (en México); Rivera *et al.*, 2011 (en Perú) y Villegas *et al.*, 2011 (en América Latina) revelan que los carbapenemes muestran inhibición de más del 90% de todas las especies productoras de BLEE. Aunque nuestros resultados no

confirman al 100% lo reportado por Morales *et al.*, 2005, quien en el Perú encontró cepas productoras de BLEE multirresistentes y la mayoría presentó co-resistencia a sumetropin, amikacina, gentamicina y ciprofloxacina, los nuestros reflejan este tipo de co-resistencia para sumetropin y ciprofloxacino principalmente.

A nivel nosocomial, las BLEE son consideradas como causas importantes del incremento en la morbilidad y mortalidad de pacientes hospitalizados, de la prolongada estancia hospitalaria y del aumento de los costos globales de salud. Asimismo, las pruebas rutinarias de la susceptibilidad antimicrobiana no son suficientes para determinar la presencia de cepas productoras de BLEE, por lo que la CLSI ha diseñado metodologías de laboratorio práctica para su identificación rápida y a bajo costo, y que toda institución de salud sea pública o privada debe de implementar sus laboratorios para tener las herramientas que permitan identificar y establecer las terapias antimicrobianas idóneas en base a los estudios de cultivos y antibiogramas, en un intento de lograr controlar la resistencia bacteriana.

Consideramos necesario establecer medidas de control y seguimiento de los casos diagnosticados, así como es necesario continuar con investigaciones que permitan conocer el perfil microbiológico y las variaciones de las resistencias antimicrobianas en nuestro medio de forma rutinaria y no sólo como parte de esfuerzos particulares. Por otro lado consideramos que una alternativa sería que en todos los laboratorios de diagnóstico microbiológico se implementen las metodologías de detección de BLEE manuales y que estos realicen un estudio periódico del porcentaje de resistencia asociada a las betalactamasas y a otros fármacos de uso en primera línea.

7. CONCLUSIONES

- 1) La prevalencia de enterobacteriáceas productoras de BLEE entre Marzo - Agosto del 2012 en la Clínica Good Hope fue de 21.2%.
- 2) Las enterobacteriáceas BLEE (+) de nuestra serie se asociaron a algunas características del paciente como: una edad media de 57.03 ± 26.17 años, afectando mayormente a las mujeres y a los adultos mayores. Las enterobacteriáceas BLEE (+) de pacientes ambulatorios se asoció a diabetes mellitus, ITU recurrente y gestación; y en los pacientes hospitalizados se asoció a diabetes mellitus y gestación.
- 3) Las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas con mayor frecuencia tanto de los pacientes ambulatorios como de los hospitalizados en la Clínica Good Hope fueron: *Escherichia coli* (80.5%), *Klebsiella pneumoniae* (11.3%) y *Proteus mirabilis* (3.4%).
- 4) Las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas proceden principalmente de las muestras para urocultivo (86.4%) y cultivo de secreción vaginal (11.0%), siendo el urocultivo el examen en el cuál se detectó en mayor cantidad las enterobacteriáceas BLEE (+) de los pacientes hospitalizados (96.7%) y ambulatorios (86.4%).
- 5) Las especies productoras de BLEE en los pacientes ambulatorios proceden de las muestras solicitadas por los servicios de Ginecología (22.5%), Medicina interna (17.9%), Urología (19.1%) y Pediatría (21%), en tanto las muestras de los pacientes hospitalizados proceden en su mayoría por el servicio de Medicina interna (36.7%).

- 6) El 91.5% de las enterobacteriáceas BLEE(+) fueron detectadas en muestras de pacientes ambulatorios mientras que el 8.5% fueron de muestras de los pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope.
- 7) La co-resistencia a otros antibióticos por parte de las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas de los pacientes ambulatorios atendidos en la Clínica Good Hope fueron: *Escherichia coli* que presentó a amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacino y sumetropin. *Klebsiella pneumoniae* a amoxicilina/ácido clavulánico, sumetropin y ciprofloxacino. *Proteus mirabilis* a amoxicilina/ácido clavulánico, sumetropin y nitrofurantoina.
- 8) La sensibilidad a otros antibióticos por parte de las enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas de los pacientes ambulatorios de la Clínica Good Hope fue: *Escherichia coli* a imipenem, nitrofurantoina y amikacina. *Klebsiella pneumoniae* a imipenem y amikacina. *Proteus mirabilis* a amikacina e imipenem.
- 9) La co-resistencia a otros antibióticos por parte de las enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas de los pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope fue: *Escherichia coli* a amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacino y sumetropin. *Klebsiella pneumoniae* a amoxicilina/Ácido clavulánico, sumetropin, gentamicina y ciprofloxacino.
- 10) La sensibilidad a otros antibióticos por parte de las enterobacteriáceas BLEE(+) aisladas de los pacientes hospitalizados de la Clínica Good Hope fue: *Escherichia coli* a imipenem y amikacina. *Klebsiella pneumoniae* a imipenem amikacina y nitrofurantoina.

8. RECOMENDACIONES

- 1) Se debe de evitar el uso de antibióticos en forma empírica o de manera irracional porque favorece la resistencia bacteriana, en especial en la población ambulatoria, dado que, nuestra investigación demuestra que las enterobacteriáceas BLEE (+) son más frecuentes de lo que se creía entre los pacientes que no están hospitalizados y por ende, suponemos que reciben tratamiento con antibióticos inadecuados.
- 2) Se deben establecer medidas de control para buscar especies productoras de BLEE en los establecimientos de salud, lo cual implica que las autoridades sanitarias del sector público y de las entidades prestadoras de salud privadas entiendan la importancia de equipar sus laboratorios de microbiología con reactivos y equipos mínimo necesarios, así como el entrenamiento y capacitación permanente de sus recursos humanos.
- 3) Se debe orientar a los médicos para identificar y tratar adecuadamente a los pacientes de riesgo como son los adultos mayores, pacientes con diabetes mellitus y gestantes, quienes por su condición de inmunosupresión favorecen la aparición de bacilos productores de BLEE como la *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*.
- 4) Se debe financiar o subvencionar estudios de investigación de mayor complejidad para la tipificación de los bacilos productores de BLEE, así como la elaboración de esquemas de tratamiento antibiótico que permitan enfrentar adecuadamente los cuadros clínicos infecciosos producidos por estos gérmenes.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUADO J.M, LUMBRERAS C. Infecciones por enterobacterias. Hospital 12 de Octubre. Madrid. *Medicine*. 1998; vol. 7, nº 78, p. 3622-3628.

ALBARADO L., GARCÍA J., RODRIGUEZ E., CARPIO C., SALAZAR E., FLORES E., BETANCOURT G., ARAQUE Y., GUZMAN L. Frecuencia de enterobacterias nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro extendido, Cumaná, Venezuela. *NOVA – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas* – ISSN. 2009, vol. 7 nº 1, p. 52-59/124.

BORG M., COOKSON B., ZARB P., SCICLUNA E. Antibiotic resistance surveillance and control in the Mediterranean region: report of the armed Consensus Conference. MALTA. *J Infect Dev Ctries*. 2009, vol. 3, nº 9, p. 654–659.

BUSH K., JACOBY G., Y MEDEIROS A. A Functional Classification scheme For beta-lactamases and its correlation with molecular structure. USA. *American Society For Microbiology*. 2004, vol. 39, nº 6, p. 1211-1233.

CALDERÓN R., SACSAQUISPE R., PASTERÁN F., GALAS M., SOTO J., RIVEROS J., 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. Perú. *Rev peru med exp salud pública*. 2003, vol. 20, nº 3, p. 121-127.

CASTAÑEDA M., REQUELME F., POMA J. Infecciones intrahospitalarias: Un círculo vicioso. Perú. *Rev Med Hered.* 2011, vol 22, n° 4, p. 202-203.

COCKERILL F. *et. al.* Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement. USA. 2011, vol. 31, n° 1. M100-S21.

DEL FÍN A. Identificación de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias. *Revista Habanera de Ciencias Médicas.* Cuba. 2010, vol. 9, n°4, p. 516-524.

DEL POZO L., SILVA N., VALENCIA A., SOTO J., RIVEROS C., SACSA □NEUMO R, CALDERÓN R., SUAREZ V. Estudio de un brote intrahospitalario por *Salmonella typhimurium* productora de betalactamasa de espectro extendido SHV-5. Perú. *An Fac Med.* 2006, vol. 67, n°4, p. 318-326.

FENNELL J., VELLINGA A., HANAHOE B., MORRIS D., BOYLE F., HIGGINS F., LYONS M., O'CONNELL., KEADY D., CORMICAN M. Increasing prevalence of ESBL production among Irish clinical Enterobacteriaceae from 2004 to 2008: an observational study. Irlanda. *BMC Infectious Diseases.* 2012, vol.12, n°116, p 1-8.

FORBES B. Diagnóstico microbiológico. Ed. Médica Panamericana. 2009, p.180-181/945.

GARCÍA E., GARCÍA A., HERNÁNDEZ A., RUIZ J., ANTONIO J., GÓMEZ J. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): Significación clínica y perspectivas actuales. España. *Rev Esp Quimioter.* 2011, vol. 24, n°2, p. 57-66.

GARCÍA J., RODRIGUEZ E., CARPIO C., ALBARADO Y., SALAZAR E., FLORES E., BETANCOURT J., ARAQUE J., GUZMAN M. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de enterobacterias nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro expandido. Venezuela. *Kasmera*. 2009, vol. 37, n° 1, p. 38-50.

GARCIA JA., PICAZO JJ. Compendio de Microbiología Médica. 2003, p. 208

GAURAV D. Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producers among Gram Negative Bacilli from Various Clinical Isolates in a Tertiary Care Hospital at Jhalawar, Rajasthan, India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2012, vol. 6, n° 2, p.182-187.

GUIRAO X., ARIAS J., BADÍA J., GARCÍA-RODRÍGUEZ J., MENSA J. ÁLVAREZ-LERMA F. BORGES M. BARBERÁN J., MASEDA E., SALAVERT M., LINARES P., GOBERNADO M., GARCÍA REY C. Recomendaciones en el tratamiento antibiótico empírico de la infección intra-abdominal. España. *Rev Esp Quimioter*. 2009, vol. 22, n°3, p. 151–172.

HAWSER S., BOUCHILLON S., HOBAN D., BADAL R., PO-REN H., PATERSON D. Emergence of High Levels of Extended-Spectrum- β Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in the Asia Pacific Region: Data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program, 2007. Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2009, vol. 53, n°8, p. 3280-3284.

HAWSER S., BOUCHILLON S., LASCOLS., HACKEL M., HOBAN D., BADAL R., WOODFORD N., LIVERMORE D. Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Intra-Abdominal Infections and Molecular Characterization of Ertapenem-Resistant Isolates. USA. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011, vol. 55, n°8, p. 3917–3921.

KNOTHE H., SHAH P., KRUMHOLTZ V., ANTAL M. Y MITSUHASHI S. Transferable resistance to cefotaxima, ceftazidime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. USA. *Clin Infect Dis.* 1983, vol. 11. P. 315-317.

KONEMAN EW. Diagnóstico microbiológico. 5ta Ed. Estados Unidos: Editorial Médica Panamericana, 1999, p.1359.

LEZAMETA L., GONZALES-ESCALANTE E., TAMARIZ J. Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de betalactamasa de espectro extendido. Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2010, vol. 27, n° 3, p. 345-51.

LIGOZZI M., BERNINI C., GRAZIA M., DE FATIMA M., ZULIANI J., FONTANA R. Evaluation of the VITEK 2 System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Medically Relevant Gram-Positive Cocci. USA. *Clin Microbiol.* 2002, vol. 40, n° 5, p.1681–1686.

LINDSAY E. NICOLLE. Antimicrobial Resistance. USA. *European Infectious Disease.* 2011, vol. 5, n° 2, p. 927.

MAC FADDIN J.F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed Medica Panamericana, 2003.

MADIGAN, MARTINKO Y PARKER. Biología de los microorganismos. Décima edición Brock Pearson Educacion, S.A., Madrid. 2004. ISBN 84-205-367-2.

MARIN M., GUDIOL F. Antibióticos betalactámicos. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003, vol. 21, n° 1, p. 42-55.

MATTAR S., MARTÍNEZ P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las betalactamasas de espectro extendido (BLEE): Detección, impacto clínico y epidemiología. Colombia. *Infectio*. 2007, vol.1, n° 1, p. 23-35.

MENSA J., GATELL J., PRATS G., JIMÉNEZ DE ANTA M. Guía terapéutica antimicrobiana, 5ta edición. Barcelona: Ed. Masson Salvat Medicina, 1995, p. 4-13.

MINISTERIO DE SALUD. Sistema de vigilancia epidemiológica. Vigilancia intrahospitalaria. Lima Perú. 2013.

MONTOYA L., ZURITA I., PÉREZ N., PATIÑO N., CALVIMONTE O. Infecciones Intrahospitalarias: Agentes, Manejo Actual y Prevención. Bolivia. *Rev Cient Cienc Méd*. 2010, vol. 13, n° 2, p. 94-98.

MORALES J.L., REYES K., MONTEGHIRFO M., ROQUE M., IREY J. Presencia de β - lactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú. Perú. *An Fac Med*. 2005, v. 66, n°1, p. 24-32.

NAVARRO M., ROBLES R., GARIBAY A., RUIZ E. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* comunitarias y hospitalarias productoras de beta-lactamasas en hospitales de Hermosillo. Mexico. *Sonora.salud pública de México*. 2011, v. 53, n° 4, p. 341-344.

PACHECO M., LEÓN E. Epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE en el Hospital Vozandes Quito entre los años 2005 – 2009. Ecuador. *Revista Médica Vozandes*. 2011, vol. 22, n° 1, p. 15-21.

PAVÓN S., GÓMEZ M., MORALES M., Y ROJAS M. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. México. *Ciencia ergo sum*. 2011, vol. 18, n° 2, p. 164-170.

QUINN, P.J; MARKEY, B.K; CARTER, M.E; DONNELTY, W.J. Y LEONARD, F.C. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Ed. Acribia. S.A. 1° edición. España. 2002.

RAJAL J.J. Extended – spectrum beta-lactamasa: how bis is the problema?. USA. *Clin Micro boil Infect*. 2000, vol. 6 (Supplement 2), p. 2-6.

RIAZ S., FAISAL M., HASNAIN S. Prevalence and comparison of Beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp from clinical and environmental sources in Lahore, Pakistan. *African Journal of Microbiology Research*. 2012, v. 6, n° 2, p. 465-470.

RIVERA M., RODRÍGUEZ C., HUAYÁN G., MERCADO P. Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacteriaceae* aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú. *Rev Med Hered.* 2011, vol. 22, n°2, p. 69-75.

RODRIGUEZ, NAVARRO JMD, ROMERO L., MARTINEZ L., MUNIAIN M., PEREA E., PEREZ R., PASCUAL A. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended – spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non hospitalized patients. España. *J Clin Microbiol.* 2004, vol. 42, n° 3, p. 1089-1094.

ROMEU B., SALAZAR P., NAVARRO A., LUGO., HERNÁNDEZ U., ROJAS N., ESLAVA C. Utility of VITEK system for bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing isolated from surface waters reservoirs. México. *Revista CENIC. Ciencias biológicas.* 2010, vol. 41, p.1-9.

RUBIO I., MARTÍN E., DOMINGO D., LOPEZ M., LARRAÑAGA E. Extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria in a tertiary care hospital in Madrid: epidemiology, risk factors and antimicrobial susceptibility patterns. España. *Emerg Health Threats J* 2012, vol. 5: 11589.

SANCHEZ B. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Cuba. *Revista Electrónica de Medicina Intensiva.* 2010, Vol 6 n° 4, p. 8.

SANDREA L., PAZ A., PIÑA E., PEROZO A. Extended-Spectrum β -Lactamase Producers Isolated from Hemocultures at the University Hospital in Venezuela. Venezuela. *Kasmera.* 2007, vol. 35 n° 1, p. 15-25.

SCHIAPPA DM., HAYDEN MK., MATUSHEK MG., HASHEMI F., SULLIVAN J., SMITH K., MIYASHIRO D., QUINN J., WEINSTEIN R., TRENHOLME G. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumonia* and *Escherichia coli* bloods tream infection: case-control and molecular epidemiologic investigation. USA. *J Infect Dis.* 1996, vol. 174, p. 529-536.

SUÁREZ C, GUDIOL F. Antibióticos betalactámicos. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009, vol. 27, n° 2, p. 116-129.

VILLEGAS M., GUZMAN B., SIFUENTES O., ROSSI F. Increasing prevalence of extended-spectrum-betalactamase among Gram-negative bacilli in Latin America – 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2011, vol. 15, n° 1. P. 34-39.

WINOKUR P., CANTON R., CASELLAS J., LEGAKIS N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype of isolates from Europe the Americas and the Western Pacific Region. Iowa. *Clin Infect Dis.* 2001, Vol. 32 (Suppl.2), p. 94-105.

ZWADYK P. Enterobacteriaceae: Características Generales. P. 673-683. (En Joklik WK,, Amos B, comps. Zinsser Microbiología. 13 ed. 1983. La Habana: Científico Técnica, vol. 2, p. 1413).

8. ANEXOS

ANEXO N° 1 (FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS)

Edad: _____ años

Sexo: 1. Masculino () 2. Femenino ()

Servicio que solicita cultivo: _____

Muestra para cultivo: _____

Enterobacterias:	Resistente:	Sensible:
<i>E. coli</i>		
<i>K. pneumoniae</i>		
<i>P. mirabilis</i>		
<i>K. oxitoca</i>		
<i>E. cloacae</i>		
<i>C. freundii</i>		
<i>S. flexneri</i>		
<i>M. morgani</i>		
<i>E. aerogenes</i>		
<i>E. flavus</i>		
Otros:		

ANEXO N° 2 (PERMISO)

Solicito: Autorización para realizar investigación científica con la utilización de historias clínicas y datos de laboratorio de microbiología en la Clínica Good Hope

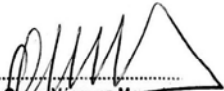
COMISION ADMINISTRATIVA DE LA CLINICA GOOD HOPE

Yo Rolando Paredes Gago identificado con DNI # 70439988 con domicilio legal en Av. Circunvalacion #1808 – San Luis, en calidad de Trabajador de Laboratorio de la Clínica Good Hope (N° 992) ante ustedes me presento y respetuosamente expongo :

Que, habiendo culminado la carrera de Microbiología y Parasitología en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) solicito a ustedes permiso para realizar trabajo de tesis en su Institución sobre "PREVALENCIA DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN LA CLINICA GOOD HOPE DURANTE EL PERIODO MARZO – AGOSTO DEL 2012" para obtener el grado de Biólogo-Microbiólogo-Parasitólogo.

Solicito se me otorgue una autorización para poder utilizar los datos de laboratorio y poder tener acceso a las historias clínicas de los pacientes presentes en el periodo Marzo – Agosto del 2012 como parte del Proyecto por el tiempo que dure éste para lo cual cumpla con adjuntar toda la documentación exigida para este efecto quedando claro que dicho proyecto no generara un gasto adicional y sera de provecho en la obtención de datos epidemiológico de lo investigado en beneficio de vuestra institución.

Por lo expuesto, agradeceré a ustedes acceder a lo solicitado.


BLGO. Oscar Vasquez Macedo
Patología Clínica
C.B.P 2335

Clinica Good Hope

Oscar Vasquez Macedo

Jefe de Laboratorio

Lima , 16 de Noviembre del 2012



Rolando Paredes Gago


16 NOV 2012