

## **Susceptibilidad Antimicrobiana *in vitro* de enterobacterias nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro expandido. Cumaná, estado Sucre**

*In Vitro Antimicrobial Susceptibility of Nosocomial  
Enterobacteria Producers of Extended-Spectrum  
Beta-Lactamase. Cumana, Sucre State*

**García, José; Rodríguez, Eliosmar;  
Carpio, Carmen; Albarado Y., Luzmila;  
Salazar, Elsa; Flores F., Evelin;  
Betancourt, José; Araque, Yasmina  
y Guzmán L., Militza**

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre,  
Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis.  
E-mail: luzalv@hotmail.com

### **Resumen**

Para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de enterobacterias nosocomiales productoras de BLEE en pacientes reclusos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, se recolectaron 27 cepas bacterianas procedentes de las salas de UCI, retén, medicina y pediatría, en el periodo septiembre-noviembre de 2005. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó por el método de difusión del disco. El mayor número de infecciones nosocomiales se presentó en UCI y retén con 10 (37,03%) y 7 (25,93%) casos; 44,44% de cultivos positivos fueron aislados en secreciones. *K. pneumoniae* resultó la especie mayormente aislada (51,85%), seguida de *Enterobacter aerogenes* con 18,52%. La mayor resistencia antimicrobiana en el grupo de los  $\beta$ -lactámicos, se obtuvo para ceftazidima (77,77%), cefotaxima (70,37%) y cefepima (40,74%); en el grupo de los aminoglucósidos, a tobramicina y gentamicina (44,44% y 40,74%); asimismo, cloranfenicol (70,37%), tetraciclinas (51,85%) y trimetoprim-sulfametoxazol (44,44%). Estos resultados pudieran ser útiles a la comunidad médica, al tomar en cuenta las pautas de trata-

miento y modificar las conductas de riesgo, las cuales facilitan la inducción de resistencia, como el abuso al prescribir antimicrobianos y las hospitalizaciones innecesarias.

**Palabras clave:** Infecciones nosocomiales,  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido, susceptibilidad antimicrobiana, enterobacterias.

## Abstract

In order to assess *in vitro* antimicrobial susceptibility for nosocomial enterobacteria ESBL producers for patients in the Autonomous University Hospital Service 'Antonio Patricio de Alcalá,' 27 bacterial strains were collected in the ICU, neonatology, medicine and pediatric facilities during September-November 2005. Antimicrobial susceptibility was determined by the disk diffusion method. The highest number of nosocomial infections was found in ICU and neonatology with 10 (37.03%) and 7 (25.93%) cases, respectively; 44.44% of the positive cultures were isolated from secretions. *K. pneumoniae* was the most frequently isolated species (51.85%), followed by *Enterobacter aerogenes* with 18.52%. The greatest antimicrobial resistance in the betalactam group was obtained for ceftazidime (77.77%), cefotaxime (70.37%) and cefepime (40.74%); in the aminoglycosides group, for tobramycin and gentamycin, (44.44% and 40.74%, respectively); also, chloramphenicol (70.37%), tetracycline (51.85%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (44.44%). These results could be useful to the medical community when taking into account guidelines for treatment and risk behavior modification, which facilitate the induction of resistance, such as abuse in prescribing antibiotics and unnecessary hospitalizations.

**Key words:** Nosocomial infections, extended-spectrum beta-lactamase, antimicrobial susceptibility, enterobacteria.

## Introducción

La infección nosocomial o intrahospitalaria (IIH) adquiere cada día mayor relevancia por las consecuencias económicas, sociales y de salud que desencadena en los individuos que las padecen (1). Las IIH representan uno de los mejores indicadores de calidad de atención por 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 (2). Entre los agentes causales de las IIH se encuentran los hongos, virus, parásitos y bacterias; estas últimas, en particular el grupo de las enterobacterias, representan la principal causa de infección: entre las que se encuentran *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter* spp. (3,4).

El amplio uso de antibióticos, el incremento de la expectativa de vida, el aumento de la sobrevivencia en los pacientes con enfermedades crónicas, modalidades terapéuticas (trasplantes) y el medio ambiente en unidades de cuidados intensivos, representan factores que inciden en la resistencia bacteriana a los diversos antimicrobianos, así como en el aumento de las infecciones nosocomiales (5).

A nivel bacteriano, se han descrito al menos 7 mecanismos diferentes de resistencia antimicrobiana, la inactivación enzimática es uno de ellos; entre las enzimas más frecuentes están las  $\beta$ -lactamasas, la cloranfenicol acetiltransferasa y las modificadoras de aminoglucósidos como la acetiltransferasa, fosfatidiltransferasa y adeniltransferasa (6). La resistencia bacteriana a los antibióticos

$\beta$ -lactámicos está mediada por 3 mecanismos principales: alteración de los sitios blancos de la droga o proteínas fijadoras de penicilina (PBP), modificación de la permeabilidad celular y la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas (6,7).

El grupo 2b de la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros para  $\beta$ -lactamasas, incluye a las enzimas TEM-1, TEM-2 y SHV-1, conocidas como  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro, presentes en bacilos Gram negativos, su presencia en las bacterias es consecuencia de la elevada presión selectiva ejercida por el uso irracional de la ampicilina, carbenicilina y cefalosporinas de primera generación (8-10). Las  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido (BLEE), se originaron de las enzimas TEM-1, TEM-2, SHV-1, tras sufrir diversas mutaciones, las cuales le confieren a la bacteria que las produce resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (CF3G) y al aztreonam. Estas enzimas, generalmente, están codificadas en plásmidos, los cuales le confieren a las BLEE una capacidad de diseminación mayor entre distintas cepas y en períodos de tiempo corto (11,12). Otro grupo de BLEE han sido reportados, tal es el caso de las cefotaximasas (CTX-M), las cuales presentan un grado de homología a nivel nucleotídico con TEM y SHV de 40% (13). Las cepas productoras de BLEE presentan, con frecuencia, resistencia a aminoglucósidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol, ya que genes que transmiten estas características están contenidos en elementos extracromosómicos que codifican para BLEE (14-16). El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) sugiere evaluar antimicrobianos como aztreonam, cefpodoxima, ceftazidima, cefatoxima y ceftriaxona para realizar el tamizaje de detección de BLEE y confirmar la producción de estas enzimas en presencia de un agente inhi-

bidor (17). El ácido clavulánico (AC) por ser un excelente inhibidor de las BLEE, ha llevado al diseño de métodos para detectarlas por un fenómeno sinérgico entre CF3G, como ceftazidima o cefotaxima y AC, en ensayos por difusión en agar usando discos con estos compuestos (18). El CLSI propone la determinación de estas enzimas en *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* y *P. mirabilis* (17); sin embargo, autores como Sandrea-Toledo *et al.* (19) han comprobado la producción de BLEE en las demás enterobacterias, obteniendo como principales productores de estas enzimas a *K. pneumoniae* (61,39%), *E. coli* (30,33%) y *E. cloacae* (24,44%).

El uso continuo e indiscriminado de los antimicrobianos en los centros hospitalarios y la falta de control para su uso en la población en general, ha traído como consecuencia la selección de determinantes de resistencia en bacterias que habitan en los hospitales. Por lo antes expuesto, se planteó como objetivo evaluar la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de enterobacterias nosocomiales productoras de BLEE, aisladas de pacientes asistidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (SAHUAPA).

## Material y Método

Durante el período septiembre-noviembre de 2005, se recolectaron 27 cepas bacterianas productoras de BLEE, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, aisladas en el laboratorio de bacteriología del SAHUAPA, el estudio se realizó a partir de cepas bacterianas causantes de IIH, respetando para la selección de las mismas, los criterios establecidos por el Center for Diseases Control (20). Las cepas fueron identificadas en el laboratorio del centro asistencial, a partir de pacientes con diagnóstico de infección nosocomial e

indicación de cultivo y antibiograma, reclusos en las áreas de UCI, retén, medicina y pediatría del centro hospitalario. Las cepas bacterianas fueron inoculadas en medio de conservación, agar tripticasa de soya (Himedia) con 50% de glicerol, y transportadas al laboratorio de Microbiología General y Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, para su reidentificación; por tratarse de un trabajo de investigación, el mismo incluyó un estudio bacteriológico completo: siembra en medio básico, selectivo diferencial, evaluación microscópica e identificación bioquímica por métodos convencionales, como se detalla a continuación.

### Diagnóstico bacteriológico

El estudio bacteriológico se realizó siguiendo los lineamientos establecidos por Koneman *et al.* (21) para la identificación de enterobacterias. A partir del medio de conservación, las cepas bacterianas se inocularon en caldo infusión cerebro-corazón, BHI (Himedia), y se incubaron por 24 horas a 37°C en ambiente de aerobiosis. Luego, se sembraron en agar tripticasa de soya, ATS (Himedia) y agar MacConkey, AMC (Himedia), incubándose a las mismas condiciones (22). La evaluación macroscópica de las colonias se realizó por observación de sus características morfológicas y cambios producidos en AMC (21). El estudio microscópico, se realizó preparando un extendido a partir del cultivo en ATS, luego, se procedió a colorear con el método de Gram (23) para establecer la morfología y tinción bacteriana. La caracterización bioquímica de las cepas se realizó mediante los protocolos de identificación convencionales para bacterias gramnegativas fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, propuestos por Koneman *et al.* (21) y MacFaddin (22).

### Susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad antimicrobiana fue realizada mediante el método de difusión del disco (24), siguiendo los lineamientos propuestos para enterobacterias por el CLSI (17), empleando discos de antibióticos de la casa comercial OXOID: amoxicilina-ácido clavulánico 2:1 (20 µg/10 µg), cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefepima (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), netilmicina (30 µg), amikacina (30 µg), tobramicina (10 µg), gentamicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), cloranfenicol (30 µg) y trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg). Los resultados se reportaron según recomendaciones del CLSI (17) en las categorías de interpretación de acuerdo a los datos obtenidos *in vitro* (25).

La confirmación fenotípica de la producción de BLEE se realizó mediante la técnica de sinergismo de doble disco propuesta por Jarlier *et al.* (26) y siguiendo los lineamientos establecidos por CLSI (17), M100-S15 (M2), aplicándose a las cepas recolectadas de *Klebsiella* spp, *E.coli* y también a *Enterobacter* spp. Para ello, se colocó en el centro de una placa de agar Mueller Hinton (DIFCO) un disco de amoxicilina/ácido clavulánico 2:1 (20 µg/10 µg) y los discos de ceftazidima y ceftriazona a una distancia lineal de 20 mm del disco central en un ángulo de 90°, a 20 mm del mismo se ubicaron los discos de aztreonam y cefotaxima. La formación de un óvalo en la zona de conversión del halo de inhibición de los agentes antimicrobianos empleados y el disco central de amoxicilina-ácido clavulánico y la sensibilidad ante cefoxitina, es indicativo, desde el punto de vista fenotípico, de la presencia de BLEE.

La calidad de los discos de antibióticos, así como la producción de  $\beta$ -lactamasas fue controlada empleando las cepas de *E. coli* ATCC 25922, especie BLEE negativa, y *K.*

*pneumoniae* ATCC 700603, la cual es productora de BLEE (17).

Para establecer la frecuencia de microorganismos productores de BLEE, se empleó un análisis porcentual, expresando los resultados en tablas y figuras. Asimismo, se aplicó un análisis de múltiples variables para correlacionar las enterobacterias nosocomiales identificadas, producción de BLEE, tiempo de estadía en el centro hospitalario, tipo de muestra analizada y área de hospitalización, a un nivel de confiabilidad de 95% (27).

## Resultados

De los 27 aislados bacterianos analizados, productores de BLEE, el mayor número de cepas nosocomiales procedieron de las áreas de UCI y retén (Tabla 1) con 10 (37,03%) y 7 (25,93%) casos, respectivamente. La distribución porcentual de los cultivos positivos para enterobacterias nosocomiales, según el tipo de muestra clínica, indicó que 44,44% se presentó en las muestras de secreciones con 12 casos (Tabla 2). Los cultivos bacteriológicos realizados mostraron que *Klebsiella pneumoniae* fue la bacteria más frecuente, representando 51,85% de los aislados, seguidos de *Enterobacter aerogenes* con una frecuencia de 18,52% (Tabla 3).

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* a los antibacterianos  $\beta$ -lactámicos muestran que las enterobacterias expresaron mayor porcentaje de resistencia a ceftazidima con 77,77% y a cefotaxima con 70,37%, se observó un porcentaje de resistencia a cefepima de 40,74%. *K. pneumoniae* y *E. coli* desarrollaron resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico en 59,25%. Todas las enterobacterias resultaron sensibles a meropenem e imipenem. Por otro lado, 44,44% de las enterobacterias expresaron resistencia a tobramicina y 40,74% a gentamicina. En relación al cloran-

**Tabla 1.** Distribución porcentual de cultivos positivos según las áreas de hospitalización. Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Septiembre-noviembre de 2005.

Área de hospitalización	Nº de casos	%
Unidad de cuidados intensivos	10	37,03
Retén	7	25,93
Medicina C	3	11,11
Medicina A	3	11,11
Medicina B	2	7,41
Pediatría A	2	7,41
Total	27	100,00

**Tabla 2.** Distribución porcentual de cultivos bacteriológicos positivos según el tipo de muestra evaluada. Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Septiembre-noviembre de 2005.

Muestra	Cultivos positivos	%
Secreciones	12	44,44
Catéter	8	29,63
Sangre	3	11,11
Heces	2	7,41
Líquido cefalorraquídeo	1	3,70
Orina	1	3,70
Total	27	100,00

fenicol, el porcentaje de cepas resistentes fue de 70,37%, seguida por tetraciclinas con 51,85% y trimetoprim-sulfametoxazol con 44,44% (Figura 1).

Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana indican que se obtuvieron 19 patrones de resistencia distintos, la diferencia

**Tabla 3.** Frecuencia de enterobacterias nosocomiales identificadas. Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Septiembre-noviembre de 2005.

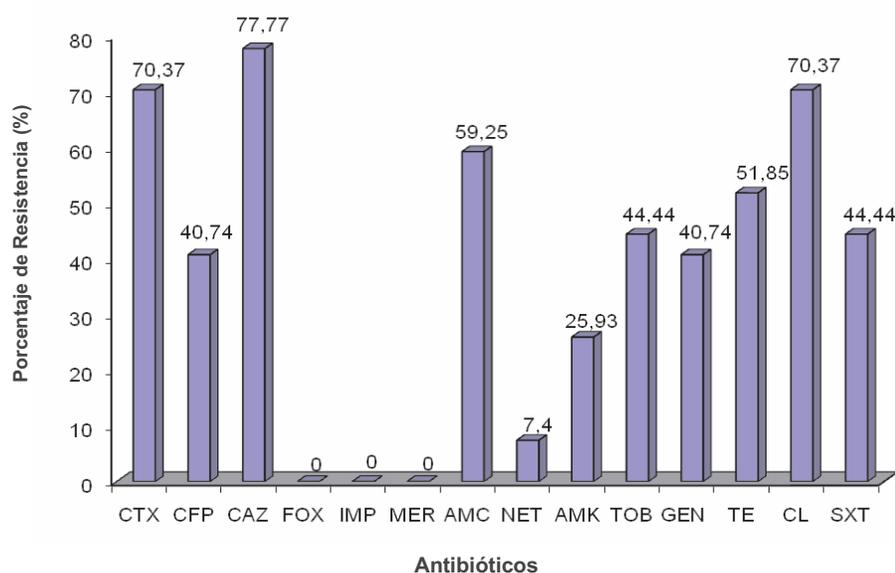
Especie bacteriana	Nº de cepas	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	51,85
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	18,52
<i>Escherichia coli</i>	3	11,11
<i>Enterobacter sp.</i>	3	11,11
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	7,41
Total	27	100,00

entre ellos se estableció por variaciones de uno o más antibióticos; todos los aislados bacterianos fueron resistentes a por lo menos tres antibióticos (Tabla 4). En los resultados se excluyó el reporte de la amoxicilina-ácido

clavulánico para *Enterobacter sp.* y *K. oxytoca*, por presentar mecanismos de resistencia natural. Una vez obtenidos los resultados, se realizó un análisis de múltiples variables entre el tipo de enterobacteria identificada, la producción de BLEE, el tiempo de estadía en el centro hospitalario de los pacientes incluidos en el estudio, el tipo de muestra analizada bacteriológicamente y el área del servicio de hospitalización del centro asistencial. El estudio mostró una correlación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) sólo entre las especies bacterianas identificadas con el tipo de muestras sometidas a evaluación bacteriológica.

## Discusión

En el presente estudio, el mayor número de IIH se presentó en las áreas de UCI y retén. Según Martín *et al.* (28) la frecuencia de IIH en pacientes de la UCI, está asociada al



CTX: cefotaxima, CFP: cefepima; CAZ: ceftazidima, FOX: cefoxitina (excepto *Enterobacter spp.*), IPM: imipenem, MER: meropenem, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico (sólo para *K. pneumoniae* y *E. coli*). NET: netilmicina, AMK: amikacina, TOB: tobramicina, GEN: gentamicina. TE: tetraciclina, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprim sulfametoxazol.

**Figura 1.** Porcentajes de resistencia antimicrobiana *in vitro* a  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y otros antibióticos, en enterobacterias nosocomiales aisladas de pacientes recluidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Septiembre-noviembre de 2005.

**Tabla 4.** Información epidemiológica y fenotípica de enterobacterias nosocomiales aisladas de pacientes asistidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Septiembre-noviembre de 2005.

Cepa	Estancia (días)	Fuente de aislamiento	Terapia previa	Servicio	Fecha del aislamiento	Perfil fenotípico
<i>K pneumoniae</i> 1	24	Sangre	CAZ	Retén	09/08/05	TE AMK CL CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 2	14	Secreción	CIP	Medicina -B	04/08/05	CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 3	14	Orina	CIP,OXA	Medicina-A	04/08/05	TE CL CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 4	5	Sangre	AMS,GEN	Retén	10/08/05	CL TOB STX GEN CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 5	8	Secreción	CAZ,AMK	Retén	15/08/05	TE CL TOB STX CTX CAZ FEP
<i>K oxytoca</i> 6	7	Catéter	CAZ,OXA	UCI	08/08/05	TE CL STX CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 7	7	Catéter	CAZ,OXA	UCI	08/08/05	TE CL CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 8	9	Secreción	-	Medicina-A	18/08/05	CL STX GEN CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 9	9	Secreción	-	Medicina-A	18/08/05	TOB GEN CTX CAZ FEP
<i>E aerogenes</i> 12	13	Secreción	VAN,IPM	Medicina-C	07/09/05	TE AMK CL TOB GEN CTX CAZ FEP
<i>E aerogenes</i> 13	30	Catéter	MER	Pediatría	10/09/05	TE AMK CL TOB GEN CTX CAZ FEP
<i>K oxytoca</i> 14	30	Catéter	MER	Pediatría	10/09/05	TE CL STX CTX CAZ FEP
<i>E coli</i> 15	30	Catéter	VAN	UCI	12/09/05	NET TOB STX GEN CTX CAZ FEP
<i>E aerogenes</i> 16	9	Secreción	VAN,CAZ	UCI	12/09/05	AMK CL TOB GEN CTX CAZ FEP
<i>E aerogenes</i> 17	24	Secreción	CIP,AM	Medicina-B	28/08/05	NET TOB STX GEN CTX CAZ FEP
<i>E aerogenes</i> 19	8	Catéter	-	Medicina-C	19/09/05	TE CL CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 20	8	Catéter	-	Medicina-C	19/09/05	CL CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 22	5	Secreción	CTX,VAN	UCI	10/10/05	AMK CL TOB STX GEN CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 24	9	Secreción	VAN,AMK	UCI	10/10/05	CTX CAZ FEP
<i>E coli</i> 26	6	Heces	AMS,GEN	Retén	13/10/05	TE STX CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 27	6	LCR	GEN	Retén	24/10/05	CL CTX CAZ FEP
<i>Enterobacter</i> sp 28	7	Secreción	CAZ	UCI	17/10/05	AMK CL TOB GEN CTX CAZ FEP

**Tabla 4.** Información epidemiológica y fenotípica de enterobacterias nosocomiales aisladas de pacientes asistidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Septiembre-noviembre de 2005.

**Continuación**

Cepa	Estancia (días)	Fuente de aislamiento	Terapia previa	Servicio	Fecha del aislamiento	Perfil fenotípico
<i>Enterobacter</i> sp 29	7	Secreción	CAZ	UCI	17/10/05	TE AMK TOB GEN CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 32	12	Sangre	GEN	Retén	28/10/05	TE STX CTX
<i>E. coli</i> 33	5	Heces	GEN	Retén	20/10/05	TE CL TOB STX CTX CAZ FEP
<i>K pneumoniae</i> 34	9	Secreción	AMK,AZT	UCI	29/10/05	TE CL STX CTX CAZ
<i>Enterobacter</i> sp 61	7	Catéter	CAZ,OXA	UCI	08/08/05	CL CTX

LCR: líquido cefalorraquídeo. UCI: unidad de cuidados intensivos, TE: tetraciclina, AMK: amikacina, CL: cloranfenicol, CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima, FEP: cefepima, TOB: tobramicina, STX: trimetoprim sulfametoxazol, GEN: gentamicina, OXA: oxacilina, AMS: amoxicilina/sulbactam, VAN: vancomicina, IPM: imipenem, CIP: ciprofloxacina, MER: meropenem, AM: amoxicilina, AZT: aztreonam.

alto consumo de antimicrobianos, el cual es aproximadamente diez veces mayor que en el resto de las áreas hospitalarias, y también a las características de los pacientes allí hospitalizados, su prolongada estadía y características medio ambientales propias, que contribuyen con una ecología favorable a la persistencia de los diferentes microorganismos.

Existen múltiples factores de riesgo que aumentan la posibilidad de infección nosocomial en UCI: la inserción de catéteres vasculares fijos, las derivaciones ventriculares, el uso constante de ventiladores mecánicos, el frecuente empleo de antibióticos de amplio espectro y mecanismos de defensa disminuidos en los pacientes hospitalizados (29). Un estudio realizado por Alpuche y Daza (30) en bacterias nosocomiales resistentes a cefalosporinas de espectro expandido, reporta que entre 35 y 40% de las IIH proceden de UCI.

En este estudio, 44,44% de los cultivos positivos para enterobacterias nosocomiales fueron obtenidos a partir de muestras de secreciones. Resultados relacionados fueron publicados por Poveda *et al.* (31) quienes en un estudio sobre infecciones nosocomiales en terapia intensiva, hallaron cultivos positivos en éste mismo tipo de muestras (79%). Sin embargo, Muzachiodi y Ferrero (32) reportaron en una investigación realizada en el Hospital Escuela “José F. De San Martín”, Argentina, el mayor número de cultivos positivos (41,80%) en muestras de orina.

Los hallazgos de la presente investigación, muestran a *K. pneumoniae* como la especie bacteriana mayormente aislada (51,85%). Por su parte, Martínez *et al.* (33) reportaron una prevalencia de 50% para *K. pneumoniae* y *E. coli*, como principales agentes etiológicos relacionados con brotes de IIH. No obstante, Cornejo *et al.* (34) publicaron una investigación sobre patrones de resistencia bacteriana en urocultivos, en un

hospital de México, analizando por separado cepas nosocomiales y de la comunidad; en los resultados obtenidos destacan que *E. coli* ocupó el primer lugar en los aislamientos de muestras nosocomiales con 41,3%.

En el ámbito hospitalario existe una amplia variación en la resistencia antibacteriana de los bacilos gramnegativos nosocomiales. Araya *et al.* (35) analizaron infecciones producidas por bacterias gramnegativas en pacientes internados en el Hospital San Juan de Dios, Costa Rica, identificando, principalmente, a *E. coli* y *K. pneumoniae*, con alta resistencia a gentamicina (78%), ciprofloxacina (85%), trimetoprim-sulfametoxazol (91%), piperacilina-tazobactam (78%) y cefepima (100%), sólo el imipenem fue activo (100%). Martínez *et al.* (36), en su trabajo sobre la prevalencia de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEE, en el Hospital San Jerónimo de Montería, Colombia, reportaron que 11 de 30 aislados nosocomiales de *K. pneumoniae* fueron productores de BLEE, mostrando 72,7% de resistencia a gentamicina, 27,2% a amikacina, 36,3% a ciprofloxacina y 45,4% a trimetoprim-sulfametoxazol; totalmente resistentes a CF3G y aztreonam, y sensibles a imipenem y meropenem. Cortés *et al.* (37) definen que el factor de riesgo más asociado a la producción de BLEE es el tiempo prolongado de hospitalización, en un servicio médico quirúrgico o en UCI, o el antecedente de hospitalización y el uso previo de múltiples esquemas de antibióticos, particularmente, CF3G, trimetoprim-sulfametoxazol y aminoglucósidos; también señalan, que la presión selectiva que ha llevado a la evolución de las BLEE ha sido, usualmente atribuida al uso amplio e indiscriminado de las CF3G.

En los últimos años la epidemiología de las enterobacterias productoras de BLEE ha sufrido una serie de cambios, debido a la apa-

rición de nuevas enzimas de este tipo que tienen un efecto de hidrólisis sobre un marcador fenotípico (CAZ) o varios de ellos (CAZ, CTX, FEP) (38). Al analizar el perfil de resistencia en las cepas productoras de BLEE, 89,47% expresó CTX, CAZ, FEP, lo cual predice que las BLEE presentes en las cepas son del tipo TEM, SHV y/o CTX-M. Sin embargo, en este estudio no se evaluaron otros mecanismos de resistencia como la alteración de las PBP o la modificación en las proteínas de membrana, por lo que no se puede descartar, en estas bacterias, la presencia de alguno de estos mecanismos. Conjuntamente con la resistencia *in vitro* observada en los  $\beta$ -lactámicos, también hubo resistencia asociada con otros antimicrobianos, entre ellos cloranfenicol, aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclinas; estos resultados expresan el carácter de multiresistencia en las cepas estudiadas.

González *et al.* (39) publicaron alta corresponsabilidad para antibióticos no  $\beta$ -lactámicos, que limitan el sinergismo terapéutico entre familias de antibióticos, además, señalan que la resistencia presentada a los aminoglucósidos por las cepas productoras de BLEE, probablemente, se deba a la expresión de enzimas modificantes tipo N-6'-acetiltransferasas y N-2'-nucleotidiltransferasas, la presencia de estas enzimas les indicó el amplio uso de gentamicina y tobramicina en los hospitales. Sánchez *et al.* (40) en un estudio sobre *K. pneumoniae* productor de BLEE, en recién nacidos en el Hospital Infantil Dr. Robert Reid Cabral de Santo Domingo, República Dominicana, identificaron en 28 patógenos bacterianos, 15 cepas de *K. pneumoniae*, el agente mayormente aislado, 10 fueron productores de BLEE con resistencia a amikacina, cloranfenicol, gentamicina y cefotaxima, y sensibilidad a imipenem y ciprofloxacina; las carbapenemas resultaron los más efectivos.

La existencia de un fenotipo particular en una cepa productora de BLEE es de gran interés, teniendo presente que, como alternativa terapéutica, al encontrarse en una enterobacteria, se deben considerar como resistentes las cefalosporinas de tercera y cuarta generación (37). Torres *et al.* (41), en su publicación sobre BLEE aisladas en centros de salud de Caracas, citan que la presencia de plásmidos de alto peso molecular en los aislados bacterianos, sugiere que la presión ejercida por el uso de antibióticos en áreas restringidas como UCI, ha favorecido la diseminación de plásmidos transferibles y de transposones e integrones que codifican altos niveles de resistencia asociados con varias familias de antibióticos; el estudio evidencia la transferencia horizontal de genes de BLEE y co-transferencia de otros genes de resistencia a grupos de antibióticos diferentes de los  $\beta$ -lactámicos, entre cepas de bacilos gramnegativos aislados en los centros de Salud.

El análisis de los resultados mostró una correlación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre las especies bacterianas identificadas y el tipo de muestras sometidas a evaluación bacteriológica, esto podría sugerir una diseminación estable de estas bacterias, con resistencia a más de dos grupos de antibióticos en todas las áreas del hospital, representando un problema clínico complicado, debido a una frecuencia importante de IIH por *K. pneumoniae*, entre otras enterobacterias, productoras de BLEE.

La producción de BLEE en las enterobacterias estudiadas, se puede asociar con la resistencia a los agentes antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos, puede inferirse al respecto, que la producción enzimática, puede ser debido a la existencia de plásmidos transferibles que producen resistencia adicional a otros antibacterianos, además, otros elementos genéticos pudieran estar asociados, como transposones e

integrones que codifican altos niveles de resistencia a varios grupos de antibióticos. Esto pudiera estar diseminándose fácilmente entre los aislados bacterianos que producen IHH en las distintas áreas del centro asistencial, probablemente, por el excesivo uso de  $\beta$ -lactámicos de amplio espectro, ocasionando un alto riesgo en la selección de enterobacterias productoras de BLEE. El estudio genético en futuras investigaciones darían soporte a la evaluación fenotípica de este trabajo, pues se presume que, la presencia de plásmidos en el SAHUAPA es un factor de riesgo, por lo que las medidas para evitar la alta presión selectiva producida por estos antibióticos, sugieren una mejor vigilancia epidemiológica y la posible instauración de rotación de antibióticos como una estrategia de racionalización en la administración de los mismos. Los resultados obtenidos pudieran ser de utilidad a la comunidad médica, al tomar en cuenta las pautas de tratamiento y de esta manera contribuir a modificar las conductas de riesgo que facilitan la inducción de resistencia, como el abuso en la prescripción de antimicrobianos y hospitalizaciones innecesarias.

### Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a aquellas personas que participaron en este trabajo y al consejo de investigación de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, por el apoyo financiero en el Proyecto identificado con el código N° CI-2-040102-1409/08.

### Referencias Bibliográficas

- (1) Ramos C. y Pelez G. Repercusión económico-social de la infección intrahospitalaria. Rev Cub Salud Púb. 1991; 17(2):84-93.
- (2) Guinan J, McGuckin M, Shubin A, Tighe J. A descriptive review of malpractice claims for health care-acquired infections in Philadelphia. *Am J Infect Control*. 2005; 33: 310-312.
- (3) Navarrete N y Pérez R. 1998. Definiciones de infección intrahospitalaria. En: Infección intrahospitalaria en Pediatría. México: McGraw Hill. pp 18-24.
- (4) Díaz R, Solórzano F, Padilla G, Miranda M, González R, Trejo J. Infecciones nosocomiales. Experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Salud Púb Mex*. 2001; 41:12-17.
- (5) Owens R y Rice L. Hospital-based strategies for combating resistance. *Clin Infect Dis*. 2006; 42: S173-181.
- (6) Goodman R. y Gilman J. 1999. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. Novena edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp 143-160.
- (7) Fuchs Y, Chicha L, Conde C, Noguez H, Quim E, Ovando M. Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. *Salud Púb Méx*. 2002; 36: 1-14.
- (8) Ambler R. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1980; 289: 321-331.
- (9) Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995; 39: 1211-1233.
- (10) Rice L. Evolution and Clinical Importance of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases. *Chest*. 2001; 119: 391-396.
- (11) Girlich D, Poirel L, Leelaporn A, Karin A, Tribuddharat C, Fennewald M. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended spectrum  $\beta$ -lactamases in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. *Clin Microbiol*. 2001; 39: 175-182.
- (12) Coque T, Oliver A, Pérez J, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum  $\beta$ -lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob. Agents Chemother*. 2002; 46: 500-510.
- (13) Bradford P. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14: 933-935.

- (14) Bush K. New  $\beta$ -Lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy Clin Infect Dis. 2001; 33(2): 1085-1089.
- (15) Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the western Pacific Region. Clin Infect Dis. 2001; 32 (2): S94-103.
- (16) Paterson DL, Ko WC, von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H, *et al.* International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Implications of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase Production in nosocomial infections. Ann Intern Med. 2004; 140: 326-332.
- (17) Clinical and Laboratory Standards Institute. Disk diffusion. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 18th informational supplement, 2008; M100-S18. Wayne, Pa, USA.
- (18) Blásquez J, Baquero M, Canton R, Alos I, Baquero F. Characterization of a new TEM-type  $\beta$ -lactamase resistant to clavulanate, sulbactam and tazobactam in a clinical isolate of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother. 1993; 37: 2059-2063.
- (19) Sandra-Toledo, Lisette, Paz-Montes, América, Pina-Reyes, Eyilde *et al.* Enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un hospital universitario de Venezuela. *Kasmera*, 2007; 35(1)15-25.
- (20) Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am J Infect Control 2008; 36: 309-32.
- (21) Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Washington, W. 1999. Diagnóstico Microbiológico. Quinta edición. Editorial Panamericana. Madrid. p.388-461.
- (22) Mac Faddin J. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Quinta edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires.
- (23) Hucker G. y Coon H. Methods of Gram Staining. Technical Bulletin New Cork State Agricultura Experimentation. 1923; 93(5): 1-37.
- (24) Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 45: 493-496.
- (25) Crespo M. La lectura interpretativa del antibiograma: Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. Colomb Med. 2002; 33: 179-193.
- (26) Jarlier V, Nicolas M, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum b-lactamases conferring resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 1988; 10: 867-878.
- (27) Dawson B. y Trapp R. 1997. Bioestadística Médica. Editorial el Manual Moderno S.A. México DF.
- (28) Martín G, Carmona O, Guzmán M. Infección nosocomial II: Resistencia a  $\beta$ -lactámicos y aminoglucósidos en *Pseudomonas aeruginosa* en centros médicos de Venezuela durante el año 2000. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2003; 23: 183-189.
- (29) O'conel N. y Humphrey H. Intensive care unit design and environmental factors in the acquisition of infection. J Hosp Infect. 2000; 45(4): 255-262.
- (30) Alpuche M. y Daza C. Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. *Enf Infec y Microbiol.* 2002; 22(4): 192-199.
- (31) Poveda L, Villamizar D, Sánchez F, Otta A, Guevara C, Jiménez M, Besso J. Infecciones nosocomiales en terapia intensiva. *Antib Infect.* 2005; 2(4): 40.
- (32) Muzachiodi M. y Ferrero S. 2005. Incidencia de enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido en el Hospital Escuela José F. de San Martín. Facultad de Cs. Exactas Nat. y Agrim. Dpto. de Bioquímica. Argentina.
- (33) Martínez P, Mercado M, Máttar S. Determinación de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. Colomb. Med. 2003; 34: 130-139.

- (34) Cornejo P, Velásquez C, Sandoval S, Gordillo P, Volkow P. Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos en un hospital oncológico. *Salud Pùb Méx.* 2007; 49(5): 330-336.
- (35) Araya C, Boza R, Arguedas L, et al. Infecciones nosocomiales por bacterias productoras de betalactamasas de espectro ampliado: prevalencia, factores de riesgo y análisis molecular. *Acta Méd Costarric.* 2007; 49(2): 90-96.
- (36) Martínez P, Espinal P, Bustos A, Mattar S. Prevalencia de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. *Med. UNAB.* 2005; 8(1):15-22.
- (37) Cortés J, Urdaneta A, Potdevin G, Cuervo S, Bermúdez D, Molina C, Arroyo, P. Impacto de las betalactamasas de espectro extendido en pacientes con cáncer. *Rev Colomb Cancerol.* 2006; 10(3):183-196.
- (38) Tofteland S, Haldorsen B, Dalh K, Simonsen S, Steinbakk M, Walsh T, Sundsfjord A. Effects of phenotype and genotype on methods for detection of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Norway. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(1): 199-205.
- (39) González L, Ramos A, Nadal L, Morffi J, Hernández E, Álvarez A, Marchena J, González M, Vallin C. Phenotypic and molecular identification of extended-spectrum b-lactamase (ESBL) TEM and SHV produced by clinical isolates *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in hospitals. *Rev Cubana Med Trop.* 2007; 59 (1): 0-0. ISSN 0375-0760.
- (40) Sánchez J, Feris J, Fernández J, Pérez E, Ramírez S, Ortega G y Jiménez L. Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* productora de Beta-Lactamasa de Espectro Extendido (BLEE) en recién nacidos en el Hospital Infantil Dr. Robert Reid Cabral de Santo Domingo, República Dominicana. *Rev Panam Infectol.* 2005; 7(4):15-20.
- (41) Torres L, Gagliotta V, Torres O, Benítez M, Domínguez M, Pedroza R.  $\beta$ -Lactamasas de Espectro Expandido en Enterobacterias aisladas en Centros de Salud de Caracas. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2006; 26(2): 190-205.