



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

Facultad Regional Multidisciplinaria de Carazo.

FAREM-CARAZO

Departamento de ciencia, tecnología y salud.

Trabajo de seminario de graduación para optar el título de

Licenciatura en Bioanálisis Clínico.

PREVALENCIA DE ENTEROBACTERIAS FERMENTADORAS MÁS
FRECUENTES PRODUCTORAS DE BLEE EN MUESTRAS DE UROCULTIVO,
PROVENIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL AMISTAD JAPÓN
- NICARAGUA DURANTE LOS MESES DE DICIEMBRE 2018 A FEBRERO 2019.

Autores:

Nº de carnet.

- Br. Alexia Lucia Aguilar Corrales. 14090860
- Br. Judyan Eliviud Fuente Espinoza. 14091223

Tutor: Scarleth Suyen Guevara.

Lic. Bioanálisis Clínico.

Asesor Metodológico: Msc. Sergio Vado Conrrado.

Jinotepe 29 de Mayo del año 2019

Tema General

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.

Tema Delimitado

PREVALENCIA DE ENTEROBACTÉRIAS FERMENTADORAS MÁS FRECUENTES PRODUCTORAS DE BLEE EN MUESTRAS DE UROCULTIVO, PROVENIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL AMISTAD JAPÓN - NICARAGUA DURANTE LOS MESES DE DICIEMBRE 2018 A FEBRERO 2019.

Tabla de contenido

I.	Introducción.....	1
II.	Antecedentes	3
III.	Justificación	5
IV.	Planteamiento del Problema	7
V.	Objetivos.....	9
5.1.	Objetivo General:.....	9
5.2.	Objetivos Específicos:.....	9
VI.	Marco Teórico.....	10
6.1.	Enterobacterias.	10
6.1.1.	<i>Características generales</i>	10
6.1.2.	<i>Clasificación</i>	12
6.1.3.	<i>Modos de identificación de Enterobacterias</i>	13
6.2.	<i>Escherichia coli</i>	14
6.2.1.	<i>Historia</i>	14
6.2.2.	<i>Subespecies de Escherichia</i>	14
6.2.3.	<i>Infecciones de vías urinarias - Escherichia coli</i>	16
6.3.	<i>Serratia marcescens</i>	16
6.3.1.	<i>Generalidades</i>	16
6.3.2.	<i>Resistencia antimicrobiana</i>	17
6.4.	<i>Klebsiella spp.</i>	17
6.4.1.	<i>Generalidades</i>	17
6.4.2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
6.5.	<i>Enterobacter</i>	18
6.5.1.	<i>Generalidades</i>	18
6.6.	<i>Pantoea agglomerans</i>	20
6.6.1.	<i>Generalidades</i>	20
6.7.	Antimicrobianos	20
6.8.	Importancia del uso racional de los antibióticos	23
6.8.1.	<i>Antibióticos de amplio espectro y de espectro reducido</i>	24
6.9.	Betalactamasas.....	24
6.9.1.	<i>Las Betalactamasas de Espectro Extendido</i>	25
6.9.2.	<i>Surgimiento de las BLEE</i>	25
6.9.3.	<i>Clasificación de las BLEE.</i>	28
6.9.4.	<i>Tipos de BLEE</i>	28

6.9.5.	<i>Mecanismos de resistencia de las beta-lactamasas</i>	30
6.9.6.	<i>Métodos para detectar BLEE en Enterobacterias</i>	32
6.9.7.	<i>Métodos basados en la utilización de inhibidores de β-lactamasas</i>	33
6.9.8.	<i>Prueba de combinación de discos</i>	34
6.9.9.	<i>Técnica de E-test</i>	34
6.9.10.	<i>Métodos de Bioensayos</i>	35
6.9.11.	<i>Métodos genotípicos</i>	36
6.9.12.	<i>Interpretación de los resultados</i>	37
VII.	Diseño Metodológico	38
7.1.	Tipo de estudio:	38
7.2.	Enfoque de la investigación.	38
7.3.	Área de estudio:	38
7.4.	Población.....	39
7.5.	Muestra.....	39
7.6.	Muestreo.....	39
7.7.	Recolección de la información	40
7.8.	Instrumentos de recolección de datos:	40
7.9.	Criterios de selección:	41
7.10.	Presentación de la información:	41
7.11.	Ética de la confidencialidad de los datos:.....	41
7.12.	Plan de tabulación y análisis:	42
VIII.	Operacionalización de las variables.....	43
IX.	Análisis y discusión de los resultados	48
9.1.	Gráfico N°1: Frecuencia según el sexo más afectado en muestras de urocultivo provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.....	48
9.2.	Gráfico N°2: Prevalencia de Enterobacterias aisladas en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.....	50
9.3.	Gráfico N°3: Prevalencia de Enterobacterias fermentadoras productoras de BLEE aisladas en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019. 53	
9.4.	Gráfico N°4: Perfil de resistencia por el método de Kirby Bauer de Enterobacterias fermentadoras en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.	56

9.5. Gráfico N°5: Perfil de sensibilidad por el método de Kirby Bauer de Enterobacterias fermentadoras en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.	58
X. Conclusiones	60
XI. Recomendaciones.....	61
XII. Bibliografías.....	62
XII. Anexos	66

Dedicatoria

A Dios:

Por habernos acompañado a lo largo de todos nuestros años de estudio, por la inteligencia y sabiduría que derramo sobre nosotras para culminar nuestra carrera de manera exitosa, por haber escuchado nuestras oraciones y dado las fuerzas en los momentos más difíciles y de aflicción y guardarnos durante todo nuestro andar, por haber puesto en nuestro camino a las personas indicadas para instruirnos, en nuestra formación académica y humana. Desde el principio pudimos sentir su presencia y su gracia con nosotras, sus mensajes de amor y fortaleza nos demostró siempre su compañía. A ÉL SEA LA HONRA Y LA GLORIA, Amén.

Dios siempre tiene el control.

A nuestros padres:

Por habernos apoyado de manera incondicional a lo largo de nuestra vida para que pudiéramos lograr nuestros sueños, por su inmenso amor, comprensión, paciencia, por sus palabras de aliento, de ánimo, por sus consejos, por haber sido los principales testigos y acompañantes de nuestra lucha por salir adelante, han sido y serán una inspiración para nosotras, nuestro impulso para seguir siempre adelante. Con ellos compartimos nuestro éxito y les damos las infinitas gracias.

Agradecimiento

Agradecemos a nuestro Señor Jesucristo por habernos dado la fuerza, paciencia, sabiduría y entendimiento iluminando nuestro camino para poder realizar con éxito este trabajo y alcanzar nuestra meta final.

A nuestros padres quienes con su sacrificio hicieron posible la culminación de etapa en nuestra vida, siendo siempre los pilares sobre quienes sostenemos nuestros esfuerzos y a quienes confiamos nuestros sueños y futuros éxitos.

A nuestra tutora, Lic. Scarleth Suyen Guevara Aburto, una mujer trabajadora y emprendedora que dedicó su valioso tiempo, para ayudarnos en la realización y culminación de este trabajo, dándonos pinceladas de sus conocimientos acerca de su arduo trabajo que realiza día con día y por sobre todo estando dispuesta a ayudar al que le necesita.

A nuestros amigos por compartir con nosotros su bella amistad y brindarnos su apoyo durante el transcurso de nuestros estudios.

También agradecemos a cada una de las personas que nos brindaron su apoyo en la realización de este estudio, es especial a la Lic. Ana Belly Zamora quien amablemente nos permitió recolectar los datos de nuestro estudio.

A todos gracias.

“Bienaventurado el hombre que halla la sabiduría, Y que obtiene la inteligencia; Porque su ganancia es mejor que la ganancia de la plata, Y sus frutos más que el oro fino. Más preciosa es que las piedras preciosas. Y todo lo que puedes desear, no se puede comparar a ella”. Proverbios 3:13 – 15.

Valoración del especialista.

Las cepas que producen BLEE, en su mayoría Enterobacterias y en particular *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, causan infecciones que se convierten en un problema reconocido a nivel mundial, aumentan las tasas de morbilidad y mortalidad debido a los diferentes patrones que les confieren resistencia a los antimicrobianos.

El aislamiento de cepas *E. coli* con betalactamasas de espectro extendido (BLEE) tanto en la comunidad como en el hospital se ha convertido en un problema creciente. Las cepas productoras de BLEE confieren resistencia a los betalactámicos excepto a las cefamicinas y a los carbapenémicos; pero además los plásmidos que codifican las BLEE portan genes de resistencia a otros antimicrobianos como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol, es por lo que el fenómeno de resistencia es muy frecuente y el tratamiento de las infecciones producidas por estas cepas tiene una mayor dificultad.

El conocimiento del perfil de resistencia y la detección de los aislamientos de las Enterobacterias productoras de BLEE constituyen una información relevante y de gran utilidad para que el sistema de vigilancia y epidemiología del hospital pueda tomar las medidas de necesarias para evitar su diseminación.

Con el presente estudio los autores brindan una información actualizada que enriquecerá el conocimiento bibliográfico sobre el tema, ofreciendo al lector una ilustración clara de fácil comprensión sobre cada uno de los aspectos que se han desarrollado en relación a la prevalencia de estos microorganismos de relevancia clínica.

Es por ello que considero que la presente investigación de seminario de graduación titulado “Prevalencia de Enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE en muestras de urocultivo, provenientes de consulta externa del Hospital amistad Japón - Nicaragua durante los meses de diciembre 2018 a febrero 2019” reúne todos los requisitos metodológicos para ser defendido y expuesto por sus autores.

Lic. Scarleth Suyen Guevara Aburto

Tutor.

Departamento de Ciencia, Tecnología y Salud

UNAN FAREM-Carazo.

Resumen

El fracaso terapéutico en infecciones urinarias por Enterobacterias fermentadoras ha dirigido estudios hacia los mecanismos de resistencia de dichas bacterias y se ha comprobado la presencia de bacterias productoras de enzimas inactivadoras de los antibióticos betalactámicos (betalactamasas). Dentro del grupo de betalactamasas se encuentran las BLEE, capaces de lograr resistencia bacteriana a cefalosporinas espectro extendido, monobactámicos y aminoglucósidos lo cual es un serio problema de salud.

Dicho esto, el presente estudio es descriptivo y de corte transversal se realizó en el periodo de tiempo de Diciembre 2018 a Febrero 2019, el objetivo principal de la investigación fue determinar la prevalencia de Enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE en muestras de urocultivo, provenientes de consulta externa del Hospital amistad Japón – Nicaragua.

El universo del estudio la comprendieron 7,500 personas provenientes de consulta externa del hospital antes mencionado, la muestra utilizada fue de 301 pacientes de dicha área los cuales fueron enviado al área de bacteriología a realizarse un urocultivo.

Los resultados obtenidos en el estudio de la prevalencia de Enterobacterias fermentados productoras de BLEE fueron los siguientes: Escherichia coli con un 58%, seguida de Escherichia fergusonii con un 18%, Escherichia hermannii con un 10%, así mismo Escherichia vulneris con un 3%, luego se encontró Klebsiella pneumoniae con un 5%. Además de esto se identificó otro mecanismo de resistencia de tipo Amp-C, el que presentaron con un 1% Enterobacter y Escherichia coli.

I. Introducción

La enterobacterias son un grupo de bacterias gramnegativas localizadas habitualmente en el tubo digestivo del ser humano, esta familia la conforman una considerable cantidad de especies las cuales la mayoría son saprofitas u oportunistas, sin embargo, existen subespecies que son de carácter patógeno por lo tanto pueden llegar a ocasionar serios daños al organismo de los pacientes.

Hay que destacar que, aunque el sitio más común en el que se encuentran dentro del cuerpo humano es el tubo digestivo, estas se pueden localizar en otros sistemas pudiendo causar serias infecciones, como lo es en el sistema urinario el que pueden llegar a afectar considerablemente dependiendo de la cepa aislada.

Dado que en la actualidad existen bacterias que presentan diferentes sistemas o mecanismos de resistencia a los antibióticos, cada uno de estos mecanismos impiden la acción del antimicrobiano frente al agente invasor.

De igual forma uno de dichos mecanismos es el llamado BLEE o Betalactamasas de espectro extendido, el que se ha destacado durante los últimos años debido al gran aumento en su prevalencia, mayormente en cepas de Enterobacterias.

Debido al carácter en que funcionan los BLEE, impidiendo o limitando la gama de antimicrobianos para medicar al paciente, la terapia para combatir la infección es cada vez más selectiva al igual que dañina o toxica para el paciente, esto es complementado juntamente con otros sistemas de resistencia que pueden presentarse con el BLEE.

Así mismo la inactivación enzimática, y en concreto las B-lactamasas, constituyen el mayor éxito estratégico de los microorganismos en su esfuerzo por contrarrestar el efecto de los antibióticos filactámicos desarrollados por el hombre.

La diseminación de los genes productores, frecuentemente asociados a transposones y plásmidos transmisibles, entre distintos microorganismos ha dado lugar a una alta prevalencia de la resistencia a los B-lactámicos clásicos. Una nueva generación de enzimas - B-lactamasas plasmídicas de espectro ampliado - derivadas de otras ya conocidas y con mayor espectro hidrolítico que sus predecesoras, ha determinado que, en la actualidad, no exista un solo antibiótico B-lactámico que escape a su acción hidrolítica.

Estas enzimas son fruto de un proceso adaptativo que incluye mutaciones, recombinaciones e integraciones de elementos cromosómicos en plásmidos, constituyendo el amplio uso de los antimicrobianos la principal condición de selección (Cantón, Oliver, 2002).

Por todo lo anteriormente expuesto se ha realizado un estudio en el Hospital Amistad Japón Nicaragua en el cual se pretende conocer la prevalencia de enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE, en muestras de urocultivo, provenientes de consulta externa.

Esperamos que este estudio pueda ser de gran relevancia y aporte datos epidemiológicos y estadísticos para futuras investigaciones de resistencia bacteriana.

II. Antecedentes

La resistencia bacteriana es un problema global, que trae aparejado consecuencias devastadoras para la salud pública mundial, por lo que se requiere de soluciones urgentes por todas las naciones y sectores concernientes.

La OMS ha hecho una alerta a toda la comunidad internacional sobre la severidad del problema y ha definido una serie de acciones que debemos emprender con vistas a reducir dicho problema, donde están inmersos todos los profesionales que de una forma u otra trabajan o prescriben medicamentos (Reyes E, Albert M, et al, 2010) P (65)

Según Rupp y Fey (2003) P (63) la verdadera prevalencia de BLEE es desconocida y probablemente esté subestimada por las dificultades de su detección en el laboratorio. Sin embargo, queda claro que los microorganismos productores de BLEE están distribuidos mundialmente y su prevalencia está en aumento. En Europa, después de la descripción inicial en 1983, la proliferación de BLEE en las últimas 2 décadas ha sido notable.

Su prevalencia varía de país a país, en Holanda se informó que menos del 1% de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* produjeron BLEE, mientras que en Italia y Francia se observó resistencia a ceftazidima en el 40% de las cepas de *K. pneumoniae*. En Norteamérica, osciló entre 0% a 25% de las enterobacterias (promedio 3%) y, además, las tasas se encuentran en aumento (Reyes E, Albert M, et al, 2010). De igual manera en Latinoamérica, las enterobacterias productoras de BLEE parecen ser frecuentes en muchos países de la región con índices de 45% para *K. pneumoniae* y 8.5% para *E. coli*.

“En el año 2009; Perozo y Mena realizaron un estudio en Venezuela donde encontraron que del total de enterobacterias estudiadas 951 (24,49%) fueron productoras de BLEE. *K.*

oxytoca (43,33%), *K. pneumoniae* (40,10%), y *Enterobacter cloacae* (31,54%), fueron los microorganismos con mayor producción de BLEE.”

De la misma manera a nivel nacional la prevalencia de estos mecanismos de resistencia bacteriana también se ha hecho presentes, como lo es, un estudio realizado en Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello en el 2012.

La producción de BLEE en las bacterias Gram negativas fue de 36% siendo *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* las bacterias con mayor producción, con 21% y 14% respectivamente (Medrano, Morales, 2012) P (17)

“Así mismo en el Hospital Manuel De Jesús Rivera “La Mascota” en el año 2015 cuyos resultados arrojaron un 24.2% de los pacientes infectados por *E. Coli*, tenían mecanismo de resistencia BLEE” (Duarte, 2015) P (15)

III. Justificación

Las enterobacterias productoras de BLEE fueron responsables de numerosos brotes infecciosos en todo el mundo. Las evidencias sugieren que las BLEE poseen gran significación clínica y su tratamiento requiere el uso de agentes antibacterianos apropiados.

En la actualidad, las BLEE constituyen un problema terapéutico y epidemiológico, en el caso de las infecciones causadas por enterobacterias fermentadoras, específicamente encontradas en urocultivos ya que este examen es uno de los más comunes en el área de bacteriología y así mismo la identificación de los BLEE es cada vez más frecuente.

Las bacterias productoras de este tipo de betalactamasas son resistentes a las penicilinas, las cefalosporinas y el aztreonam, y un 30% a 60% de ellas también a los betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas.

Además, un porcentaje alto, por corresponsencia, son también resistentes a las quinolonas, los aminoglucósidos, las tetraciclinas y el cotrimoxazol (Gobernador M, 2005). P (101)

Así mismo la incidencia de microorganismos productores de BLEE ha aumentado de forma impresionante en los últimos años. El resultado clínico de una infección por estas cepas puede ser muy perjudicial, por las complicaciones que pueden presentarse.

Por otro lado, la multiresistencia que confieren estas enzimas a diferentes antibióticos, representa un problema de Salud Pública de ámbito mundial en los diferentes establecimientos médicos. Existiendo por ello la necesidad de realizar un monitoreo epidemiológico de la producción de las mismas.

El presente estudio por lo tanto es de interés para los pacientes, así como para los médicos tratantes de dichos pacientes y para fines epidemiológicos en general ya que los antibióticos mayormente utilizados para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas y con gran significancia clínica como son el grupo de los betalactámicos.

Por todo lo dicho anteriormente y al ser las enterobacterias uno de los tipos de bacterias de mayor importancia en la práctica clínica al momento de analizar la resistencia bacteriana. Es relevante conocer la prevalencia de dichas cepas encontradas en muestras de urocultivo en el Hospital Amistad Japón Nicaragua.

Cabe resaltar que de esta manera se beneficiara a los pacientes en general, ya que con los datos obtenidos se marcara un precedente en el hospital con los que se pueden generar soluciones destinadas al control de este tipo de infecciones con la disminución de la mortalidad de los pacientes, así como una disminución del gasto y del presupuesto destinado al tratamiento de este tipo de infecciones.

Así mismo se beneficiará la comunidad universitaria ya que se contará con un documento actualizado sobre las resistencias bacterianas.

IV. Planteamiento del Problema

Una de las demandas de atención médica más comunes son las relacionadas a las infecciones del tracto urinario (ITU) representan una entidad clínica de gran importancia médica y alta frecuencia, constituyendo comúnmente como uno de los exámenes más frecuentes en el área de bacteriología, en lo que respecta a los urocultivo.

Por otro lado, una causa, de que las diferentes infecciones no sean tratadas eficientemente es debido a la resistencia a los antimicrobianos por las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Estas enterobacterias afectan a la población, quienes padecen de infecciones urinarias y ocasiona gran preocupación por la resistencia creciente frente a los antibióticos de primera línea y la aparición cada vez más común de cepas resistentes productoras de BLEE.

Es necesario enfatizar acerca de la importancia del conocimiento de la resistencia bacteriana frente al uso racional de antimicrobianos en los pacientes.

A lo que surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la prevalencia de enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE, en muestras de urocultivo, provenientes de consulta externa del Hospital amistad Japón - Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019?

Para dar respuesta a esta pregunta surgen las siguientes preguntas directrices:

¿Cuál el sexo más frecuente relacionado a la prevalencia de Enterobacterias productoras de BLEE?

¿Cuáles son los géneros y especies de las Enterobacterias aisladas en muestras de urocultivo?

¿Cómo es la prevalencia de las enterobacterias fermentadoras productoras de BLEE aisladas en las muestras de urocultivo?

¿Cómo es el perfil de sensibilidad de las Enterobacterias fermentadoras mediante el método de Kirby Bauer?

V. Objetivos

5.1. Objetivo General:

Determinar la prevalencia de enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE en muestras de urocultivo, provenientes de consulta externa del Hospital amistad Japón - Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

5.2. Objetivos Específicos:

1. Identificar el sexo más frecuente relacionado a la prevalencia de Enterobacterias productoras de BLEE.
2. Conocer el género y especie de las Enterobacterias aisladas en muestras de urocultivo.
3. Establecer la prevalencia de las enterobacterias fermentadoras productoras de BLEE aisladas en las muestras de urocultivo.
4. Describir el perfil de sensibilidad de las Enterobacterias fermentadoras mediante el método de Kirby Bauer.

VI. Marco Teórico

6.1. Enterobacterias.

Son un grupo diverso y complejo de microorganismos, por su parte estos reciben este nombre por su localización frecuente en los tractos digestivos de mamíferos- entre ellos los humanos y de otros animales, cómo insectos. (Oliver A, Catón R, 2003) P (30)

No obstante, la presencia de estas bacterias no se restringe al mundo animal, mientras que también se han encontrado como patógenos en plantas, suelo y hasta en el agua.

De acuerdo con la terminología técnica, son considerados “bacilos”, vocablo que hace referencia a la forma de barra alargada, recta y fina de estos organismos.

“Además, son bacterias Gram-negativas, lo que indica que su pared celular es delgada y con una membrana doble rica en distintos tipos de lípidos.” (Cabello, 2007) P (18)

Desde el punto de vista clínico, existen ciertas especies de Enterobacterias que causan enfermedades en humanos, por lo que han sido exhaustivamente estudiadas. Sin embargo, no todas son patógenas (Oliver A, Catón R, 2003). P (40)

Por ejemplo, *Escherichia Coli* es uno de los habitantes más comunes en el intestino de los mamíferos y ciertas cepas son beneficiosas. De hecho, *E. coli* es capaz de producir vitaminas y excluir a otros microorganismos perjudiciales del intestino.

6.1.1. Características generales

Según (Abarca G, Herrera M, 2001) Las enterobacterias son bacterias de vida libre, no forman esporas y son de un tamaño intermedio, miden desde 0.3 a 6.0 μm de largo y 0,5 μm de diámetro.

La temperatura óptima para su crecimiento es de 37°C. Son anaeróbicas facultativas, es decir, pueden vivir en ambientes con oxígeno o bien prescindir de este.

Algunas presentan flagelos (una proyección que recuerda a un látigo y se usa para el movimiento), mientras que otras no poseen estructuras para la locomoción y son totalmente inmóviles.

Además de los flagelos, estas bacterias generalmente presentan una serie de apéndices más cortos conocidos como fimbrias y pilis. Aunque la apariencia de ambas se asemeja a un pelo, es por eso que difieren en sus funciones.

Las fimbrias son estructuras utilizadas para adherirse a las mucosas, mientras que los pilis sexuales permiten el intercambio de material genético entre dos organismos, sirviendo como una especie de puente para este proceso.

Si bien es cierto que las bacterias no experimentan reproducción sexual, este evento permite intercambiar ADN. Esta nueva molécula de ADN que adquiere la bacteria receptora le permite desarrollar ciertas características, como resistencia a algún antibiótico en particular.

Esto se conoce como transferencia horizontal de genes, es común en la mayoría de las bacterias y tiene implicaciones de relevancia médica.

Es propio de algunas enterobacterias estar rodeadas por una capa adicional compuesta por polisacáridos. Esta recibe el nombre de cápsula y posee los antígenos.

Según (Blount, 2015), P (22) las encontramos en los siguientes lugares:

- Huéspedes normales del tracto gastrointestinal

- Algunos son patógenos de virulencia variable.
- Son saprofitos de la flora gastrointestinal y cuándo el huésped se lo permite convirtiéndose en oportunistas.
- En algunas también se les puede encontrar en el agua, plantas y en el suelo.

6.1.2. Clasificación

Según (Carrillo A, García A, 2000) (P25) La familia Enterobacteriaceae está formada por unos 30 géneros y aproximadamente más de 130 especies, biogrupos y grupos entéricos, sin embargo, el número puede variar ligeramente dependiendo del autor que haya establecido el ordenamiento taxonómico.

De tal forma que dentro de la clasificación y nomenclatura de las Enterobacterias se pueden mencionar los géneros más resaltantes del grupo: Escherichia, Shiguella, Klebsiella, Yersinia, Enterobacter, Serratia, Proteus, Morganella, Providencia, Citrobacter y Salmonella.

Entre los géneros de Enterobacterias con importancia médica los más relevantes son:

- Escherichia Coli: se encuentra en la flora intestinal y llega a los neonatos las primeras 48 horas.
- Salmonella: se trasmite por alimentos o aguas contaminadas y causa fiebre, diarrea y vómitos.
- Klebsiella: se relaciona con infecciones urinarias, diarreas, abscesos y rinitis.
- Enterobacter: se asocia con meningitis y sepsis.

- Serratia: es la causante de neumonía, endocarditis y sepsis.
- Algunos géneros de Proteus causan gastroenteritis.
- Citrobacter: provoca infecciones en vías urinarias y respiratorias en pacientes enfermos.

6.1.3. Modos de identificación de Enterobacterias

Según (Rupp M., Fey P, 2003) P (63) Para de identificación de este tipo de bacterias es necesario partir de pruebas directas, un aislamiento en medio de cultivo y una identificación bacteriana a través de pruebas bioquímicas.

Como lo es el urocultivo que sirve para diagnosticar la infección urinaria, detectando cuál es la bacteria involucrada y el número de colonias existentes.

Aunque el urocultivo es el principal examen para diagnosticar la infección urinaria el examen de orina común también puede proporcionar algunos indicios de infección urinaria como la presencia de bacterias, piocitos, leucocitos, sangre, nitritos positivos o cambios en el color, el olor y la consistencia.

No obstante, este examen es necesario cuando se debe evaluar cuál es el antibiótico más indicado para tratar la enfermedad; para identificar la bacteria en casos de infecciones repetidas, en embarazadas, ancianos o en personas que pasan por una cirugía de las vías urinarias; o cuando hay dudas de que se trata de una infección urinaria.

Luego del urocultivo en el caso del área de bacteriología, tras recoger la muestra se realiza una prueba directa como la tinción Gram que en caso sea positivo deberá ser Gram negativo. Después pasamos a cultivos específicos que incluyen medios selectivos que inhiban el crecimiento de bacterias Gram positivas.

6.2. Escherichia coli

6.2.1. Historia

Descrita por primera vez en 1885 por Theodore Von Escherich, bacteriólogo alemán, la denominó *Bacterium Coli*, posteriormente le cambió el nombre a *Escherichia Coli*, en honor a su descubridor. (García M, 2011) P (25)

La *Escherichia Coli* 0157: H7 fue reconocida inicialmente como causa de enfermedad en 1982. (E.U.A), se determinó que el origen estaba en hamburguesas contaminadas, desde entonces, la mayoría de las infecciones han provenido de comer carne de vacuno picada insuficientemente cocida.

Es una bacteria común que vive en los intestinos de animales y humanos. Además de que son microorganismos no exigentes, fermentadores de glucosa, sacarosa y lactosa con producción de gas, y además son anaerobias facultativas (Rupp M., Fey P, 2003). P (63)

Existen muchas cepas de *Escherichia Coli* inofensivas en su mayoría, aunque existen una variedad *E. Coli* 0157: H7 que produce una potente toxina (Shiga) y puede ocasionar enfermedades graves como el síndrome urémico hemolítico, que puede acabar en fallo renal.

Más del 70% de las infecciones del aparato urinario (IAU) y muchas infecciones intestinales.

6.2.2. Subespecies de *Escherichia*

6.2.2.1. *Escherichia albertii*:

Según (Carrillo A, García A, 2000) P (25) es una especie recién descrita de Enterobacterias indol negativas, sorbitol negativas y lactosa negativa aisladas en heces diarreicas de niños.

E. Albertii se asemeja principalmente a *E. coli* inactiva, aunque no se asemeja al grupo *Alkaescens-Dispar* debido a su capacidad para producir gas a partir de D-glucosa.

6.2.2.2. *Escherichia fergusonii*:

Según (Mattar S., Martínez P, 2007) P (1) “Se encuentra en sangre, vesícula biliar, orina y heces; sin embargo, no se ha establecido aún su importancia clínica.

Se diferencia de *E. coli* por las pruebas de sorbitol negativas y lactosa negativa, pero andonitol positiva y celobiosa positiva.”

6.2.2.3. *Escherichia hermannii*

Según (Carrillo A, García A, 2000)13 P (25) Se encontró principalmente en heridas, esputo y heces de humanos. Esta bacteria puede producir una infección denominada cefalohematoma.

Las cepas de *E. hermannii* tienen pigmento amarillo y son indol positivas y sorbitol negativas. Como *E. hermannii* son sorbitol negativas, parecen bioquímicamente similares a *E. coli*.

6.2.2.4. *Escherichia vulneris*

Según (Cabello, R.R, 2007). P (18) “Tiene alta propensión a producir infecciones en las heridas humanas, sobre todo en los brazos y las piernas que pueden conducir a osteomielitis. Más del 50% de las cepas tienen pigmento amarillo y son tanto indol negativas como sorbitol negativo.”

6.2.2.5. *Escherichia blattae*

“Solo se le ha encontrado en las heces de las cucarachas, por lo que, a su aislamiento en humanos, aún no se le ha concedido importancia clínica.” (Cabello, R.R, 2007). P (18)

6.2.3. Infecciones de vías urinarias - *Escherichia coli*

Según (Asensio y Oliver, 2000) P (30) Las infecciones de vías urinarias se mantienen como una de las primeras causas de morbilidad siendo *E. coli* el principal agente causal con más del 90% de este tipo de infecciones.

Seguida por otros géneros bacterianos, como son *Klebsiella*, *Proteus* y *Staphylococcus*, en consecuencia, es muy probable que el número de casos de ITU en nuestro país sea mucho mayor que lo reportado, por lo que se considera un problema frecuente de salud pública.

6.3. *Serratia marcescens*

6.3.1. Generalidades

“*Serratia marcescens* es un bacilo Gram negativo, patógeno oportunista perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. A esta bacteria antiguamente se le conoció con el nombre de *Bacillus prodigiosus*, pero posteriormente fue renombrada como *Serratia marcescens*.” (Hernández JR et al 2003) P (21)

La especie *marcescens* es la más importante del género *Serratia*, debido a que se ha asociado a una gran variedad de infecciones oportunistas en el humano.

Según el estudio en un tiempo este microorganismo fue utilizado como un marcador inofensivo de contaminación ambiental, pero hoy día es considerado un microorganismo invasor. (Tafur J, et al 2008) P (12)

Se sabe que en las últimas décadas ha venido haciendo estragos en el ambiente hospitalario.

Especialmente en las salas de cuidados intensivos y retenes, mientras que se ha aislado en muestras de esputo y hemocultivos en pacientes que reciben

quimioterapia, también en muestras de orina y LCR. (Perozo A, Castellano M, 2009) P (37)

6.3.2. Resistencia antimicrobiana

Según (Reyes E, Albert M, et al, 2010) P (28) Se Han detectado cepas de *S. marcescens* productoras de Betalactamasas cromosómica de tipo AmpC.

Esto les proporciona una resistencia intrínseca a la ampicilina, amoxicilina, cefoxitin y cefalotina, con lo cual la única opción entre los Beta-lactámicos para el tratamiento de las cepas productoras de BLEE serían los Carbapenemas y la Piperacilina tazobactam.

Adicionalmente, tiene la capacidad de adquirir mecanismos de resistencia a otros antibióticos utilizados comúnmente, entre ellos los aminoglucósidos.

También ya se han detectado cepas de *S. marcescens* productoras de KPC-2 y bla TEM-1. En este caso los carbapenémicos dejan de ser eficientes.

La primera cepa KPC fuera del ámbito hospitalario fue aislada en Brasil, siendo resistente a aztreonam, cefepima, cefotaxima, imipenem, meropenem, gentamicina, ciprofloxacina y cefazidima, y solo susceptible a amikacina, tigeciclina y gatifloxacina.

6.4. Klebsiella spp.

6.4.1. Generalidades

Por otro lado, el género *Klebsiella* se identifican por presentar morfología bacilar, de coloración Gram negativa. En su gran mayoría productoras de ureasa, que se caracterizan por la presencia de cápsula y la formación de colonias grandes, pegajosas cuando se siembran en medios sólidos. (Mattar S., Martínez P, 2007) P (1)

Son bacterias con y sin cápsula; un tamaño entre 0.5 um y 2.0 um. La morfología microscópica se observa en tinciones de Gram, no forma endoesporas, no tiene flagelo, por lo que es inmóvil.

Igualmente, algunas cepas presentan fimbrias y además se ha demostrado la producción de bacteriocinas, sin embargo, hay que destacar que se conocen dos especies: *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. La primera se divide en 3 subespecies: *K. pneumoniae* subespecie *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subespecie *ozaenae* y *K. pneumoniae* subespecie *rhinoscleromatis*.

6.4.2. Klebsiella pneumoniae

Según (Friedländer, et, al. 1883). P (31) Es la especie de mayor relevancia clínica dentro del género bacteriano *Klebsiella*, compuesto por bacterias gramnegativas de la familia *Enterobacteriaceae*, que desempeñan un importante papel como causa de las enfermedades infecciosas oportunistas, así que el género fue llamado así en honor a Edwin Klebs, un microbiólogo alemán de finales del siglo XIX.

El bacilo ahora conocido como *Klebsiella pneumoniae* también fue descrito por Karl Friedländer, y durante muchos años se conoció como el «bacilo de Friedländer».

6.5. Enterobacter

6.5.1. Generalidades

En el caso de *Enterobacter* es un Género de bacterias Gram negativas, Son anaerobios facultativos y patógenas ya que causan infección oportunista, además son descomponedoras de materia orgánica muerta, Viven en el ser humano como parte de una población microbiana normal.

Algunas causan principalmente infección en el tracto urinario y del tracto respiratorio.

(Álvarez-Lerma F. Palomar M, 2000) P (27)

Produce una endotoxina (lípid-A), La fuente de infección puede ser endógena (a través de la colonización del tracto gastrointestinal o el tracto urinario, también pueden ser exógenos como resultado de la naturaleza ubicua de las especies de *Enterobacter*.

Entre sus cepas de mayor importancia se encuentran *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter sakazaki*.

Esta bacteria puede causar múltiples patologías como son:

- a) Infecciones en el tracto urinario y gastrointestinal.
- b) Trombocitopenia (reducción de plaquetas en el torrente sanguíneo).
- c) Infecciones del sistema respiratorio: Las infecciones de este tipo incluyen colonización asintomática, traqueo bronquitis, neumonía, absceso pulmonar y empiema.
- d) Infecciones de tejidos blandos y piel: las afecciones causadas por *E. aerogenes* en estos tejidos incluyen celulitis, fascitis, miositis, abscesos e infecciones en heridas.
- e) Infecciones del tracto urinario: la pielonefritis (infección del riñón y de la pelvis renal), prostatitis y cistitis pueden ser causadas por bacterias *E. aerogenes* y otras *Enterobacter*.
- f) Infecciones del sistema nervioso central: es muy poco lo que se sabe sobre infecciones de *Enterobacter aerogenes* en el sistema nervioso, sin embargo, desde los años 40's se conoce de meningitis causadas por *Enterobacter spp.*

6.6. Pantoea agglomerans

6.6.1. Generalidades

“Es una bacteria Gram negativa, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Se aísla frecuentemente a partir de muestras de plantas, frutas y vegetales, pero también se ha encontrado en heces humanas y de animales” (Cáceres M., y Col.2007). P (27)

“Últimamente ha tenido un cierto interés comercial como agente de control biológico de la principal enfermedad de granos y cítricos, conocida como “fuego bacteriano”, causada por otra Enterobacteria, Erwinia amylovora” (Costa y col., 2002). P (19)

“Raramente causa enfermedad en el hombre y los animales (Liberto y col., 2009) P (11) sin embargo se han descrito en pacientes humanos distintas patologías causadas por esta bacteria”

“La más común es la artritis séptica producida por punciones accidentales con espinas de palmeras y otras plantas como rosales y cactus” (Kratz y col., 2003). P (21)

“Aunque es diagnosticada con mayor frecuencia en niños y jóvenes, también es conocida como patógeno oportunista en pacientes inmunodeprimidos” (Flores y Miranda, 2012). P (72)

6.7. Antimicrobianos

Según (Cáceres M., y Col, 2007) P (27) Los antibióticos son medicamentos de prescripción médica que matan o impiden el crecimiento de algunas bacterias para curar infecciones bacterianas.

Es importante saber que no sirven para todo tipo de infecciones, por ejemplo, no sirven para infecciones causadas por virus, como el virus de la gripe.

Según (Carrillo A, García A, 2000) P (25) Existen diferentes tipos de antimicrobianos entre ellos tenemos:

1- Beta-Lactámicos

- Penicilinas

Aminopenicilinas: es una penicilina semi sintética de amplio espectro, bactericida que actúa a nivel de la pared celular de las bacterias. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis de peptidolcano de la pared bacteriana. Y activa contra gérmenes Gram positivos y gramnegativos.

Carboxipenicilinas: penicilina formada por carbenicilina y ticarcilina, que tienen una importante actividad frente a los bacilos Gram-negativos. Se utiliza en el tratamiento de infecciones graves.

- Cefalosporinas

Cefepima (FEP) es un antibiótico del grupo de las cefalosporinas de 4 generaciones desarrollado en 1994 y se utiliza para tratar ciertas infecciones ocasionadas por bacterias.

Ceftazidima (CAZ) es una cefalosporina de tercera generación considerada por algunos como antibiótico estratégico, pues es de los que se protegen del uso indiscriminado en el medio hospitalario se usa para tratar determinadas infecciones ocasionadas por bacterias.

Ceftriaxona: (CRO) es un antibiótico de la clase de las cefalosporinas de tercera generación, por lo que tiene acciones de amplio espectro en contra de bacterias Gram negativas y Gram positivas y se usa para tratar algunas infecciones provocadas por bacterias.

Cefalotin: (KF) es una cefalosporina de primera generación, útil en infecciones serias causadas por microorganismos susceptibles.

Cefurexime: (CXM) es un antibiótico de la clase de las cefalosporinas de segunda generación, este funciona a combatir las bacterias en su cuerpo. Se usa para tratar muchos tipos de infecciones por bacterias, incluyendo tipos severos o que ponen su vida en peligro.

- Carbapenémicos

Imipenem (IMP)

Meropenem (MEM)

- Monobactámicos:

Aztreonam (ATM)

- Inhibidores de beta-lactamasas

Piperacilina tazobactam (PTZ) se combinan en una única formulación intravenosa para para el tratamiento de infecciones anaerobias y por gérmenes gram-negativo. La Piperacilina es una penicilina de amplio espectro, el tazobactam es un inhibidor irreversible de beta-lactamasa.

Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) la combinación de amoxicilina y ácido clavulánico se usa para tratar ciertas infecciones causadas por bacterias, incluyendo infecciones en los oídos, pulmones, senos, piel, y vías urinarias

1- Aminoglucósidos:

- Gentamicina
- Amikacina

2- Lincosamidas

- Clindamicina

3- Tetraciclinas:

- Minociclina
- Doxiciclina

4- Quinolonas

- Ciprofloxacina.
- Levofloxacina
- Ácido Nalidíxico

5- Anfenicoles

- Cloranfenicol

6- Macrólidos

- Eritromicina
- Azitromicina

7- Lipopeptidos

- Colistín

6.8. Importancia del uso racional de los antibióticos

Tomar antibióticos cuando no se necesita, la mala elección del antibiótico o una administración inadecuada puede dar lugar a resistencias y cuándo realmente se necesite su efecto las bacterias pueden ser resistentes a él y las probabilidades de curarse serán menores. Por ello, sólo debemos tomarlos bajo prescripción médica. (Kratz y col., 2003).

P (21)

Para infecciones causadas por virus, como el virus de la gripe y el resfriado común, también debemos ir al médico, pero lo mejor es prevenirlos sobre todo en estas épocas del año que empieza el frío y bajan nuestras defensas.

En 1928 Alexander Fleming descubrió la penicilina, aunque su uso no se generalizó hasta años después. En 1930 empezaron a usarse en el Centro de Europa las sulfamidas. Después vino la estreptomocina y más tarde, cientos de antibióticos: naturales o fabricados en el laboratorio

6.8.1. Antibióticos de amplio espectro y de espectro reducido

Los de espectro reducido sólo sirven para tratar algunas infecciones. Por lo que la bacteria se hace fácilmente resistente o porque no son capaces de llegar al sitio donde se encuentra la infección (por ej. no pasan las meninges).

Con el tiempo, se han desarrollado antibióticos de amplio espectro. Estos tienen mayor capacidad para eliminar gérmenes, llegan a todas partes del cuerpo y se toman de forma más cómoda.

6.9. Betalactamasas

Las betalactamasas son enzimas producidas por la célula bacteriana, capaces de romper por hidrólisis el anillo betalactámico, impidiendo la acción del antibiótico. Las betalactamasas hidrolizan el anillo betalactámico antes que el antibiótico llegue al punto de unión con las PBP (proteínas fijadoras de penicilina). (Tafur J., Torres J., Villegas M, 2008) P (12)

Aunque todas las Betalactamasas catalizan la misma reacción, se han aislado y caracterizado numerosos tipos de enzimas que se clasifican en forma diversa de acuerdo, a su secuencia de aminoácidos, peso molecular o especificidad del

substrato. La localización del gen que codifica la betalactamasa es variable, pudiendo localizarse en el cromosoma o estar codificada por plásmidos.

Las Betalactamasas cromosómicas son universales en una bacteria específica mientras que la presencia de ellas codificadas por plásmidos es variable y transferible entre las diversas especies bacterianas lo que representa un gran reto para el control de las infecciones.

6.9.1. Las Betalactamasas de Espectro Extendido

“Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación, en su mayoría son producidas por enterobacterias especialmente frecuentes en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia Coli*” (Hernández JR, et al, 2003) P (21)

La diseminación de la resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido limita aún más el uso de los b-lactámicos y estimula el uso de antibióticos más costosos y mayor espectro.

Pero, además estas cepas resistentes pueden no ser detectadas mediante los procedimientos microbiológicos de rutina y generar por tanto fallas terapéuticas frecuentes y en ocasiones fatales. (Cantón, Oliver, Coque, 2002) P (30)

6.9.2. Surgimiento de las BLEE

La aplicación de las penicilinas en el año 1940 se vio ejercitada con el descubrimiento de la resistencia bacteriana, Edward P. Abraham y Ernest Chain, quienes habían participado junto con Howard Florey y Heatley en la purificación y aplicación de las penicilinas.

Observaron en ciertos cultivos de *Escherichia Coli* la inactivación de las soluciones de penicilinas por una sustancia producida por dichas bacterias, (Abarca G, Herrera ML.2001)13. P (81)

Lo que años después, Kirby identificaría que existían cepas de *Staphylococcus aureus* que producían una sustancia capaz de inactivar las penicilinas, resultaron ser las penicilinasas, más adelante con el surgimiento de la ampicilina en 1960, fue descrita una nueva enzima que cumplía la misma función, fue llamada betalactamasa específicamente TEM-1.

“Posteriormente, fue aislada una cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de una betalactamasa capaz de inactivar tanto a las amino penicilinas como a las incipientes cefalosporinas de primera generación, carboxipenicilinas y las ureido penicilinas le llamaron SHV-1” (Cabello, R.R, 2007). P (18)

Las enzimas que inactivan penicilinas y cefalosporinas son llamadas betalactamasas, las mismas son capaces de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas.

Esto evita que dichos antibióticos puedan unirse a las proteínas transportadoras (PBP) y de esta forma impedir la formación de la pared bacteriana, por lo que no se logra la lisis bacteriana. (Abarca G, Herrera ML.2001) P (81)

Así continuó el desarrollo de estas enzimas inactivadoras de betalactámicos hasta que producto de mutaciones de los genes que codificaban las betalactamasas tipo TEM-1, TEM-2, SHV-1 aparecieron las actuales betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Donde en 1983 un grupo de investigadores alemanes encabezados por Knothe y otros aislaron de una cepa de *Klebsiella ozaenae* una nueva betalactamasa producto de

mutaciones de la SHV-1 la que nombraron SHV-2 la misma era capaz de hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) y el aztreonam, fueron Philip pon y otros en 1989 quienes la llamaron por primera vez betalactamasas de espectro extendido (BLEE). (Cáceres M., y Col.2007). P (27)

Donde al año siguiente son aisladas en Francia cepas de *Klebsiella pneumoniae* con fenotipo similar por una mutación de las TEM-2, fueron las TEM-3.

Hasta finales de los años 90 la mayoría de las BLEE detectadas pertenecían a estas dos familias que provenían fundamentalmente de brotes epidémicos nosocomiales, ahora en el momento actual se han descrito más de 160 tipos de TEM y 100 tipos de SHV. (Cáceres M., y Col.2007). P (27)

Las cuales estas enzimas son de codificación plasmídica y transferibles a otras bacterias por conjugación lo que favoreció su rápida dispersión.

Un nuevo tipo de BLEE aisladas de enterobacterias hace su aparición en 1989 de forma simultánea en Alemania, Argentina y Francia fueron llamadas CTX-M, la cual se comprobó que no tenían relación alguna con las BLEE descritas hasta ese momento, eran filogenéticamente diferentes a las TEM y SHV, hoy en día se reconocen alrededor de 65 tipos de CTX-M. 5 (Carrillo A., García A, 2000). P (25)

En el año 1991 se aislaron las primeras enzimas del grupo de las oxacilinasas (OXA) el reporte fue realizado en Ankara, Turquía, con un perfil superponible a las BLEE, pero aisladas más frecuentemente de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, donde continuamente se están descubriendo BLEE.

Algunas semejantes a las ya conocidas y otras con escasas homología genética a las anteriores en la actualidad suman más de 200 tipos.

Las cuales podemos decir que hay al menos otras familias de BLEE menos prevalentes que son las PER, VEB-1, BES-1, SFO-1, TLA-1, CME-1, GES/IBS, (Rupp M., Fey P, 2003) P (15)

6.9.3. Clasificación de las BLEE.

Dado que la familia de enzimas BLEE está en continuo crecimiento se reconocen según sus características funcionales y genotípicas, mediante la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros y su correlación con la clasificación molecular de Ambler, (Abarca G, Herrera ML.2001). P (81)

Las BLEE "clásicas" derivan de las β -lactamasas pertenecientes al grupo 2b (TEM-1, TEM-2 y SHV-1) donde estas β -lactamasas 2b poseen actividad penicilinasas y son en su mayoría inhibibles por el ácido clavulánico, las cuales las mutaciones en el centro activo de estas enzimas 2b han determinado la aparición de las BLEE capaces de hidrolizar también a las cefalosporinas de tercera generación y los monobactámicos.

Por lo tanto, las BLEE se clasifican dentro de ese gran grupo 2b constituyendo el subgrupo 2be (clase molecular A), hasta la fecha se han descrito más de cien variantes distintas de BLEE derivadas de las β -lactamasas TEM-1 o TEM-2 y más de cincuenta derivadas de SHV-1 (Rupp M., Fey P, 2003) P (63)

6.9.4. Tipos de BLEE

Según (Carrillo A, García A, 2000) P (25) los tipos de genes que codifican la resistencia a las betalactamasas son:

6.9.4.1. Gen-TEM

La enzima TEM es la betalactamasa que se ha descrito con mayor frecuencia en Gram negativos y esta codificada por el gen bla TEM-1, esta enzima confiere resistencia a ampicilina, penicilina y cefalosporina de primera generación como cefalotina, este tipo de Blee se ha expandido rápidamente y es ahora uno de los tipos de Blee mas dominante en muchos países, el número de mutantes ha alcanzado hasta TEM-167.

6.9.4.2. Gen-SHV

En 1983 se descubrió en Alemania la primera enzima capaz de hidrolizar las cefalosporinas de más amplio espectro (SHV-2) y se han descritos diferentes mutaciones que se originaron de la SHV-1 a SHV-63(44) hasta SHV-114, la enzima SHV se denomina sulfhídrido variable y se asocia con *Klebsiella pneumoniae*, esta codificada por el gen bla SHV-1, y confiere resistencia a las penicilinas y a las cefalosporinas de primera generación; encontrándose en cepas de *Klebsiella pneumoniae*, aunque también se ha descrito en *Escherichia Coli*.

6.9.4.3. Las CTX-M

Las que se caracterizan por su alta capacidad hidrolítica sobre cefalosporina en especial sobre la cefotaxima y a la ceftriaxona y poca cantidad de hidrolizar la ceftazidima y cefepime este genotipo es un buen ejemplo de betalactamasas cromosómicas, encontradas normalmente en especies de *Kluyvera ascorbata* un grupo relativamente raro de patógenos comensales reportado en 1989 por primera vez, caracterizado por hidrolizar mejor a cefalosporinas como cefuroxima, cefotaxima y cefepima que ceftazidima, estas enzimas no están muy relacionadas con las TEM o SHV, ya que solo muestran un 40% de

identidad con las mismas. Se conocen más de 80 tipos de CXT-M, de las cuales algunas son más activas contra ceftazidima que contra cefotaxima.

6.9.5. Mecanismos de resistencia de las beta-lactamasas.

Según (Abarca G, Herrera ML.2001) P (81) la producción de betalactamasas ocurre por diversas modificaciones en la información genética.

Estas modificaciones ocurren por dos tipos de mutaciones:

- Cromosómicas
- O por elementos extra cromosómicos.

En el tipo cromosómica:

La resistencia ocurre por mutaciones en los genes de la bacteria que controlan las funciones y estructuras sobre las que actúan los distintos antibióticos, modificando la susceptibilidad de la bacteria a ellos.

En este caso, ocurre una modificación, en la secuencia de bases del ácido nucleico de la bacteria, transmitiendo esta información a su descendencia (resistencia en un solo escalón) (Perozo A, Castellano M, 2009) P (37) o en el transcurso de varias generaciones (resistencia en varios escalones), haciendo a la bacteria totalmente resistente a la droga.

Estas mutaciones ocurren espontáneamente y pueden dar lugar a la alteración o superproducción de una enzima específica, o afectar proteínas que participan en la permeabilidad de la membrana alterando la entrada del antibiótico. (Gobernado M, 2005) P (101)

Al igual por acumulación de éste, en el espacio periplásmico situado entre la membrana externa e interna de la bacteria.

El otro mecanismo de resistencia ocurre por elementos extra cromosómicos portadores de determinada información, como lo son los plásmidos y los transposones, que tienen la capacidad de transferirse de una bacteria a otra, de igual o diferente género y especie.

Según George M, Garrity, 2004, P (10) estos mecanismos extra cromosómicos se manifiestan por tres procesos:

- El primero por conjugación con el paso de un plásmido o de un trasposon de una bacteria a otra, involucro el contacto de ADN de célula a célula;
- La segunda por transformación en la cual hay incorporación en el cromosoma bacteriano de ADN presente en el medio; en este caso el ADN se adquiere del medio directamente, éste sale hacia alguna célula, por ejemplo, el factor de resistencia RTF, que es transferido de una bacteria a otra, por medio de un plásmido, a la hora del cruce de dos bacterias.
- La tercera, por transducción en donde el ADN proveniente de un bacteriófago se incorpora al ADN bacteriano.

Así mismo la resistencia a los inhibidores de betalactamasas en patógenos productores de este tipo de enzimas se debe principalmente a los siguientes mecanismos:

- Disminución de la permeabilidad hacia el antibiótico por alteración de canales de porinas.
- Inactivación enzimática del antibiótico (cromosomal o plasmídica).

- Modificación química de la diana sobre la que actúa el antibiótico (alteración en las PBPS)
- Tolerancia.

6.9.6. Métodos para detectar BLEE en Enterobactérias

Según (George M, Garrity, 2004), P (10) el fundamento de la detección de las beta-lactamasas es el de enfrentar la bacteria en estudio con los preparados betalactámicos para poner en evidencia la estabilidad (mayor o menor) de éstos frente a las enzimas beta-lactamasas producidas por dichas bacterias.

La mayoría de los métodos descritos para detectar microorganismos productores de BLEE han sido diseñados para enterobactérias y se fundamentan en el carácter inhibible de estas enzimas por los inhibidores de β -lactamasas.

Sin embargo, la aplicación de cualquiera de estos métodos debe ir precedida de un riguroso análisis del perfil de sensibilidad a los antimicrobianos, con los criterios habituales de lectura interpretada del antibiograma, que permita detectar fenotipos compatibles con su presencia.

Sin embargo, no existe una metodología que reúna sensibilidad, especificidad y sencillez para la detección de las beta-lactamasas de amplio espectro y de sus variantes, por lo que es importante el criterio profesional del microbiólogo a la hora de seleccionar las pruebas más convenientes a utilizar en cada caso, (Abarca G, Herrera ML.2001) P (81)

Los métodos utilizados varían de acuerdo a la especie bacteriana a ser estudiada, el antibiótico a ensayar y el tipo de enzima a detectar. Por lo cual existen diferentes tipos de técnicas de detección entre ellas están:

a. Métodos bioquímicos

La mayoría de estos métodos se aplican una vez confirmada la presencia de la BLEE en el aislado correspondiente y sirven para caracterizar dicha enzima. Los métodos bioquímicos incluyen el isoelectroenfoque, el análisis del perfil de sustrato, la cinética enzimática y la determinación de los IC50 para diferentes inhibidores de β -lactamasas.

En la actualidad, se utiliza poco debido a la descripción de diferentes BLEE que comparten idéntico puntos isoeléctricos. Sin embargo, es muy útil si se combina con el análisis del fenotipo de sensibilidad ya que puede orientar el tipo de BLEE para un análisis posterior del perfil de sustrato o estudio molecular, (Oliver A., Cantón R, 2003). P (40)

b. Técnicas Microbiológicas.

Se basan en la pérdida de actividad antimicrobiana de los antibióticos al ser hidrolizados por la beta-lactamasa de la bacteria en estudio.

Se utiliza una cepa control denominada S (sensible) y una cepa problema denominada R (resistente). Si la resistencia es enzimática la cepa R problema, destruye al antibiótico de su entorno, permitiendo crecer a la cepa reveladora(S).

c. Métodos fenotípicos

6.9.7. Métodos basados en la utilización de inhibidores de β -lactamasas

La técnica de la doble difusión con discos: se basa en la sinergia de doble disco. Se utiliza una placa de agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana sobre la que se colocan los discos de cefalosporina y el disco con el inhibidor de betalactamasa a determinada distancia (30 mm o 20 mm si se desea aumentar la sensibilidad) de los discos de ácido clavulánico. (Abarca G, Herrera ML.2001) P (81)

Si aparece una ampliación entre los halos de inhibición en alguno de los antimicrobianos y el disco con el inhibidor de betalactamasa se considera que existe BLEE.

En las enterobacterias productoras de AmpC inducible, puede utilizarse la aproximación de cefepima (CFP) _ ampicilina/ ácido clavulánico (AMC), para observar el efecto de ampliación del halo de inhibición.

6.9.8. Prueba de combinación de discos

Utilización de discos con cefalosporinas de 3º generación, sola y con ácido clavulánico. Actualmente, se cuenta con discos de ceftazidima/ac. Clavulánico (30/10mg), cefotaxima/ac. Clavulánico (30/10mg) y cefpodoxima/ac. Clavulánico (10/10 mg). Se confirma la presencia de BLEE cuando el halo de inhibición de la combinación es = 5 mm respecto de la cefalosporina sola. (Oliver A., Cantón R, 2003) P (40)

Sinergia con inhibidores de betalactamasas mediante la determinación de las CMI

Técnica de la sinergia con inhibidores de betalactamasas:

Consiste en la determinación de la CMI por macro o microdilución de cefalosporinas de tercera generación, con y sin inhibidor de β -lactamasas. Conviene realizarla con más de un antibiótico. La existencia de BLEE queda confirmada ante la reducción de la CMI en tres diluciones (ocho veces) en presencia de ácido clavulánico.

6.9.9. Técnica de E-test

Se emplean tiras de papel impregnadas con antibióticos. Una mitad contiene cefalosporina en concentración decreciente y la otra mitad cefalosporina también en concentración decreciente con ácido clavulánico con una concentración fija (2 μ g) por

cada concentración. Se considera positiva la sinergia con el ácido clavulánico cuando la CMI disminuye en dos o más diluciones. Se recomienda utilizar tiras de ceftazidima y cefotaxima ya que todas las enzimas no hidrolizan por igual estos antibióticos. En caso de sospecha de AmpC, colocar tira con cefepima.5, 6, 10. (Oliver A., Cantón R, 2003) P (40)

6.9.10. Métodos de Bioensayos

La utilización de bioensayos, como la prueba de Masuda o el método tridimensional, pueden ser adecuados para demostrar la presencia de estas enzimas en cepas en las que existan dudas acerca de su producción. Ambas pruebas, dependiendo de los sustratos que se utilicen, son útiles para cualquier tipo de β -lactamasa. A pesar de su versatilidad, son engorrosas de realizar y han tenido poco éxito.

La prueba de Masuda, consiste en la disposición de un microorganismo indicador sensible (generalmente E. Coli ATCC 25922) a los sustratos hidrolizados (en este caso cefotaxima, ceftazidima o aztreonam) por la β -lactamasa que se pretende detectar. Estos sustratos se colocan en un disco (sirven los discos comerciales) y en las zonas marginales del halo de inhibición, discos de papel impregnados con el extracto, generalmente obtenido por sonicación, del microorganismo a estudiar. La distorsión de halo de inhibición en el microorganismo sensor nos indica la presencia de la BLEE

El método tridimensional es igualmente engoroso de realizar, pero tiene la ventaja de utilizar diferentes sustratos. Este hecho permite, al menos

cualitativamente, determinar el perfil de sustrato del enzima presente en el microorganismo a estudiar.

Consiste en la disposición de un microorganismo sensor sensible a los antibióticos β -lactámicos (generalmente *E. coli* ATCC 25922), realizar un surco (puede ser circular) en el que se dispone el extracto sonificado del microorganismo a estudiar y colocar discos con antibióticos a una distancia de unos 3 mm del surco. La distorsión de los halos de inhibición nos indicará el perfil de sustrato del enzima.

6.9.11. Métodos genotípicos

Permiten identificar las BLEE y llevar a cabo la investigación epidemiológica, saber que los brotes son epidemiológicamente complejos, pudiéndose tratar de la proliferación clonal de una cepa productora de una única BLEE, pero también diseminarse diversas BLEE en el mismo brote, por la proliferación clonal de varias cepas con distintas BLEE o por la existencia de diferentes plásmidos entre los miembros de una misma cepa. (Walther-Rasmussen J, 2004) P (50)

Adicionalmente, microorganismos no relacionados genotípicamente pueden producir la misma BLEE mediante transferencia plasmídica y la misma BLEE puede ser mediada por plásmidos distintos.

Las técnicas que se utilizan para la caracterización de las beta-lactamasas son:

- Espectro de hidrólisis.
- Inhibición de la actividad hidrolítica hacia diferentes sustancias.
- Peso Molecular.
- Punto isoeléctrico.
- Hiperproducción de enzimas.

- Secuencia de aminoácidos.
- Secuencia de nucleótidos.
- Hibridación de ADN-ADN.

6.9.12. Interpretación de los resultados

Cuándo no se confirma la presencia de BLEE, utilizar los puntos de corte generales para enterobacterias, independientemente del género aislado. (Peña C, 1997) P (47)

Cuándo se confirme fenotípicamente la presencia de BLEE, deberán informarse resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.

Las combinaciones de beta-lactámicos con IBL pueden ser activas in vitro, pero su eficacia clínica es discutida y depende de la localización de la infección, particularmente cuando el microorganismo se encuentra en altas concentraciones.

El papel del laboratorio de microbiología es crucial en el reconocimiento de resistencia por enzimas beta-lactamasas en las diferentes infecciones. (Abarca G, Herrera ML.2001) P (81)

Por lo que debe de estar alerta ante la presencia de un fenotipo poco habitual e iniciar un plan racional para el control de las infecciones que pudieran producirse.

VII. Diseño Metodológico

7.1. Tipo de estudio:

Según Carlos Méndez (1995) "un estudio es descriptivo cuando se ocupa de la descripción de las características que identifican los diferentes elementos y componentes y su interrelación" (P.230), por lo tanto la presente investigación es de tipo descriptivo porque se ocupa de identificar y describir las enterobacterias fermentadoras productoras de BLEE y es corte transversal por que se realizó en un periodo corto, que comprenden los meses de diciembre 2018 a febrero 2019 en el hospital amistad Japón Nicaragua, el autor Dr. Iván Espinoza, (2016) explica que los estudios de corte transversal; "Son estudios diseñados para medir la prevalencia de una exposición y/o resultado en una población definida y en un punto específico de tiempo"

7.2. Enfoque de la investigación.

Según Hernández Etal, 2003, (p.5), El enfoque cuantitativo utiliza la recolección y el análisis de datos para contestar preguntas de investigación y probar hipótesis establecida previamente o para dar respuesta al planteamiento del problema y confía en la medición numérica, el conteo y frecuentemente en el uso de la estadística para establecer con exactitud patrones de comportamiento de la población. Por lo tanto, el presente estudio tiene un enfoque cuantitativo por que por medio del análisis de los datos estadísticos se dará respuesta al planteamiento del problema y se establecerá con precisión la prevalencia de las Enterobacterias productoras de BLEE.

7.3. Área de estudio:

El lugar dónde se llevó a cabo la investigación fue en el Hospital Amistad Japón-Nicaragua del departamento de Granada. Específicamente en el área de Bacteriología, en cuya sección se desarrollan las técnicas de diagnóstico directo e indirecto de las infecciones ocasionadas por bacterias y hongos.

7.4. Población

La población la constituyen 301 pacientes que fueron atendidos en consulta externa los cuales se les realizo urocultivo en el Hospital Amistad Japón Nicaragua en el período de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

7.5. Muestra

La muestra la conformaron 87 pacientes que fueron atendidos en consulta externa los cuales presentaron aislamiento de Enterobacterias fermentadoras en su muestra de urocultivo, en el Hospital Amistad Japón Nicaragua en el periodo de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

El tamaño de la muestra fue calculado aplicando la siguiente ecuación:

$$n = \frac{NZpq^2}{d^2(N-1)+Z^2pq} = 87$$

N: total de pacientes que asistieron a consulta externa.

n: el tamaño de la muestra.

d: el margen o posibilidad de error lo que radica en la diferencia que pueda darse entre los resultados obtenidos (7.9%).

Z: porcentaje de confianza (nivel de confianza 95%).

P: Probabilidad de éxito en la posibilidad de resultado.

q: Probabilidad de fracaso.

7.6. Muestreo

El tipo de muestreo empleado en este estudio fue aleatorio simple y según el Dr. Iván Espinoza (2016), "Cada sujeto tiene una probabilidad igual de ser seleccionado para el estudio" (p.5). En otras palabras, todos los pacientes en nuestro estudio tenían la misma posibilidad de ser seleccionados y ser parte de muestra en la investigación.

7.7. Recolección de la información

La información teórica fue obtenida a través de libros de bacteriología además de la consulta a investigaciones pasadas, sitios web y archivos pdf, así como libros de normativos para bacteriología y manuales de la misma, por otro lado los datos estadísticos fueron obtenidos por medio de las visitas al Hospital Amistad Japón-Nicaragua, en donde se acudió a la responsable del área de bacteriología para que autorizara el permiso de la investigación, una vez obtenido dicho permiso se procedió a la revisión de los libros de registros de los exámenes de urocultivos.

La selección de la muestra fue extraída de la siguiente manera: se enumeraron los urocultivos realizados en los meses de diciembre 2018 a febrero 2019, luego se comenzó a sacar mediante una tómbola los 87 pacientes calculados en nuestra muestra, los cuales cumplían nuestros criterios de inclusión.

Cabe mencionar que la variable edad no se logró obtener ya que en el área no se hace registro de dicho dato al igual que los datos de la ficha de solicitud del urocultivo, hecho esto, se procedió al análisis de dichos datos y a la elaboración del documento de investigación.

7.8. Instrumentos de recolección de datos:

Para obtener la información necesaria para la investigación, se procedió a realizar una ficha de recolección de datos que contuviera todos los datos requeridos, como los son los datos clínicos y estadísticos del análisis, según Cesar Robledo (2014) "estos son los instrumentos que permiten el registro e identificación de las fuentes de información, así como el acopio de datos o evidencias". De igual forma se elaboró un bosquejo que sirviera como guía de la investigación, y se procedió a un análisis documental, indagando los datos estadísticos relacionados con el tema, al igual que libros del área de bacteriología todo esto con el fin de sustentar científicamente esta investigación.

7.9. Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

1. Pacientes que fueran de consulta externa del Hospital Amistad-Japón.
2. Pacientes enviados al área de bacteriología a realizarse un urocultivo.
3. Pacientes que presentaron un crecimiento de Enterobacterias lactosas positivas productoras de BLEE.

Criterios de exclusión:

- 1- Pacientes que no fueron atendidos en los meses correspondientes al estudio (diciembre 2018 y febrero 2019).
- 2- Pacientes que presentaron aislamiento de bacterias grampositivas y no fermentadoras.

7.10. Presentación de la información:

Para el procesamiento y presentación de la información se utilizó Office Word 2010 para la redacción del documento, así como Microsoft Excel 2010 para la realización de los gráficos y Power Point 2010 para el diseño de las diapositivas.

7.11. Ética de la confidencialidad de los datos:

Se solicitó autorización a la dirección de la jefa del área de bacteriología para obtener los datos de los pacientes y de las muestras en estudio, bajo el compromiso de utilizar los datos únicamente en este estudio, procurando guardar toda la información utilizadas de manera confidencial y entregar al laboratorio un reporte de los resultados obtenidos, de la misma forma se guardó el registro de los autores de la información teórica que se utilizó a lo largo de todo el documento.

7.12. Plan de tabulación y análisis:

El procedimiento y análisis de la información será acorde a cada uno de los objetivos propuestos para la cual se planteará lo siguiente: La información recopilada será digitalizada por los programas de Microsoft office Word 2010, el procedimiento de los datos se llevara a cabo de modo manual y la información obtenida se presentara mediante gráficos utilizando el programa Microsoft office Excel 2010,asi mismo para la presentación del trabajo se utilizara el programa Microsoft office Power Point 2010.

VIII. Operacionalización de las variables.

Variable	Concepto	Subvariable	Indicador	Criterio	Valor
Sexo	Diferencia fenotípica del Hombre y la mujer.	—	Femenino		Si – No
			Masculino		Si – No
Enterobacterias Fermentadoras	Tipo de bacterias que utilizan la glucosa como fuentes principales de energía	Género y especie	1. Escherichia coli		Si - No
			2. Escherichia fergusonii		Si – No
			3. Escherichia hermannii		Si – No
			4. Escherichia vulneris		Si – No
			5. Klebsiella pneumoniae		Si – No
			6. Enterobacter spp.		
			7. Serratia spp.		

<p>Enterobacterias productoras de BLEE</p>	<p>Mecanismo de resistencia antimicrobiana a todas las cefalosporinas de tercera generación, presentado en enterobacterias</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. Pipertaz o-bactam 2. Amoxicilina +Ac.Clavulanic 3. Cefoxitina 4. Ceftazidim 5. Ceftriaxona 	<p>Resistente</p>	<p>Efecto huevo</p>
<p>Enterobacterias presentadoras de AmpC</p>	<p>Mecanismo de resistencia. Las β-lactamasas AmpC pueden hidrolizar penicilinas, cefamicinas, oximinocefalosporinas y</p>		<p>Cefalosporinas de tercera generación</p>	<p>Resistente</p>	

	monobactams, pero no son activas frente a cefalosporinas de cuarta generación y carbapenémicos.				
Método de Kirby Bauer	Es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos.	Penicilinas Monobactam	Piperacilina Aztreonam Cefepime Ceftazidima		S>21R< 17(mm) S>22R< 15(mm) S>25R< 18(mm) S>18R< 14(mm)

		Cefalosporinas	Ceftriaxona	S>23R<19(mm)
			Cefuromexine	S>23R<14(mm)
			Cefalotin	S>18R<14(mm)
		Carbapenems	Imipenem	S>23R<19(mm)
			Meropenem	S>19R<15(mm)
		Aminoglucósidos	Gentamicina	S>15R<12(mm)
			Amikacina	S>17R<14(mm)
		Sulfamidas	Trimetoprim	S>16R<10(mm)

		Fluroquinolo nas	Ciprofloxacina Levofloxacina Nitrofurantoina		S>21R<15(mm) S>19R<15(mm) S>17R<14(mm)
		Quinolonas	Ac. Nalidíxico		S>19R<13(mm)

IX. Análisis y discusión de los resultados

9.1. Gráfico N°1: Frecuencia según el sexo más afectado en muestras de urocultivo provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

En este gráfico se muestra la prevalencia del sexo más afectado que presentaron crecimiento de Enterobacterias identificadas en los urocultivos, dando como resultado un 82% para el sexo femenino y un 18% para el sexo masculino.



Fuente: Ficha de recolección de datos.

Según los resultados obtenidos se observó que el sexo más afectado es el femenino esto se debe según estudios a diversos motivos y factores que presenta este género. Aunque los científicos no lo saben con seguridad, un factor clave podría ser que la uretra de la mujer es corta, permitiendo así a las bacterias un acceso rápido hasta la vejiga urinaria. Otro sería que la apertura de la uretra en la mujer está cerca de focos bacterianos, como el ano y la vagina.

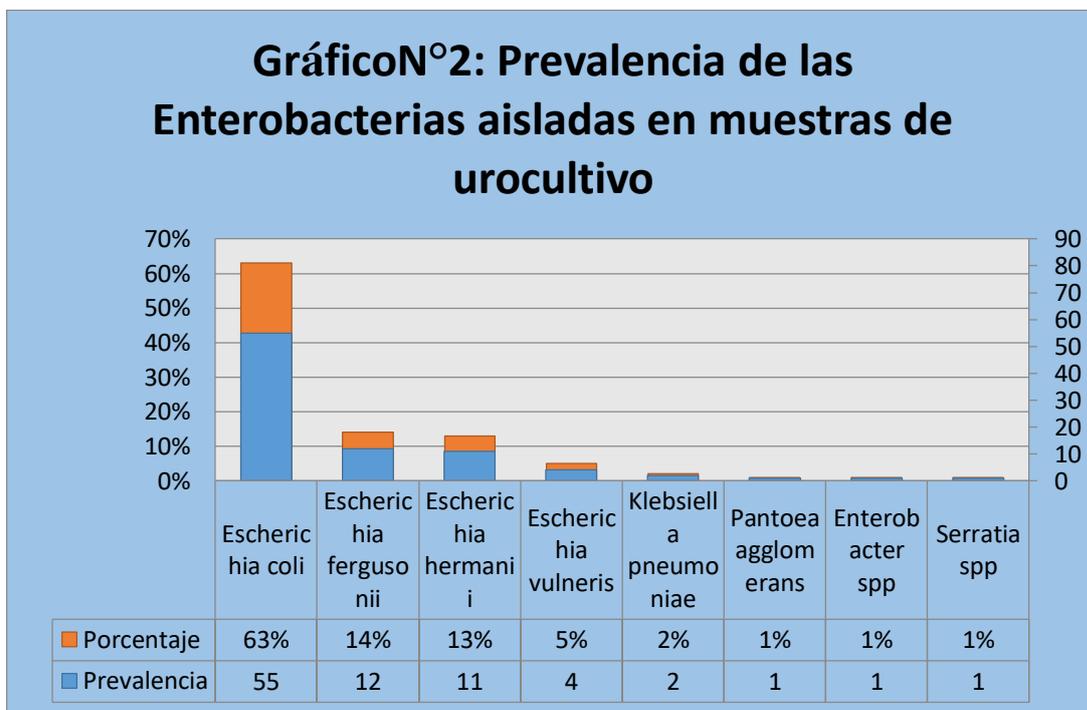
Un 20% de las mujeres presenta infecciones del tracto urinario inferior a lo largo de su vida y aproximadamente el 3% experimenta infecciones recurrentes del tracto urinario. Se consideran infecciones recurrentes cuando se dan 3 o más episodios al año.

Más de un 95 % de todas las infecciones recurrentes del tracto urinario en la mujer están causadas por reinfección por diferentes microbios o bien por recidiva (cuándo el mismo microorganismo que en el episodio inicial queda acantonado en el reservorio rectal, desde donde infecta el introito vaginal y posteriormente la orina) o bien en el propio aparato urinario.

También parece ser que el uso del diafragma como sistema anticonceptivo aumenta la probabilidad de padecer una infección urinaria. Además, las mujeres cuyas parejas usan preservativos con espermicidas tienen tendencia a un crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* en la vagina.

9.2. Gráfico N°2: Prevalencia de Enterobactérias aisladas en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

En este gráfico se muestran el género y especie de Enterobactérias aisladas en el estudio además de la prevalencia que presentaron, dando como resultado: un 63% para *Escherichia coli*, 14% para *Escherichia fergusonii*, seguido de 13% para *Escherichia hermannii*, un 5% para *Escherichia vulneris*, luego encontramos un 2% de *Klebsiella pneumoniae* y por ultimo un 1% de *Pantoea agglomerans*, al igual que *Enterobacter spp* y *Serratia spp*.



Fuente: Datos de Laboratorio.

Las Enterobactérias son un grupo de microorganismos que se caracterizan por su incidencia en pacientes hospitalizados e inmunodeprimidos así mismo se hacen notar en numerosas infecciones, como lo es las infecciones urinarias o ITU.

Para este estudio se analizaron un total de 301 urocultivos de los cuales se encontró crecimiento bacteriano por Enterobacterias a un total de 87 muestras. De las cuales se observaron bacterias con poco significado clínico, que se pueden combatir con un tratamiento adecuado; En el análisis sobresalieron especies poco comunes y otras más frecuentes, como lo es la *Escherichia coli* con un 63% la cual es un microorganismo que caracterizado como principal patógeno en las infecciones urinarias y puede llegar a causar daños mayores si no se combate de manera adecuada, esto también depende del tipo de subespecie al que pueda pertenecer dicha bacteria.

Seguidamente se encontró *Escherichia fergusonii* con un 14% que se ha encontrado en sangre, vesícula biliar, orina y heces; sin embargo, no se ha establecido aun su importancia clínica.

Luego *Escherichia hermannii* con un 13% se encuentra principalmente en heridas, esputo y heces de humanos. Esta bacteria puede producir una infección denominada cefalohematoma. En el caso de *Escherichia vulneris*, esta se ha aislado en infecciones causados por heridas.

Además de *Klebsiella pneumoniae* con un 2% la cual comúnmente es capaz de causar ITU y neumonía en personas sanas, aunque casi todas las infecciones por este microorganismo se adquieren en el hospital u ocurren en pacientes debilitados por enfermedades subyacentes (Friedländer, et, al. 1883).

En el caso de *Pantoea agglomerans* se encontró con un 1% esta bacteria es un bacilo gram negativo, sin cápsula, aerobio facultativo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, cuyo hábitat son las plantas, suelo, agua, piel humana, heces animales y humanas.

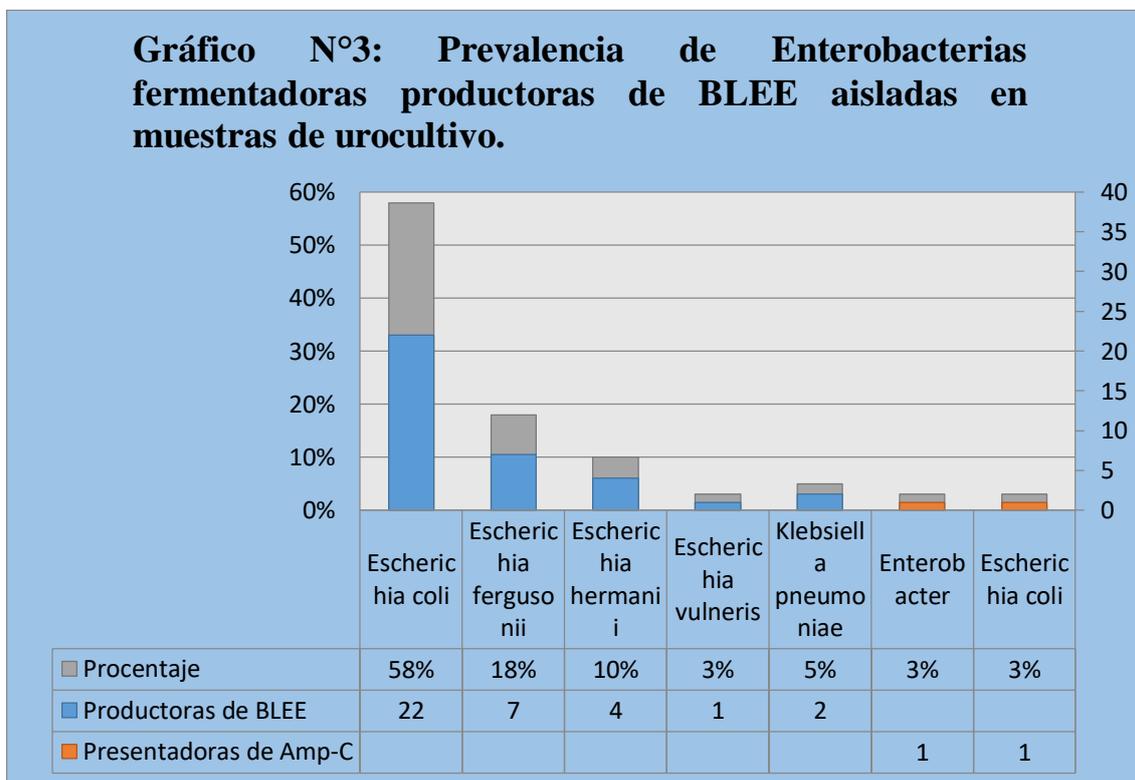
Según el autor Kratz y col. (2003) "Se han producido infecciones fundamentalmente relacionadas con infusiones intravenosas, así como meningitis neonatal y artritis séptica a consecuencia de punciones accidentales con espinas de plantas además de infecciones urinarias"

Al igual que *Enterobacter* spp con un 1%. García, Rodríguez (2010), afirma que "Las cepas de *Enterobacter* suelen colonizar a los pacientes hospitalizados y han sido asociados con infecciones de quemaduras, de heridas, de las vías respiratorias y del tracto urinario"

Así mismo se encontró *Serratia* spp con un 1%, comúnmente entre las infecciones nosocomiales *Serratia* provoca aproximadamente el 4% de las bacteriemias y las infecciones del tracto respiratorio inferior y el 2% de las infecciones de las vías urinarias, heridas quirúrgicas y piel (García, Rodríguez, 2010).

9.3. Gráfico N°3: Prevalencia de Enterobacterias fermentadoras productoras de BLEE aisladas en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

En este gráfico se presentan las Enterobacterias que se encontraron en el estudio con mecanismo de resistencia de tipo BLEE, dando como resultado a Escherichia coli con un 58%, seguida de Escherichia fergusonii con un 18%, Escherichia hermannii con un 10%, así mismo Escherichia vulneris con un 3%, luego se encontró Klebsiella pneumoniae con un 5%. Además de esto se identificó otro mecanismo de resistencia de tipo Amp-C, el que presentaron con un 1% Enterobacter y Escherichia coli.



Fuente: Datos de Laboratorio.

En el estudio se analizaron además el porcentaje de Enterobacterias, del total encontradas, que produjeran betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y también el porcentaje de bacterias con mecanismos de resistencia natural de tipo Amp-C.

Dando como resultado que: la bacteria con mayor prevalencia de BLEE fue *Escherichia coli* con un 58%, Fonseca (2017) plantea en un estudio, resultados semejantes acerca de las betalactamasas de espectro extendido en dónde encontró a *Escherichia coli* con un 70%, corroborando así que son dichas cepas, en las que más se dan este tipo de resistencia.

Esto se puede deber a qué; cómo ya se sabe es una de las más comunes en la práctica clínica, causan todo tipo de infecciones intra y extra hospitalarias, de tal manera, también es la que más rápidamente está adquiriendo mecanismos de resistencia cómo lo son las BLEE. Impulsados principalmente por el uso indiscriminado de antimicrobianos, así como por el contagio de cepas con las mutaciones genéticas que causan las resistencias bacterianas.

Así mismo se identificaron otras especies de *Escherichia*, poco frecuentes, pero que demuestran, que las mutaciones no se dan únicamente en la *Escherichia coli*, sino que se está expandiendo a otras especies como lo son *Escherichia fergusonii* con un 18%, seguida de *Escherichia hermannii* con un 11% y *Escherichia vulneris* con un 3%.

De igual forma no se puede omitir el hecho de que *E. hermannii* y *E. vulneris* ocasionan predominantemente infecciones de heridas y de que *E. fergusonii* ha empezado a relacionarse con ciertas patologías entéricas y que además en este estudio se hicieron notar de manera considerable en infecciones urinarias y más preocupantemente como cepas productoras de BLEE.

Lo que podría marcar una pauta para el personal de salud, ya que es demostrado en este estudio que cada vez hay más cepas productoras de BLEE y que se tiene que hacer frente a estos sistemas de resistencia bacteriana.

Fonseca (2017) sigue planteando qué se encontró a *Klebsiella pneumoniae* con una incidencia de 28%, demostrando así los altos grados de prevalencia que puede alcanzar la misma con este tipo de resistencia bacteriana sin embargo en este caso se encontró con un 5% de prevalencia, hay que resaltar que este resultado no le quita la importancia ya que cualquier bacteria que presenta un mecanismo de resistencia puede ocasionar serios daños en los pacientes, inclusive la muerte.

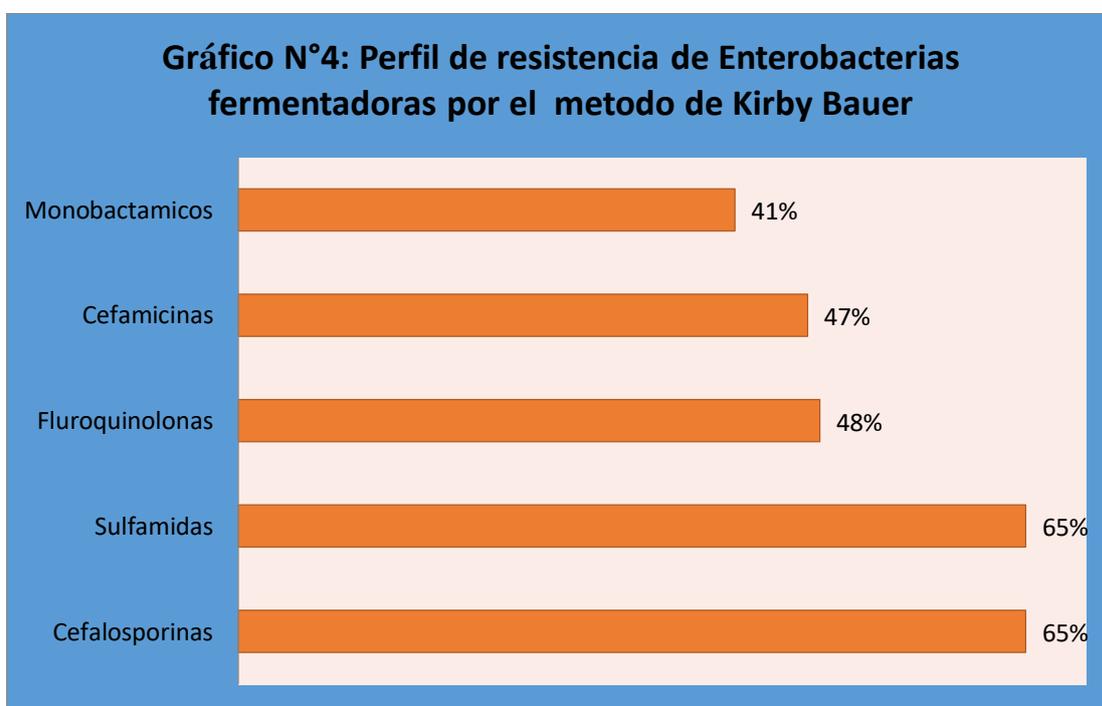
Por último, se identificaron dos cepas con Amp-C, las que fueran *Enterobacter spp* y *Escherichia coli* con un 3% de prevalencia cada una.

Las betalactamasas de tipo Amp-C se han encontrado por cromosomas en una amplia variedad de bacterias Gram negativas, así como mediadas por plásmidos en *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella spp* especies que ni tiene naturalmente expresión de Amp-C cromosómico. Este tipo de betalactamasas hidrolizan generalmente a las cefalosporinas de espectro reducido al igual que las de tercera generación.

Cabe destacar que las Amp-C cromosómicas, bajo condiciones normales, producen esta enzima en bajas cantidades sin alterar significativamente la sensibilidad de las cefalosporinas de tercera generación. Sin embargo, pueden ocurrir mutaciones espontáneas, en los genes que regulan la producción de Amp-C lo cual lleva a la producción constitutiva de esta enzima en suficientes cantidades como para hidrolizar los antibióticos antes mencionados.

9.4. Gráfico N°4: Perfil de resistencia por el método de Kirby Bauer de Enterobacterias fermentadoras en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

En este gráfico se muestra el perfil de resistencia de las enterobacterias encontradas en el estudio, se detalla específicamente el porcentaje de resistencia para cada familia de antibióticos; dando como resultado un 41% de resistencia a los Monobactámicos, 47% a las Cefamicinas, 48% a las Fluroquinolonas, 65% a Sulfamidas y a las Cefalosporinas.



Fuente: Datos de Laboratorio.

Según los datos obtenidos podemos demostrar que la resistencia bacteriana cada vez es mayor, es decir que, los microorganismos cada vez son menos sensibles a los diferentes medicamentos, sin importar la familia a la que pertenezcan.

Por ejemplo, en este estudio podemos darnos cuenta que las bacterias son resistentes a las cefalosporinas en un 65%. Como ya se ha dicho, los mecanismos de resistencia de

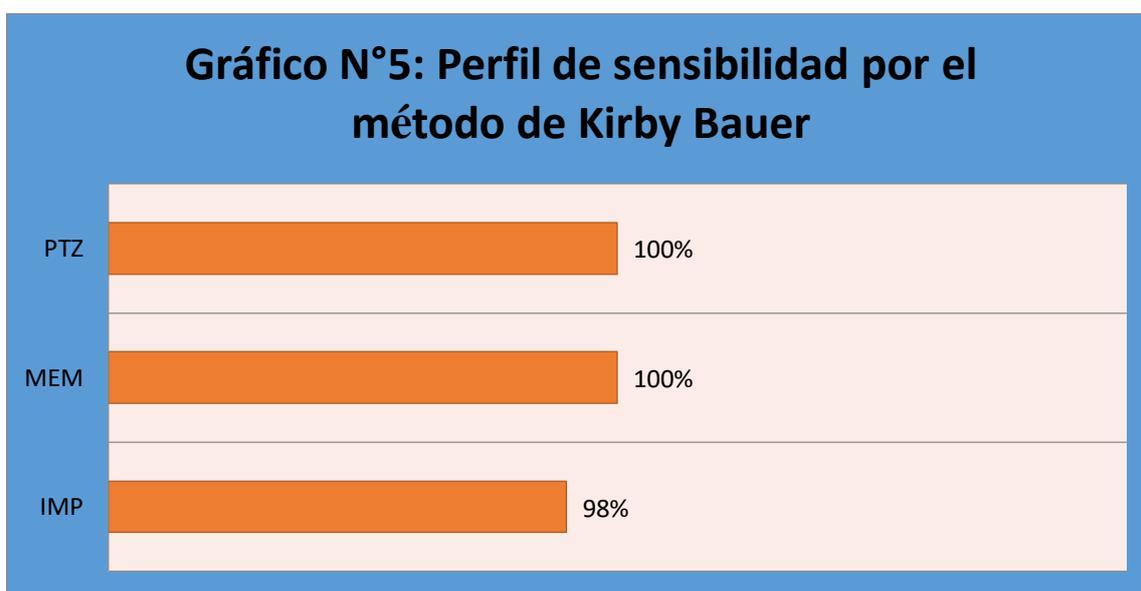
tipo BLEE les confieren a las bacterias una resistencia a las cefalosporinas de tercera generación.

Cabe destacar que según estudios, usualmente las BLEE tipo TEM Y SHV hidrolizan a Ceftazidima con mayor eficiencia que a Ceftriaxona, mientras que las CTX-M, hidrolizan Ceftriaxona más rápidamente, este podría ser un motivo por el cual se muestran altos grados de resistencia para ambos medicamentos al igual que se muestran elevados porcentajes a los demás medicamento como las fluoroquinolonas a las que presentó una resistencia de 48%; Únicamente se encontró gran sensibilidad a los carbapenémicos, los cuales son medicamentos de gran acción los cuales se caracterizan por ser la opción terapéutica más accesible para las bacterias que presentan BLEE.

En conclusión, las bacterias en este estudio presentaron un 53% de resistencia bacteriana. Esto como ya se sabe es debido a múltiples factores, entre ellos el principal que es el uso indiscriminado de los antibióticos, a causa de la inconciencia a cerca de ese tema.

9.5. Gráfico N°5: Perfil de sensibilidad por el método de Kirby Bauer de Enterobacterias fermentadoras en muestras de urocultivos provenientes de la consulta externa del Hospital amistad Japón Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

Este gráfico muestra los antibióticos a los cuales mostraron mayor sensibilidad. Las Enterobacterias encontradas en el estudio dando como resultado un 98% a Imipenem y un 100% a Meropenem al igual que a Pipertazobactan.



Fuente: Datos de Laboratorio.

Las BLEE son enzimas capaces de inactivar, además de penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación, a las oximino-cefalosporinas y al aztreonam, pero no a los carbapenemes ni a las cefamicinas y son inhibidas por el ácido clavulánico.

La aparición de estas enzimas se asocia al uso excesivo de cefalosporinas de amplio espectro y Aztreonam. Están codificadas por plásmidos que con frecuencia contienen otros genes de resistencia para distintos antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol.

Según nuestros resultados, todo lo dicho anteriormente se ha comprobado ya que, el estudio demostró que las Enterobacterias son totalmente sensible a los carbapenémicos siendo estos el Imipenem en un 98% de sensibilidad y un 100% a Meropenem así mismo que encontró un 100% a Pipertazobactan el que también un inhibidor de las BLEE al igual que la Amoxicilina más ácido Clavulánico.

X. Conclusiones

El objetivo principal de esta investigación fue determinar la prevalencia de Enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE en muestras de urocultivo, dando los resultados del análisis en dicho estudio, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Mediante la indagación de los registros del laboratorio se logró identificar que el sexo más afectado con la prevalencia de BLEE fue el sexo femenino con un 82%, esto como ya se explico puede deberse al factor anatómico de la mujer, que favorece a las infecciones de tipo bacteriana.
2. La Enterobacteria fermentadora más aislada en los urocultivos fue: Escherichia coli en un 63%.
3. La Enterobacteria fermentadora con mayor prevalencia de BLEE fue: Escherichia coli con un 58%.
4. El mayor perfil de resistencia que mostraron las bacterias en estudio mediante el método de Kirby Bauer fue de 65% de resistencia a las Cefalosporinas.
5. En cuanto al perfil de sensibilidad se obtuvieron los siguientes resultados: las cepas en estudio resultaron ser sensibles a los carbapenémicos y un 98% para Pipertazobactan el cual es un inhibidor de las betalactamasas.

XI. Recomendaciones

1. Al Hospital:

- Procurar tomar todos los datos clínicos, y demográficos de los pacientes que llegan a realizarse un urocultivo.
- A los médicos que puedan llenar todos los requisitos que aparecen en la hoja de solicitud de los exámenes.

2. A la población:

- Evitar la automedicación de antibióticos sea cual sea la infección por la que esté pasando e informarse adecuadamente de los riesgos que conlleva la administración de los diferentes medicamentos.

3. Al personal de salud:

- A los médicos y personal de enfermería, administrar de manera responsable a los pacientes, los antibióticos y dosificación para cada tipo de infección bacteriana.
- Participar constantemente de las capacitaciones en dónde se expongan los avances de los diferentes estudios, acerca de las resistencias bacterianas.

4. A los estudiantes de la UNAN-FAREM Carazo de la carrera de Bioanálisis Clínico.

- Instamos a los estudiantes de Bioanálisis Clínico a continuar con las investigaciones de resistencia bacteriana, para el fortalecimiento de sus conocimientos y se recomienda realizar este tipo de estudios en diferentes poblaciones y tipos de muestras de laboratorio, ya que proporcionan una importante información acerca de la situación actual de resistencia bacteriana.

XII. Bibliografías

- Abarca G., Herrera M. Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera (Costa Rica) San José 2001 v.36 n.1-2.
- Asensio A, Oliver A, González-Diego P, Baquero F, Pérez-Díaz JC, Ros P, Cobo J, Palacios M, Lasheras D, Cantón R. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. Clin Infect Dis 2000; 30: 55-60.
- Álvarez-Lerma F. Palomar M. Decálogo de normas para la utilización de antibióticos en pacientes críticos. Med Intensiva 2000; 24: 69-77.
- Álvarez-Lerma F, Palomar M, Olaechea P, Insausti J, Bermejo B, Cerdá E. Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en unidades de cuidados intensivos. Informe del año 2001. Med Intensiva 2003; 27: 13-23.
- Costa E, Usall J, Teixido N, Delgado J, Vinas I. (2002). Water activity, temperature, and pH effects on growth of the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2, Can J Microbiol 4:1082–1088. Sauvezie N, Sirot J. (2000). Isolation of *Pantoea agglomerans* in Two Thorn and Wood Sliver Injuries Cases of Septic Monoarthritis after Plant. J Clin Microbiol 38:460-461.
- Carrillo A.,García A. Betalactamasas de espectro extendido importancia clínica, 2000.
- Cabello, R.R. (2007). Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Ed. Médica panamericana.
- Cullimore, D.R. (2010) Atlas de Bacteriología.
-

- Cantón R, Oliver A, Coque TM, Varela MC, Pérez-Díaz JC, Baquero F. Epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacter isolates in a Spanish hospital during a 12-year period. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1237-1243.
- Cáceres M., y Col. Resistencia antimicrobiana en Hospitales noroccidentales de Nicaragua. UNAN-León. Volumen 1, Año 1, 2007,27-32.
- Gobernado M. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. Servicio de Microbiología Hospital Universitario La Fe, Valencia. *Rev Esp Quim*, 2005; 18(2):115-7.
- García M. Betalactamasas. Diccionario médico, 2011. Esta página fue revisada el 22 de Noviembre del 2012. El URL: www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php/Betalactamass.
- George M. Garrity, (2004), Bergey Manuel, Bacteriologia segunda edicion.
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infeccion Hospitalaria GEIH. Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 77-82.
- Kratz A, Greenberg D, Barki Y, Cohen A, Lifshitz M. (2003). *Pantoea agglomerans* as a cause of septic arthritis after palm tree thorn injury; case report and literature review. *Arch Dis Child* 88:542-544.
- Liberto M; Matera G; Puccio R. (2009). Six cases of sepsis caused by *Pantoea agglomerans* in a teaching hospital. *New Microbiol* 32:119-232. Flores E, Miranda M. (2012). *Pantoea agglomerans* in Immunodeficient Patients with

Different Respiratory Symptoms. The Scientific World Journal article 156827.

Mattar S., Martínez P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. Colombia. VOL. 11 - 1, 2007.

Oliver A., Cantón R. Enterobacterias productoras de β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido. Control Calidad SEIMC. 2003.

Perozo A, Castellano M. Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia Enterobacteriaceae. Kamera [revista en la Internet]. 2009 Jun [citado 2014 Mayo 05] ; 37(1): 25-37. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222009000100004&lng=es.

Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallarés R, Liñares J, Ariza J, Gudiol F. An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, including strains producing extended-spectrum beta-lactamase. J Hosp Infect 2001; 47: 53-59.

Rupp M, Fey P. Enterobacterias Productoras de β -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE). Diagnóstico, Prevención y Tratamiento Farmacológico. Drugs 63(4):353-365, 2003. Disponible en: <http://www.bago.com/BagoArg/Biblio/infecto223web.htm>.

Reyes E, Albert M, Martínez L, et al. La resistencia bacteriana hasta el 2010. Enfermedades Infecciosas, Medicina Preventiva y Salud Publica. Disponible en: <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/2157/1/La-resistencia-bacteriana-hasta-el-2010.html>.

- Rupp M., Fey P. Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Diagnóstico, prevención y tratamiento farmacológico. *Drugs* 63(4):353-365, 2003.
- Segado A, Alonso A, Lubián SP, García AM. (2012). *Pantoea agglomerans*: ¿un nuevo patógeno en la unidad de cuidados intensivos neonatales? *Arch Argent Pediatr* 110:e77-e79.
- Tafur J., Torres J., Villegas M. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Art. Infect. Bogotá July/Sept. 2008* vol.12 no.3
- Walther-Rasmussen J, Hoiby N. Cefotaximasas (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum beta-lactamasas. *Can J Microbiol* 2004; 50: 137-165.

XII. Anexos

Ficha de recolección de datos:



Facultad Regional Multidisciplinaria de Carazo.

FAREM-CARAZO

Departamento de ciencia, tecnología y salud.

**Trabajo de seminario de graduación para optar el título de
Licenciatura en Bioanálisis Clínico.**

Objetivo:

La presente ficha tiene como primer objetivo conocer la prevalencia de Enterobacterias fermentadoras más frecuentes productoras de BLEE en muestras de urocultivo, provenientes de consulta externa del Hospital amistad Japón - Nicaragua durante los meses de Diciembre 2018 a Febrero 2019.

I. Datos generales:

a. Edad:

b. Sexo:

- Femenino___
- Masculino___

c. Diagnóstico de ingreso

II. Datos clínicos

a. Enfermedad de base.

b. Tratamiento anterior.

III. Datos de Aislamiento.

a. Crecimiento bacteriano

Sí___ No___

b. Género y especie de Enterobacterias encontradas.

c. Presencia de mecanismos de resistencia:

Sí___ No___

d. Tipos de mecanismos de resistencia:

- BLEE___
- Otros___

Tablas de referencia

Tabla 1

Frecuencia de Genero

Genero	Frecuencia
Mujeres	81.6%
Varones	18.4%

Tabla 2

Prevalencia de Enterobacterias fermentadoras encontradas

Bacterias	Prevalencia	Porcentajes
Escherichia coli	55	63%
Escherichia fergusonii	12	14%
Escherichia hermanii	11	13%
Escherichia vulneris	4	5%
Klebsiella pneumoniae	2	2%
Pantoea agglomerans	1	1%
Enterobacter spp	1	1%
Serratia spp	1	1%

Tabla 3

Prevalencia de enterobacterias con BLEE

Bacterias		Productoras de BLEE	Presentadoras de Amp-C	Porcentajes
Escherichia coli	22			58%
Escherichia fergusonii	7			18%
Escherichia hermanii	4			10%
Escherichia vulneris	1			3%
Klebsiella pneumoniae	2			5%
Enterobacter spp		1		3%
Escherichia coli		1		3%

Tabla 4

Perfil de resistencia por el método de Kirby Bauer

Antibióticos	Porcentajes de Bacterias resistentes
Cefalosporinas	65%
Sulfamidas	65%
Fluoroquinolonas	48%
Cefamicinas	47%
Monobactámicos	41%

Tabla 5

Perfil de sensibilidad por el método de Kirby Bauer

Antibióticos	Porcentajes
IMP	98%
MEM	100%
PTZ	100%

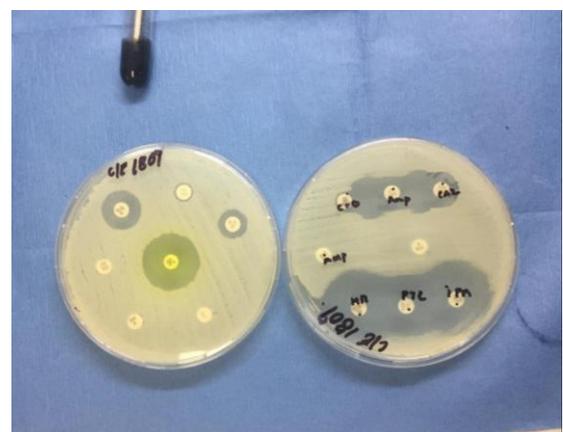
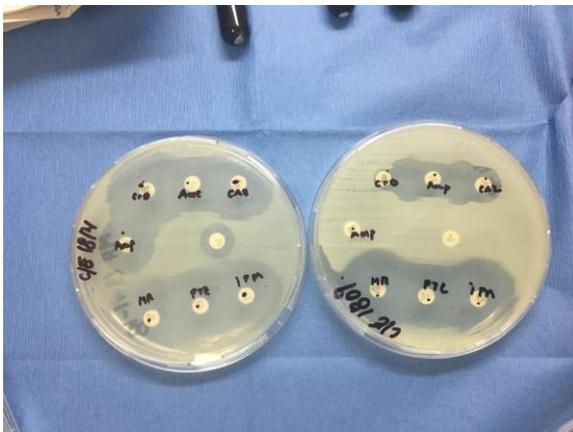
(IMP: Imipenem, MEM: Meropenem, PTZ: Pipertazobactan)

Imágenes del Hospital Amistad Japón-Nicaragua.



(Fotos tomadas por Augusto Cermeño).

Imágenes de Enterobacterias fermentadoras productoras de BLEE.



(Fotos tomadas por Alexia Aguilar).

Imágenes de las Bacterias aisladas



(Fotos tomadas por Alexia Aguilar y Judyan Fuente)

Imágenes de las Autoras



(Fotos tomadas por Alexia Aguilar y Judyan Fuente)



(Fotos tomadas por Scarleth Suyen Guevara)



(Fotos tomadas por Alexia Aguilar)