

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA



**Fenotipos de resistencia en microorganismos aislados en
coprocultivos del Hospital Nacional Arzobispo Loayza,
enero-diciembre 2017**

Tesis para obtener el Título de Licenciada en Tecnología Médica con
especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Autora:

Rodríguez Villanueva, Roxana Elizabeth

Asesor:

Dr. Zavaleta Llanos, Eber Wilfredo

Cajamarca – Perú

2018

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA



**Fenotipos de resistencia en microorganismos aislados en
coprocultivos del Hospital Nacional Arzobispo Loayza,
enero-diciembre 2017**

Tesis para obtener el Título de Licenciado en Tecnología Médica y
Anatomía Patológica

Autora:

Rodríguez Villanueva, Roxana Elizabeth

Asesor:

Dr. Zavaleta Llanos, Eber Wilfredo

Cajamarca – Perú

2018

Acta de sustentación



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

ACTA DE DICTAMEN DE APROBACIÓN DEL INFORME DE TESIS N.º 011-2019

En la ciudad de Chimbote, siendo las *5:50 pm*..... del día viernes 19 de julio del año dos mil diecinueve, y estando dispuesto al Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad San Pedro/RCU 3036-2016 en su artículo 21º, se reunió el Jurado Evaluador integrado por:

Dr. Agapito Enriquez Valera
Mg. Eladio Reyes Quezada
Mg. Iván Bazán Linares

Presidente
Secretario
Vocal

Con el objetivo de evaluar la sustentación del informe de tesis titulado "FENOTIPOS DE RESISTENCIA EN MICROORGANISMOS AISLADOS EN COPROCULTIVOS DEL HOSPITAL NACIONAL ARZOBISPO LOAYZA, ENERO – DICIEMBRE 2017", presentado por la bachiller:

Rodríguez Villanueva Roxana Elizabeth

Efectuada la revisión y evaluación del mencionado informe, el Jurado Evaluador emite el siguiente fallo: *Aprobado por unanimidad*.....la sustentación de tesis, quedando expedita la bachiller para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica con Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

Acto seguido fue llamada la bachiller, a quien el Secretario del Jurado Evaluador dio a conocer en acto público el resultado obtenido en la sustentación. Siendo las *6:40 pm* se dio por terminado dicho acto.

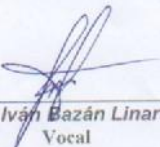
Los miembros del Jurado Evaluador firman a continuación, dando fe de las conclusiones del acta:



Dr. Agapito Enriquez Valera
Presidente



Mg. Eladio Reyes Quezada
Secretario



Mg. Iván Bazán Linares
Vocal

c.c.: Interesada
Expediente
Archivo.

DEDICATORIA

Dedico de manera especial esta investigación, con mucho amor y cariño a mi madre quien es la fuente de inspiración, para seguir adelante, sea perseverante y cumpla con mis anhelos de superación y éxito.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor por brindarme su apoyo, amistad y recomendaciones para la realización de mi investigación que hoy se plasma en el presente trabajo que marca un logro en mi vida profesional.

DERECHO DE AUTORÍA Y DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Quien suscribe, Roxana Elizabeth Rodríguez Villanueva, con Documento de Identidad N° 41130405, autora de la tesis titulada “Fenotipos de resistencia en microorganismos aislados en coprocultivos del Hospital Nacional Arzobispo Loayza enero-diciembre 2017” y a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad San Pedro, declaro bajo juramento que:

1. La presente tesis es de mi autoría. Por lo cual otorgo a la Universidad San Pedro la Facultad de comunicar, divulgar, publicar y reproducir parcial o totalmente la tesis en soportes analógicos o digitales, debiendo indicar que la autoría o creación de la tesis corresponde a mi persona.
2. He respetado las normas internacionales de cita y referencias para las fuentes consultadas, establecidas por la Universidad San Pedro, respetando de esa manera los derechos de autor.
3. La presente tesis no ha sido publicada ni presentada con anterioridad para obtener grado académico título profesional alguno.
4. Los datos presentados en los resultados son reales; no fueron falseados, duplicados ni copiados; por lo tanto, los resultados que se exponen en la presente tesis contribuirán en aportes teóricos y prácticos a la realidad investigada.
5. En tal sentido de identificarse fraude plagio, autoplagio, piratería o falsificación asumo la responsabilidad y las consecuencias que de mi accionar deviene, sometiéndome a las disposiciones en las normas académicas de la Universidad San Pedro.

Cajamarca, Mayo de 2019.

Índice de contenidos

1. Capítulo I		
Índice.....		vi
Palabras Clave.....		viii
Resumen.....		ix
Abstrac.....		x
2. Capítulo II		
Introducción.....		1
Antecedentes Internacionales.....		1
Antecedentes Nacionales.....		6
Fundamentación científica.....		7
Resistencia Bacteriana.....		7
Enteropatógenos.....		9
Mecanismos de Resistencia		
Bacteriana.....	13	
Betalactamasas.....		15
Betalactamasas de espectro ampliado		
(BLEA).....	20	
Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).....		20
Betalactamasas tipo AmpC.....		22
Carbapenemasas.....		23
Coprocultivo.....		28
3. Capítulo III		
Metodología.....		34
4. Capítulo IV		
Resultados.....		37
5. Capítulo V		
Análisis y		
discusión.....	45	
6. Capítulo VI		
Conclusiones y		
Recomendaciones.....	49	

7. Capítulo VII	
Referencias Bibliográficas.....	51
8. Capítulo VII	
Anexos.....	56

Índice de tablas

Tabla 1. Desarrollo de fenotipos de resistencia en microorganismos.....	40
--	----

Índice de figuras

Fig. 1. Detección de Betalactamasa tipo BLEE en <i>Klebsiella pneumoniae</i>	21
Fig. 2. Detección de Betalactamasa tipo AmpC plasmídica en <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
Fig. 3. Test de inhibición del EDTA. Cepa de <i>Aeromonas</i> spp. Productora de carbapenemasa tipo Metalo Beta-lactamasa (MBL).....	24
Fig. 4. Test de Hodge Modificado. Cepa de <i>Escherichia coli</i> productora de Carbapenemasa.....	26
Fig. 5. Test de sinergia con Ácido Borónico. Cepa de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productora de Carbapenemasa (KPC).....	27
Fig 6. Desarrollo de fenotipo de resistencia tipo BLEE.....	41
Fig 7. Desarrollo de fenotipo de resistencia tipo AMPc.....	42
Fig 8. Desarrollo de fenotipo de resistencia tipo MBL.....	43
Fig 9. Serotipos de microorganismos aislados en coprocultivos.....	44

Palabras clave

Fenotipo, genotipo, resistencia, microorganismos, coprocultivo.

Phenotype, genotype, resistance, microorganisms, stool culture.

Línea de investigación: Salud pública

Área: Ciencias médicas y de salud

Sub área: Ciencias de la salud

Disciplina: Salud pública

Sub-líneas o campos de investigación: Microbiología

RESUMEN

La resistencia a los antibióticos es hoy una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo, Las infecciones causadas por bacterias resistentes se asocian a una mayor morbilidad, mortalidad y coste del tratamiento que las causadas por bacterias sensibles de la misma especie, por ende urge implementar políticas para disminuir este fenómeno, dentro las políticas podemos encontrar el monitoreo de la resistencia bacteriana. Los objetivos son describir las frecuencias de los fenotipos de resistencia bacteriana de microorganismos obtenidos de coprocultivos de pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loayza. El diseño es no experimental Descriptivo Transversal Retrospectivo se realizo en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza Lima, Perú. Se usaron Registros de Pacientes con solicitud de coprocultivo del Hospital Nacional Arzobispo Loayza Enero-Diciembre 2017 Siendo un total de 100 cultivos positivos y se obtuvieron del total de 100 cultivos positivos con aislamiento de microorganismos, Con relación al desarrollo de los fenotipos de resistencia bacteriana se detectó que 37 aislamientos de enterobacterias desarrollaron un tipo de resistencia bacteriana (BLEE, AMPc o MBL), Con respecto a la frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana, 31 especies bacterianas aisladas desarrollaron BLEE, dos especies bacterianas desarrollaron AMPc; y cuatro especies desarrollaron MBL. Con los resultados se demuestra que existe una similitud en cuanto a los datos epidemiológicos reportados; en comparación con los datos reportados en la literatura internacional, también es sugerente continuar con los estudios de monitoreo de resistencia bacteriana a fin de implementar nuevas políticas.

Palabras clave: Fenotipo, genotipo, resistencia, microorganismos, coprocultivo.

ABSTRAC

Resistance to antibiotics is today one of the greatest threats to global health, food safety and development. Infections caused by resistant bacteria are associated with greater morbidity, mortality and treatment costs than those caused by sensitive bacteria of the same species, therefore it is urgent to implement policies to reduce this phenomenon, within the policies we can find the monitoring of bacterial resistance. The objectives are to describe the frequencies of the bacterial resistance phenotypes of microorganisms obtained from stool cultures of patients from the National Hospital Arzobispo Loayza. The design is non-experimental. Retrospective Transversal Descriptive was performed at the National Hospital Arzobispo Loayza Lima, Peru. Patient Records were used with request for stool from the National Hospital Arzobispo Loayza January-December 2017. A total of 100 positive cultures were obtained and obtained from a total of 100 positive cultures with isolation of microorganisms. In relation to the development of bacterial resistance phenotypes, detected that 37 isolates of enterobacteria developed a type of bacterial resistance (BLEE, AMPc or MBL), with respect to the frequency of bacterial resistance phenotypes, 31 isolated bacterial species developed ESBL, two bacterial species developed cAMP; and four species developed MBL. The results show that there is a similarity in the reported epidemiological data; In comparison with the data reported in the international literature, it is also advisable to continue monitoring studies of bacterial resistance in order to implement new policies

Key words: Phenotype, genotype, resistance, microorganisms, stool culture.

INTRODUCCIÓN

1. Antecedentes y fundamentación científica

1.1. Antecedentes

Antecedentes Internacionales

(Laín, Ruíz, & Mame, 2015). Realizaron un estudio de Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España). Se evaluaron 24058 muestras de heces para coprocultivo (46.6% de pediatría). Donde se encontró que el 9,6% de los coprocultivo fueron para una o varias bacterias enteropatógenas (el 14,8% de las muestras de adultos y el 51% de las muestras pediátricas). El 5% de las determinaciones de toxina A/B de *Clostridium difficile* fueron positivas (8,6% de las muestras pediátricas y 4,9% de las muestras de adultos). Se concluye que las bacterias más frecuentes aisladas, en niños como en adultos, fueron *Campylobacter* (el 49,9% de los positivos en niños y el 37,1% en adultos) y *Salmonella* (33,8% de los positivos en niños y el 32,9% en adultos). Por lo tanto, *Campylobacter jejuni* fue la especie más frecuente y el serotipo de *Salmonella* fue *Typhimurium*, seguido de *Aeromonas caviae*. Así mismo, se observa que *Salmonella* presenta una resistencia de ampicilina del 77%. La resistencia a amoxicilina/Clavulánico fue del 20%. La mayor resistencia de los serotipos *Typhimurium* fue 88% en comparación con el serotipo enteritidis 25%. Todos los serotipos presentaron una sensibilidad cercana al 100% a ciprofloxacino.

(Mengistu, Mulugeta, Lema, & Aseffa, 2014). Realizaron un estudio denominado Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Salmonella* serovars and *Shigella* species. Un estudio transversal realizado en Butajira, Etiopía central en 2014. Se obtuvo un total 382 muestras fecales del cual se aislaron 40 cepas de *Salmonella* (10.5%) y 17 cepas de *Shigella* (4.5%). En este estudio, las especies

de *Salmonella* se identificaron: 6 (15%) del grupo A (O: 2), 5 (12,5%) al grupo B (O: 4), D1 (O: 9) y D2 (O: 9,46) y 3 (7,5%) grupo C (O: 7/O8), mientras que 16 (40%) no se pudieron tipificar con los antisueros disponibles. Así mismo, las especies de *Shigella* más frecuentes aisladas fueron el Grupo D (*S. sonnei*) 6 (35,3%), seguido de serogrupo B (*S. flexneri*) 5 (29,4%), mientras que el serogrupo A (*S. dysenteriae*) con 3 (17.6%), y serogrupo C (*S. boydii*) 3 (17.6%) han demostrado la misma frecuencia. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana realizada a los aislados de *Shigella* spp. presentó una alta resistencia a la tetraciclina 14 (82.4%) y cotrimoxazol 13 (76,5%), y sensibilidad a CIP 15(88.2%), CRO 17(100.0%), los aislamientos de *Salmonella* spp. el nivel más alto de resistencia reportado a tetraciclina 21(52.5%), Ampicilina 24(60.0%), y se sensibilidad a CIP 15(88.2%), Ceftriaxona (CRO) 17(100.0%). El 53% corresponde a los aislados de *Shigella* fueron resistentes a múltiples medicamentos (MDR) (≥ 3 medicamentos) en comparación con los aislados de *Salmonella* que fueron el 27.5%. Se concluye que las especies de *Salmonella* y *Shigella* causan una importante morbilidad en las comunidades rurales. Es esencial establecer políticas de monitoreo de resistencia antimicrobiana en los hospitales rurales y hacerlas cumplir para prevenir el incremento de la resistencia.

(Tijerino Ayala, Bolaños Acuña, & Acuña Calvo, 2016). Realizaron un estudio denominado Emergencia de b-lactamasa AmpC plasmídica del grupo CMY-2 en *Shigella sonnei* y *Salmonella* spp. en Costa Rica, 2003-2015. con el objetivo de identificar AmpC plasmídicas en los aislamientos de *Salmonella* y *Shigella*, mediante un análisis retrospectivo de la información de la base de datos del Centro Nacional de Referencia de Bacteriología (CNRB) del Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (Inciensa). Se analizaron un total de 4363 aislamientos de *Shigella* y 1785 aislamientos de *Salmonella*, muestras provenientes de pacientes con diarrea. Se detectó 15 aislamientos de *Shigella sonnei* y 9 de *Salmonella* (cuatro de origen clínico humano y cinco de origen aviar) con sospecha de portar el fenotipo AmpC plasmídica, siendo confirmados la presencia del gen plasmídico blaCMY-2 por reacción en cadena de la polimerasa que

pertenecieron al tipo CMY-2. Los 24 aislamientos presentaron sensibilidad reducida a las cefalosporinas de tercera generación (C3G). Sin embargo, se descartó la presencia de BLEE. Todos los aislamientos presentaron sensibilidad a los carbapenemes (Imipenem, meropenem y ertapenem). En los 24 aislamientos de *Shigella sonnei* y *Salmonella* spp. se observó sinergia entre cefoxitina (FOX) y las C3G con el Ácido Fenil-borónico (APB). Los 15 aislamientos de *Shigella sonnei* fueron resistentes a Sulfametoxazol/Trimetroprima (SXT), 14 sensibles a Ciprofloxacino (CIP) y 1 con sensibilidad disminuida a este antibiótico. Con relación a *Salmonella*, 4 aislamientos correspondieron a las serovariedades *Salmonella cholerasuis* var. Kunzendorf, *Salmonella Bonariensis*, *Salmonella Oslo*, *Salmonella Typhimurium*; Así mismo, solo *Salmonella cholerasuis* var. Kunzendorf presentó sensibilidad disminuida a CIP, las demás serovariedades fueron sensibles a SXT y CIP.

(Manera, Aimaretto, & Raimondi, 2017). Realizaron un estudio sobre la prevalencia y resistencia antimicrobiana de *Shigella* en un Hospital Regional de Argentina con diseño de estudio descriptivo, retrospectivo y analítico, Con el objetivo de conocer la prevalencia de especies, serotipo y perfil de resistencia de *Shigella* spp aisladas de coprocultivos procesados en el Hospital Regional Pasteur de la ciudad de Villa María (Córdoba) durante los años 2010 a 2015. Se estudió un total de muestras procesadas (1728) de los cuales se obtuvieron 191 aislamientos de *Shigella* (11%), siendo las especies: *Shigella flexneri* (62%), *Shigella sonnei* (22%), *Shigella boydii* (6%) y *Shigella* spp (10%). Se observó que la especie con mayor predominio fue *Shigella flexneri*, seguido de *Shigella sonnei*. No se encontrando resistencia a Nitrofuranos, C3G, Fosfomicina y CIP. La resistencia global a Ampicilina y Trimetroprima/sulfametoxazol fue del: 53% y 40% respectivamente, siendo *Shigella boydii* la especie que presentara mayor porcentaje de resistencia: 91% y 100%.

(Naranjo López, 2016). Realizo un estudio denominado *Shigella* spp., determinación de los serotipos y perfiles de susceptibilidad antimicrobiana en el periodo 2009 – 2016, Quito-Ecuador. Llevado a cabo en el Instituto de Investigación en Salud Pública, con el objetivo de determinar los serotipos y los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* spp., Utilizando técnicas de disco difusión, serotipificación y técnicas moleculares para identificar las serovariedades de *Shigella flexneri*. Se analizaron un total de 117 cepas bacterianas obteniéndose como resultado que el serotipo más prevalente fue *Shigella flexneri* con un 73,5%, seguido de *Shigella sonnei* con un 25,6%, y finalmente *Shigella boydii* con un 0.8%. El análisis de resistencia antibiótica mostró que los aislados eran resistentes a la ampicilina en un 92.3%, Sulfametoxazol/trimetoprima con un 86,3%, tetraciclina un 93,2% y con sensibilidad intermedia a amoxicilina/clavulánico en un 82,1%; Así mismo, ceftazidima, Ceftriaxona, Cefotaxima y la Cefoxitin, ácido nalidíxico, Ciprofloxacino, Gentamicina, Amikacina y azitromicina, presentaron 100% de sensibilidad para todos las cepas de *Shigella* spp. Este estudio concluye que el serotipo más prevalente es *Shigella flexneri* seguido de *Shigella sonnei* y *Shigella boydii*, donde *Shigella dysenteriae* estaba ausente. Con respecto al perfil de resistencia de *Shigella* spp. Presenta resistencia ampicilina, tetraciclina y sulfametoxazol/trimetoprima estableciéndose como cepas multidrogoresistentes (MDR).

(Gallegos & Franklin, 2015). Realizaron un estudio de Resistencia bacteriana en pacientes atendidos con gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María, del Cantón el Chaco. Ecuador. Para la recopilación de la información se analizó las muestras de heces fecales de 30 pacientes con Gastroenteritis Agudas positivas para *Salmonella* spp., mediante análisis de Laboratorio como el examen coprológico y coproparasitario, se realizó un tamizaje con el fin de descartar otros agentes causantes de gastroenteritis, posteriormente se hizo el correspondiente coprocultivo para verificar o descartar si la bacteria causante de la patología es la *Salmonella* spp; consecutivamente a esto se realizó el antibiograma

rama para determinar la resistencia que presenta este microorganismo ante antibióticos de distintas familias como son la Ampicilina/Sulbactam, Gentamicina, Ciprofloxacino, Cloranfenicol, Ceftriaxona y Trimetroprima/sulfametoxazol. Los resultados obtenidos de acuerdo a los antibiogramas realizados a los coprocultivos los antibióticos presentaron la siguiente resistencia: Ampicilina/Sulbactam (33,33%); Gentamicina (13,33%), Ciprofloxacino (40%), Sulfametoxazol/Trimetroprima (40%), Ceftriaxona (6,66%) y Cloranfenicol (16,66%). Mediante este estudio microbiológico se identificó que el ciprofloxacino y el sulfametoxazol/trimetroprima son los principales agentes antimicrobianos a los cuales presentó mayor resistencia las cepas de *Salmonella* spp.

(Villacrés, Alcocer, & Zurita, 2015). Realizaron un estudio denominado Sensibilidad antimicrobiana y detección de genes de virulencia en aislados clínicos de *Shigella* spp. en Ecuador, Quito, con el objetivo de establecer la sensibilidad antimicrobiana y detectar genes de virulencia “Invasion plasmid antigen H“, ipaH; “Invasion-associated locus”, ial; “Shigella toxin” Stx; “Shigella enterotoxin 1A”, set1A; y “Shigella enterotoxin 1B”, set1B en cepas *Shigella* spp., Para dicho estudio se analizaron 79 muestras obtenidas de Zurita & Zurita Laboratorios y del hospital Vozandes. De los 79 aislados, 61 fueron de muestras fecales (77.20 %) y 18 muestras de secreciones vaginales (22.8 %). Del género *Shigella* se identificó las especies de *Shigella flexneri* 51 aislados (64.6%), *Shigella sonnei* 23 aislados (29.1%), *Shigella boydii* 5 aislados (6.3 %), y 0 % de aislados para *Shigella dysenteriae*. Los 51 aislados de *Shigella flexneri*, el 33 (64.7 %) fueron aislados de muestras fecales y 18 (35.3 %) de secreción vaginal. Los 23 aislados de *Shigella sonnei*, 23 (100 %) fueron aislados de muestras fecales. Los 5 aislados de *Shigella boydii*, el 100 % fueron aislados de muestras fecales. La sensibilidad a antimicrobianos, se observó que los 76 aislados (96.2 %) presentan resistencia a tetraciclina, 75 aislados (94.9 %) resistentes a ampicilina, 68 aislados (86.1 %) resistentes a trimetroprima/sulfametoxazol, 67 aislados (84.8 %) resistentes a cloranfenicol, 7 aislados (8.9 %) resistentes a ácido nalidíxico, 4 aislados (5.1 %) resistentes a

Nitrofurantoína y no encontrando aislamientos con resistencia a ciprofloxacino, azitromicina ni a Ceftriaxona. Se determinó la presencia de genes de virulencia por PCR., encontrando una alta prevalencia de los genes ipaH (91.1 %) e ial (82.3 %), los genes codificantes de enterotoxina 1 (set1A y set1B) se encontraron en un 35.4 %. Los resultados demuestran la existencia de multirresistencia a antibióticos y cepas virulentas.

Antecedentes Nacionales

(Colquechagua, Sevilla, & Gonzales, 2015). Realizaron un estudio sobre Enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú. Se analizaron muestras de heces recibidas entre julio de 2012 y marzo de 2013, se trabajó con colonias sospechosas de ser enterobacterias productoras de BLEE que se desarrollaron en el agar Karmali; se realizó la identificación bioquímica por métodos convencionales y la confirmación del fenotipo BLEE. Para confirmar la presencia del gen de betalactamasa de la familia CTX-M se realizó por PCR. Los resultados obtenidos de 235 muestras fecales se aislaron un 64,2% de enterobacterias productoras de BLEE siendo *Escherichia coli* (86,1%), *Klebsiella pneumoniae* (7,9%), *Salmonella* spp. (2,6%), *Enterobacter cloacae* (2,0%) y *Proteus mirabilis* (1,3%). El 89,1% de las enterobacterias productoras de BLEE presentaron el gen blaCTX-M. Se encontró una alta resistencia al ácido nalidíxico (84,8%), ciprofloxacino (74,2%), trimetoprima/sulfametoxazol (81,5%) y Amikacina fue de (1,3%); Así mismo, todas las enterobacterias fueron sensibles al imipenem y meropenem.

(Rondon Alvarez, 2014). Realizo un estudio denominado Patrones de sensibilidad de cepas de *Shigella* spp. Hospital I Carlos Alcántara Butterfield 2014. Siendo un estudio descriptivo, retrospectivo, transversal de casos, no experimental. Se evaluaron 72 cepas de *Shigella* y se determinaron los patrones de sensibilidad por el método de difusión en agar Kirby Bauer. Obteniendo como resultados que el

98,6% fueron sensibles a aztreonam, 97,2% a Acido nalidíxico, 94,1% a ceftazidima y 96,8% a ciprofloxacino. La resistencia a tetraciclina fue de 84,7%, ampicilina 72,9% y trimetroprima/sulfametoxazol 81,9%, Amoxicilina/Acido clavulánico 77,8%, cloranfenicol 56,9%, Furazolidona 25% y Gentamicina 13,9%. Los aislamientos de *Shigella* ninguno presentaron betalactamasas de espectro extendido. Concluye que el 81,4% de los aislamientos son multidrogoresistentes. Encontrando niveles elevados de resistencia al Sulfametoxazol/Trimetroprima, ampicilina y tetraciclina.

(Baca, Yupanqui, & Canales, 2013). Realizaron un estudio sobre serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* aisladas en un instituto de salud pediátrico de Lima, Perú. Se evaluaron 85 aislamientos de *Shigella* spp., identificados bioquímicamente y serológicamente el serogrupo y serotipo por el método de aglutinación en lámina. La susceptibilidad antibiótica, se determinó mediante el método de disco difusión en agar. De los 85 aislamientos de *Shigella* spp., se obtuvieron (62,3%) que correspondieron al *Shigella flexneri* (serogrupo B), *Shigella sonnei* (serogrupo D) 32,9% y *Shigella boydii* (serogrupo C) 4,8%, y ningún aislamiento de *Shigella dysenteriae* (serogrupo A). Respecto a los serotipos, en el grupo B, fueron 46% 1b, 36% 2a y 18% variante Y; en el grupo C fue C4 y en el grupo D todos fueron Fase I. La evaluación del perfil de susceptibilidad mostró que el 100% de las cepas fueron sensibles a aztreonam, ácido nalidíxico y ciprofloxacino; entre 80 y 90% fueron resistentes a trimetroprima/sulfametoxazol, ampicilina y tetraciclina. Se encontró que el serogrupo más frecuente fue *Shigella flexneri*.

1.2.Fundamentación científica

A. RESISTENCIA BACTERIANA

Los antibióticos han salvado millones de vidas, pero además han supuesto una revolución en la medicina pues han contribuido de forma muy significativa al

progreso en campo de la medicina (Ferrer & Almirante, 2013). Los antibióticos actúan sobre las bacterias patógenas (causantes de la infección) pero también sobre las comensales, que son muy mayoritarias, seleccionando cepas resistentes y genes de resistencia. Por tanto, la selección es por el uso tanto apropiado como inapropiado. Las infecciones causadas por bacterias resistentes se asocian a una mayor morbilidad, mortalidad y coste del tratamiento que las causadas por bacterias sensibles de la misma especie. En Europa en el 2007 se calcularon 400.000 infecciones por bacterias multirresistentes y 25.000 muertes atribuibles (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012).

Determinantes de la resistencia

Las bacterias no respetan fronteras y actualmente el mundo está hiperconectado (comercio de alimentos y animales, turismo, salud y negocios, emigración, refugiados, misioneros, militares en misiones en el exterior, etc.), por ello las cepas resistentes alcanzan cualquier lugar, por lo que el problema es global, como prueba de ello; se ha informado de una alta adquisición de enterobacterias portadoras de BLEE en viajeros a zonas con una elevada incidencia de estas bacterias, como es Asia (Egea, López, & Torres, 2012).

Otra vía posible es la de los animales de compañía a humanos y viceversa, los cuales pueden actuar como reservorio y potencial fuente de diseminación, pues se ha encontrado *Escherichia coli* productor de BLEE en heces de zorros salvajes SARM-CA (mediado por el gen *mecC*) en pequeños mamíferos salvajes y *Salmonella entérica* productora de la carbapenemasa NDM-1 en pájaros salvajes, sumado a ello la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos en aves migratorias podría favorecer la diseminación de la resistencia a larga distancia (Radhouani & Igrejas, 2013).

Cada vez más pruebas implican a los genes de resistencia de bacterias ambientales como el principal reservorio de los genes de resistencia de las bacterias

que colonizan e infectan a los humanos, aunque ambas comunidades tienen un conjunto muy importante de genes de resistencia distintos (Nesme, Cécillon, & Delmont, 2014). Actualmente se considera que genes de resistencia de origen ambiental, pueden evolucionar una vez que son adquiridos por bacterias patógenas o comensales del hombre o de animales pues la presión selectiva de los antibióticos por uso masivo en los últimos 70 años ha contribuido a la diversificación genética de los genes de resistencia, como puede verse en el número actual de betalactamasas TEM, al menos 187 descritas, cuando en 1982, antes de introducirse en la clínica las cefalosporinas de tercera generación, solo se conocían TEM-1 y TEM-2 (Corvec, Beyrouthy, Crémet, & Ghislain, 2013).

B. ENTEROPATOGENOS

Son microorganismos, como las bacterias, capaces de causar enfermedades en el tracto intestinal entre ellas tenemos:

1. *Salmonella* spp.

Salmonella es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, no producen esporas y generalmente son móviles, a excepción de los serotipos *Gallinarum* y *Pollurum*. Se comporta como patógeno intracelular facultativo. Su hábitat es el aparato gastrointestinal de los animales y el hombre, nunca como microbiota normal. Se encuentra asociada a problemas gastrointestinales, septicémicos y aborto gracias a su capacidad de invasión celular y sobrevivencia intrafagocítica. *Salmonella* forma parte del phylum Proteobacteria, clase Gamma-proteobacteria, orden Enterobacteriales, familia Enterobacteriaceae. Se divide en dos especies *Salmonella bongori* y *Salmonella entérica*. Esta última se subdivide en seis subespecies: entérica, salamae, arizonae, diarizonae, indica y houtenae; las *Salmonellas* de mayor importancia médica pertenecen a las subespecies entérica y arizonae y son consideradas serovars. Siendo la nomenclatura utilizada: *Salmonella entérica serovar Typhi*, *S. entérica serovar Paratyphi*, *S. entérica serovar Typhimurium* (Murray, Rosenthal, & Pfauer, 2007).

1.1. Serotipos de *Salmonella*

La serotificación está basado en antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsularer (K). Por esta vía se han identificado más de 30 serogrupos y más de 2,500 serotipos, que pueden ser móviles o inmóviles. Estas serovariedades se diferencian por la reacción con antisueros específicos frente a dos antígenos de la superficie bacteriana como el antígeno O que refleja la variación externa del Lipopolisacárido de la superficie bacteriana y el antígeno H que indica la variabilidad en la flagelina, proteína constituyente del flagelo bacteriano, con 46 y 115 formas antigénicas diferentes respectivamente. La mayoría de las cepas de *Salmonella* poseen dos genes que codifican para dos tipos distintos de flagelina, variantes del antígeno H denominadas H₁ y H₂. De esa manera, cada uno de los serotipos (serovares o serovariedades) es una combinación única de los antígenos O, H₁ y H₂ (Martinez, 2007).

Todo parece indicar que la penetración de *Salmonella* a la mucosa intestinal es esencial para causar infección letal, el hecho de bloquear la penetración a la mucosa intestinal al mutar genes involucrados en invasión permite obtener cepas atenuadas que pudieran ser utilizados como posibles inmunógenos. *Salmonella* produce efectos citotóxicos que resultan en la destrucción de las células M y la invasión de enterocitos adyacentes tanto por la cara apical como por la basolateral, induce apoptosis de macrófagos activados. *Salmonella entérica* serovar *Typhimurium* puede llegar a hígado y a bazo por una ruta alterna, que no requiere colonización intestinal o invasión de células epiteliales intestinales, la bacteria es llevada directamente del lumen intestinal a circulación, bazo e hígado por fagocitos que expresan CD18 (Sanchez & Cordova, 2003).

1.2. *Salmonella* spp. fármaco-resistente

Se define *Salmonella* multiresistente (MDR) cuando es resistente a amoxicilina, cotrimoxazol y cloranfenicol. Los mecanismos de resistencia de la

Salmonella MDR se han adquirido a través de la transferencia de plásmidos, los cuales fácilmente son transferidos entre especies producto de la presión antibiótica ya sea por el consumo de los humanos o por uso veterinario. La ciprofloxacino se ha convertido en el tratamiento de elección de la Fiebre tifoidea, así como de las infecciones causadas por *Salmonella* no *Typhi* (SNT). Las fluoroquinolonas son alternativas eficientes en el tratamiento de estas infecciones en virtud de su actividad intrínseca en la familia Enterobacteriaceae. Las bacterias como la *Salmonella* que presenten susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino, son resistentes al ácido nalidíxico; Por lo tanto, la resistencia a este último puede usarse como predictor de susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino. Los mecanismos de resistencia a las quinolonas están determinados por la presencia de mutaciones a nivel del sitio blanco de las quinolonas, la DNA girasa (en la región determinante de la resistencia a quinolonas es la subunidad A) y/o de la topoisomerasa IV (Maguiña, 2013).

2. *Shigella* spp.

El género *Shigella* está formado por bacilos Gramnegativos inmóviles, anaerobios facultativos no esporulados, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. Son oxidasa negativa, no fermentación de lactosa, sin producción de gas y son lisina-descarboxilasa negativa. Posee capacidad patógena, causando enteritis invasora caracterizada por producir dolor abdominal, cólico, diarrea y fiebre. El evento fundamental en la patogénesis de *Shigella* es su habilidad para invadir y colonizar el epitelio intestinal humano, en donde causa respuesta inflamatoria aguda con infiltración de polimorfonucleares (PMN). La mayoría de los determinantes de virulencia responsables de la invasión a las células epiteliales, están codificados en un plásmido de 213 kb que es exclusivo de las cepas virulentas de *Shigella* y de *E. coli* enteroinvasiva (Drew, Ahmad, & Plorde, 2010).

2.1. Subgrupos de *Shigella*

Shigella sonnei, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella dysenteriae* y 43 serotipos que se diferencian entre sí por sus características bioquímicas (como fermentación del manitol y producción de indol) y estructura antigénica (como el antígeno O de la capa de lipopolisacáridos en la superficie celular bacteriana). Todas las especies presentan antígeno O, termoestable y pueden o no poseer antígeno K, termolábil. Este último no interviene en la serotificación, pero puede interferir en la determinación del antígeno O, lo cual se evita mediante la ebullición de la suspensión del cultivo. Cada serogrupo puede subdividirse en tipos (serotipos), en base a variantes del antígeno O, estos serotipos se designan mediante números arábigos (Baca, Yupanqui, & Canales, 2013).

La shigelosis es una infección invasora cuya virulencia está codificada por plásmido de gran tamaño 120 MDa, en *S. sonnei* y de 140 MDa, en el resto de especies de *Shigella* que contienen genes (operón Ipa) que codifican la producción de proteínas (antígenos de invasión plasmídica), como el IpaA, IpaB, IpaC e IpaD necesarias para la adhesión epitelial, invasión y expansión de la bacteria a los macrófagos de la mucosa. La infección bacteriana y la lesión tisular, conlleva a la diarrea y patología típica de shigelosis, pero, particularmente las toxinas producidas por *Shigella*, como las enterotoxinas 1 y 2, producen secreción de fluidos intestinal, además la toxina Shiga, producido sólo por *S. dysenteriae* serotipo 1 es citotóxica para una variedad de células y responsable del desarrollo de lesiones vasculares en el colon, riñones y sistema nervioso central (Gerrero, Guillén, Rojas, Bravo, & Muñoz, 2013).

3. *Aeromonas* spp.

El género *Aeromonas* pertenece a la categoría de familia Aeromonadaceae. Las características del género refieren que son bacilos cortos 0.3-1.0 x 1.0-3.5 µm, Gram negativos, todas las especies excepto *Aeromonas salmonicida* y *Aeromonas media* son móviles gracias a un flagelo polar, son aerobios facultativos, oxidasa y catalasa positivos, reducen nitrato a nitrito y fermentan la D-glucosa como fuente principal de carbono y energía. La *Aeromonas* producen varias exoenzimas como: proteasas,

DNasas, RNasas, elastasas, lecitinasas, amilasas, gelatinasas y lipasas, entre otras, muchas de ellas considerados factores de virulencia (Murray, Rosenthal, & Pfauer, 2007).

Clasificación

El género incluye en la actualidad a 14 especies: *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandaei*, *A. encheleia*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila* y *A. popoffii*. La especie *A. veronii* tiene dos biotipos *A. veronii* bt. *sobria* y *A. veronii* bt. *veronii*, siendo el primero el comúnmente asociado a cuadros diarreicos. Otras especies tales como *A. ichtiosmia* y *A. enteropelogenes* han sido consideradas en base a los perfiles de ácidos grasos, fenotipo y secuenciación del gen 16S RNA como sinónimos de *A. veronii* y *A. trota* respectivamente (Latif E, 2015).

Las Aeromonas también producen una gran cantidad de enzimas extracelulares que degradan activamente complejos proteicos, polisacáridos, mucopolisacáridos y moléculas que contienen lípidos. Estas enzimas son útiles en la identificación de la bacteria, en sus funciones fisiológicas y son considerados frecuentemente factores asociados a la virulencia (Castro, 2002).

C. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA

El fenotipo de resistencia es perceptible por la presencia de uno o más mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en la bacteria. Las bacterias Gram negativas tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica, los mecanismos de resistencia más prevalentes en las bacterias Gram negativas son:

- a. Bombas de expulsión
- b. Cambios en la permeabilidad de la membrana externa
- c. Alteraciones del sitio de acción

d. Modificación enzimática del antibiótico

a. **Bombas de expulsión**

Actúan tomando el antibiótico del espacio periplásmico y expulsándolo al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción o blanco. Este mecanismo es frecuentemente utilizado por las bacterias Gram negativas. Mecanismo descrito en tetraciclinas, macrólidos y quinolonas (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

b. **Cambios en la permeabilidad de la membrana externa**

Las bacterias pueden generar cambios de la bicapa lipídica, aunque la permeabilidad de la membrana se ve alterada, principalmente, por cambios en las porinas. Las porinas son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos, los antibióticos. Los cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico. Membrana externa de las bacterias Gram negativas que trabajan como filtros en una membrana permeable. Además, poseen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria; Por lo tanto, los antibióticos β -lactámicos penetran a través de estos canales (porinas); cuando se pierde una porina por mutaciones, aumentan la concentración inhibitoria mínima (CIM) para el antibiótico. Los carbapenemes, como el imipenem y el meropenem, utilizan una porina específica llamada OprD. La OprD puede cerrarse durante la terapia con carbapenemes, lo que lleva a una resistencia (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

c. **Alteraciones del sitio de acción**

Las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria para interrumpir una función vital de ésta. Las bacterias Gram positivas son las generadoras principales de cambios estructurales en los sitios de acción de los antibióticos β -lactámicos a nivel de las proteínas unidoras de penicilinas (PBP), de esa forma impiden la unión del antibiótico con PBP; Por lo tanto, mantienen la integridad de la pared celular. Las alteraciones estructurales secundarias a mutaciones pueden disminuir la afinidad de los β -lactámicos por las proteínas unidoras de penicilinas al permitir que la bacteria continúe con su pared y sobreviva. Otro sitio de acción de los antibióticos es la síntesis de proteínas. Este proceso puede inhibirse al atacar los componentes nucleares de la replicación del ADN y la transcripción del ARN (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

El mecanismo de resistencia a los antibióticos más frecuente en bacterias Gramnegativas es la producción de β -lactamasas (Murray, Rosenthal, & Pfauer, 2007).

d. Modificación enzimática del antibiótico

Las bacterias expresan enzimas como las β -lactamasas con capacidad de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad, mediante la hidrólisis del anillo β -lactámico que poseen los antibióticos de esta familia. También pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

6.1. BETALACTAMASAS

Son enzimas, producidas por bacterias con peptidoglucano, utilizadas para defenderse de antibióticos betalactámicos, o bien son utilizadas por la bacteria para sintetizar su pared bacteriana. Constituyen la mayor causa de resistencia bacteriana hacia antibióticos con anillos betalactámicos. Estas enzimas son codificadas genéticamente, pueden ser constitutivas o inducidas, pueden estar incorporadas en el

cromosoma bacteriano o localizarse en un plásmido. Para llevar un registro de las betalactamasas se les han dado nombres (TEM-1, TEM-2, OXA, SVH, etc.) y los sistemas de clasificación creados se basan en detalles de su acción, perfiles de sustratos y posibilidad de inducción. (Abarca & Herrera, 2001).

4.1.1. Clasificación de BETALACTAMASAS

La clasificación creada por Ambler, en 1980, clasifica a las betalactamasas basadas en la estructura molecular y la secuencia de aminoácidos de las betalactamasas. Esta reconoce 4 grupos moleculares denominados; A, B, C y D. Los grupos A, C, D son serin-betalactamasas, que contienen una serina en su centro activo y el grupo B son metalo-betalactamasas (MBL) poseen una o más moléculas de zinc (metaloenzimas). La clasificación más utilizada en la actualidad desarrollada por Bush, Medeiros y Jacoby, (1995), está basada en los sustratos de las enzimas hidrolizan y en la inhibición de su actividad por el ácido clavulánico, EDTA, aztreonam u oxacilina. (Abarca & Herrera, 2001). En esta clasificación se definen 4 grupos:

Grupo I.

Las betalactamasas de este grupo se corresponden con la clase molecular C de Ambler. Son cefalosporinasas, a menudo cromosómicas, pero pueden ser plasmídicas. Pertenecen a este grupo cefalosporinasas que no son inhibidas por el ácido clavulánico. Presentan resistencia a todos los betalactámicos, excepto carbapenémicos (a no ser que coexistan alteraciones en las porinas); dentro de este grupo se encuentran las betalactamasas tipo AmpC.

Grupo II.

En este grupo se incluye a enzimas como Penicilinasas, cefalosporinasas o ambas que son sensibles a la acción de los inhibidores de betalactamasas y que se relaciona con las clases A (la mayor parte) y D de Ambler. En su mayoría son plasmídicas.

Sub-grupo 2a: Se relaciona con las clases A de Ambler. Incluye a las Penicilinasas. Incluye las de *Enterococcus* y *Staphylococcus*. Resistencia a penicilinas. Inhibidas por ácido clavulánico.

Sub-grupo 2b: Se relaciona con las clases A de Ambler. Incluye betalactamasas de amplio espectro (Penicilinasas y cefalosporinasas, inhibidas por ácido clavulánico, generalmente plasmídicas y constitutivas.), incluyendo TEM-1 y SHV-1.

Sub-grupo 2be: Se relaciona con las clases A de Ambler. Incluyen a betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Resistencia a oximino-cefalosporinas y a monobactámicos (aztreonam).

Sub-grupo 2br: Se relaciona con las clases A de Ambler. Derivadas estructuralmente del grupo 2b, con actividad penicilinasas, son de tipo plasmídica, con una reducida afinidad por el ácido clavulánico y otros inhibidores. Incluyen a betalactamasas Resistentes a los inhibidores como el ácido clavulánico y sulbactam, pero sensibles a tazobactam.

Sub-grupo 2c: Se relaciona con las clases A de Ambler. Incluye enzimas hidrolizantes de carbenicilina, con algún efecto sobre cloxacilina. Estas enzimas tienen actividad sobre las penicilinasas, y en especial a carbenicilinasas, inhibidas por ácido clavulánico, de codificación generalmente plasmídica y solo ocasionalmente cromosómica.

Sub-grupo 2d: Se relaciona con las clases D de Ambler. Incluye enzimas hidrolizantes de cloxacilina (oxacilinasas) fundamentalmente, con algún efecto sobre carbenicilina. Inhibidas escasamente por ácido clavulánico. Algunas son BLEE (BLEE tipo OXA). Codificación en general plasmídica.

Sub-grupo 2e: Se relaciona con las clases A de Ambler. Incluye cefalosporinas y aztreonamasas. Son inhibidas por ácido clavulánico. Codificación cromosómica o plasmídica.

Sub-grupo 2f: Se relaciona con las clases A de Ambler. Incluye a Serina- β -lactamasas y carbapenemasas. Son inhibidas débilmente por ácido clavulánico. Codificación cromosómica e inducible.

Grupo III.

Se relaciona con la clase molecular B de Ambler. Son MBL que requieren la unión con Zn^{+2} en su centro activo para su actividad y son inhibidas por agentes quelantes como el EDTA, pero no se inhiben por el ácido clavulánico o por tazobactam. Son capaces de hidrolizar diferentes tipos de sustratos. En su mayoría son cromosómicas.

Grupo IV.

Son penicilinasas que no son inhibidas por ácido clavulánico. Son poco estudiadas por lo que no se ha determinado su clase molecular. Se incluyen en este grupo la penicilinasa cromosómica.

6.2. Genes de Resistencia Betalactámicos

Las BLEE surgen principalmente debido a mutaciones en betalactamasas codificadas por el gen *bla* SHV, *bla* TEM, y *bla* CTX-M. Se han identificado cerca de 300 variantes naturales de genes BLEEs, tales como tipo TEM, tipo SHV, tipo CTX-M, tipo OXA y de otros tipos de BLEEs. Estos genes son transmitidos a través de plásmidos y por lo general se encuentran en transposones e integrones, facilitando su movilización con otro mecanismo de resistencia. Los genes plasmídicos que determinan las BLEE contienen con frecuencia otros genes de resistencia para antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol, los cuales pueden ser transferidos horizontalmente entre e intraespecies, siendo la transferencia

más frecuente los genes TEM, SHV y CTX-M entre otros. Las BLEE tienen su origen en su mayoría de las betalactamasas clásicas TEM y SHV, las cuales surgen a partir de una serie de mutaciones puntuales que alteran su centro activo, como respuesta a la presión selectiva ejercida por el amplio uso de las cefalosporinas de tercera generación, así modificando su perfil de sustrato y mejorando su capacidad de hidrólisis frente a los betalactámicos (López, Torres Caycedo, & Prada Quiroga, 2016).

Un grupo de betalactamasas de tipo AmpC están codificadas por genes *blaAmpC* asociados a integrones, como los de clase 1, o transposones localizados en plásmidos conjugativos (AmpC plasmídicas). Estos genes *blaAmpC* plasmídicos proceden del cromosoma bacteriano y se clasifican en 6 familias que se diferencian por la homología de sus genes: CIT (derivadas de la AmpC cromosómica de *Citrobacter freundii*), DHA (derivadas de la AmpC cromosómica de *Morganella morganii*), ACC (cuyo origen está relacionado con la AmpC cromosómica de *Hafnia alvei*), FOX (derivadas de la AmpC cromosómica de *Aeromonas media*), MOX (derivadas de la AmpC cromosómica de *Aeromonas caviae*), EBC (derivadas de las AmpC cromosómicas de *E. cloacae* y/o *E. asburiae*). Las AmpC plasmídicas se han descrito principalmente en algunas especies de enterobacterias (*Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*, *Shigella*). La producción de betalactamasas de tipo AmpC plasmídicas puede dar lugar a fracasos terapéuticos, similares a los descritos en infecciones causadas por aislados hiperproductores de AmpC cromosómica inducible (selección de mutantes con des-represión estable) en tratamientos con betalactámicos (Calvo, Cantón, Fernández, C, Mirelis, & Navarro, 2011).

6.3. Genes de carbapenémicos

La producción de betalactamasas tipo carbapenemasas es un mecanismo de resistencia de gran importancia en bacilos Gram negativo. La codificación genética

de las betalactamasas se realiza generalmente por genes que están localizados en el cromosoma bacteriano o en elementos genéticos móviles como los integrones asociados a plásmidos conjugativos, dentro de las principales sobresalen las de tipo IMP (imipenemasa), VIM (Verona Integrón-encoded Metallobetalactamase) y NDM (metalobetalactamasa Nueva Delhi). Dentro de las MBL transferibles, se distinguen nueve grupos: IMP, VIM, SPM, GIM, AIM, NDM, SIM, DIM y KHM (Navarro, Calvo, Fernández, C, & Mirelis, 2011).

6.4. Tipos de Betalactamasas

6.4.1. Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA)

6.4.2. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

6.4.3. Betalactamasas tipo AmpC

6.4.4. Carbapenemasas

4.4.1. Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA)

Las primeras betalactamasas reconocidas fueron las penicilinasas, que no afectan a los microorganismos gramnegativos. Luego de la introducción de la ampicilina en los inicios del decenio de 1960, se describió una betalactamasa que la hidrolizaba, que se denominó betalactamasa TEM-1 (Mosquito, Ruiz, Bauer, & Ochoa, 2011). Posteriormente, se descubrió una enzima relacionada, la TEM-2. En aislados de *Klebsiella pneumoniae* se encontró otro tipo de betalactamasa denominado SHV-1, que si bien inicialmente fue cromosómica, hoy en día es codificada generalmente en plásmidos transferibles. Estas betalactamasas son capaces de hidrolizar a las aminopenicilinas y frecuentemente, pero no siempre, a los antibacterianos descubiertos posteriormente, como las cefalosporinas de primera generación, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. Dado que estas betalactamasas ampliaban el espectro de hidrólisis de la penicilinasas, se las denominó betalactamasas de espectro ampliado (BLEA). Pronto se comprobó que los

inhibidores de betalactamasas, como el clavulanato, sulbactam y tazobactam, eran capaces de unirse irreversiblemente a las BLEA. Sin embargo, las BLEA no afectan a las oximinocefalosporinas de tercera y cuarta generación. Las BLEA son casi siempre de codificación plasmídica y transferibles a otras bacterias por conjugación (Casellas, 2011).

4.4.2. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

En 1983, Knothe y Shah aislaron una cepa de *Klebsiella ozaenae* resistente a cefotaxima; la enzima tenía propiedades relacionadas con la BLEA SHV-1. Esta nueva betalactamasa fue denominada SHV-2. Posteriormente, surgió una serie de nuevas betalactamasas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de tercera y cuarta generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime) y los monobactámicos como el aztreonam, pero no afectan las cefamicinas (cefoxitina, cefotetán), ni los carbapenémicos (Meropenem, imipenem, ertapenem), a su vez como característica son inhibidos por el clavulanato (García, 2013). Como se extendió el espectro de la hidrólisis con respecto a las BLEA, fueron denominadas betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Las BLEE, son de codificación plasmídica, y transferibles a otras bacterias por conjugación, lo que facilita su rápida dispersión y con frecuencia presentan resistencia a otros antibacterianos como aminoglucósidos, cotrimoxazol y quinolonas. Estas Enzimas presentan una característica principal, que es inhibida in vitro por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam que permiten recuperar la actividad de las penicilinas (Martínez, 2003).

Detección Fenotípica

La detección de BLEE se basa en la capacidad de estas enzimas de hidrolizar las cefalosporinas de tercera (ceftazidima y cefotaxima) y cuarta generación (cefepime) y los monobactámicos (aztreonam), discos que colocados de forma estratégica junto a ácido clavulánico (AMC), se observa una deformación/sinergia (efecto huevo) del halo de inhibición de la cefalosporina significativo de la presencia de BLEE (Método de sinergia de doble disco) **Fig 1**; Por lo tanto, se recomienda interpretar los resultados del antibiograma para penicilinas, cefalosporinas y

aztreonam como resistentes si se confirma la presencia de una BLEE. (Navarro, Calvo, Fernández, C, & Mirelis, 2011).

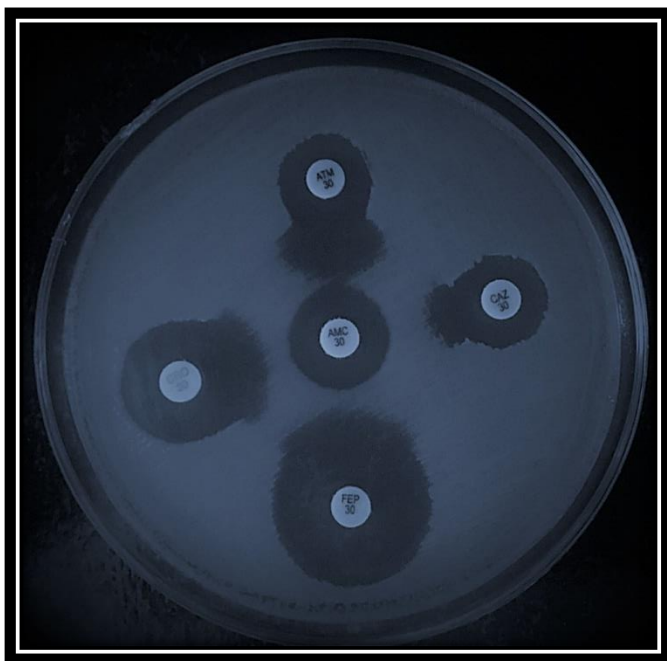


Fig 1 Detección de Betalactamasa tipo BLEE en *Klebsiella pneumoniae*. Antibiograma de Kirby-Bauer en agar Müller Hinton con disposición estratégica de sensibilizadores de Cefotaxima, ceftriaxona, cefepime, aztreonam y Amoxicilina/clavulánico en el centro, incubado por 16 horas a 35°C. En el fenotipo se observa deformación/sinergia (efecto huevo) del halo de inhibición de la cefalosporinas y del monobactam significativo de la presencia de BLEE.

Cortesía del servicio de Microbiología - HNAL 2018.

6.4.5. Betalactamasas tipo AmpC

Los métodos fenotípicos resultan útiles en cepas que no tienen una AmpC cromosómica natural (*S. entérica*) o en aislados que tienen una AmpC cromosómica intrínseca no inducible. La presencia de AmpC plasmídica debe sospecharse cuando estos aislados presenten un patrón de resistencia a betalactámicos (fenotipo AmpC) diferente al de su respectivo fenotipo salvaje o de resistencia natural. Las AmpC plasmídica es una betalactamasa que tiene fenotipo característico que hidrolizan aminopenicilinas, cefalosporinas de primera (cefalotina) y segunda generación (cefuroxima), cefamicinas (cefotaxima y cefotetán) y menor actividad sobre cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) ,

mientras que son no son eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación (cefepime y cefpiroma) y los carbapenémicos (imipenem y meropenem). El espectro de hidrólisis podría ampliarse y afectar a cefalosporinas de cuarta generación (AmpC de espectro extendido) siendo estos casos muy raros (Navarro, Calvo, Fernández, C, & Mirelis, 2011).

Detección Fenotípica

La betalactamasa tipo AmpC se confirma su actividad enzimática mediante el método de doble disco mediante el uso de cefoxitina y ácido borónico (Método de sinergia de doble disco positiva entre cefalosporina de tercera, cefoxitina y ácido Borónico), inhibiendo específicamente a las betalactamasas de tipo AmpC, siendo la cefoxitina un marcador fenotípico muy utilizado para diferenciar la producción de AmpC de BLEE ya que la presencia simultánea de otros mecanismos de resistencia a betalactámicos, como la producción de BLEE o la pérdida de porinas, dificulta la interpretación de las pruebas fenotípicas de detección de AmpC plasmídica; Así también, el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores de betalactamasa tipo AmpC siendo los marcadores de mayor utilidad la sensibilidad intermedia o resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico y a algunas de las cefalosporinas de tercera generación (**Fig 2**) (Seral, G, Pardos, D, & Castillo, G, 2010).



Fig 2 Detección de Betalactamasa tipo AmpC plasmídica en *Klebsiella pneumoniae*. Antibiograma de Kirby-Bauer en agar Müller Hinton con disposición estratégica de sensibilizadores de Cefotaxima, ceftriaxona y ácido borónico en el centro, incubado por 16 horas a 35°C. En el fenotipo se observa que el ácido Borónico inhibe específicamente a las betalactamasas de tipo AmpC provocando deformidad en los halos de ceftazidima y ceftriaxona.

6.4.6. Carbapenemasas

Las carbapenemasas son beta-lactamasas con capacidad hidrolítica sobre las penicilinas, y en la mayoría a las cefalosporinas y los carbapenemes. Estas enzimas, que conferir resistencia a todos los beta-lactámicos, con excepción del aztreonam, que no son hidrolizadas por las metalo-betalactamasas (MBL) siendo resistentes a múltiples antimicrobianos las como: Las fluoroquinolonas, aminoglucósidos y el cotrimoxazol, reduciendo las opciones de tratamiento a colistina, aztreonam, fosfomicina y tigeciclina; Sin embargo, las carbapenemasas tipo KPC(Klebsiella productora de carbapenemasa) posee actividad hidrolítica extrema sobre las penicilinas. Cefalosporinas de espectro reducido y ampliado, monobactames y carbapenemes. Los genes KPC se encuentran en elementos móviles con capacidad elevada de diseminación a otras bacterias Gramnegativas por transmisión horizontal, debido a esta capacidad se le considera de alto riesgo (Cercenado, 2015).

Clases de Carbapenemasas

a. Clase A

Las carbapenemasas de la clase A, que pertenecen al grupo 2f de Bush-Jacoby 14, se pueden dividir en 5 grupos en base a su filogenética: GES, KPC, SME, IMI y NMC-A, siendo las enzimas SME, NMC e IMI codificadas por el cromosoma bacteriano mientras que las enzimas GES y KPC codificadas por plásmidos.

b. Clase B o MBL

Las MBL son las carbapenemasas con más diversidad a nivel molecular y con más impacto en la clínica. Pertenecen al grupo 3 de Bush-Jacoby. Las primeras MBL

detectadas y estudiadas fueron enzimas cromosómicas presentes en las bacterias ambientales y oportunistas *Bacillus cereus*, *Aeromonas* spp. y *Stenotrophomonas maltophilia*. Existen al menos 9 tipos de MBL adquiridas, aunque las más comunes se incluyen en las familias VIM (con 25 tipos descritos), IMP, GIM, SIM y NDM. El sitio activo de estas enzimas contiene un ion (o iones) de Zn^{+2} , en lugar de serina como en las enzimas de la clase A y D, esencial para el ataque nucleofílico del anillo β -lactámico. Las MBL pueden hidrolizar todos los betalactámicos excepto el aztreonam. No son inhibidas por el ácido clavulánico ni por el tazobactam, pero sí por agentes quelantes como el EDTA (**Fig 3**).

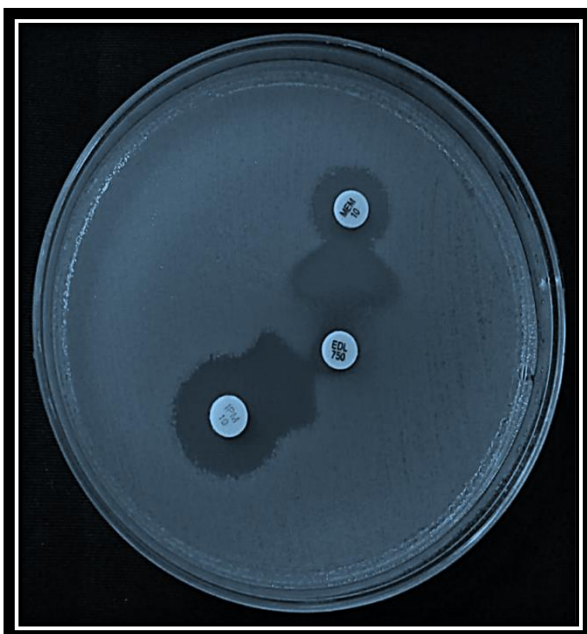


Fig. 3. Test de inhibición del EDTA. Cepa de *Aeromonas* spp. productora de carbapenemasa tipo Metalo Beta-lactamasa (MBL) mediante el uso del inhibidor EDTA (Ácido etilendiaminotetracético).

Antibiograma de Kirby-Bauer con cepa *Aeromonas* spp. en agar Müller Hinton con disposición estratégica de sensidiscos de Imipenem, Meropenem y EDTA, incubado por 16 horas a 35°C. Se observa una sinergia entre los sensidiscos con deformidad en los halos de inhibición. Cortesía del servicio de Microbiología - HNAL 2018.

c. Clase D u Oxacilinas

Las carbapenemasas de la clase D pertenecen al grupo 2df de Bush-Jacoby. Se pueden dividir en varios grupos según la homología de la secuencia: OXA-23 (que incluye a OXA-27 y OXA-49), OXA-24 (que incluye OXA-25, OXA-26 y OXA-40), OXA-48 (que incluye OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232), OXA-58, OXA-72 y OXA-143, los que pueden estar codificadas en el cromosoma o en plásmidos. Los plásmidos que contienen los genes *bla*OXA-48 están relacionados con las secuencias de inserción IS1999, una IS4 responsable en la movilización y expresión de los genes de resistencia a Betalactámicos (Pena, 2015).

Detección de Carbapenemasas

La detección de la presencia de una EPC (Cepas productoras de carbapenemasas) requiere un análisis del antibiograma manual o automatizado para observar la sensibilidad o resistencia a todos los beta-lactámicos, la implementación con métodos fenotípicos de cribado y la confirmación mediante detección de la hidrólisis de los carbapenemes, la inhibición de la actividad enzimática con inhibidores específicos y la diferenciación del tipo de carbapenemasa mediante métodos moleculares basados principalmente en técnicas de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). Las EPC portadoras de enzimas de tipo KPC suelen presentar valores elevados de concentración mínima inhibitoria (MIC) de carbapenemas, cefalosporinas y aztreonam, mientras que en las portadoras de enzimas de tipo metalo-beta-lactamasas, los valores del MIC son inferiores y presentan sensibilidad a aztreonam. Finalmente, las EPC portadoras de la enzima OXA-48, suelen aparecer como sensibles en el antibiograma a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, al aztreonam y también a las carbapenemas, con la excepción de ligeras elevaciones de MIC en el caso de ertapenem, pero presentan elevada resistencia a amoxicilina/clavulánico y a piperacilina/tazobactam (Cercenado, 2015).

1. Métodos Fenotípicos

Estos métodos detectan la producción de una carbapenemasa por una cepa productora de esta enzima. En contraste con las técnicas moleculares tienen la ventaja de que no sólo detectan las carbapenemasas conocidas, sino que son capaces de detectar nuevas carbapenemasas. El principal inconveniente es que no son capaces de identificar con precisión la carbapenemasa producida (Calvo, Cantón, Fernández, C, Mirelis, & Navarro, 2011).

1.1. Test de Hodge modificado (THM)

Es un método basado en la degradación de un carbapenémico por una cepa productora de carbapenemasa que permite que una cepa sensible a carbapenémicos se extienda creciendo más cerca del disco que contiene el carbapenémico, distorsionando el halo de inhibición. (Fig 3).

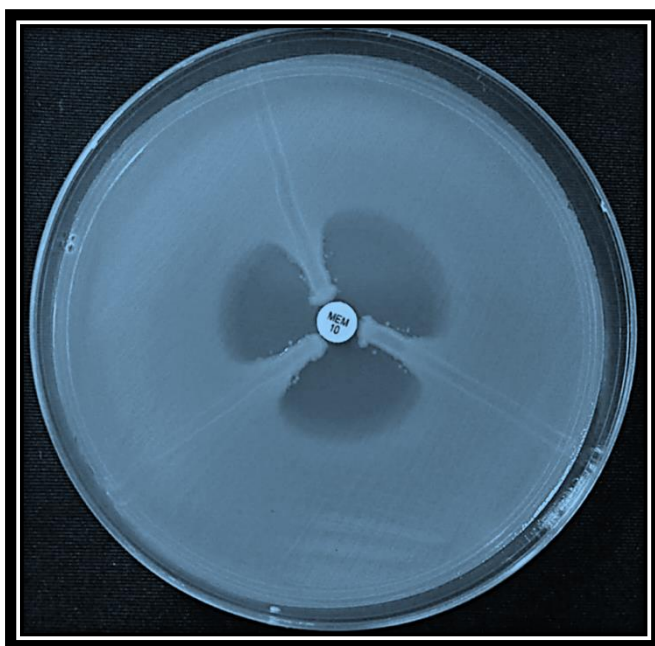


Fig 4. Test de Hodge Modificado. Cepa de *Escherichia coli* productora de Carbapenemasa con capacidad para reducir el halo de inhibición de Meropenem teniendo como modelo una *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Cortesía del servicio de Microbiología - HNAL 2018.

1.2. Métodos de sinergia con EDTA

Se utilizan para la detección de MBL el EDTA (Etilen-diamino-tetra-acético) que es un compuesto que se une al centro activo de las enzimas de clase B de Ambler que contiene iones de Zn^{+2} . Mediante el uso de EDTA se detecta la carbapenemasa tipo MBL (VIN, NDM, etc.) y mediante el método de Kirby-Bauer el microorganismo problema se coloca en la superficie del agar Müller Hinton con los sensidiscos de Imipenem, Meropenem y EDTA a una distancia 15mm de distancia de centro a centro.

1.3. Método de sinergia con Ácido Borónico APB

Mediante el uso de Ácido Borónico que detecta la carbapenemasa tipo serina (KPC) y haciendo uso del método de Kirby-Bauer, se coloca el microorganismo problema en la superficie del agar Müller Hinton con los sensidiscos de Imipenem, Meropenem, ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima y APB a una distancia 15mm de distancia de centro a centro.

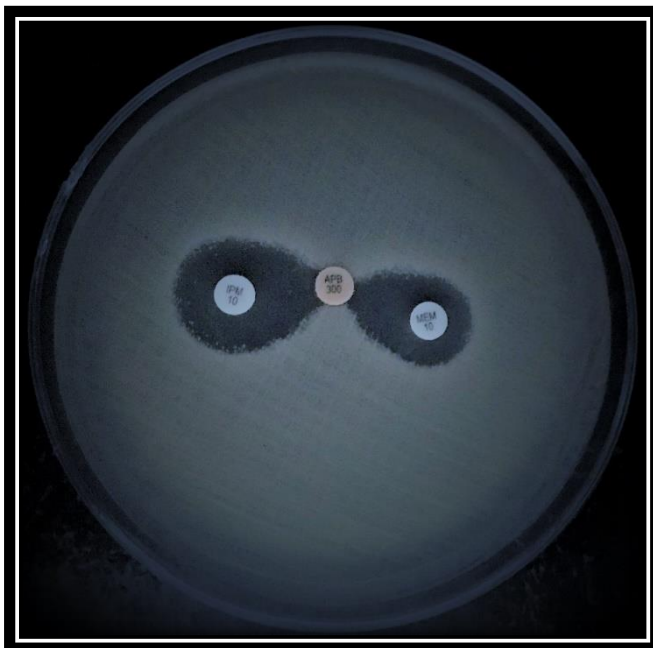


Fig 5. Test de sinergia con Ácido Borónico. Cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de Carbapenemasa (KPC). En el fenotipo se observa una deformidad de los halos de inhibición de Imipenem y meropenem provocados por Acido borónico.

Cortesía del servicio de Microbiología - HNAL 2018.

2. Métodos Automatizados

2.1 Phoenix® (BD)

El uso del panel PID es para la identificación de bacterias grampositivas y el panel NID para la identificación de bacterias Gramnegativas, y para el antibiograma los paneles PMIC-100 (que por sus siglas en inglés se refiere al panel para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de grampositivos) y NMIC-101 (para gramnegativos). El inóculo se prepara en el caldo Phoenix ID broth SP1 y se ajusta a 0.5 del estándar de McFarland (5×10^5 UFC) utilizando el nefelómetro

PhoenixSpec® (BD), posteriormente se adicionaron 25µL de la suspensión bacteriana al caldo Phoenix AST broth SP, suplementándolo con una gota del indicador AST Phoenix (indicador de óxido reducción basado en azul de Alamar). Los resultados de susceptibilidad han sido interpretados por el sistema de expertos de Phoenix (BDXpert®) (Sierra, Cerros, & Perez, 2007).

D. COPROCULTIVO

Es el método de elección para el diagnóstico de las infecciones bacterianas intestinales. Será en las enteritis graves en las que esté indicado un estudio microbiológico, tanto para tratar con antimicrobianos específicos contra el agente causal como para evitar o bloquear la difusión del microorganismo. El síndrome diarreico es una causa frecuente de consulta, hospitalización e incapacidad. El diagnóstico etiológico y diferencial permite la instauración de una terapia apropiada y oportuna dirigida al agente causal y de soporte para evitar las complicaciones derivadas del mismo. En algunas ocasiones requiere la aplicación de técnicas adicionales como coloraciones o determinación de copro-antígenos. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella*, *Shigella* y *Aeromonas spp.* especies se recomienda la aplicación de las normas CLSI-M100 (CLSI, 2018).

2. Justificación de la investigación

La introducción de los antibióticos en la práctica clínica supuso una de las intervenciones más importantes para el control de las enfermedades infecciosas. Los antibióticos han salvado millones de vidas, y además han supuesto una revolución en la medicina. Sin embargo; una amenaza creciente deteriora la eficacia de estos fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos, que se define como la capacidad de una bacteria para sobrevivir en concentraciones de antibiótico que inhiben a otras de la misma especie. El incremento de la resistencia bacteriana por la presión selectiva que representa la utilización de antibióticos a gran escala, sobre todo en

nuestros hospitales, ha permitido la diseminación de cepas con mecanismos de resistencia que, en muchas ocasiones, nos dejan prácticamente sin alternativas para el tratamiento de las infecciones bacterianas. La resistencia a los antimicrobianos reduce las posibilidades de tratamiento eficaz de enfermedades, prolonga el tiempo de agonía de los enfermos y los obliga a utilizar medicamentos costosos, además de alargar el tiempo de hospitalización y aumentar el riesgo de mortalidad.

La prevalencia de la resistencia no solo ha aumentado en bacterias causantes de infecciones; pues la colonización intestinal de personas sanas por enterobacterias productoras de BLEE, principalmente del tipo CTX-M, ha alcanzado niveles de pandemia a nivel mundial en pocos años, y se calcula que hay en el mundo 1.753 millones de personas colonizadas, es decir, patógenos bacterianos importantes para el hombre han evolucionado a la resistencia y la multiresistencia coincidiendo con el uso masivo de los antibióticos, desde hace poco más de 70 años, muy pocos desde una perspectiva evolutiva (Woerther, Burdet, Chachaty, & Andremont, 2013).

La evolución de las bacterias es darwiniana pues frente a los cambios (antibióticos en este caso), sobreviven las que mejor se adaptan. En las bacterias la adaptabilidad se debe a su plasticidad genética y su rápida replicación. El progreso de la resistencia bacteriana a los antibióticos es inevitable pues en un mundo globalizado es difícil controlarla, si la presión selectiva es la causa más importante de la extensión de la resistencia. El uso de antibióticos en humanos es frecuentemente excesivo e inadecuado, ya que un uso inapropiado de antibióticos es uno de los factores que contribuye al problema de la resistencia; el adecuado también, pero el primero es potencialmente mejorable.

Actualmente no hay suficientes datos para recomendar de forma habitual el uso cíclico de antibióticos como una medida para prevenir o reducir la resistencia a antibióticos en un periodo prolongado de tiempo, pero sí de la diversificación de antibióticos. Aunque la evidencia clínica es escasa, la diversificación debe basarse en un análisis de los datos globales disponibles en cada momento sobre cada patología infecciosa, resistencia bacteriana y actividad de los antibióticos por parte de todos los especialistas interesados, cada uno aportando sus datos y opiniones. Los médicos

muchas veces prescriben antibióticos por falta de pruebas diagnósticas rápidas y fiables que descarten una infección bacteriana. Aunque los datos que lo avalan son escasos, las pruebas rápidas para detectar bacterias multirresistentes a antibióticos parecen útiles, sin embargo, la principal herramienta propuesta por la OMS es la monitorización de la resistencia a antibióticos, a nivel local, nacional e internacional. En ese contexto el presente estudio pretende describir la presencia de ciertos tipos de resistencia bacteriana, detectados en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza y así poder contribuir con la investigación que ayudará a mejorar el tratamiento médico de manera más eficaz y oportuna en la población.

3. Problema

¿Cuál es la frecuencia fenotípica de resistencias de los microorganismos aislados en coprocultivos del Hospital Nacional Arzobispo Loayza, enero – diciembre 2017?

4. Conceptualización y operacionalización de las variables

Definición conceptual de variable	Dimensiones (Factores)	Indicador	Tipo de escala De medición
El fenotipo es la expresión del genotipo en función de un determinado ambiente. Los rasgos fenotípicos cuentan con rasgos tanto físicos como conductuales. También se debe destacar que el fenotipo no puede definirse exclusivamente como la "manifestación visible" del genotipo, pues a veces las características que se estudian no son visibles en el individuo, como es el caso de la presencia de una enzima como las betalactamasas que están implicadas en la resistencia microbiana	BLEE	<p>Rangos Cuantitativos</p> <p>Resistente a Cefalosporinas 3^{era} generación: Cefotaxima: MIC \geq 4 Ceftriaxona: MIC \geq 4 Ceftazidima: MIC \geq 32</p> <p>Resistente a Cefalosporinas 4^{era} generación: Cefepime: MIC \geq 16</p> <p>Inhibido: Amoxicilina/Ac. Clavulánico (AMC): MIC \leq 8/4, Piperacilina/Tazobactam (TZP): MIC \leq 16/4, Ampicilina/Sulbactam (SAM): MIC \leq 8/4</p>	Ordinal
	AmpC	<p>Rangos Cuantitativos</p> <p>Resistente a Aminopenicilinas: Amoxicilina MIC \geq 32 Ampicilina MIC \geq 32</p> <p>Resistente a Cefalosporinas 2^{era} generación: Cefuroxima MIC \geq 32</p> <p>Resistente a Cefamicinas: Cefoxitina MIC \geq 32</p> <p>No Inhibido: AMC \geq 32/16, TZP \geq 128/4, SAM \geq 32/16</p> <p>Sensible: Cefalosporinas 4^{era} generación: Cefepime MIC \leq 2</p>	Ordinal

		Carbapenemes Imipenem MIC ≤ 1 Meropenem MIC ≤ 1 Ertapenem MIC ≤ 0.5 Método de sinergia de doble disco para AmpC: Positivo	
	MBL	Rangos Cuantitativos Resistente Carbapenemes: Imipenem MIC ≥ 4 Meropenem MIC ≥ 4 Ertapenem MIC ≥ 2 Sensible a monobactam:: Aztreonam MIC ≤ 4 Test de THM: Positivo Método de sinergia con EDTA: Positivo Método de sinergia con APB: Negativo	Ordinal
	Enteropatógenos	Microorganismo Aislado <i>Aeromonas caviae</i> <i>Aeromonas veronii bv sobria</i> <i>Aeromonas veronii bv veronii</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Salmonella</i> entérica spp entérica serovar Cholerasuis <i>Salmonella</i> entérica spp entérica sv Typhi <i>Salmonella</i> entérica spp sv Gallinarum bv Gallinarum <i>Salmonella</i> spp	Nominal

5. Hipótesis

El presente estudio es descriptivo, por lo tanto, la hipótesis es optativa.

6. Objetivos

6.1. Objetivo General

Describir las frecuencias de los fenotipos de resistencia bacteriana de microorganismos obtenidos de coprocultivos pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loayza enero – diciembre 2017

6.2. Objetivos Específicos

1. Describir las frecuencias de los fenotipos de resistencia bacteriana BLEE de microorganismos obtenidos de coprocultivos de pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.
2. Describir las frecuencias de los fenotipos de resistencia bacteriana AmpC de microorganismos obtenidos de coprocultivos de pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.
3. Describir las frecuencias de los fenotipos de resistencia bacteriana MBL de microorganismos obtenidos de coprocultivos de pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.
4. Determinar la frecuencia de serotipos de microorganismos aislados en coprocultivos del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.
5. Determinar la frecuencia de susceptibilidad a los antibióticos en los serotipos microbiológicos aislados en coprocultivos del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

METODOLOGÍA

1. Tipo y Diseño de investigación

Tipo de Investigación

El presente estudio de investigación es de tipo descriptivo, observacional, con un enfoque cuantitativo, basado en un diseño no experimental de corte transversal y retrospectivo, realizado en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza, en el período enero a diciembre del 2017 con el objetivo de determinar la frecuencia de fenotipos de resistencia de los microorganismos aislados en coprocultivos.

No experimental: Porque no se va a manipular ninguna variable.

Descriptivo: Debido a que el propósito de este es describir variables y analizar su incidencia en un determinado momento y en un tiempo único sin la manipulación de las variables.

Transversal: porque se utilizará los datos en un solo corte y finalmente

Retrospectivo: porque son datos ya emitidos.

Diseño de investigación

El estudio tiene un diseño no experimental, que responde al siguiente esquema:

X: O

Donde:

X: microorganismos aislados en coprocultivos

O: Fenotipos de resistencia (BLEE, AmpC, MBL)

2. Población – Muestra

Población

Pacientes con solicitud de coprocultivo del hospital Nacional Arzobispo Loayza Siendo un total de 100 cultivos positivos.

Muestra

No es necesario aplicar muestreo.

Criterios de inclusión

Pacientes con coprocultivo que tengan la identificación completa mediante el sistema Phoenix 100.

Pacientes en cuyo coprocultivo se haya aislado algún germen patógeno.

Pacientes cuyo coprocultivo haya tenido un aislamiento puro.

Criterios de exclusión

Pacientes cuyo coprocultivo no haya sido procesado mediante el método convencional empleado; Phoenix 100.

Pacientes cuyo coprocultivo no haya sido determinada la resistencia o sensibilidad contra el total de antibióticos establecidos en el protocolo.

Pacientes en cuyo coprocultivo se haya detectado un microorganismo no endémico del Perú.

3. Técnicas e instrumentos de investigación

Se seleccionarán los casos, según los criterios antes señalados. Se revisarán los registros de análisis de sensibilidad bacteriana del equipo Phoenix¹⁰⁰, la información recolectada será almacenada en el programa de Microsoft Office Excel 2010 de una laptop HP presario para su posterior análisis. Los datos serán procesados en una matriz de Microsoft Office Excel 2010 y analizados estadísticamente con el programa estadístico SPSS versión 22.

4. Procesamiento y análisis de la información

El estudio de investigación se llevó a cabo en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Se inició con la selección de los pacientes tratados en los diferentes servicios de atención médica, específicamente aquellos con coprocultivo con crecimiento de enterobacterias. La búsqueda de la información se realizó de forma sistematizada mediante el sistema de registro del servicio de Microbiología de la institución. Tras la ubicación

de los registros de análisis se procedió según los criterios de inclusión y exclusión del presente estudio. Los registros y archivos de proceso seleccionados fueron analizadas extrayendo la información requerida, estos datos fueron plasmados en una matriz de Microsoft Office 2010, la información almacenada en un USB, laptop y correo electrónico. A continuación, se crea la base de datos en el sistema estadístico SPSS versión 22, para el análisis estadístico y descriptivo respectivo. Finalmente, los resultados que generó el software fueron analizados a continuación. Para las variables de resistencia bacteriana y coprocultivo se presentan las tablas y gráficos respectivos, en relación con la forma de presentación de los datos obtenidos del estudio.

RESULTADOS

Durante el estudio se incluyeron un total de 100 registros de aislamiento de microorganismos en coprocultivos, durante el periodo enero-diciembre 2017, realizados por el método automatizado Phoenix 100.

Con relación al desarrollo de los fenotipos de resistencia bacteriana se detectó que 37 aislamientos de enterobacterias desarrollaron un tipo de resistencia bacteriana (BLEE, AMPc o MBL), (**Tabla 1**)

Con respecto a la frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana, 31 especies bacterianas aisladas desarrollaron BLEE: *Aeromonas caviae* (5 %), *Aeromonas hydrophila* (3%), *Aeromonas veronii* bv veronii (1%), *Salmonella* entérica spp entérica sv typhi (1%), *Salmonella* entérica spp sv gallinarum bv (1%), *Salmonella* spp (2%), *Shigella boydii* (3%), *Shigella dysenteriae* (2%), *Shigella flexneri* (12%) y *Shigella sonnei* (1%) **Fig 6**. 2 especies bacterianas desarrollaron AMPc: *Aeromonas hydrophila* (1%) y *Shigella flexneri* (1%) **Fig 7**. 4 especies MBL: *Aeromonas hydrophila* (1%), *Shigella boydii* (1%) y *Shigella flexneri* (2%) (**Fig 8**)

En relación a los serotipos de microorganismos aislados en los 100 estudios de coprocultivo se halló lo siguiente: *Aeromonas caviae* (12%), *Aeromonas hydrophila* (7%), *Aeromonas veronii* bv sobria (9 %), *Aeromonas veronii* bv veronii (6%), *Salmonella* entérica spp entérica serovar (5%), *Salmonella* entérica spp entérica sv typhi (2 %), *Salmonella* entérica spp sv gallinarum bv (1%), *Salmonella* spp (17%), *Shigella boydii* (5%), *Shigella dysenteriae* (3%), *Shigella flexneri* (29%) y *Shigella sonnei* (4%) . (**Fig 9**)

En referencia a la susceptibilidad y resistencia hallada en los serotipos microbiológicos aislados se determinó lo siguiente:

Aminoglucósidos.- en este grupo fueron estudiados solo la Amikacina y Gentamicina; para el primer antibiótico se hallaron 2 cepas con susceptibilidad intermedia, 4 resistentes y 94 sensibles, para la Gentamicina; 2 cepas con susceptibilidad intermedia, 22 resistentes y 76 sensibles

Cefalosporinas.- en este grupo de antibióticos fueron estudiados solo la cefazolina (CZ), Cefepime (FEP), Cefoxitina (FOX), Ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO) y cefuroxima (CXM); para el CZ se pudo hallar que 1 cepa tenía susceptibilidad intermedia, 46 resistentes y 52 sensibles. Para el FEP se halló que 8 cepas tenían susceptibilidad intermedia 14 resistentes y 77 sensibles. Para el FOX se halló que 3 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 14 resistentes y 83 sensibles. Para el CAZ, se halló que 8 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 10 resistentes y 81 sensibles. Para el CXM se halló que 5 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 25 resistentes y 68 sensibles. Para el CRO se pudo hallar que 3 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 21 resistentes y 26 sensibles.

Betalactámicos asociados a Inhibidores de las Betalactamasas.- En este grupo de antibióticos fueron analizados la Amoxicilina/Clavulánico (AMC), Ampicilina/Sulbactam (SAM) y la Piperacilina/Tazobactam (TZP); para el AMC se halló que 8 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 21 resistentes y 24 sensibles. Para el SAM se halló que cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 13 resistentes y 31 sensibles. Para el TZP, se halló que 2 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 2 resistentes y 95 sensibles.

Quinolonas.- En este grupo de antibióticos fueron analizados el Ciprofloxacino (CIP), Norfloxacino (NOR) y el Levofloxacino (LVX); para el CIP se halló que 11 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 32 resistentes y 47 sensibles. Para el NOR se halló que 3 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 21 resistentes y 12 sensibles. Para el LVX se halló que 3 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia 23 resistentes y 63 sensibles.

Carbapenemes.- En este grupo de antibióticos fueron analizados el Imipenem (IPM), Meropenem (MEM) y el Ertapenem (ETP); para el IPM se halló que 5 cepas desarrollaron susceptibilidad intermedia, 6 resistentes y 88 sensibles. Para el MEM se halló que 5 cepas desarrollaron resistencia y 69 sensibles. Para el ETP se halló que 1 cepa desarrollo susceptibilidad intermedia, 7 resistentes y 90 sensibles.

Sulfametoxazol/Trimetroprima (SXT).- La combinación de estos antibióticos SXT, se halló que 38 cepas desarrollaron resistencia y 62 fueron sensibles.

Penicilinas.- En este grupo de antibióticos solo fue analizado la Ampicilina (AM), para el AM, se halló que 1 cepa desarrollo susceptibilidad intermedia, 63 resistentes y 36 sensibles.

Tabla 1. Desarrollo de fenotipos de resistencia en microorganismos

	Frecuencia	Porcentaje
BLEE	31	31.0
AMPC	2	2.0
MBL	4	4.0
Total	37	37.0

Fuente: Elaboración propia.

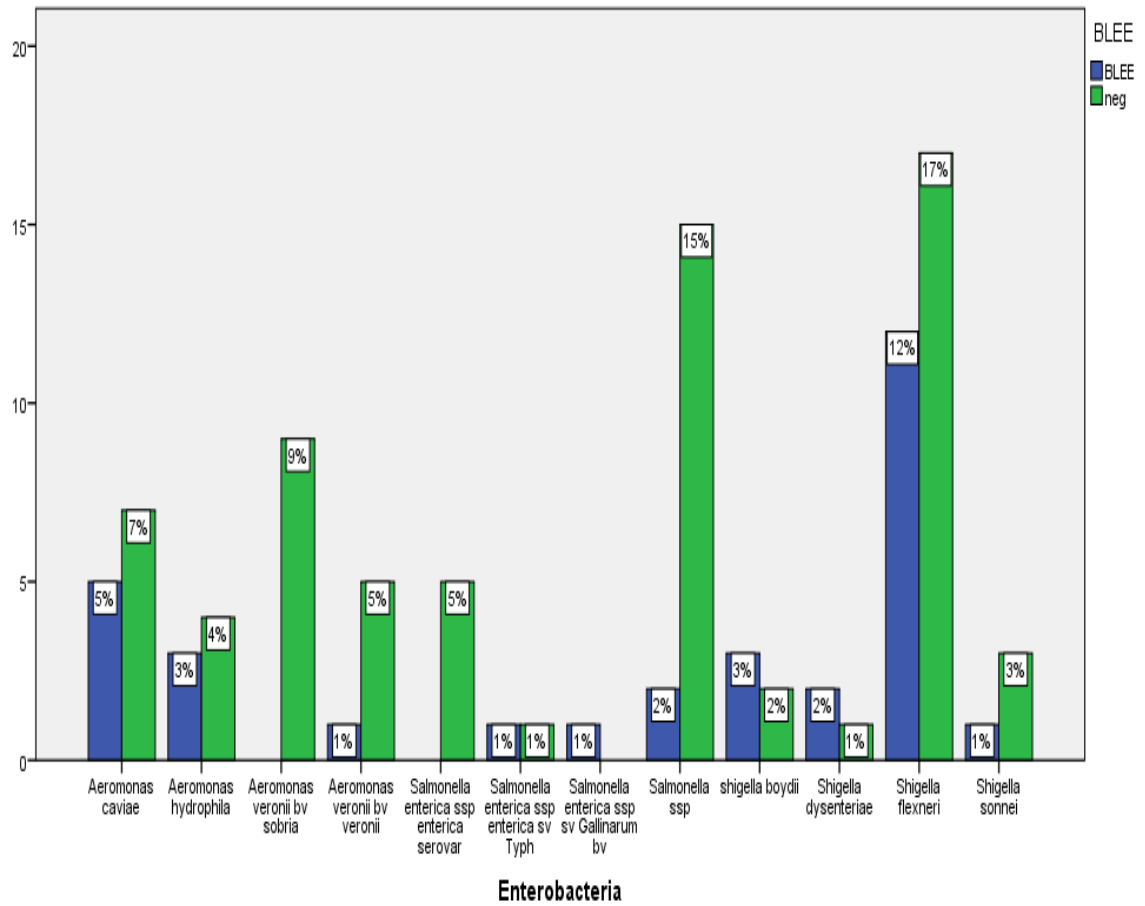


Fig 6. Desarrollo de fenotipo de resistencia tipo BLEE, en microorganismos aislados en coprocultivos

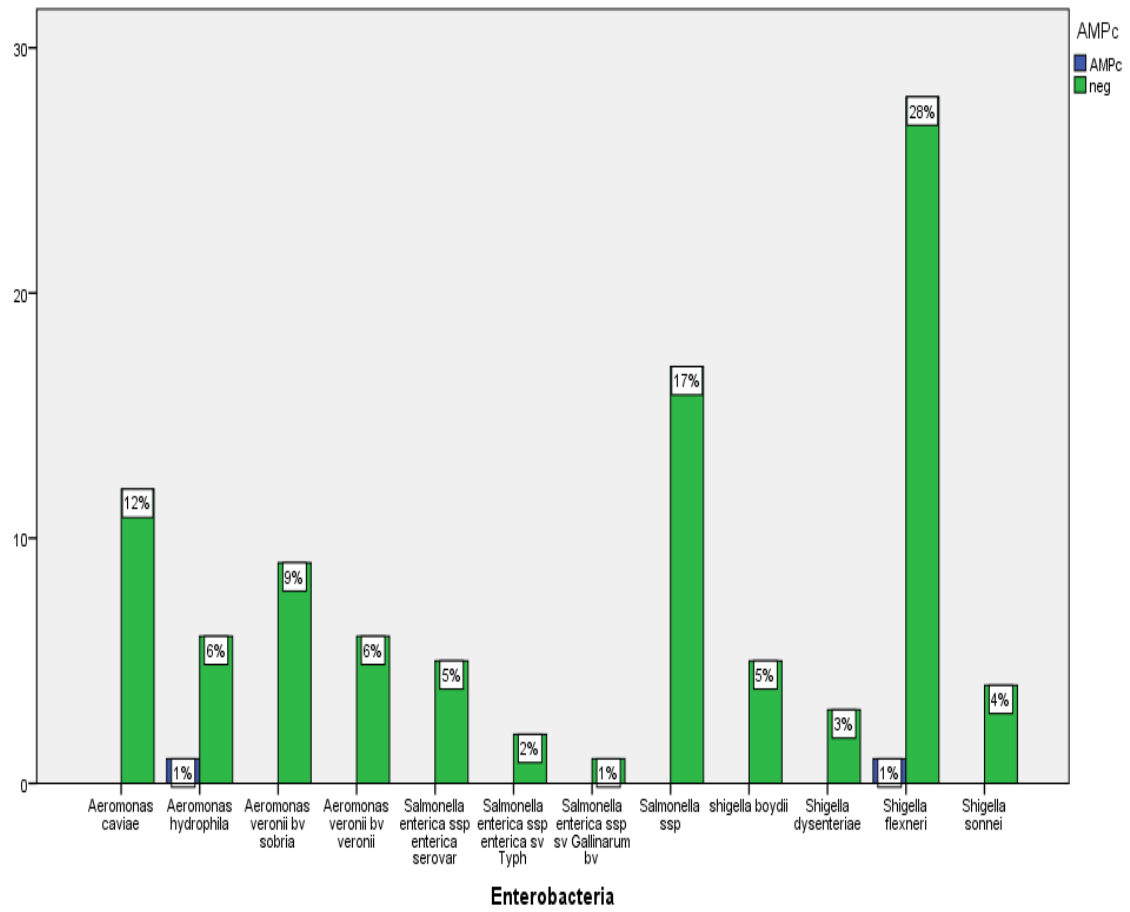


Fig 7. Desarrollo de fenotipo de resistencia tipo AMPc, en microorganismos aislados en coprocultivos

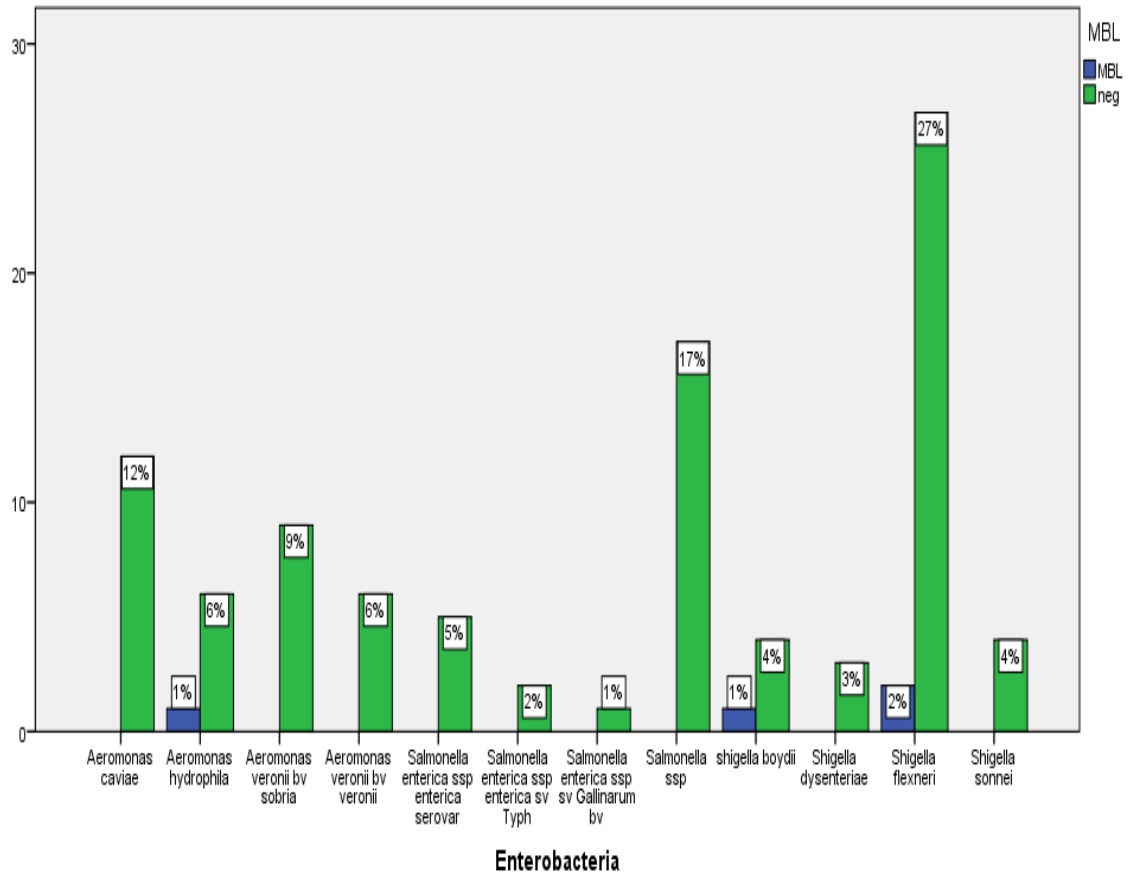


Fig 8. Desarrollo de fenotipo de resistencia tipo MBL, en microorganismos aislados en coprocultivos

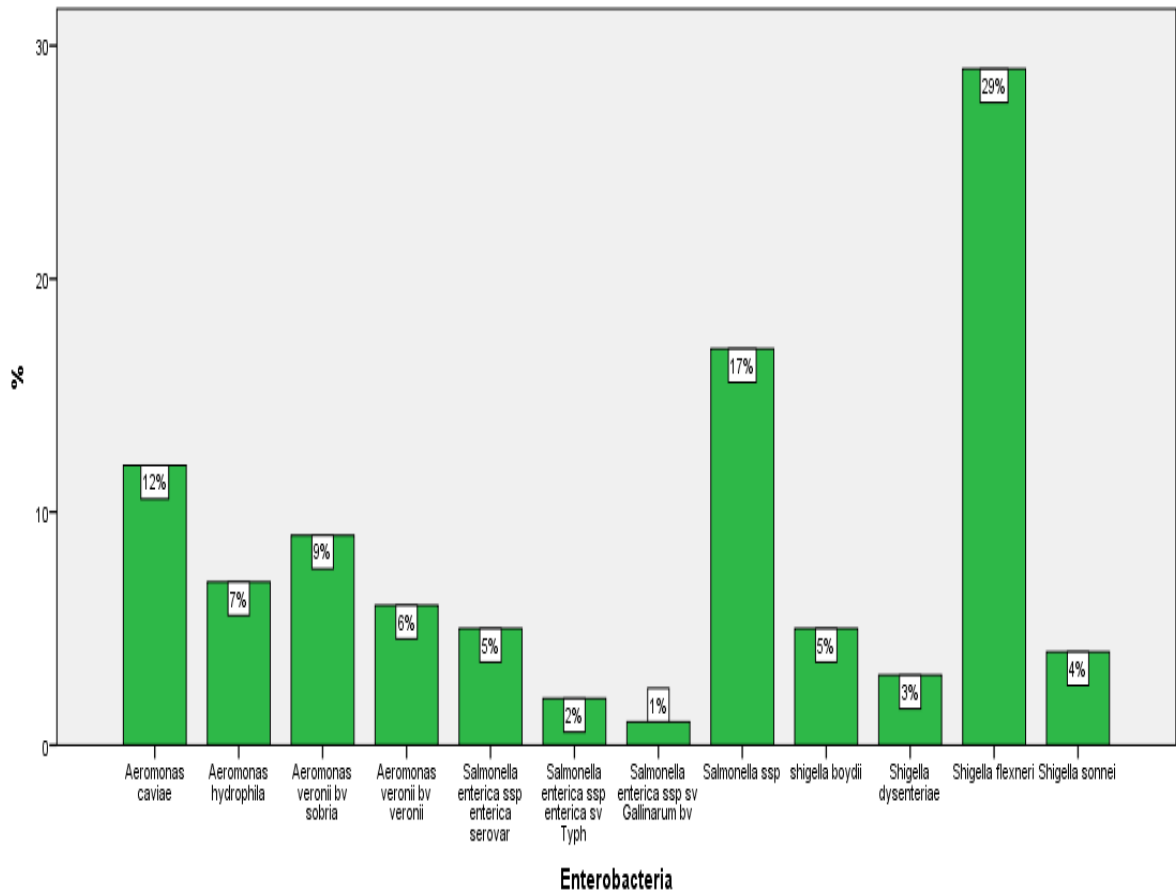


Fig 9. Serotipos de microorganismos aislados en coprocultivos.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En concordancia con los datos reportados en la literatura internacional, podemos observar que un 37% de las cepas aisladas ha desarrollado un fenotipo de resistencia bacteriana, siendo este un problema grave para la salud pública pues estos mecanismos de resistencia han sido en muchos de los casos generados por el consumo indebido de antibióticos y medicación sin asesoría médica en nuestro país, por ello se requiere fortalecer estrategias de vigilancia, prevención y control de la resistencia bacteriana en ambientes hospitalarios y de la población peruana.

En este estudio el fenotipo de resistencia comúnmente reportado fue el BLEE con un 31% (31), esta cifra contrasta con lo expuesto por Colquechagua et al (2015), quien reporto un 64.2% de cepas con un fenotipo de resistencia BLEE, el contraste hallado puede ser debido a que la población en este estudio haya sido expuesta a un mayor número de antibióticos, siendo este un factor de predisposición para desarrollar resistencia. En contraste a ello Rondon (2014) hace referencia que en el análisis de aislamientos de *Shigella* spp, no detectó la presencia de los genes que generan este tipo de resistencia; cabe resaltar que en nuestro estudio un 18% de serotipos de *Shigella* desarrollaron este mecanismo de resistencia.

Los serotipos aislados contrastan con lo reportado por Colquechagua et al (2015), pues en el presente estudio también se aislaron *Aeromonas caviae* (5 %), *Aeromonas hydrophila* (3%), *Aeromonas veronii* bv *veronii* (1%), y *Shigella boydii* (3%), *Shigella dysenteriae* (2%), *Shigella flexneri* (12%) y *Shigella sonnei* (1%), en comparación con la *Salmonella* spp, las cifras son muy similares en ambos estudios.

En el desarrollo del AMPc solo el 2% de cepas aisladas desarrollaron este fenotipo, esto puede ser debido a que no se realizaron pruebas fenotípicas manuales de inducción. Por otra parte Tijerino Ayala, Bolaños & Acuña (2016) reportaron aislamientos de *Shigella sonnei* con Presencia de AMPc en 15 cepas de un total de 4363 muestras, lo cual contrasta con nuestro estudio ya que no se aisló ninguna cepa de *Shigella* con este fenotipo de resistencia, una de las causales para tal resultado puede ser el tamaño muestral.

En relación a los serotipos de *Shigella* spp. Manera, Aimaretto & Raimondi (2017) solo reportaron un 11% de aislamientos mientras que en nuestro estudio este género tuvo una frecuencia relativa del 41%, en lo referido a los serotipos se puede notar que existe similitud con los aislamientos reportados por Naranjo (2016) y Baca, Yupanqui & Canales (2013) donde indica que la mayor frecuencia relativa se dio con el serotipo de *Shigella flexneri* con un 73.5 % y 62.3 % respectivamente y en el presente estudio este serotipo fue predominante con un 29 % del total de aislamientos.

Así mismo, es necesario resaltar que en nuestro estudio se aislaron mayor número de serotipos de *Shigella* spp que representan un 41% y *Salmonella* spp que representan un 25%, estos resultados difieren con los reportado por Mengitsu, Mulugeta, Lema & Aseffa (2014) quienes reportaron *Shigella* spp y *Salmonella* spp en un 4.5% y 10.5 %, estos resultados contrastantes pueden ser debido a factores epidemiológicos ya que este estudio fue realizado en Ethiopia.

En el desarrollo de las MBL solo el 4% de cepas aisladas desarrollaron este fenotipo en contraste con lo reportado en el hospital Regional de Lambayeque en el año de 2015, donde reportan que un 43% de los bacilos gramnegativos no fermentadores aislados desarrollo este tipo de resistencia, a pesar de la baja frecuencia de detección en este fenotipo de resistencia, es posible que este se siga incrementando ya que aún no hay políticas claras para el uso de antibióticos.

En el aislamiento de los serotipos de microorganismos aislados, se puede verificar que géneros de mayor aislamiento fueron *Shigella flexneri* con 29%, seguido de *Salmonella* spp. con 17% y *Aeromonas caviae* con 12%, debido a que estos serotipos son endémicos en nuestro país, pues el factor necesario para el desarrollo y contaminación de estas especies son los bajos recursos económicos.

En relación con los aminoglucósidos se puede evidenciar que 94 cepas fueron sensibles a la Amikacina y 76 sensibles para la gentamicina, es evidente que ambos antibióticos pueden ser elegidos para el tratamiento del paciente, teniendo alta probabilidad de recuperación.

En relación con las cefalosporinas, la CZ tiene un alto desarrollo de resistencia, esto debido a que es una cefalosporina de primera generación, siendo no

recomendable para el tratamiento de pacientes. El FEP manifiesta un alto grado de efectividad en tratamiento pues se encuentra en el grupo de cuarta generación. El FOX de manera similar tiene un alto grado de efectividad a pesar de ser una cefamicina. El CAZ también puede ser usado como elección terapéutica pues tiene un alto grado de efectividad además de ser una cefalosporina de tercera generación, El CXM también muestra un alto grado de efectividad además de estar incluida en la segunda generación de las cefalosporinas, por último el CRO manifiesta una baja efectividad en las cepas a pesar de ser una cefalosporina de tercera generación, esto puede deberse a la alta exposición de pacientes al antibiótico.

En relación a los Betalactámicos asociados a Inhibidores de las Betalactamasas, aún se puede observar la alta frecuencia de sensibilidad al TZP, la causa más probable de la sensibilidad hallada a este antibiótico, es que no es usado para el tratamiento de los gérmenes aislados en el presente estudio, este resultado concuerda con lo reportado por Serra V. (2017), quien indica que la exposición y el mal uso de los antibióticos es un factor para el desarrollo de la resistencia bacteriana.

Sobre la resistencia a Quinolonas se puede verificar que tanto para el CIP y NOR se ha desarrollado una alta frecuencia de resistencia, la razón a ello puede ser debido a que estos antibióticos son comúnmente usados, siendo nuevamente el factor del uso indiscriminado de antibióticos.

En contraparte a las Quinolonas, los carbapenemes suelen ser antibióticos usados solo en caso de que se haya detectado una cepa multirresistentes, según manifiesta Martínez et al (2016), debido a ello y el bajo uso de estos, la sensibilidad aún es mayor, para el caso de nuestro estudio pudimos observar que la generación de resistencia a estos antibióticos ha llevado a implementar políticas internas de administración, el cual requiere la aprobación de los jefes de las unidades de cuidados del hospital, la implementación de estas políticas ha sido propuesta por la OMS en el 2016, en el Plan de Acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos.

Al evaluar la resistencia a los Nitrofuranos, podemos verificar que hay una alta frecuencia de sensibilidad bacteriana debido a que este antibiótico no suele ser usado

en el tratamiento de infecciones intestinales, esto se repite para el uso y evaluación de tetraciclinas y glicilcilinas.

En el Sulfametoxazol/Trimetroprima (SXT), se puede observar una alta frecuencia de sensibilidad respecto a la resistencia a este antibiótico. A pesar de ser un antibiótico de uso muy frecuente en la población aún no se puede evidenciar una tasa considerable de resistencia a este antibiótico, según los resultados del presente estudio.

Por ultimo podemos ver que se obtuvo un 63% de resistencia en la ampicilina esto concuerda notablemente con Gutiérrez A. (2017), quien en su verificación de resistencia a la ampicilina obtuvo un 83%, según ello podemos notar que la resistencia a este antibiótico es notablemente elevado.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Del presente estudio, se concluye que:

- 37 de los 100 aislamientos de enterobacterias desarrollaron un tipo de resistencia bacteriana; entre los cuales están los BLEE, AMPc y MBL.
- De los 37 aislamientos se detectaron 31 especies bacterianas que desarrollaron el fenotipo BLEE.
- De los 37 aislamientos donde se detectaron 2 especies bacterianas que desarrollaron en fenotipo AMPc.
- De los 37 aislamientos se detectaron 4 especies bacterianas que desarrollaron el fenotipo MBL.
- Del total de microorganismos aislados en los 100 estudios de coprocultivo se halló que el serotipo de mayor frecuencia en aislamiento corresponde a *Aeromonas caviae* con un 12%, *Aeromonas hydrophila* con un 7%, *Aeromonas veronii* bv *sobria* con un 9 %, *Aeromonas veronii* bv *veronii* con un 6%, *Salmonella entérica* spp. entérica serovar con un 5%, *Salmonella entérica* spp. entérica sv typhi con un 2 %, *Salmonella entérica* spp. sv gallinarum bv con un 1%, *Salmonella* spp. con un 17%, *Shigella boydii* con un 5%, *Shigella dysenteriae* con un 3%, *Shigella flexneri* con un 29% y *Shigella sonnei* con un 4%.
- Del total de antibióticos usados se observa que la respuesta asociada a susceptibilidad microbiana es muy variada, siendo los aminoglucósidos, Betalactámicos asociados a Inhibidores de las Betalactamasas y carbapenemes quienes aún tienen buen efecto inhibidor.

Recomendaciones

Se recomienda identificar genes de resistencia mediante técnicas de biología molecular en bacterias con fenotipo BLEE, AMPc y MBL, que se pudieran estar diseminando entre diferentes especies bacterianas en el Hospital Loayza.

Se recomienda la detección y diferenciación de los distintos tipos de carbapenemasas como NDM, KPC, u OXA mediante la prueba de inmunocromatografía que de forma rápida y sencilla las identifica, facilitando aislamientos precoces, tratamientos más eficaces con un mejor control y diseminación de las mismas.

Realizar hisopado rectal del personal de salud para detectar bacterias con fenotipo MBL que pudieran ser fuente de diseminación bacteriana y valorar su descolonización.

9. Referencias bibliográficas

- Abarca, G., & Herrera, M. L. (2001). Bataclamasas: su importancia en la clinica y su detección en el laboratorio. *méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica)* , 36 n. 1-2.
- Baca, C., Yupanqui, L., & Canales, J. (2013). Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de Shiguella aislada en un instituto de salud pediátrico de Lima, Perú entre enero y julio 2013. *Med Hered*, 25, 73-79.
- Calvo, J., Cantón, R., Fernández, C, F., Mirelis, B., & Navarro, F. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gram negativos. *Procedimiento en Microbiología Clínica*. España.
- Casellas, J. M. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Panam Salud Publica*, 30(6), 519-28.
- Castro, E. G. (2002). El género Aeromonas. ¿Un patógeno importante en México? *Enf Infec y Micro*, 22(4), 206-216.
- Cercenado, E. (2015). Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Esp Quimioter*, 28(Suppl.1), 8-11.
- CLSI, I. C. (2018). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA: 28th Edition.
- Colquechagua, F., Sevilla, C., & Gonzales, E. (2015). Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto

- Nacional de Salud del Niño, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Publica*, 26-32.
- Corvec, S., Beyrouthy, R., Crémet, L., & Ghislain, G. (2013). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2410–2412 .
- Drew, W. L., Ahmad, N., & Plorde, J. J. (2010). Naturaleza de las Bacterias. En A. L. N, *Sherris Medical Microbiology* (págs. (pp. 267- 441)). México, D. F.: McGraw-Hill Companies.
- Egea, P., López, L., & Torres, E. (2012). Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 69-73.
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2012). *Antimicrobial resistance surveillance in Europe*. Suecia: Cover picture istockphoto.
- Ferrer, C., & Almirante, B. (2013). Infecciones relacionadas con el uso de los catéteres vasculares. *Infecciones relacionadas con el uso de los catéteres vasculares*, 115-124.
- Gallegos, T., & Franklin, I. (2015). Resistencia Bacteriana en Pacientes Atendidos con gastroenteritis por *Salmonella* spp, en el Hospital Corazón Inmaculado de María, del canton el Chaco. *Anales de Medicina Universidad de Ambato*, 87-95.
- García, M. M. (2013). Extended spectrum Beta-lactamase (ESBL). *Revista Cubana de Medicina*, 52(4).
- Gerrero, C., Guillén, A., Rojas, R., Bravo, N., & Muñoz, P. (2013). Serotipos y resistencia antibiótica en *Shigella* spp aisladas de infecciones intestinales, Lima, 2012. *Revista ECIPerú*, 10(1).

- Laín, M. E., Ruíz, A. S., & Mame, T. C. (2015). Gastroenteritis bacteriana en un área de Zaragoza (España). *Pediatr Aten Primaria*, 17:29-35.
- Latif E, F. L. (2015). *Aeromonas*, un microorganismo ambiental de importancia en salud humana y animal (Tesis Doctoral). Universidad Rovira i Virgili. Espana.
- López, D. P., Torres Caycedo, M. I., & Prada Quiroga, C. F. (2016). Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Univ. Salud*, 18(1),190-202.
- Maguiña, V. C. (2013). *Uso Racional de Antibioticos. Segunda Edición*. Lima-Perú: Logargraf.
- Manera, C., Aimaretto, C., & Raimondi, K. (2017). Prevalencia Y Resistencia Antimicrobiana de Shigella en un hospital regional. *relavra*, 2-8.
- Martinez, N. (2007). Virulencia, resistencia y elementos genéticos móviles en serotipos no prevalentes de Salmonella enterica (Tesis Doctoral). Universidad de Oviedo. España.
- Martínez, P. (2003). Determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. *Colomb Med*, 34(4), 196-205.
- Mengistu, G., Mulugeta, G., Lema, T., & Aseffa, A. (2014). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Salmonella serovars and Shigella species. *Microbial & Biochemical Technology*, 2-7. doi:10.4172/1948-5948.S2-006

- Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J. L., & Ochoa, T. j. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiotica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Peru Med*, 28(4),648-56.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfauer, M. A. (2007). *Microbiología Médica. Quinta edición*. España: Elsevier España, S.A.
- Naranjo López, C. M. (2016). *Shigella spp., determinación de los serotipos y perfiles de susceptibilidad antimicrobiana en el periodo 2009 – 2016, Quito-Ecuador*. Título profesional de Bioquímico Clínico, Universidad Central de Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Ecuador.
- Navarro, F., Calvo, J., Fernández, C. F., & Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* , 29(7), 524-534.
- Nesme, Cécillon, & Delmont. (2014). Large-Scale Metagenomic-Based Study of Antibiotic Resistance in the Environment. *Current Biology*, 1096-1100.
- Pena, I. (2015). Enterobacterias productoras de carbapenemasas: tipos, epidemiología molecular y alternativas terapéuticas (tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Radhouani, H., & Igrejas, G. (2013). Molecular characterization of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from red foxes in Portugal. *Archives of Microbiology*, 141-144.
- Rondon Alvarez, A. A. (2014). *Patrones de sensibilidad de cepas de Shigella sp. Hospital I Carlos Alcántara Butterfield 2014*. Tesis de Especialista en Patología Clínica, Universidad San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Lima.

- Sanchez, M. M., & Cordova, N. M. (2003). Mecanismos de interacción de Salmonella con la mucosa intestinal. *binfecto*, 7(1), 22-29.
- Seral, G. C., Pardos, D. M., & Castillo, G. F. J. (2010). Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de Escherichia coli y Klebsiella. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 28(Supl 1), 12-18.
- Sierra, R., Cerros, M. A., & Perez, J. (2007). Evaluación del instrumento automatizado Phoenix en la identificación y antibiograma de bacterias de origen clínico. *Medilgraphic Artemisa*, 32(2), 39-48.
- Tafur, J. D., Torres, J. J., & Villegas, M. V. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM, Cali, Colombia*, 12(3).
- Tijerino Ayala, A., Bolaños Acuña, H. M., & Acuña Calvo, M. T. (2016). Emergencia de α -lactamasa AmpC plasmídica del grupo CMY-2 en Shigella sonnei y Salmonella spp. en Costa Rica, 2003-2015. *Panamericana Salud Publica*, 40(1).
- Villacrés, I., Alcocer, I., & Zurita, J. (2015). Sensibilidad antimicrobiana y detección de genes de virulencia en aislados clínicos de Shigella spp. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 67-76. doi:<https://doi.org/10.26807/remcb.v36i1-2.266>
- Woerther, Burdet, Chachaty, & Andremont. (2013). *Clinical Microbiology*, 744-757.

Anexos y apéndice

Anexo

Anexo 01.

Documento de autorización al acceso de datos del Hospital Nacional Arzobispo
Loayza

“AÑO DEL DIALOGO Y RECONCILIACION NACIONAL”

HOSPITAL NACIONAL ARZOBISPO LOAYZA

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y BANCO DE SANGRE

DE : Dr. Jorge Humberto Pedro Velásquez Pomar
Jefe del Servicio de Microbiología

A : Roxana Elizabeth Rodríguez Villanueva
Bach. de la carrera de Laboratorio clínico y Anatomía Patológica

ASUNTO : Autorización de obtención y uso de datos.

Fecha : Lima, 01 de Agosto del 2018

Es grato dirigirme a Ud. Para saludarla y a la vez comunicarle que ha sido autorizada para obtener y utilizar los datos de exámenes de laboratorio del servicio de Microbiología del año 2017 con fines de trabajo de tesis.

Es propicia para reiterarle mi especial consideración.

Atentamente



HOSPITAL NACIONAL ARZOBISPO LOAYZA
JORGE HUMBERTO PEDRO VELÁSQUEZ POMAR
JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA

Anexo 2.

Ficha de recolección de datos

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



Código Tipo de muestra

Servicio

Microorganismo Aislado

	Antibiograma			Test de Hodge	Fenotipo de Resistencia
	S	R	I		
AK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Positivo <input type="checkbox"/>	BLEE <input type="checkbox"/>
AMC/CLV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Negativo <input type="checkbox"/>	AmpC <input type="checkbox"/>
AM	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		MBL <input type="checkbox"/>
CEFA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
ANP/SULV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
FEP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
FOX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
CAZ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
CTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
CRO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
CIP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
ETP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
GN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
IMP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
MERO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
LVX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
FD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
NOR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
PIP/TAZ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
SXT	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
TGC	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

(S) : sensible
(I) : intermedio
(R) : Resistente

Investigadora: Rodríguez Villanueva Roxana Elizabeth