

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"
Vicedirección de Atención Médica
Departamento de Microbiología Clínica

**Resistencia antimicrobiana de enterobacterias
productoras de infecciones extraintestinales en pacientes
VIH/sida. Instituto Pedro Kourí, 2012**



Trabajo de tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-
Micología

Autor: Dra. Maylen Espinosa García

Tutores: Dra. Isabel Martínez Motas, Dr C

Dra. Tersilia García Castellanos, MSc

Asesores: Dra. Madelín de la Caridad Garcés Martínez, MSc

Dr. Denis Verdasquera Corcho, Dr C

La Habana

2015

DEDICATORIA

A mi hija, razón de mi existir.

A mi madre, por su ejemplo.

A mi padre ausente, pero siempre en mí.

A mi esposo, por su amor.

Y a mi familia, en especial a mi hermano.

AGRADECIMIENTOS

De una manera u otra quisiera agradecer a todos los que me han ayudado a llegar al término de este trabajo.

En primer lugar agradezco a mis tutoras, por estar siempre ahí cuando las necesitaba. Igualmente a mis asesores por su apoyo.

Agradezco a cada una de las personas que laboran en el Departamento de Microbiología Clínica del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí por todo el afecto y apoyo que brindan, en especial al Lic Daniel Salazar.

Hago extensivos mis agradecimientos a todos los profesores de la especialidad así como a las personas que trabajan en la Subdirección Docente del Instituto.

A mis amigos de curso les agradezco su presencia en las buenas y en las malas.

No los olvidaré.

A todos muchas gracias.

RESUMEN

Los individuos seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana tienen un alto riesgo para desarrollar infecciones oportunistas y entre ellas las producidas por enterobacterias resistentes o multidrogorresistentes. Con el objetivo de identificar estos microorganismos, su susceptibilidad antimicrobiana y los factores de riesgo implicados en la resistencia, se realizó un estudio de serie de casos, en pacientes ingresados con infecciones extraintestinales en el Instituto “Pedro Kourí”, entre enero-diciembre de 2012. Se estudiaron 70 aislamientos de enterobacterias. La identificación y el comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana se realizaron mediante el sistema automatizado Vitek 2 Compact. Los factores de riesgo se obtuvieron de las historias clínicas y para determinar la asociación entre las variables se calculó la oportunidad relativa. En los aislamientos obtenidos predominaron *Klebsiella pneumoniae* (37,1%), *Escherichia coli* (24,3%) y *Enterobacter cloacae* (11,5%). El esputo fue la muestra con una mayor positividad diagnóstica (53,2%), seguido por la orina y la sangre. Se constató un alto porcentaje de cepas resistentes a la ampicilina (91,4%); todos los aislamientos fueron sensibles a los carbapenémicos y la amikacina fue el fármaco más eficaz de los antibióticos no betalactámicos con 5,7% de resistencia. El fenotipo β -lactamasas de espectro extendido predominó sobre la producción de AmpC (45,7 y 12,8%, respectivamente). Las enterobacterias que se destacaron como MDR fueron *Klebsiella pneumoniae* (34,88 %) y *Escherichia coli* (27,90%) a partir fundamentalmente de muestras de sangre y orina respectivamente (77,77 y 60,00%)

ABREVIATURAS

AAC: acetiltransferasas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ANT: nucleotidiltransferasas

APH: fosfotransferasas

BE: Bombas de expulsión

BLEA: β - lactamasa de espectro ampliado

BLEEs: β - lactamasas de espectro extendido

BNF: Bacilos no fermentadores

C1G: Cefalosporinas de primera generación

C2G: Cefalosporinas de segunda generación

C3G: Cefalosporinas de tercera generación

C4G: Cefalosporinas de cuarta generación

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (*Clinical and Laboratory Standards Institute*)

CMI: Concentración mínima inhibitoria

EDTA: Ácido-etilendiaminotetracético

EUCAST: Comité Europeo en pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*)

IACS: Infecciones asociadas al cuidado sanitario

IC: Intervalo de confianza

IPK: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí

IRAB: Infecciones respiratorias agudas bajas

IRABB: Infecciones respiratorias agudas bacterianas bajas

IRT: Mutantes TEM resistentes a los inhibidores (*inhibitor-resistant TEM mutant*)

ITU: Infecciones del tracto urinario

Kb: Kilobases

LBA: Lavado broncoalveolar

LCR: Líquido cefalorraquídeo

LPS: Lipopolisacárido

MBL: Metallo β - lactamasa

MDR: Multidrogorresistente

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase chain reaction*)

PD: Farmacodinámica (*Pharmacodynamic*)

PFGE: Electroforesis en gel de campo pulsado (*Pulsed-field gel electrophoresis*)

PK: Farmacocinética (*Pharmacokinetic*)

RFLP: Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (*Restriction fragments length polymorphism*)

SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica

Sida: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SNC: Sistema Nervioso Central

TARGA: Tratamiento antirretroviral de gran actividad

UCI: Unidades de Cuidados Intensivos

UFC: Unidad formadora de colonias

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

ÍNDICE	PÁGINAS
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	6
III. MARCO TEÓRICO	7
3.1. Taxonomía de las enterobacterias	7
3.2. Características generales y fisiológicas de la familia Enterobacteriaceae	7
3.3. Morfología y agrupación	8
3.4. Cultivo	8
3.5. Estructura antigénica	8
3.6. Determinantes de patogenicidad	9
3.7. Epidemiología	10
3.7.1. Epidemiología en los pacientes con VIH/sida	11
3.8. Manifestaciones clínicas en los pacientes con VIH/sida	12
3.9. Resistencia antimicrobiana	13
3.9.1. Resistencia en enterobacterias	13
3.9.2. Resistencia a los betalactámicos	14
3.9.3. Fenotipos de resistencia adquiridos a los betalactámicos	15
3.10. Métodos de detección fenotípica	19
3.10.1. Métodos de detección fenotípica para enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido	19
3.10.2. Métodos de detección fenotípica para enterobacterias productoras de β -lactamasas tipo AmpC	21
3.10.3. Métodos de detección fenotípica para enterobacterias productoras de carbapenemasas	23
3.12. Resistencia a los aminoglucósidos	24
3.13. Resistencia a las fluoroquinolonas	24
IV. MATERIALES Y METODOS	26
4.1. Diseño y período del estudio	26
4.2. Universo	26
4.2.1. Criterios para la interpretación de los resultados del cultivo	26
4.3. Procedimientos microbiológicos	28
4.4. Operacionalización de las variables	30
4.5. Técnicas de recolección y análisis de la información	31
4.6. Consideraciones éticas	31
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
5.1. Enterobacterias aisladas en las muestras extraintestinales	34
5.2. Susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias aisladas	40
5.3. Principales fenotipos enzimáticos de resistencia frente a los betalactámicos	46
5.4. Comportamiento de los aislamientos MDR en las enterobacterias estudiadas.	51
VI. CONCLUSIONES	55

VII. RECOMENDACIONES

56

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX. ANEXOS

ANEXO 1 PROCEDIMIENTOS DEL DEPARTAMENTO DE
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

ANEXO 2 GUÍA PARA LA RECOGIDA DE LA INFORMACIÓN

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), por su capacidad de diseminación en el mundo, ocasiona una pandemia de consecuencias imprevisibles. La mayoría de los pacientes con VIH desarrollan infecciones oportunistas como consecuencia de una inmunodepresión (predominantemente de la inmunidad celular) profunda e irreversible (Gatell *et al.*, 2010).

Las infecciones causadas por bacterias distintas de las micobacterias son un problema frecuente e importante en el paciente infectado por este virus y su incidencia aumenta en los últimos años. La importancia de estas infecciones radica en su frecuencia y capacidad para indicar la presencia de inmunodepresión debida al VIH y en su significativa morbilidad. A ello se añade que las infecciones bacterianas son a menudo un hallazgo detectado durante la autopsia, no diagnosticado con anterioridad, hecho lamentable por tratarse de entidades tratables y curables (Laplumé *et al.*, 2008). Cualquier bacteria gramnegativa habitual puede causar infección en el paciente VIH positivo (Parras, 1998).

La familia Enterobacteriaceae constituye el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia médica y son las bacterias recuperadas con mayor frecuencia en las muestras clínicas humanas (Rivera *et al.*, 2011). Las enterobacterias, por estar muy difundidas entre los pacientes y el ambiente hospitalario, están muy relacionadas con las infecciones asociadas a los cuidados sanitarios (IACS). Este nuevo concepto incluye a todo proceso infeccioso vinculado con la atención sanitaria en cualquier ámbito, no solo el hospitalario o centros de salud, sino también con la que se ofrece en los hogares de ancianos o

impedidos físicos, los consultorios médicos, los policlínicos y viviendas de los pacientes. En estos ámbitos asistenciales este tipo de infección, que se parece más a la nosocomial que a la comunitaria, hace cambiar el clásico concepto de infección nosocomial o intrahospitalaria, por el más actual (IACS) y engloba ambos tipos de infecciones (Delpiano, 2011).

Las enterobacterias colonizan el tubo digestivo, la orofaringe, el aparato genitourinario y la piel. En el ambiente hospitalario pueden aislarse del agua, los catéteres, las sondas, los sueros, los antisépticos y los equipos de respiración mecánica, entre otros. Diferentes factores contribuyen al incremento de las infecciones por enterobacterias en el mundo; en primer lugar, el uso frecuente de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas (catéteres intravenosos, endoscopias e intervenciones quirúrgicas, entre otras), el empleo de potentes inmunosupresores y los ingresos hospitalarios prolongados. Además, las enfermedades hematológicas, las neoplasias, la cirrosis, la insuficiencia renal crónica, la diabetes y el VIH, predisponen a las infecciones por microorganismos gramnegativos (Parras, 1998).

En la etiología de las infecciones bacterianas en los pacientes con VIH/sida se involucran *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y especies del género *Enterobacter*, que se presentan, sobre todo, como causa de las infecciones intrahospitalarias y en los individuos con un conteo de linfocitos T CD₄ menor de 100 células/mm³ (Caiaffa *et al.*, 1993). *Klebsiella* spp., es un patógeno oportunista que ocasiona entre los años 1997 a 2002, alrededor de 7-10% de las bacteriemias

intrahospitalarias descritas en Europa, Latinoamérica y Norteamérica (Biedenbach *et al.*, 2004).

Estudios realizados en América y otras regiones del mundo reflejan la situación de las infecciones por enterobacterias en los pacientes VIH positivos. Tacconelli *et al* (1998) en Italia, señalan entre las bacterias gramnegativas que afectan a estos pacientes un predominio de infecciones causadas por *Salmonella* spp., favorecidas por el déficit de las células T; además, determinan que la salmonelosis es más frecuente en el estado avanzado de la infección asociado con la desnutrición; mientras que, Crewe-Brown *et al* (2000) en Sudáfrica, detectan un aumento de los casos de bacteriemia por *Salmonella* spp., vinculados con un incremento en el diagnóstico de las infecciones por el VIH y de la resistencia antimicrobiana. También en Venezuela, Figueredo y González, en 1998, identifican a *S. enteritidis* como el principal agente causal de bacteriemias en el Hospital Universitario de Caracas.

Cuba no está exenta de esta problemática e investiga también las infecciones bacterianas en los pacientes con VIH y entre ellas se encuentra el trabajo desarrollado por Coniel *et al* (2009), quienes en Pinar del Río evidencian el papel de *Escherichia coli* como un importante uropatógeno en estos pacientes.

La emergencia de la resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno natural; surge como resultado del uso de estos fármacos, una situación que muestra un ritmo acelerado en el mundo debido al uso inadecuado de los mismos. El mayor consumo se asocia con cifras más elevadas de resistencia (OMS, 2005). El incremento de cepas resistentes y multirresistentes constituye uno de los

principales problemas en los hospitales de todo el mundo ya que dificulta el tratamiento de las enfermedades infecciosas y deterioran la economía y la calidad de vida de las personas (Rivera *et al.*, 2011).

El amplio uso de los antibióticos, el incremento de la expectativa de vida, incluso en los pacientes con enfermedades crónicas y la creación de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), son factores que inciden directamente en la resistencia bacteriana a los antimicrobianos (Albarado *et al.*, 2009). Las enterobacterias tienen la capacidad de adquirir resistencia rápida a los antibióticos (Parras, 1998). La prevalencia de esta resistencia es alta en todo el mundo y puede ser cromosómica o mediada por plásmidos (Rivera *et al.*, 2011).

En el continente americano se realizan múltiples investigaciones sobre las infecciones asociadas con los cuidados sanitarios y la resistencia antimicrobiana, entre estas, Rivera *et al* (2011) en Venezuela, reconocen la alta incidencia de enterobacterias resistentes, sobre todo, las producidas por *E. coli*, *Enterobacter* spp., y *K. pneumoniae*. También en Argentina, Radice *et al* (2005), describen un incremento notable de esta resistencia en *Proteus mirabilis*. En Cuba, González *et al* (2003), señalan a las enterobacterias como el grupo de microorganismos con los más altos porcentajes de resistencia para las penicilinas. Una situación similar describen Hernández *et al* (2006) en la UCI del Instituto Superior de Medicina Militar Dr. Luís Díaz Soto de La Habana, quienes identifican bacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEEs) en algunas de las muestras estudiadas, con un predominio de *Klebsiella* spp. En el Instituto de Medicina

Tropical “Pedro Kourí” (IPK) de Cuba, García *et al* (2013), en pacientes con VIH/sida, aíslan 34,2% de enterobacterias productoras de BLEEs

Los patrones de resistencia antimicrobiana en los pacientes con una infección por el VIH y que pueden evolucionar a un sida difieren de la población general y están influenciados por el uso profiláctico de los antibióticos (Byarugaba, 2004).

Por ser los pacientes VIH/sida individuos inmunocomprometidos, susceptibles a las infecciones adquiridas en el hospital y fuera de este, se favorece el uso continuo e indiscriminado de los antimicrobianos, que conduce a la selección de determinantes de resistencia en las bacterias. La situación emergente de las infecciones causadas por enterobacterias en estos pacientes motivó la realización de esta investigación, con el objetivo de describir el comportamiento de las infecciones por este grupo de microorganismos en los pacientes con VIH/sida hospitalizados en el IPK durante el año 2012.

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

1. Identificar las enterobacterias aisladas a partir de muestras extraintestinales obtenidas en los pacientes VIH/sida hospitalizados en el IPK.
2. Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias aisladas en los pacientes investigados.
3. Describir los principales fenotipos enzimáticos de resistencia adquirida frente a los betalactámicos en las enterobacterias objeto de estudio.
4. Describir el comportamiento de los aislamientos multidrogorresistentes (MDR) obtenidos en los pacientes estudiados.

MARCO TEÓRICO

III. MARCO TEORICO

La familia Enterobacteriaceae es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos con importancia clínica. Comprende más de 40 géneros que dan cabida a más de 150 especies y menos de 20 se consideran las responsables de más del 95 % de las infecciones (Murray *et al.*, 2007).

3.1. Taxonomía de las enterobacterias

Dominio: Bacteria

Filo XII: Proteobacteria

Clase III: Gammaproteobacteria

Orden XII: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae (Koneman y Allen, 2008)

3.2. Características generales y fisiológicas de la familia Enterobacteriaceae

La familia Enterobacteriaceae recibe su nombre por su localización habitual como microorganismos saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de microorganismos ubicuos, que se encuentran de forma universal en el suelo, el agua, la vegetación y forman parte de la flora intestinal normal de muchos animales y del hombre (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

Las bacterias que conforman esta familia fermentan y oxidan la glucosa con formación de ácido, reducen los nitratos a nitritos y carecen de la enzima citocromoxidasa (Valdez-Dapena, 2001), con la excepción de *Plesiomonas* spp. (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010). Las enterobacterias son microorganismos aerobios y anaerobios facultativos. Muchos poseen cápsula y algunos tienen movilidad por flagelos peritricos (Romero, 2007).

3.3. Morfología y agrupación

Las enterobacterias son bastoncillos gramnegativos cortos que pueden formar cadenas. Su morfología típica *in vitro* se pone de manifiesto cuando crecen sobre los medios de cultivo sólidos, pero esta morfología es variable cuando la observación se hace a partir de las tinciones realizadas en muestras clínicas. Las cápsulas son grandes y regulares en *Klebsiella*, menores en *Enterobacter* y poco comunes en las otras especies (Jawets *et al.*, 2008).

3.4. Cultivo

Casi todas las enterobacterias, con excepción de *Klebsiella granulomatis* crecen bien en los medios de cultivos (Murray, 2007), no son exigentes en sus requerimientos nutricionales, pero existen medios selectivos especiales para aquellos casos en los que la muestra contiene varias especies bacterianas. Los medios selectivos obstaculizan el crecimiento de las bacterias grampositivas y favorecen el desarrollo de los bacilos gramnegativos. Se deben utilizar medios selectivos y diferenciales como el agar SS (*Salmonella-Shigella*) y el agar McConkey, que son específicos para los bacilos gramnegativos (Patrick y Jo, 2007).

3.5. Estructura antigénica

Las enterobacterias poseen una estructura antigénica muy compleja. En la membrana externa de la pared tienen un lipopolisacárido (LPS), con capacidad antigénica (antígeno O), que actúa como endotoxina y activa los diversos sistemas que promueven la respuesta inflamatoria (Espinoza, 2007). Algunas especies

forman una cápsula polisacáridica, que tiene capacidad antigénica (antígeno K, capsular) y las especies móviles poseen flagelos peritricos de estructura proteica y de carácter antigénico (antígeno H, flagelar) (López y Prats, 2006).

3.6. Determinantes de patogenicidad

La familia Enterobacteriaceae posee diferentes elementos que actúan como factores de virulencia. Dentro de estos se destacan las endotoxinas conformadas por el lípido A del LPS, que integran la pared bacteriana y se liberan cuando la célula muere y se lisa. Presentan cápsula especialmente útil para la bacteria, esta estructura tiene una función protectora que hace más difícil la fagocitosis y con ello le da una mayor sobrevivencia (Romero, 2007).

Este grupo de bacterias secreta aerobactinas que le permiten la captación de hierro desde el medio, por ser este elemento indispensable para determinadas funciones de las bacterias. Ciertas especies de la familia Enterobacteriaceae sufren de variación antigénica mediante la diferenciación de sus antígenos y con ello ofrecen una presentación inmune diferente para la identificación y respuesta del hospedero, característica que las protege de la destrucción celular mediada por los anticuerpos. Así mismo, las especies patógenas obligadas liberan exotoxinas que funcionan como enterotoxinas y poseen efectos específicos (Murray, 2007).

Los microorganismos pertenecientes a esta familia presentan fimbrias y adhesinas que colaboran de manera importante en su adherencia a la superficie mucosa del hospedero. Aquellas especies enteroinvasivas muestran una localización intracelular que protege a la bacteria de los antibióticos y del sistema inmune.

Algunas producen exoenzimas (ureasa, gelatinasa, lipasa, desoxirribonucleasa), que permiten la sobrevivencia de la bacteria dentro del órgano afectado, así como bacteriocinas, sustancias bactericidas contra cepas de la misma especie, pero no contra sí mismas (Romero, 2007).

Varias bacterias (*Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia* enteropatógena, *Pseudomonas*, *Chlamydia*) poseen un mismo sistema efector para traspasar sus factores de virulencia a las células eucariotas dianas. Este sistema, conocido como sistema de secreción de tipo III, se compone de alrededor de 20 proteínas que facilitan la secreción de los factores de virulencia bacterianos cuando la bacteria entra en contacto con las células del hospedero (Murray, 2007).

3.7. Epidemiología

El hábitat de las diferentes especies de enterobacterias es muy diverso y heterogéneo. Incluyen el tubo digestivo del ser humano y de otros animales, se encuentran también en diversos sitios ambientales. No obstante, las especies que no están adaptadas al tubo digestivo pueden colonizarlo transitoriamente vehiculadas con el agua y los alimentos (López y Prats, 2006).

Del mismo modo que varían los reservorios de estos microorganismos, se modifican sus modos de transmisión a los seres humanos. Las especies que suelen colonizar a los seres humanos pueden producir infecciones cuando las cepas bacterianas propias de un paciente (es decir las cepas endógenas) establecen infecciones en un sitio del cuerpo que por lo general es estéril. Estos microorganismos también pueden transmitirse de un individuo a otro y esas infecciones dependen con frecuencia del estado de debilidad de un paciente

ingresado y se adquieren en el hospital. Estas especies son las llamadas patógenas oportunistas (Koneman y Allen, 2008).

Otras especies como las de *Shigella*, *Salmonella* y *Yersinia enterocolitica* solo habitan en el intestino cuando causan infección y se adquieren por la ingestión de agua y los alimentos contaminados. Este también es el modo de transmisión de los diversos tipos de *E. coli* que causan infecciones gastrointestinales (Harrison, 2006).

En los individuos hospitalizados o inmunodeprimidos, en especial, aquellos que reciben tratamiento con antimicrobianos, hay colonización por enterobacterias en el tubo digestivo, la orofaringe, el aparato genitourinario y la piel. La infección por estas bacterias es frecuente en estos contextos (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

Se mencionan diferentes causas, por las que a partir de 1960, las infecciones por bacilos entéricos gramnegativos son cada vez más frecuentes: la ubicuidad de los bacilos gramnegativos, la resistencia a los antibióticos, los progresos de la tecnología terapéutica, la introducción de terapéuticas que disminuyen las defensas orgánicas y las enfermedades predisponentes (García, 2012).

3.7.1. Epidemiología en los pacientes con VIH/sida

En los individuos con VIH/sida se presentan con frecuencia antecedentes de hospitalizaciones previas y está demostrado que los centros hospitalarios constituyen un componente importante en el problema mundial de la resistencia antimicrobiana. A estos factores se le añade la aplicación frecuente y repetida de tratamientos con antimicrobianos para diversas infecciones oportunistas que

incrementa el riesgo de adquisición de cepas multidrogorresistente (MDR) (OMS, 2001). El uso continuo de cotrimoxazol en estos pacientes para la prevención de enfermedades oportunistas, puede alterar la microbiota de los mismos y los patrones de sensibilidad de los agentes bacterianos (Morpeth *et al.*, 2008).

3.8. Manifestaciones clínicas en los pacientes con VIH/sida

Las infecciones bacterianas se reconocen como una causa importante de morbilidad y mortalidad en los pacientes infectados con el VIH. La neumonía bacteriana y la bacteriemia son las localizaciones de infección notificadas con más frecuencia (Currier *et al.*, 2005). La neumonía constituye la principal causa de ingreso en algunas unidades hospitalarias de los pacientes VIH positivos. Las enterobacterias implicadas como agentes causales de neumonía en el enfermo VIH positivo son *K. pneumoniae*, *E. coli* y especies del género *Enterobacter*, que se presentan sobre todo en los individuos con un conteo de linfocitos T CD₄ menor de 100 cel/mm³ (Caiaffa *et al.*, 1993).

Las infecciones gastrointestinales causadas por bacilos gramnegativos en el paciente con el VIH son especialmente por *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*. Las infecciones por *Salmonella* no *typhi* son más invasivas en los pacientes con VIH que en el resto de las personas; requieren de un tratamiento prolongado y recidivan con frecuencia (Lasso, 2011).

La ITU tiene varias formas de presentación en el paciente VIH/sida, donde la pielonefritis es la de mayor importancia por la repercusión anatómica y funcional que ejerce sobre el riñón (Fica, 2006).

3.9. Resistencia antimicrobiana

La resistencia natural de una especie o género es una característica propia del conjunto de cepas que pertenecen a esta especie o género, con independencia de las condiciones del aislamiento. Esta es siempre transmisible a la descendencia por su naturaleza cromosómica. La resistencia adquirida existe gracias a la adquisición de uno o varios mecanismos que determina un fenotipo bien preciso (Echevarría, 2008). El patrón de resistencia observado en el antibiograma de un microorganismo debe ser la suma del patrón de resistencia natural característico de la especie, más el de la resistencia adquirida (Navarro *et al.*, 2010).

3.9.1. Resistencia en enterobacterias

La lectura interpretada del antibiograma en la familia Enterobacteriaceae es aun objeto de discusiones y quedan numerosos aspectos por determinar, especialmente cuando se intenta predecir la respuesta clínica (Bradford, 2001; Jacoby, 2009).

Este grupo de bacterias adquieren resistencia antimicrobiana de forma rápida y la introducción de nuevos antibióticos conduce al cabo de meses o pocos años, a la emergencia de bacilos entéricos gramnegativos resistentes a aquéllos. La resistencia está mediada por plásmidos cuya transferencia, que suele ocurrir en el tubo digestivo, puede producirse entre bacterias de la misma especie o de especies diferentes. Está demostrado que la administración de antibióticos favorece la adquisición de resistencia en esta familia, además de contribuir a la multiplicación de los microorganismos con resistencia natural, por inhibir el crecimiento de la microbiota competitiva sensible (García, 2012).

Los mecanismos fundamentales de resistencia antimicrobiana en este grupo están dados por la producción de enzimas β -lactamasas y la disminución de la expresión de las proteínas de la membrana externa. Este último, cuando se asocia con otros mecanismos, produce resistencia a los carbapenémicos (Drawz y Bonomo, 2010).

3.9.2. Resistencia a los betalactámicos

Los betalactámicos son los antimicrobianos de mayor prescripción en los centros hospitalarios, donde de forma paralela existe un incesante aumento de la resistencia bacteriana (Suárez, 2009).

Aunque la resistencia a los betalactámicos está definida por distintos mecanismos (producción de enzimas, alteraciones de la permeabilidad, alteración de la diana y presumiblemente, expresión de BE activa) (Taruf, 2008), en las enterobacterias, el principal mecanismo de resistencia a los betalactámicos es el enzimático, por producción de β -lactamasas, pero en algunos casos, la resistencia puede asociarse con distintos mecanismos (Stapleton *et al.*, 1999; Martínez-Martínez, 2008).

Las enterobacterias de interés clínico, con la única excepción de *P. mirabilis* y *Salmonella* spp., son portadoras de una β -lactamasa cromosómica natural propia de cada especie (Livermore *et al.*, 2001). De esta forma se destacan diferentes patrones de resistencia natural a los betalactámicos esperados en función de la β -lactamasa implicada (Navarro *et al.*, 2010).

La presencia de nuevas enzimas β -lactamasas, no propias de la especie, puede deberse a la adquisición de material genético extracromosómico. La resistencia adquirida modifica el patrón natural de resistencia de una especie determinada,

siendo el patrón de resistencia resultante la suma de la resistencia natural más la adquirida. Sin embargo, algunos patrones de resistencia no se relacionan con enzimas adquiridas, sino que se deben a mutaciones en los genes cromosómicos naturales de la especie (Jacoby, 2009).

3.9.3. Fenotipos de resistencia adquiridos a los betalactámicos

Producción de BLEEs

La prevalencia de resistencia entre las enterobacterias es elevada en todo el mundo y la producción de BLEEs constituye el mecanismo más importante y un serio problema que afecta el uso de varios betalactámicos, incluyendo a las cefalosporinas de tercera generación (Seral *et al.*, 2010).

Las BLEEs son enzimas producidas por bacterias gramnegativas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro y los monobactámicos, pero no a las cefamicinas ni los carbapenémicos; estos son los que más se utilizan para el tratamiento de las infecciones bacterianas (Ángel *et al.*, 2009).

La primera BLEE (SHV-2) se describe en una cepa de *K. ozaenae* aislada en Alemania, en 1983. Desde entonces, se publican numerosos brotes epidémicos de enterobacterias con BLEEs, sobre todo en las UCI, donde *K. pneumoniae* representa la especie más involucrada (Bradford, 2001).

La aparición de enterobacterias multirresistentes gracias a la producción de BLEEs se incrementa en los últimos años (Baquero *et al.*, 1998). Estas están codificadas en plásmidos conjugativos, que permiten la diseminación de este mecanismo de resistencia y la coresistencia con otros antibacterianos como los aminoglucósidos, el cotrimoxazol y las quinolonas (Calvo *et al.*, 2011).

Hasta la fecha, se describen más de 100 variantes de BLEEs derivadas de las β -lactamasas TEM-1 o TEM-2 y más de 50 de SHV-1, lo que da una idea de la gran diversificación evolutiva que sufren estas enzimas en un corto período de tiempo debido, esencialmente, a la presión selectiva de los antibióticos. En 1989, se describe un nuevo tipo de BLEEs, las cefotaximasas o CTX-M, de forma simultánea, en una cepa de *E. coli* de Alemania y en una cepa de *Salmonella* de Argentina (Oliver y Cantón, 2004). La incidencia de otras familias se incrementa (OXA y PER) y se identifican más de 300 BLEEs, la mayoría pertenecen a las familias TEM, SHV y CTX-M (Calvo *et al.*, 2011).

Las BLEEs, en las enterobacterias constituyen la principal causa de resistencia frente a las aminopenicilinas, las carboxipenicilinas (Jehl, 2004), las oximinocefalosporinas y monobactamas (Truppia *et al.*, 2005), con excepción de las cefamicinas y mantiene la sensibilidad a los inhibidores y a los carbapenémicos (CASFM, 2010). La mayoría son fáciles de detectar en *E. coli* y *K. pneumoniae* (García *et al.*, 2000).

Producción de penicilinasas

La adquisición de β -lactamasas plasmídicas de clase A (Bush *et al.*, 1995) denominadas de amplio espectro o β -lactamasas clásicas como TEM-1, TEM-2 y SHV-1, es responsable de la resistencia a las aminopenicilinas y las carboxipenicilinas y de la sensibilidad disminuida o intermedia a las ureidopenicilinas. Las cepas portadoras de estas enzimas mantienen su sensibilidad a las cefalosporinas, los monobactámicos y carbapenémicos (García *et al.*, 2000).

Producción de β -lactamasas resistentes a los inhibidores

Estas derivan también de las β -lactamasas clásicas y se caracterizan por conferir resistencia a las aminopenicilinas, las carboxipenicilinas y las ureidopenicilinas; no son sensibles a la acción de los inhibidores y no tienen actividad sobre el resto de los betalactámicos. Al principio, estas β -lactamasas se denominan mutantes TEM resistentes a los inhibidores (IRT, por sus siglas en inglés) porque en su mayoría derivan de TEM-1 y TEM-2, aunque existen también β -lactamasas resistentes a los inhibidores derivadas de SHV-1 (Navarro y Miró, 2002). Las oxacilinasas (como la OXA-1), pertenecientes a la clase D de Ambler dan lugar a un fenotipo indistinguible del de las IRT (Miró *et al.*, 2002).

Hiperproducción de β -lactamasa cromosómica de clase A

Este fenotipo puede encontrarse en especies como *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. penneri*, *P. vulgaris* y *C. koseri*. En el caso de *K. oxytoca* su patrón de resistencia es muy similar al de las BLEEs. La sospecha de tratarse de una hiperproducción de β -lactamasa cromosómica (denominada K1) y no de una BLEEs, está dada por la sensibilidad a la ceftazidima y la elevada resistencia al aztreonam (Fournier *et al.*, 1995). En el caso de una hiperproducción de la β -lactamasas cromosómica SHV-1 de *K. pneumoniae* puede observarse una resistencia de bajo nivel a las ceftazidima (Miró *et al.*, 1998).

Hiperproducción de β -lactamasa cromosómica de clase C y cefamicinasas plasmídicas

La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, siendo los niveles de producción dependientes del grado de expresión del gen *blaAmpC* (Jacoby, 2009).

Los aislamientos hiperproductores de AmpC presentan un fenotipo de resistencia (fenotipo AmpC) a las penicilinas, las asociaciones de betalactámicos con inhibidores de β -lactamasas, las cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas generalmente las cefamicinas, así como a las de tercera generación, pero en grado variable, en dependencia del nivel de hiperproducción (Navarro *et al.*, 2010).

Un grupo de β -lactamasas de tipo AmpC están codificadas por genes en plásmidos conjugativos (AmpC plasmídicas). Estas pueden causar fracasos terapéuticos similares a los descritos en las infecciones causadas por aislados hiperproductores de AmpC cromosómica inducible (selección de mutantes con desrepresión estable), en tratamientos con betalactámicos (Mata *et al.*, 2010).

Producción de β -lactamasas activas frente a los carbapenémicos

Las carbapenemasas son β -lactamasas que hidrolizan la mayor parte de los betalactámicos incluidos los carbapenémicos (Queenan y Bush, 2007). La incidencia de estas enzimas en las enterobacterias es muy baja. En este grupo se describen las tres clases de enzimas con actividad frente a los carbapenémicos, las carbapenemasas de clase A (por ejemplo la β -lactamasa KPC), las de clase B (MBL como por ejemplo las VIM o las IMP) y de la clase D, la oxacilinasa OXA-48 (Cornaglia *et al.*, 2007; Miriagou *et al.*, 2010).

3.10. Métodos de detección fenotípica

3.10.1. Métodos de detección fenotípica para enterobacterias productoras de BLEEs

Métodos convencionales

Existen diversas pruebas fenotípicas para la detección de BLEEs, la mayoría de los métodos descritos se diseñan para las enterobacterias y se fundamentan en el carácter inhibidor de las mismas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de β -lactamasas (Ramos *et al.*, 2006).

La prueba tamiz y la prueba confirmatoria fenotípica indicada por el CLSI para la detección de BLEEs se recomienda para *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* y además *P. mirabilis* de manera rutinaria antes de reportar los resultados cuando se implementan los criterios interpretativos para las cefalosporinas y el aztreonam publicados antes de enero de 2010 por el CLSI (CLSI, 2013). Ambas pruebas pueden realizarse por los métodos de difusión en disco y por microdilución (Bush y Jacoby, 2010; Calvo *et al.*, 2011).

En el año 2010, el CLSI y el Comité Europeo de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (EUCAST, por sus siglas en inglés), modifican los puntos de corte de las cefalosporinas y el aztreonam, sobre la base de estudios PK/PD (farmacocinética y farmacodinámica) y efectúan una nueva recomendación para informar la sensibilidad de los aislamientos con BLEEs, según los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad *in vitro*, independientemente del mecanismo de resistencia.

Cuando se usan los nuevos criterios de interpretación, la detección de BLEEs no es necesaria antes de reportar los resultados, tampoco es necesario editar los resultados para la penicilina, las cefalosporinas o el aztreonam de susceptible a resistente (CLSI, 2013).

Otros métodos

En la práctica, el método de difusión en agar con discos puede sustituirse por la sinergia de doble disco, y las pruebas de microdilución, por la utilización del Epsilon-test (E- test) (bioMérieux) (Seral *et al*, 2010).

La prueba de sinergia de doble disco descrita por Jarlier *et al.*, 1988, consiste en situar un disco con amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) próximo a discos de betalactámicos indicadores: ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), aztreonam (ATM) y cefepima (FEP). La producción de BLEEs se demuestra por la ampliación del halo de inhibición (efecto tapón de corcho) de cualquiera de los indicadores por la acción del ácido clavulánico.

La técnica de difusión en gradiente (E-test) con tiras combinadas de cefalosporinas con y sin inhibidor es también de utilidad para la detección de BLEEs. Se fundamenta en el mismo principio del método de difusión en agar con discos combinados, pero en este caso, se comparan los valores de la CMI (Seral *et al.*, 2010).

Se investigan nuevos métodos que reduzcan el tiempo necesario para el aislamiento de la bacteria por cultivo y la realización del antibiograma, por lo que se diseñan medios cromogénicos para el aislamiento selectivo y la identificación presuntiva de las enterobacterias productoras de BLEEs (Calvo *et al.*, 2011).

En este momento, los métodos automatizados comerciales son muy comunes en los laboratorios de microbiología clínica, estos métodos de microdilución en caldo, integrados en los sistemas semiautomáticos de incubación, lectura e interpretación de los resultados, determinan qué concentración causa la inhibición del crecimiento del microorganismo (Jordá *et al.*, 2005). Existen varios métodos automatizados capaces de diferenciar patrones fenotípicos de resistencia tales como la presencia de BLEEs y otras, dentro de los que se destacan: Vitek 2 Compact, Phoenix. Según Treviño *et al* (2009), el primero presenta una sensibilidad mayor, pero una especificidad menor para la detección de este fenotipo. De igual manera, Jordá *et al* (2005) observan la concordancia global (99,5%) de la sensibilidad antimicrobiana entre método de difusión por disco y el Vitek.

Otros métodos de detección mediante la utilización de los bioensayos son la prueba de Masuda y el método tridimensional, ambas técnicas son adecuadas para demostrar la presencia de BLEEs en cepas donde existen dudas acerca de su producción. Ambas pruebas son útiles para cualquier tipo de β -lactamasa, en dependencia de los sustratos que se utilicen; estos ensayos son engorrosos de realizar y tienen poco éxito (Oliver y Cantón, 2004).

3.10.2. Métodos de detección fenotípica para enterobacterias productoras de β -lactamasas tipo AmpC

En estos momentos, el CLSI no tiene estandarizada una técnica para la detección de AmpC; sin embargo, la prueba tamiz de BLEEs puede utilizarse para tamizar

las β -lactamasas tipo AmpC. Varios autores respaldan el uso de otras técnicas que ayudan a la detección de estas enzimas (Thomson, 2010).

Los métodos fenotípicos para la detección de AmpC plasmídicas (AmpCp) son sencillos y económicos, pero son de utilidad en los aislamientos que no tienen una AmpC cromosómica natural (*Klebsiella* spp., *S. enterica*, *P. mirabilis*) o que la expresan constitutivamente a muy bajo nivel, como ocurre en *E. coli*. La presencia de AmpCp debe sospecharse cuando estos aislamientos presenten un patrón de resistencias a los betalactámicos (fenotipo AmpC) diferente al de su respectivo fenotipo salvaje o de resistencia natural (Navarro *et al.*, 2010).

Los métodos fenotípicos más prácticos son el método de sinergia de doble disco (usando discos de cloxacilina o ácido fenil-borónico y discos de cefotaxima y ceftazidima) y el método de discos combinados con inhibidores. Existen otros métodos fenotípicos bastante sensibles, pero más complejos (Navarro *et al.*, 2011).

Las pruebas de sinergia de doble disco y la de discos combinados, con un inhibidor para la detección fenotípica de AmpCp, se basan en la propiedad de estas enzimas de inhibirse por la cloxacilina o el ácido borónico y en la utilización de las cefalosporinas de tercera generación (cefoxitina, ceftazidima) como indicadores (Calvo *et al.*, 2011).

La prueba de aproximación de discos evidencia el carácter inducible de la β -lactamasas AmpCp. En el caso concreto de *E. coli*, la utilización de este método de inducción de AmpC puede ser útil en la detección de AmpCp, puesto que un resultado positivo solo es posible si media la adquisición de una AmpC plasmídica

inducible y descarta, sin lugar a dudas, la hiperproducción de la AmpC cromosómica (Jacoby, 2009).

3.10.3. Métodos de detección fenotípica para enterobacterias productoras de carbapenemasas

De manera semejante a la detección de BLEEs, cuando se usan los viejos criterios interpretativos para los carbapenémicos descritos en el documento M100-S20 (enero) del CLSI (2010), la prueba de tamizaje y confirmatoria de Hodge modificada debe realizarse en los pacientes y reportarse de acuerdo con los criterios establecidos por el CLSI. No obstante, no es necesario probar un aislamiento para las carbapenemasas, realizando la prueba de Hodge, cuando todos los carbapenémicos reportados por el laboratorio son intermedios o resistentes (CLSI, 2013).

La prueba de Hodge modificada no proporciona información sobre la clase a la que pertenecen (Lee *et al.*, 2001). Para ello se utilizan las técnicas de sinergia de doble disco, discos combinados con inhibidores y el E-test MBL, basadas en la potenciación de la actividad de los carbapenémicos en presencia de inhibidores de las carbapenemasas (Walsh, 2010).

Para la detección de las carbapenemasas de clase B los inhibidores son el ácido dipicolínico o EDTA (Miriagou *et al.*, 2010). Para la detección de las carbapenemasas de clase A, el inhibidor utilizado es el ácido borónico. Para las carbapenemasas de tipo OXA no es posible utilizar un método fenotípico como el propuesto con las carbapenemasas de clase A o B, ya que no existen inhibidores específicos de enzimas de clase D (Navarro *et al.*, 2011).

Los sistemas automatizados presentan algunas limitaciones y fracasos en la detección y confirmación de las carbapenemasas, debido a que estos aislamientos pueden ser resistentes a la terapia con carbapenémicos, a pesar de presentar una aparente susceptibilidad basada en los puntos de corte para estos antibióticos (Queenan y Bush, 2007). Los valores de CMI de los aislados productores de carbapenemasas tipo VIM y KPC muestran una gran variabilidad y baja reproducibilidad en los sistemas automatizados (Rodríguez- Martínez *et al.*, 2012).

3.11. Resistencia a los aminoglucósidos

El comportamiento de un aminoglucósidos frente a una enterobacteria depende, como mínimo, de cinco factores: a) la difusión pasiva a través de la membrana externa; b) el transporte activo a través de la membrana interna; c) la afinidad del aminoglucósidos por su diana (una proteína ribosómica); d) la metilación de la unidad 16S del RNA ribosómico, y e) la presencia de enzimas inactivantes (Fritsche *et al.*, 2008). Sin embargo, el mecanismo más importante de resistencia a los aminoglucósidos sigue siendo la inactivación enzimática. Se describen tres tipos de enzimas: las acetiltransferasas (AAC) que acetilan un grupo amino del antibiótico, las fosfotransferasas (APH) que fosforilan un grupo hidroxilo y las nucleotidiltransferasas (ANT) que adenilan también un grupo hidroxilo. Cada enzima reconoce un cierto número de antibióticos aminoglucósidos, lo cual se traduce en un fenotipo de resistencia concreto. (Navarro *et al.*, 2010)

3.12. Resistencia a las fluoroquinolonas

Los principales mecanismos de resistencia descritos son la consecuencia de mutaciones en los genes de la ADN girasa y la topoisomerasa IV; mutaciones que

afectan a las porinas o el lipopolisacárido, impidiendo la penetración del antimicrobiano al interior de la bacteria; o la presencia de bombas de expulsión que expulsan el antimicrobiano hacia su exterior (Hooper, 1998). Hasta 1998 todos los mecanismos de resistencia a las quinolonas eran cromosómicos. Sin embargo, en los últimos años se describen con una mayor frecuencia la resistencia mediada por plásmidos (Strahilevitz *et al.*, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño y período del estudio

Se realizó una investigación de serie de casos o casos clínicos, en pacientes VIH/sida hospitalizados en el IPK en los que se aisló una enterobacteria en muestras extraintestinales durante el período comprendido entre enero y diciembre de 2012. Las muestras se procesaron en el Departamento de Microbiología Clínica del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”.

4.2. Universo

En este estudio se identificaron 70 aislamientos extraintestinales de enterobacterias, obtenidos del mismo número de muestras y de pacientes ingresados con VIH en el período de estudio.

Para definir al paciente como caso clínico se tuvieron en cuenta a partir de la identificación de las enterobacterias ciertos criterios en la interpretación de los resultados del cultivo de cada muestra investigada.

4.2.1. Criterios para la interpretación de los resultados del cultivo

➤ **Espuito:** Se tuvo en cuenta esta muestra en aquellos casos en los que se identificó un solo tipo de enterobacteria con crecimiento significativo (en la segunda o la tercera área de la placa) y predominante en el cultivo primario, así como también, un crecimiento de colonias que se manifestaba en el primer cuadrante de la placa en cultivo puro y que se observara en el Gram de la muestra un morfotipo predominante correspondiente con bacilos gramnegativos (Cacho *et al.*, 2007).

- Lavado broncoalveolar (LBA): Para considerar esta muestra, se tuvo en cuenta, la presencia en el cultivo de un conteo de colonias correspondiente a la enterobacteria aislada que fuera mayor o igual a 10^4 UFC/mL de muestra (Cacho *et al.*, 2007).
- Orina: Se tomó en cuenta esta muestra cuando el conteo de colonias fue mayor o igual a 10^5 UFC/mL de orina de la especie de enterobacteria identificada (Jehl *et al.*, 2004).
- Sangre: Se consideró por la identificación en al menos dos hemocultivos obtenidos de punciones distintas de vena periférica la misma enterobacteria, con igual patrón de susceptibilidad (Cobo *et al.*, 2006).
- Secreciones de las lesiones de piel: Se consideró como muestra válida en aquellos casos donde se aisló la enterobacteria en cantidades significativas en la segunda o en la tercera área de la placa correspondiente al cultivo inicial y cuyo morfotipo correspondiente a bacilo gramnegativo fue observado en la tinción de gram (Burillo *et al.*; 2006).
- Punta del catéter: Se tomó en consideración la muestra cuyas colonias en el cultivo tuvieron un conteo de la enterobacteria aislada mayor de 15, siguiendo el método de Maki (Bouza *et al.*, 2004).

Cuando en un paciente se aisló en el mismo tipo de muestra y en más de una ocasión la misma especie de enterobacteria, con similar patrón de sensibilidad, solo se incluyó el episodio relacionado con el primer aislamiento. En el caso de las muestras de sangre se contempló como un solo aislamiento y una sola muestra para el análisis estadístico de los resultados.

4.3. Procedimientos microbiológicos

➤ Recolección y procesamiento de las muestras biológicas

Las muestras estudiadas en el período comprendido se recolectaron y procesaron según lo establecido en el Manual de Procedimientos del Laboratorio Diagnóstico de Microbiología y los Procedimientos Normalizados de Operaciones del IPK. Los medios utilizados según el origen de la muestra se elaboraron por Biolife (Italia) y fueron los siguientes:

- Agar Base Sangre enriquecida con 5% de sangre de carnero
- MacConkey
- Tioglicolato
- Agar Chocolate [agar Base Sangre, enriquecida con 5% de sangre de carnero y calentada a 80 °C en baño de María (Julabo SW 22) durante 4 minutos]
- C.L.E.D

➤ Procesamiento para la identificación de las enterobacterias

Se realizó examen directo mediante la tinción de Gram de aquellas muestras que lo requirieron tales como el LBA, la sangre, las secreciones de las lesiones de piel y el esputo. Se observó la lámina al microscopio óptico (Olympus, Japón), con lente de inmersión (aumento 100 x) o lente de 10x según corresponda al tipo de muestra.

Las muestras de esputo y las secreciones de las lesiones de piel estudiadas fueron consideradas aptas para su procesamiento atendiendo a la calidad de la misma observada en la tinción de gram. En el primer caso se siguieron los criterios de graduación definidos por Murray y Washington (1975).

Todas las muestras según el tipo, se sembraron en los correspondientes medios de cultivos. Las placas inoculadas se incubaron (Incubadora Telstar, España) a 35 °C, durante 18-24 horas.

Después de la obtención de un cultivo puro, se realizó tinción de Gram para comprobar la pureza del cultivo y la presencia de bacilos gramnegativos. A continuación se procedió a la identificación del microorganismo aislado mediante la detección de la enzima citocromo-oxidasa y el sistema automatizado Vitek 2 Compact (bioMérieux, Francia), que también permitió realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobianas según el protocolo establecido en el Manual de Procedimientos del Departamento de Microbiología Clínica (anexo 1). La tarjeta utilizada para la identificación de los microorganismos gramnegativos fue la GN 2134.

➤ Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana y los fenotipos de resistencia adquirida

Se empleó el sistema automatizado Vitek 2 Compact, versión 6.01, siguiendo las recomendaciones del fabricante y según lo establecido por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio en el año 2011 (CLSI, por sus siglas en inglés). Se utilizaron las tarjetas AST- N082 y AST-N087 para el estudio de la susceptibilidad de bacterias gramnegativas. Las tarjetas incluyeron los siguientes antimicrobianos:

- AST-N082: amikacina (AN), ampicilina (AM), ampicilina/sulbactam (SAM), cefalotina (CF), cefepima (FEP), cefoxitina (FOX), cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), ciprofloxacina (CIP), colistina (CS), ESBL (ESB), gentamicina (GM),

imipenem (IPM), meropenem (MEM), ácido nalidíxico (NA), nitrofurantoína (FT), piperacilina/tazobactam (TZP), trimetropim/sulfametoxazol (SXT).

- AST-N087: ampicilina (AM), ampicilina/sulbactam (SAM), piperacilina/tazobactam (TZP), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), cefepima (FEP), imipenem (IPM), meropenem (MEM), ertapenem (EYP), amikacina (AN), gentamicina (GM), ciprofloxacina (CIP), colistina (CS), ESBL (ESB), ácido nalidíxico (NA), tigeciclina (TGC)

Solo se analizaron aquellos antibióticos comunes a ambas tarjetas.

4.4. Operacionalización de las variables

Para dar salidas a los objetivos se estudiaron las variables que se presentan a continuación (tabla 1)

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variables	Operacionalización	
	Escala de clasificación	Definición operacional
I. Tipo de Enterobacterias	<i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> spp, <i>Klebsiella</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. y <i>Morganella</i> spp.	Según lo definido por Koneman y Allen, 2008 como principales géneros de interés clínico
Origen de la muestra	Espudo, LBA, orina, sangre, secreciones de las lesiones de piel y punta de catéter	Según identificación por sistema Vitek 2 Compact
II. Resultados de las pruebas de susceptibilidad por antimicrobiano	Resistente Intermedio Sensible	Según identificación por sistema Vitek 2 Compact a partir de los criterios establecidos por CLSI, 2011 para cada antimicrobiano
III. Fenotipos de	Producción de BLEEs	Según identificación

resistencia adquirida frente a los betalactámicos	Presencia de AmpC Producción de carbapenemasas	por sistema Vitek 2 Compact a partir de los criterios establecidos por el CLSI, 2011
IV. Aislamiento MDR	Si No	Según lo definido por Magiorakos <i>et al.</i> , 2012

4.5. Técnicas de recolección y análisis de la información

El análisis de las enterobacterias identificadas, así como la susceptibilidad antimicrobiana y los fenotipos de resistencia, se realizó por el autor de la investigación, junto con los tutores, a partir de los informes microbiológicos contenidos en el sistema Observa y Vitek 2 Compact (bioMérieux, Francia).

Se confeccionó una guía para la recogida de la información microbiológica (anexo 2). Se creó una base de datos en un programa EXCEL de Microsoft Office 2010. El análisis de estos datos se realizó por el programa SPSS versión 15.0 y Epidat para el procesamiento estadístico.

Se utilizaron medidas de estadística descriptiva como la frecuencia y el porcentaje. Los resultados se expresaron en tablas y figuras para su mejor comprensión.

4.6. Consideraciones éticas

La presente investigación se discutió y aprobó de manera oportuna en el Comité de Ética Médica y la Comisión Científica del Instituto. La información obtenida se manejada de forma confidencial con fines investigativos, diagnóstico y curativo pues la identificación del microorganismo y el estudio de la susceptibilidad formó parte además del propio proceso diagnóstico de la enfermedad del paciente. Tuvieron acceso a los datos microbiológicos el autor, los tutores y asesores de la investigación a través de una contraseña que disponen los sistemas

automatizados y que se conoce por los investigadores en cuestión. Por otro lado, al médico de cabecera que indicó el examen del cultivo como parte del diagnóstico del proceso infeccioso del paciente, se le dió a conocer también el resultado, así como lo referente a la resistencia de la enterobacteria aislada, pues fue el encargado de indicar el tratamiento específico y valorar sus resultados según la mejoría o no del paciente. No se reveló la identidad de las personas, se garantizó el respeto a los principios éticos básicos: beneficencia, no maleficencia, respeto a las personas, justicia y autonomía.

Las muestras se procesaron en el Departamento de Microbiología Clínica del Hospital. Este cuenta con todas las condiciones para el cultivo y procesamiento de las mismas, teniendo en cuenta las prácticas, procedimientos y los equipos de seguridad que corresponden al nivel de seguridad biológica II, según establece la Resolución Nro. 103 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), de fecha 8 de octubre de 2002 (CITMA, 2002). Las enterobacterias se incluyen entre los agentes biológicos que afectan al hombre, en el grupo de riesgo II, según establece la Resolución Nro. 38 del mismo organismo, del 24 de marzo de 2006, por lo que representa un riesgo individual moderado y comunitario limitado (CITMA, 2006).

Como criterio para la suspensión de la investigación de forma temporal se incluyó la posibilidad del cierre del hospital por razones epidemiológicas en relación con cualquier evento epidemiológico, la ruptura u otra dificultad con el sistema automatizado, así como problemas con la climatización del laboratorio. No obstante, ninguna de estas situaciones determinaba la culminación o la

terminación del estudio como un todo. Para la solución de las dos últimas situaciones se contempló el aviso al personal técnico encargado de la reparación de estos equipos. Sin embargo, durante el transcurso de la investigación solo se presentó la primera problemática lo cual retrasó por breve tiempo el estudio.

Los resultados obtenidos fueron oportunamente mostrados y analizados al finalizar el año 2012, por el Comité de Prevención y Control de la Infección Hospitalaria, lo cual contribuyó a la consolidación del conocimiento de los médicos de asistencia sobre la susceptibilidad y resistencia antimicrobiana, así como, la actualización del protocolo de tratamiento para estos casos.

El Departamento de Microbiología Clínica del IPK es un sitio idóneo para realizar esta investigación pues cuenta con adecuados recursos materiales y humanos; se encuentra adecuadamente iluminado y climatizado, así como, recibe todas las muestras microbiológicas de los pacientes VIH hospitalizados en la institución.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Enterobacterias aisladas en las muestras extraintestinales

Se obtuvieron 70 aislamientos de enterobacterias provenientes de muestras clínicas extraintestinales, tomadas en igual número de pacientes ingresados en el IPK, durante el período analizado. Entre los aislamientos predominó *K. pneumoniae* (37,1%), seguida por *E. coli* (24,3%) y *E. cloacae* (11,5%). Otras enterobacterias como *M. morganii*, *P. mirabilis* y *Citrobacter freundii* se aislaron en porcentajes inferiores e idénticos (5,7%), mientras que, *Salmonella* spp. y *Serratia licuefaciens*, se identificaron en 2,9%. *E. aerogenes*, *K. oxytoca* y *S. marcescens* tuvieron los porcentajes más bajos (1,4%) (figura 1).

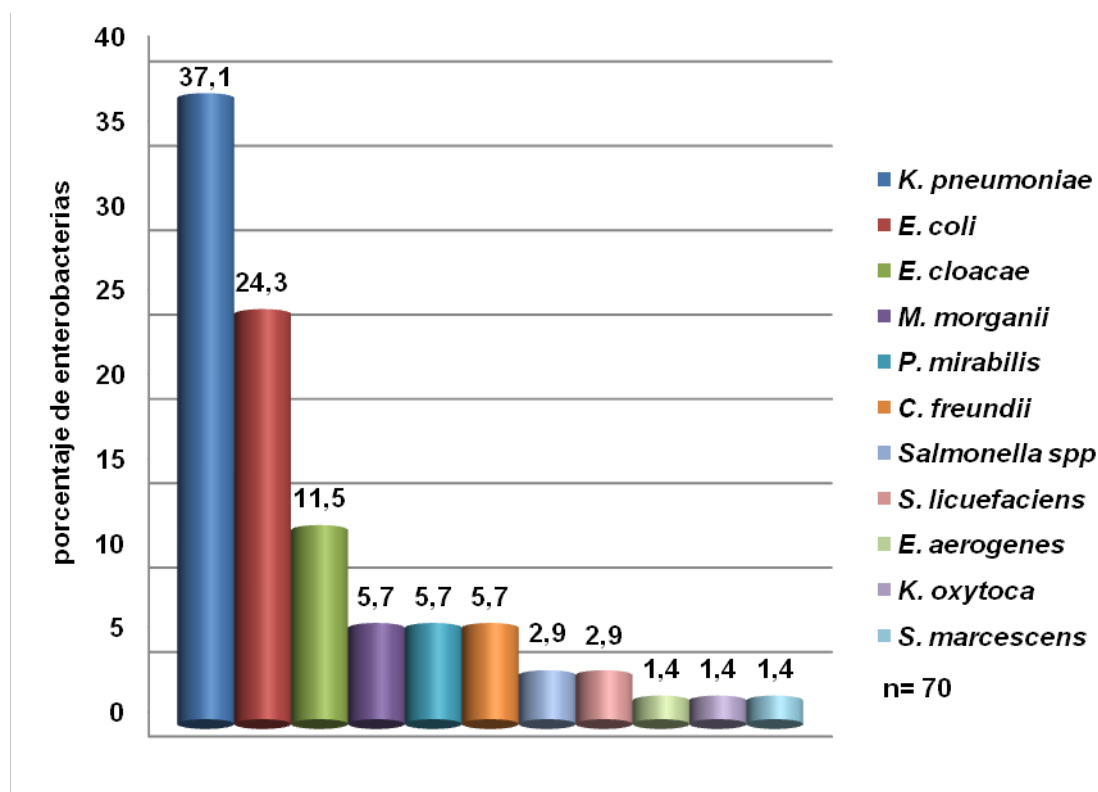


Figura1. Enterobacterias identificadas en infecciones extraintestinales de pacientes con VIH/sida. Departamento de Microbiología Clínica, IPK, 2012.

En la literatura revisada, no se hallaron frecuentes estudios que detallen el comportamiento, de forma general, de las infecciones por enterobacterias en los pacientes con VIH/sida. La mayoría de las investigaciones sobre este tema se refieren a los pacientes inmunocompetentes y a estos corresponden la mayoría de las citas publicadas. En Cuba, García *et al* (2013), realizan un estudio de caracterización fenotípica de enterobacterias en pacientes con VIH/sida ambulatorios y hospitalizados, donde identifican a *E. coli* y *Klebsiella* spp., como las especies más comunes (41,0 y 26,0%, respectivamente). Su resultado difiere del obtenido en la presente tesis, ya que ellos señalan a *E. coli* como la enterobacteria predominante, lo que pudiera relacionarse con el tipo de paciente investigado los que son tanto de origen hospitalario como comunitario. En la presente investigación se estudian solo pacientes hospitalizados, en los que debe predominar *Klebsiella*, por ser esta la enterobacteria más involucrada en las infecciones respiratorias de los pacientes con VIH (Restoy *et al.*, 2006) y a su vez, este tipo de infección es la causa más importante de ingreso hospitalario, incluso en la era de tratamiento antirretroviral de gran actividad (Brodth *et al.*, 1997). De manera similar al estudio anterior, pero en pacientes inmunocompetentes, Najera (2005), en Guatemala, señala a *E. coli* (73,0%) como la especie más frecuente, seguida por *K. pneumoniae*, (10,0%) y en este mismo orden, muestran sus resultados Bakthavatchalu *et al* (2013), en la India. Esta diferencia pudo estar relacionada con el tipo de población investigada. Esos autores estudiaron pacientes ambulatorios e inmunocompetentes. En ellos, de manera habitual predomina la infección urinaria, por ser esta una entidad clínica generalmente

adquirida en la comunidad y ser *E. coli* el microorganismo más frecuentemente aislado en ella. (Fonseca *et al.*, 2007).

No obstante, diversos estudios señalan a *Klebsiella* como la enterobacteria más identificada en diversas infecciones, incluso en los pacientes inmunocompetentes. Entre ellos se encuentra el trabajo de Torres *et al* (2006), realizado en centros de salud de Caracas, donde los mayores porcentajes de aislamientos corresponden a *K. pneumoniae* (46,0%), *E. coli* (29,4%) y *Enterobacter* spp., (12,0%). De manera semejante, García *et al* (2009), en el mismo país, investigan la susceptibilidad antimicrobiana en enterobacterias y señalan a *K. pneumoniae* como la especie más frecuente (51,8%). Nastro *et al* (2012), al estudiar 165 enterobacterias aisladas de pacientes ingresados en el hospital argentino “José de San Martín”, encuentran como especies predominantes a *K. pneumoniae* (95 aislamientos) y *E. coli* (55 aislamientos). Es necesario reflejar que estos estudios se realizan en pacientes hospitalizados y sus resultados coincidieron con los obtenidos en la presente investigación.

Al analizar el origen de las muestras procesadas (figura 2) el mayor número correspondió a los esputos (53,2%), seguidos por la orina (17,7%) y la sangre (16,5%). Las otras (exudado de lesión, lavado bronquial y catéter) fueron las muestras con los porcentajes más bajos.

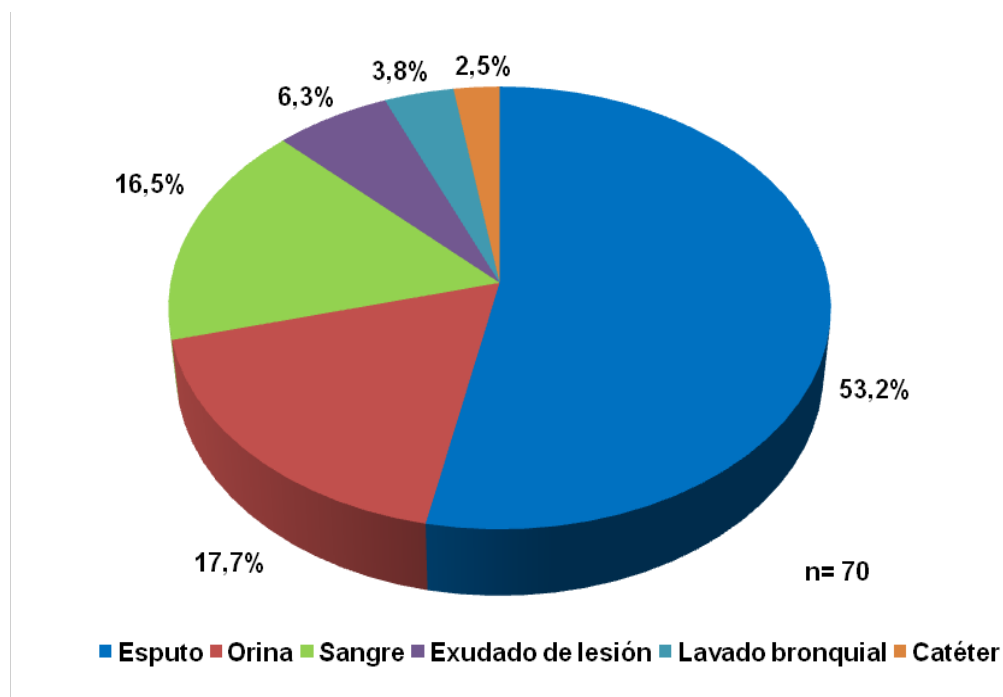


Figura 2. Distribución de las muestras estudiadas en infecciones extraintestinales de pacientes con VIH/sida. Departamento de Microbiología Clínica, IPK, 2012.

Las infecciones respiratorias son una importante causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes con infección por el VIH (Wallace *et al.*, 1997; Aries y Schaaf, 2007). Se refiere que, alrededor de 70,0% de los individuos seropositivos al VIH, desarrollan alguna afección pulmonar en el transcurso de su enfermedad (Aries y Schaaf, 2007).

Un estudio multicéntrico internacional correspondiente al año 1995, establece que las neumonías bacterianas son cinco veces más frecuentes en las personas infectadas con el VIH que en las seronegativas (Hirschtick *et al.*, 1995). Otros autores ratifican el riesgo que tienen los pacientes VIH positivos de padecer una neumonía bacteriana, esta se incrementa entre 10 y 30 veces (Feikin *et al.*, 2004).

Cabrera *et al* (1999), al estudiar en el IPK a pacientes infectados con el VIH, ubican a las infecciones respiratorias de origen bacteriano en el tercer lugar en cuanto a su frecuencia, superadas por *Mycobacterium tuberculosis* y *Pneumocystis jirovecii*. Posteriormente, Maurici da Silva *et al* (2008), refieren un cambio, con el predominio de la neumonía bacteriana, comportamiento quizás relacionado con una profilaxis más eficaz en el tratamiento de *P. jirovecii*. Para esos autores, el esputo representa la muestra más investigada en los pacientes con VIH/sida.

Del mismo modo, el riesgo de sepsis urinaria aumenta hasta tres veces más en los pacientes con VIH/sida. Esta infección constituye una importante causa de morbilidad en este tipo de paciente. La orina representa una de las muestras más relevantes en el diagnóstico de infecciones bacterianas en los individuos con VIH/sida (Omoregie y Eghafona, 2009). Está documentado que la prevalencia de ITU es mayor en los hombres jóvenes con infección por el VIH. Además, las infecciones urinarias en los pacientes con sida aumentan en relación con los individuos asintomáticos infectados por este virus (Petrosillo *et al.*, 1999).

García *et al* (2013), en el IPK, señalan un predominio de enterobacterias a partir de las muestras de esputo y orina (44,0 y 19,0%, respectivamente). En contraste con lo ya señalado, Muzachiodi y Ferrero (2005) notifican en pacientes inmunocompetentes del Hospital Escuela “José F. de San Martín”, Argentina, el mayor número de cultivos positivos de enterobacterias (41,8%) a partir de las muestras de orina; un resultado similar notifican Bakthavatchalu *et al* (2013), en la India (39,7%). Estos últimos autores señalan, además, que el esputo constituye la

muestra que ocupa el tercer lugar en cuanto a los aislamientos obtenidos en su trabajo (23,1%). Por otro lado, Albarado *et al* (2009), identifican a la orina como la muestra con menos porcentajes de enterobacterias aisladas (2,8%) y no hacen referencia al cultivo de esputo.

Todo lo anterior justifica el predominio de las muestras de esputo y orina en el diagnóstico de las infecciones por enterobacterias en los pacientes con VIH/sida. Sin embargo, a pesar de ser el esputo la muestra más utilizada para el diagnóstico de las infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB), por su fácil obtención, se cuestiona la confiabilidad de sus cultivos, ya que el crecimiento del microorganismo patógeno puede interferirse por la proliferación de la flora bacteriana normal nasofaríngea. No obstante, su correcta recogida y procesamiento, así como su realización en los pacientes que cumplen los criterios de ingresos hospitalarios, aumentan su rendimiento (Meseguer *et al.*, 2008). En la presente investigación, se trabajó con muestras representativas del proceso infeccioso (esputos con calidad aceptable y presencia de un morfotipo predominante sugestivo de enterobacteria). García (2008), en pacientes con VIH, estudiados en el IPK y con el diagnóstico de infecciones respiratorias agudas bacterianas bajas (IRABB), refiere que la muestra de esputo aporta el mejor diagnóstico etiológico de los casos de neumonía investigados por ellos. De manera similar, Cabrera (2003) y Pérez *et al* (2002), en el mismo centro de salud, ratifican este planteamiento.

5.2. Susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias aisladas

La figura 3 muestra el comportamiento de la resistencia antimicrobiana de las enterobacterias identificadas. La susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* frente a los betalactámicos mostró los porcentajes más altos de resistencia frente a la ampicilina (91,4%), seguida por la ampicilina con sulbactam (65,7%). Se observaron porcentajes de resistencia inferiores frente a los otros fármacos: ceftazidima (37,1%), cefoxitina (30,0%), cefepima (12,9%), con una susceptibilidad intermedia a este último de 32,8% (dato no mostrado). Todas las enterobacterias fueron sensibles a los carbapenémicos.

Por otro lado, 58,6% de los aislamientos identificados expresaron resistencia al ácido nalidíxico y 50,0% a la gentamicina y la ciprofloxacina. El porcentaje de cepas resistentes a la colistina fue de 18.6%. La resistencia más baja se observó frente a la amikacina (5,7%).

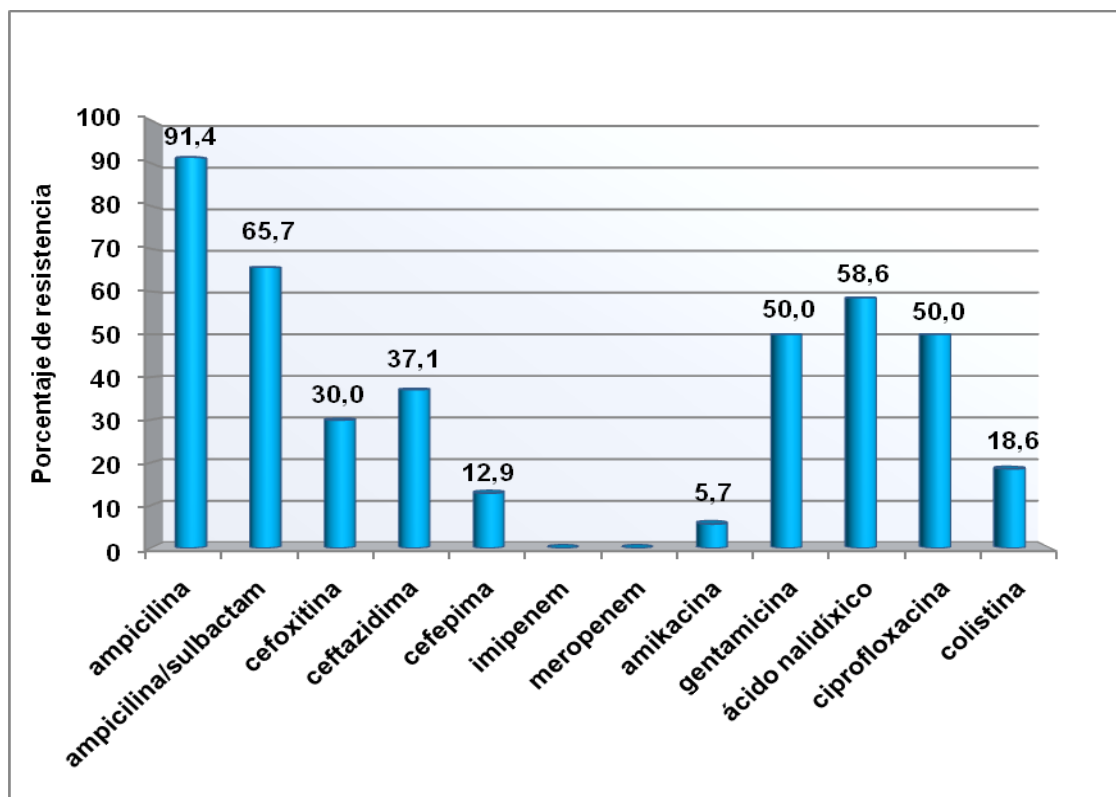


Figura 3: Resistencia antimicrobiana de las enterobacterias identificadas en infecciones extraintestinales de pacientes con VIH/sida. Departamento de Microbiología Clínica, IPK, 2012.

La elevada resistencia detectada frente a la ampicilina está descrita por otros autores. Najera (2005), en Guatemala y García *et al* (2013), en Cuba, refieren una resistencia total para este antimicrobiano; mientras que, González (2003), presenta resultados muy similares a los obtenidos en el actual estudio, con 93% de resistencia. Debido a la amplia distribución que tiene el grupo de penicilinas (representado en este estudio por la ampicilina), se espera que, con el transcurrir del tiempo, su espectro antimicrobiano descienda aún más, por lo que, de seguir este comportamiento, podrían caer en desuso (Bush *et al.*, 2004). Esta elevada resistencia en las enterobacterias de interés clínico, con la excepción de *Salmonella*, y *Proteus mirabilis*, se debe a la presencia en ellas de una β -

lactamasa cromosómica natural propia de cada especie, con diferentes patrones esperados de resistencia a los β -lactámicos, en función de la enzima implicada, que incluyen la resistencia natural a las penicilinas (Casellas, 2011).

A pesar de ser elevada la resistencia a la ampicilina con sulbactam, fue significativa la disminución del porcentaje con respecto a la ampicilina. Este último se trata de una molécula betalactámica con un bajo grado de actividad antibacteriana, pero que tiene la propiedad de inhibir una gran variedad de ☐ lactamasas y disminuye la resistencia de los gramnegativos cuando se encuentran en combinación con una penicilina (González, 2003). No obstante, Araya *et al* (2007), en pacientes internados con infecciones por bacterias gramnegativas, en el Hospital San Juan de Dios de Costa Rica, destacan entre los betalactámicos una alta resistencia a la piperacilina/tazobactam (79,8%), por encima de la encontrado en esta investigación para la asociación estudiada. Por otro lado, Torres *et al* (2006) en Caracas, detectan cifras de resistencia a las combinaciones de penicilina con inhibidor de β -lactamasa, inferiores a la analizada en el presente estudio: amoxicilina/clavulánico (28,0 %) y piperacilina/tazobactam (8,0%). Estas diferencias quizás se deban a múltiples factores como pueden ser los tipos de especies predominantes identificadas. Existe un grupo de enterobacterias que presentan resistencia de manera natural a estas asociaciones, por la presencia de la β -lactamasa cromosómica AmpC (Navarro *et al.*, 2010). Además, la posible producción de BLEEs confiere según su tipo y la variante de inhibidor de β -lactamasa utilizado, una mayor o menor resistencia frente a algunas asociaciones. Según varios autores las combinaciones que usan inhibidores de β -lactamasa

como la piperacilina/tazobactam se relacionan con un menor porcentaje de resistencia y destacan que es una buena opción terapéutica para productores de BLEEs. No obstante, una sobreproducción de β -lactamasa puede superar la capacidad inactivadora del inhibidor (Puerta *et al.*, 2005). Sin embargo, cabe destacar, que todas las combinaciones de betalactámicos mas inhibidores de β -lactamasa sufren del efecto inóculo, por lo tanto, se debe evaluar el tipo de infección donde pueden utilizarse para evitar el riesgo de un fracaso terapéutico (Torres *et al.*, 2005).

El análisis de las pruebas de susceptibilidad indicó un mayor porcentaje de resistencia a la ceftazidima que a la cefepima. Albarado *et al* (2009), en su estudio sobre la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEEs en Venezuela, obtienen también un mayor porcentaje de resistencia frente a las cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima), en relación con las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima), con un 70,3 y 40,7%, respectivamente. En esta tesis, frente a este último fármaco, se observó un menor porcentaje de resistencia y una mayor susceptibilidad intermedia. Resultado similar describen Torres *et al* (2006), al destacar una resistencia de 5,8% y una susceptibilidad intermedia de 11,2% frente a la cefepima, así como un elevado porcentaje de resistencia a ceftazidima (60,7%), cuando investigan la presencia de BLEEs en enterobacterias aisladas en centros de salud de Caracas. En los últimos años existe una gran discusión en cuanto a la interpretación del antibiograma y de los puntos de corte establecidos para determinar la sensibilidad de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación en enterobacterias. Según los nuevos puntos de corte, el CLSI (2011)

propone considerar la sensibilidad a estas cefalosporinas indistintamente del mecanismo de resistencia implicado. Esta propuesta plantea la posibilidad de utilizar estas cefalosporinas en el tratamiento de las infecciones por bacterias portadoras de BLEEs.

Los carbapenémicos son los únicos antimicrobianos que conservan casi una total actividad sobre las cepas productoras de BLEEs, aunque ya se notifican aislamientos resistentes. Esta situación es grave porque los fármacos que integran este grupo son casi siempre la única alternativa terapéutica disponible frente a las cepas multirresistentes (Muzachiodi y Ferrero, 2005). Son numerosos los estudios nacionales e internacionales que evidencian la sensibilidad absoluta de las enterobacterias a los carbapenémicos. Entre los primeros se encuentran los de Hernández *et al* (2006) y García *et al* (2013), ambos realizados en Cuba. Entre los trabajos internacionales se destacan los de Albarado *et al* (2009), en Venezuela y Berrios (2005), en Perú. Por lo tanto, hasta no disponer de una mayor experiencia clínica procedente de ensayos aleatorizados, los carbapenémicos constituyen el tratamiento de elección de las infecciones graves por bacterias gramnegativas productoras de BLEEs (Rupp y Fey, 2003), por ser muy estables frente a la hidrólisis de las β -lactamasas y los únicos capaces de mantener la actividad bactericida durante 24 horas frente a altos inóculos de cepas con BLEEs (Burgess y Hall, 2004). No obstante, cabe destacar que el uso indiscriminado de los carbapenémicos puede conllevar a cambios en los patrones de sensibilidad de la población bacteriana frente a estos fármacos.

En este trabajo de tesis, el comportamiento de la resistencia frente a los aminoglucósidos fue semejante al descrito en otros estudios. En un trabajo de resistencia antimicrobiana *in vitro*, González (2003), obtiene un mayor porcentaje de enterobacterias resistentes a la gentamicina (42,7%), en comparación con la amikacina (13,4%). Otras investigaciones señalan que, en ese mismo orden, la actividad de estos fármacos aumenta contra los microorganismos resistentes, como es el caso de García *et al* (2009), que refieren una resistencia frente a la gentamicina de 40,7% y 25,9% para la amikacina. También Martínez *et al* (2005), señalan una resistencia de 72,7 y 27,2%, respectivamente. Najera (2005), señala que *E. coli* presenta un porcentaje de resistencia a la gentamicina tres veces mayor al de la amikacina y muestra a este aminoglucósido como el de mayor efectividad entre los no β -lactámicos frente a las cepas productoras de BLEEs. García *et al* (2013), en Cuba, detectan más de 80,0% de enterobacterias sensibles a la amikacina. Estas diferencias de resistencias entre ambos antimicrobianos dependen de un incremento progresivo en la susceptibilidad a las enzimas inactivadoras bacterianas (fosfotransferasas, nucleotidiltransferasas y acetiltransferasas) (López y Salgado, 1999). La amikacina posee la más amplia actividad de todos los aminoglucósidos disponibles, por su resistencia innata a las enzimas modificadoras, de ahí que sea el antimicrobiano más indicado en aquellas instituciones con numerosas bacterias gramnegativas resistentes. Inicialmente, su aplicación se limitó a los hospitales, por el temor de que apareciera una resistencia amplia, pero este comportamiento no se ha presentado, de hecho, en centros donde se permite el empleo libre del fármaco, disminuye la resistencia a otros

aminoglucósidos, por lo que se plantea la contribución de la amikacina para frenar una epidemia de bacterias gramnegativas resistentes a los aminoglucósidos (Berrios, 2005).

Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron que 50,0% de las cepas fueron resistentes a la ciprofloxacina. Torres *et al* (2006) y Martínez *et al* (2005), describen porcentajes más bajos (27,7 y 36,6%, respectivamente), mientras que, Muzachiodi y Ferrero, 2005, detectan cifras superiores (80,6%). Se plantea que la adquisición de resistencia a las fluoroquinolonas puede corresponder a un proceso multifactorial (Hopkins *et al.*, 2005), lo que justifica las diferencias encontradas en diferentes regiones.

5.3. Principales fenotipos enzimáticos de resistencia frente a los betalactámicos

Las BLEEs son muy frecuentes en *K. pneumoniae* y *E. coli*, aunque la producen también microorganismos no fermentadores como *P. aeruginosa* y otros. Estas β -lactamasas son capaces de inactivar a las penicilinas, a las cefalosporinas y al aztreonam (CASFM, 2010).

El Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria (GEIH) perteneciente a la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), publica en el año 2003, los resultados obtenidos en cuarenta hospitales españoles, donde se identifican microorganismos productores de BLEEs en 90,0% de los hospitales participantes. Se aíslan cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* con este fenotipo en 82,5 y 42,5% de los centros, respectivamente (Hernández *et al.*, 2003).

El porcentaje de enterobacterias productoras de BLEEs en este trabajo fue de 45,7%, cifra situada dentro de los valores de frecuencias descritos en otros países, con valores que oscilan desde 20,0 hasta 48,0% (Muzachiodi y Ferrero, 2005). La presencia de β -lactamasa de clase C (AmpC) desreprimida se evidenció en 12,8% de las enterobacterias estudiadas (figura 4).

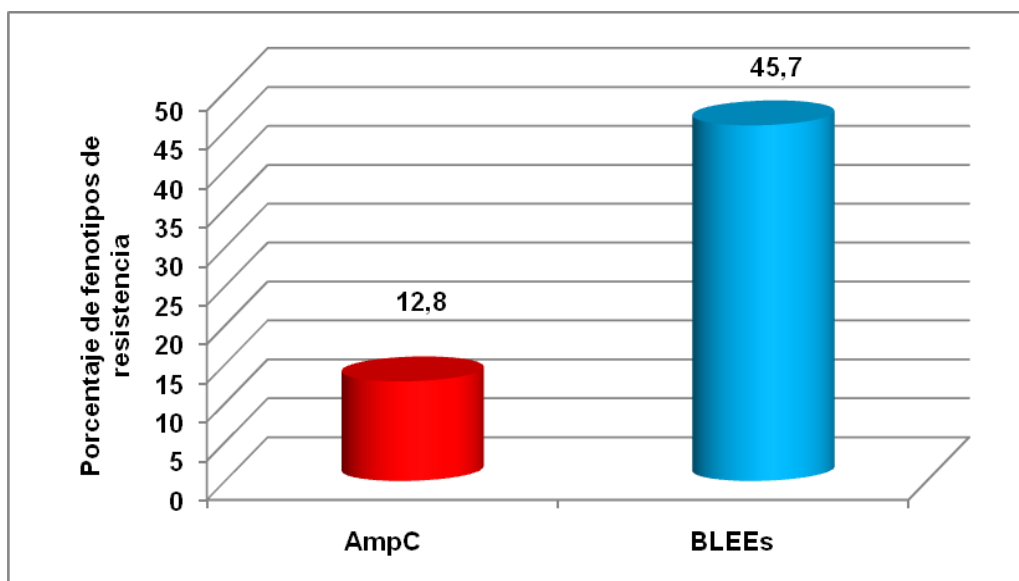


Figura 4. Principales fenotipos enzimáticos de resistencia a los betalactámicos en las enterobacterias. Departamento de Microbiología Clínica, IPK, 2012.

Martínez *et al* (2003), detectan 43,0% de BLEEs en Colombia. Por otro lado en un estudio multicéntrico realizado en 11 países latinoamericanos, Méndez *et al* (1999), describen en enterobacterias, tasas de BLEEs que oscilan entre 40,0 y 52,0%, al comparar la susceptibilidad antimicrobiana en distintas especies de enterobacterias. Shoorashetty *et al* (2011), detectan 41,0% de cepas productoras de estas β -lactamasas en la India.

Albarado *et al* (2009), en Venezuela, refieren cifras superiores a las de esta investigación (77,1 %). Asimismo, en Cuba, se describen porcentajes mayores como los obtenidos por Ramos *et al* (2006) (63,5%) y Hernández *et al* (2006) (66,5%), en estudios sobre resistencia antimicrobiana en las bacterias productoras de BLEEs. Ambos trabajos se realizan en pacientes graves por lo que sus resultados pudieran vincularse con los individuos investigados. Según Sandrea-Toledo *et al* (2007), la frecuencia de infección por enterobacterias productoras BLEEs en pacientes de la UCI se asocia con el alto consumo de antimicrobianos, el cual es aproximadamente diez veces mayor que en el resto de las áreas hospitalarias, y se vincula también con las características de los pacientes allí hospitalizados, su prolongada estadía y las características medioambientales propias, que contribuyen con una ecología favorable a la presencia de estos microorganismos.

Sin embargo, otros estudios refieren cifras por debajo del detectado en la actual tesis, como es el caso de García *et al* (2013), quienes al realizar la caracterización fenotípica de enterobacterias detectan 34,2% de BLEEs en pacientes con VIH ingresados y de la comunidad. En Cuba, Álvarez *et al* (2010), notifican cifras de 24,0%. Por otro lado, Pavón *et al* (2011), en México, señalan la producción de BLEEs en IACS de origen hospitalario, en 26,4% de las enterobacterias.

Este porcentaje puede variar según el tipo de hospital, la región geográfica, la complejidad de las infecciones que allí se traten y el perfil de los antibióticos utilizados (Villegas *et al.*, 2004). Por tanto, si se tiene en cuenta que la actual investigación se realizó en un hospital relativamente pequeño, poco complejo,

donde existe un protocolo de tratamiento establecido, es posible que el porcentaje de BLEEs obtenido no fuera muy alto.

En esta investigación el Vitek 2 Compact fue confiable para la detección de BLEEs en las enterobacterias ya que los resultados obtenidos coincidieron con los reportados por otros autores, que detectan este patrón de resistencia mediante distintos métodos fenotípicos, incluidos los de referencia. Los sistemas automatizados acortan el tiempo de tratamiento inicial específico a partir del antibiograma, ya que mejoran la sensibilidad analítica de los métodos, es decir, son capaces de detectar el desarrollo en una suspensión, antes que el laboratorista pueda detectar turbidez, sin embargo, el análisis de la sensibilidad antimicrobiana por estos sistemas no constituye un método de referencia para la detección de la misma. A esto se le añade que no existen normas estandarizadas por el CLSI para los sistemas automatizados (García, 2002).

De otro lado, los microorganismos productores de BLEEs poseen resistencia cotransferida al trimetoprim/sulfametoxazol, a la ciprofloxacina y a la mayoría de los aminoglucósidos (Espinal *et al.*, 2003). Las cepas productoras de BLEEs son multirresistentes y el fenómeno de la resistencia cruzada es muy frecuente (Oteo *et al.*, 2002), comportamiento que se demostró en la presente investigación, donde 41,4% de las cepas con BLEEs, fueron resistentes a otros antimicrobianos como la gentamicina, la amikacina o la ciprofloxacina. Los plásmidos que codifican estas enzimas, contienen otros genes de resistencia a los aminoglucósidos y a las quinolonas (Muzachiodi y Ferrero, 2005), lo que explica la multirresistencia. Asimismo, González *et al* (2007), en Cuba, refieren una elevada resistencia a los

no betalactámicos en cepas con BLEEs, que limitan el sinergismo terapéutico entre las familias de antimicrobianos. Los altos índices de BLEEs son marcadores importantes que deben conducir a la toma de decisiones para la intervención terapéutica y la prevención de la morbilidad y mortalidad en los pacientes hospitalizados.

La prevalencia de AmpC desreprimida se describe en Cuba, por García *et al* (2013), cuando señalan 8,2% de enterobacterias con este mecanismo de resistencia a los betalactámicos. Un porcentaje similar (6,0%) refieren Shoorashetty *et al* (2011). Esta enzima es también llamada cefalosporinasa, aunque su espectro de acción hidrolítica no sólo incluya cefalosporinas. Ciertas enterobacterias, tal es el caso de *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* y otras, poseen de manera natural β -lactamasas tipo AmpC, al igual que los bacilos gramnegativos no fermentadores de importancia clínica (*P. aeruginosa*). La hiperproducción de AmpC se produce por alteraciones en los genes que regulan la producción de la enzima (desrepresión), dando lugar a la elaboración de una gran cantidad de la misma y por lo tanto, las cepas pasan a ser resistentes a las carboxipenicilinas, a las ureidopenicilinas y a las cefalosporinas (manteniendo su actividad frente a las cefalosporinas de cuarta generación). Su detección se puede presumir en esta y otras investigaciones basado en la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, la resistencia frente a la ceftazidima/ clavulánico y su estabilidad frente a la cefepima (Martínez *et al.*, 2005), aunque el CLSI, no tiene establecida las guías para su identificación. Se debe alertar al clínico, siempre que se trate de algún microorganismo con AmpC natural que existe la posibilidad de un fracaso terapéutico si se aplica tratamiento

con betalactámicos a priori activos, en monoterapia, como consecuencia de la selección de cepas resistentes por desrepresión de la β -lactamasa cromosómica (Seral *et al.*, 2010).

5.4. Comportamiento de los aislamientos MDR en las enterobacterias estudiadas.

La presencia de enterobacterias MDR en este trabajo predominó sobre las no MDR con un 61,42 y 38,58% respectivamente. *K. pneumoniae* y *E. coli* son las enterobacterias que predominan en el primer grupo para un total de 62,78% (dato no mostrado) (figura 5).

Figura 5. Enterobacterias MDR causantes de infecciones extraintestinales en los pacientes VIH/sida. Departamento de Microbiología Clínica, IPK, 2012.

Lo reflejado anteriormente convierte a *E. coli* y *K. pneumoniae* en microorganismos de gran interés clínico y microbiológico, debido a su amplia resistencia. Para enfrentarlos deben formularse normativas de vigilancia que aseguren un estricto cumplimiento de las leyes y reglamentos sobre autorización, distribución, venta y uso de los antimicrobianos disponibles.

Ya enfocados en el fenómeno de la multirresistencia se realizó un análisis para conocer el comportamiento de las infecciones producidas por estos microorganismos. Como se aprecia en la figura 6 los aislamientos de *K. pneumoniae* MDR se obtuvieron de manera predominante de la sangre (16,27%) y el esputo (37,50%). En el caso de *E. coli* a partir de la orina (13,95%) (figura 6).

Figura 6. Distribución por muestras principales de las enterobacterias MDR en infecciones extraintestinales de pacientes VIH/sida. Departamento de Microbiología Clínica, IPK, 2012.

Las enterobacterias consideradas MDR son importantes en las bacteriemias y las infecciones urinarias (Torres *et al.*, 2006). Los brotes de este tipo de cepas se encuentran asociados a múltiples factores de riesgos. Entre ellos se encuentran la asistencia respiratoria y pacientes con catéteres urinarios, arteriales o venosos centrales entre otros (Giamarellou, 2005). Se debe considerar que los pacientes estudiados en la presente investigación son VIH/sida que en muchas ocasiones están sometidos a estos factores predisponentes con lo que aumenta el riesgo de padecer una infección por cepas MDR. La presencia de enfermedades debilitantes como la IRC, neoplasias y otras que se manifiestan en el curso de la enfermedad de los pacientes VIH conlleva a la asistencia médica casi permanente y con ello la transmisión cruzada de microorganismos por parte del personal de salud, así como la exposición a los procedimientos invasivos o uso continuo de antibióticos.

La mortalidad por infecciones del sistema sanguíneo continua siendo un problema importante porque puede llegar a un 50% en pacientes graves con sepsis (Brun-Buisson *et al.*, 1996). Patterson *et al* (2004), en un estudio realizado en 12 hospitales de siete países encuentran que *K. pneumoniae* MDR es responsable del 30% de las bacteriemias y Cheguiri *et al* (2008), en Argentina en pacientes pediátricos del servicio de oncología reportan que las bacteriemias por este tipo de cepas ocupan el primer lugar. Por otro lado, Suárez *et al* (2012) reportan que el 51,7% de *K. pneumoniae* MDR se aíslan de la sangre, mientras que, en un

estudio realizado en 17 países se reporta en la literatura aislamientos de 30 % de *K. pneumoniae* a partir de hemocultivos en pacientes adultos (García y Colmenero, 2006; Paterson *et al.*, 2004).

En relación al esputo, los resultados obtenidos en esta tesis se correspondieron con los descritos en un trabajo realizado por Poveda *et al* (2005), donde *K. pneumoniae* predomina (33,3%) en las muestras de esputo obtenidas a partir de individuos con IACS de una UCI. Para esos autores, *K. pneumoniae* MDR representa el principal agente causal de las neumonías en el ámbito hospitalario. Todas las cifras antes mencionadas se encuentran por debajo de las encontradas en este estudio, y podría deberse al tipo de paciente estudiado en la presente investigación.

Los gérmenes gramnegativos son los más implicados en las ITU de los pacientes con VIH/sida, con un predominio de *E. coli* (Restoy *et al.*, 2006; Yepes *et al.*, 2010). En Cuba, Coniel *et al* (2010), al estudiar las infecciones oportunistas en los pacientes VIH detectan también el predominio de *E. coli* en las muestras de orina. Cornejo *et al* (2007) en México, publican una investigación sobre los patrones de resistencia bacteriana detectados en los urocultivos y analizan por separado los aislamientos de enterobacterias correspondientes a las infecciones de origen hospitalario y de la comunidad. En su trabajo, *E. coli* MDR ocupa el primer lugar en ambos grupos (41,3%). Del mismo modo, Berrios (2005), señalan a esta enterobacteria como la más frecuente en este tipo de muestra, en una publicación sobre la resistencia antimicrobiana de enterobacterias realizado en Perú.

El análisis microbiológico es fundamental para la vigilancia de la resistencia. Un adecuado y oportuno diagnóstico constituye una importante contribución para su detección. El incremento de la resistencia en las enterobacterias representa un problema mundial, que obliga a implementar las medidas necesarias para evitar su dispersión y la emergencia de la multidrogorresistencia, situación que trae consigo el aumento de la estadía y los costos hospitalarios.

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

- *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* predominan como causa de infecciones extraintestinales por enterobacterias en pacientes con VIH/sida hospitalizados, comportamiento similar al descrito en la literatura.
- La baja resistencia obtenida frente a la ceftazidima, la cefepima, los carbapenémicos y la amikacina en las enterobacterias estudiadas, sugiere la utilidad de dichos antimicrobianos como alternativa terapéutica inicial en estos pacientes.
- Se confirma el predominio de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido como principal fenotipo enzimático de resistencia frente a los betalactámicos, comportamiento que determinó la multidrogorresistencia en estas bacterias.
- *K. pneumoniae* y *E. coli* son microorganismos de estrecha vigilancia farmacológica, debido a su espectro creciente de resistencia, en particular a partir de muestras de sangre y orina lo que genera un gran problema para el paciente y para el servicio asistencial.

RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

- Promover la utilización racional de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, así como los carbapenémicos, según los criterios establecidos en las comisiones de antibióticos y la política del uso correcto de los antimicrobianos de acuerdo con el mapa microbiano de la institución.
- Realizar en el Departamento de Microbiología Clínica del IPK, estudios de biología molecular en relación con la resistencia antimicrobiana de las enterobacterias en los pacientes VIH/sida hospitalizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albarado LS, García J, Rodríguez E, Carpio C, Salazar E, Flores E, *et al.* Frecuencia de enterobacterias nosocomiales productoras de β -lactamasas de espectro extendido Cumaná Venezuela. Rev Publicación Científica en Ciencias Biomédicas [revista en Internet]. 2009 Jun [citado el 21 de mayo de 2012];7(11):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/artorig7_NOVA11.pdf.
- Álvarez E, Zayas A, Castillo I, González L, Contreras R. Detección de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* productoras de β -lactamasas de espectro extendido mediante el sistema DIRAMIC. CENIC Ciencias Biológicas. 2010;41(3):195-9.
- Ángel M, Ramón J, Martínez-Martínez L, Rodríguez- Baño J, Pascual A. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH-BLEE 2006). Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27(9):503-10.
- Araya C, Boza R, Arguedas L, Badilla G, García F. Infecciones nosocomiales por bacterias productoras de β lactamasa de espectro ampliado: prevalencia, factores de riesgo y análisis molecular. Acta méd. Costarric. 2007;49(2):23-9.
- Aries AP y B Schaaf. HIV and pulmonary diseases. En: Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS, editores. HIV Medicine. Paris: Flying Publisher; 2007. p. 603-627.
- Bakthavatchalu S, Shakthivel U, Mishra T. Detection of ESBL among AmpC producing *Enterobacteriaceae* using inhibitor-based method. The Pan African Medical Journal. 2013;14:28-32.

- Baquero F, Negri MC, Morosini MI. Antibiotic- Selective Enviroments. CID. 1998;27:5-11.
- Berrios ZK. Resistencia antimicrobiana de enterobacterias y uso antimicrobiano en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Dos de Mayo. [Tesis para optar por el título de especialista en Microbiología]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005. Disponible en: http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2005/berrios_fz/html/index-frames.html.
- Biedenbach D, G Moet y J Jones. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diagn Microbiol Infect. 2004;50:59-69.
- Bouza E, Liñares J, Pascual A. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. En: Cercenado E, Cantón R. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2004. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>.
- Bradford PA. Extended-spectrum betalactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14:933–51.
- Brodt HR, Kamps BS, Gute P, Knupp B, Staszewski S, Helm EB. Changing incidence of aidsdefining llnesses in the era of antiretroviral combination therapy. Am J Respir Crit Care Med.1997;11:1731-8.
- Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteriemia study group. Bacteriemia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. AM J Resp Crit care Med. 1996; 617-24.

- Burgess DS, Hall RG. In vitro killing of parenteral beta-lactams against standard and high inocula of extended-spectrum beta-lactamase and non-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004;49:41-6.
- Burillo A, Moreno A, Salas C. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 2006. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>.
- Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A Function Classification Échème For β -lactamases And Its Correlation with Molecular Structure. *American Society For Microbiology* [revista en Internet]. 2004 jun [citado 2013 jun 28];39(6):1211-33. Disponible en: aac.asm.org/cgi/reprint/39/6/1211.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros A. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39:1211–33.
- Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobl Agents Chemother*. 2010;54:969-76.
- Byarugaba D. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. *Int J Antimicrob Agentes*. 2004;24(2):105-10.
- Cabrera L, Palma S, Garcés M. Aislamientos bacterianos mas frecuentes de muestras biológicas de pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). *Rev Cubana Med Trop*. 2003;55(2):112-4.

- Cabrera N, Menéndez R, Pérez M, Medina V, Cantelar de Francisco N, Pérez J. Reporte de 1 caso de rinitis purulenta por *Streptococcus pneumoniae* en un paciente VIH/sida. Rev Cubana Med Trop. 1999;51(2):125-7.
- Cacho JB, Meseguer MA, Oliver A, Puig J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. En: Cercenado E, Cantón R, editores. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2007. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>.
- Caiaffa WT, Graham NM, Vlahov D. Bacterial Pneumonia in adult populations with human immunodeficiency virus (VIH) infection. Am J Epidemiol.1993; 138:909-22.
- Calvo J, Ferrán N, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29(7):524–34.
- Casellas JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev Panam Salud Pública. 2011; 30(6):519–28.
- CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Societé Francaise de Microbiologie). Recommandations 2010. (Edition de Janvier 2010).Disponible en: <http://www.sfm.asso.fr/publi/general.php>.
- Cheguiri ML, Carvajal L, Ledesma E, Enrico M, Reale A, Culasso C *et al*. Prevalencia de microorganismos causantes de bacteriemias y fungemias en

pacientes oncológicos pediátricos. Patrones de sensibilidad a los antimicrobianos. Rev Argent Microbiol 2008; 40(2):111-15.

- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20 (January). Wayne PA 2010.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20-U (June). Wayne PA 2010.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S21 (January). Wayne PA 2011.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23 (January). Wayne PA 2013.
- Cobo R, Pujol M, Rodriguez J, Salavert M. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. En : Aguado JM, Fortún J, editores. Guías clínicas SEIMC; 2006. Disponible en: http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-GuiaClinica4_2006_Bacteriemia.pdf.
- Conejo MC, Dominguez MC, López-Cerero L, Serrano L, Rodriguez-Bano J, Pascual A. Isolation of multidrug-resistant *Klebsiella oxytoca* carrying blaIMP-8, associated with OXY hyperproduction, in the intensive care unit of a community hospital in Spain. J Antimicrob Chemother. 2010; 65:1071–3.

- Coniel LE, Acosta NN, Linares GM, Alcalde JC. Infecciones oportunistas de origen bacteriano más frecuentes en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Rev Ciencias Médicas [revista en Internet]. 2010 Mar [citado el 30 de noviembre de 2012];14(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561
- Cornaglia G, Akova M, Amicosante G, Cantón R, Cauda R, Docquier JD, et al. Metallo-beta-lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues. Int J Antimicrob Agents. 2007;29:380–8.
- Cornejo P, Velásquez C, Sandoval S, Gordillo P, Volkow P. Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos en un hospital oncológico. Salud Púb Méx. 2007;49:330-6.
- Crewe-Brown H, Karstaedt A, Kttoosal M. *Salmonella typhimurium* DT104 bacteremia at Chrishani Baragwanath Hospital South Africa [Abstract]. En: 8th International Congress on Infectious Diseases; Toronto 2000. p. 465. Disponible en <http://www.caibco.ucv.ve>.
- Currier JS, Williams P, Feinberg J, Becker S, Owens S, Fichtenbaum C et al. Impact of prophylaxis for Mycobacterium avium complex on bacterial infections in patients with advance human immunodeficiency virus disease. Clin Infect Dis. 2005;32:1615-22.
- Delpiano L. Infecciones Asociadas a la Atención de Salud: de Semmelweis a nuestros días, una historia de logros y desafíos. Medwave [revista en intrenet]. 2011 Nov [citado el 15 de mayo de 2013];11(11): [aprox.2 p.]. Disponible en: <http://www.mednet.cl/link.cgi/Medwave/Perspectivas/Editorial/5256>.

- Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. Clin Microbiol Rev. 2010 Jan;23(1):160-2.
- Echevarría J. Estado actual de la resistencia bacteriana. Diagnóstico. 2008; 47(4):164-74.
- Espinal PA, Alpuche C, Saavedra C, Leal AL, Mantilla JR. Epidemiología molecular de infección por *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) SHV-5 en el Hospital Universitario Clínica San Rafael. Infectio. 2003;7:109-15.
- Espinoza LF. Determinación de mecanismo de resistencia AmpC derreprimido en cepas de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia*, obtenidas del laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios. San Carlos de Guatemala [tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; 2007.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST. 2010. Disponible en: <http://www.eucast.org>
- Feikin DR, Feldman C, Schuchat A, Janoff EN. Global strategies to prevent bacterial pneumonia in adults with VIH disease. Lancet Infect Dis. 2004;4:445-55.
- Fica A. Enfoque del paciente con infección por VIH por el médico internista. En: Sepúlveda C, Afani A, editores. SIDA. Santiago de Chile: Mediterráneo; 2006. p. 596-613.
- Figueredo A, González M. Bacteremia en pacientes con infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), Venezuela. Bol Vzlan Infectol. 1998;8(1):62.

- Fonseca C, Pérez J, Pérez L. Influencia del subtipo viral en la evolución de pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana. *Rev Cubana Med Trop.* 2007; 59(3):247-53.
- Fournier B, Lu CY, Lagrange PH, Krishnamoorthy R, Philippon A. Point mutation in the pribnow box, the molecular basis of b-lactamase overproduction in *Klebsiella oxytoca*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39:1365-8.
- Fritsche TR, Castanheira M, Millar GH, Jones RN, Armstrong ES. Detection of methyltransferases conferring high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae from Europe, NorthAmerica, and Latin America. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52:1843–5.
- García J, Cantón R, García JE, Gómez-Luis ML, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Avil C, *et al.* Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. En: Picazo JJ, editor. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 2000. Disponible en: <http://www.seimc.org/>.
- García J, Rodríguez E, Carpio C, Albarado Y, Salazar E, Flores E, *et al.* Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de enterobacterias nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro expandido. Cumaná, Estado Sucre. *Kasmera.* 2009; 37(1):38 – 50.
- García J. Principales infecciones causadas por enterobacterias. En: Rozman C, Cardellach F, editores. *Medicina Interna*. Madrid: Elsevier; 2012. p. 2705-54.
- García MA, Colmenero JD. Modelos pronósticos en bacteriemia y sepsis. *An Med Interna.* 2006;23(2):53-5.

- García P. Ventajas y problemas de los métodos automatizados de estudio de susceptibilidad *in vitro*. Rev Chil Infectol. 2002;19(2): 96-100.
- García T, Salazar D, Castillo F, Rodríguez W, Reyes T. Caracterización fenotípica de enterobacterias aisladas en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana/sida. Rev. Cubana Med Trop. 2013;65(1):48-55.
- García T. Infecciones respiratorias agudas bacterianas bajas en pacientes con VIH/sida: diagnóstico microbiológico y factores de riesgo implicados. [tesis para optar por el título de Médico Especialista de Primer Grado en Microbiología]. La Habana: IPK; 2008.
- Gatell J, Miró J, Graus F. Enfermedades producidas por virus (Infecciones por retrovirus humano: SIDA). En: Velásquez S.A. Medicina Interna. Decimoquinta Edición. España: Harcourt; 2010. p. 2530-40.
- Giamarellou H. Resistencia a múltiples antibióticos en las bacterias gramnegativas que producen betalactamasas de amplio espectro. Clin Microb Infec. 2005;11:1-16.
- González A. Resistencia antimicrobiana in vitro. Sistema Diramic 10. Un año de experiencia. [RevMed](#) [revista en Internet]. 2003 [citado 27 de junio de 2013];16:[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revistamedica>
- González L, Ramos A, Nadal L, Morffi J, Hernández E, Álvarez A, Marchena J, González M, Vallin C. Phenotypic and molecular identification of extended-spectrum b-lactamase (ESBL) TEM and SHV produced by clinical isolates *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in hospitals. Rev Cubana Med Trop. 2007;59 (1):10-15.

- Harrison. Principios de Medicina Interna. 16ta ed. México DF: McGraw Hill Interamericana; 2006.
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria GEIH. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21:77-82.
- Hernández P, Nodarse H, Padrón S, Ramos G Armas M. Resistencia bacteriana en las bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). *Rev Cub Med Int Emerg*. 2006;5(1):35-40.
- Hirschtick RE, Glassroth J, Jordan MC, Wilcosky TC, Wallace JM, Kvale PA, *et al*. Bacterial pneumonia in persons infected with the human immunodeficiency virus. *N Eng J Med*. 1995;333:845-51.
- Hooper DC. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. *Clin Infect Dis*. 1998;27(Suppl 1):54–63.
- Hopkins KL, Davies RH, Threlfall EJ Mechanisms of Quinolone Resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent Developments. *Inter. J Antimicrob Agents*. 2005;25(5):358-73.
- Jacoby GA. AmpC betalactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22:161-82.
- Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*. 1988;10:867-78.
- Jawets E, Melnick J, Adelberg E, Ornston L, Butel J, Brooks G. Microbiología Médica. 14ta ed. La Habana: Ciencias Médicas; 2008.

- Jehl F, Chomar M, Weber M, Gérard A. Del antibiograma a la prescripción. 2da ed. Francia: Biomerieux; 2004.
- Jordá L, Vila V, A Lanza, P Bonvehí, J Nazar y A Mikietuk. Utilidad del sistema Vitek en la identificación bacteriana y su estudio de sensibilidad antimicrobiana. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2005;39(1):19-25.
- Koneman E, Allen S. Diagnóstico Microbiológico. 6ta ed. Buenos Aires: Médica panamericana; 2008.
- Laplumé H, Aguilar L, Daciuk L, Torales G. Infecciones bacterianas en pacientes con VIH-sida. La Gaceta de Infectología y Microbiología Clínica 2008;2(2):13-5.
- Lasso M. diagnóstico y tratamiento de infecciones oportunistas en el paciente adulto con infección por VIH/sida. Rev Chil infect. 2011;28 (5):440-60.
- Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D, Yum JH. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-beta-lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clin Microbiol Infect. 2001;7:88–91
- Livermore D, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. J Antimicrob Chemother. 2001;43(Suppl 1):87- 102.
- López A, Salgado-K. Increase in the frequency of norfloxacin and ciprofloxacin resistance of bacteria isolated from urine culture. Rev assoc med bras.1999;44(3):196-200.
- López J, Prats G. Infecciones por enterobacterias patógenas primarias. En: Ausina V, Moreno S, editores. Tratado de SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Madrid: Medica Panamericana; 2006. p. 327- 36.

- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carneli Y, Falagas ME, Giske CG. Multidrug resistant, extensively drug resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18(3):268-81.
- Martínez P, Espinal P, Bustos A, Mattar S. Prevalencia de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. Med. UNAB. 2005;8(1):15-22.
- Martínez P, Mercado M, Mattar S. Determinación de β -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. Colomb Med. 2003;34 (4):196-205.
- Martínez-Martínez L. Extended-spectrum betalactamases and the permeability barrier. Clin Microbiol Infect. 2008;14:82–9.
- Mata C, Miró E, Rivera A, Mirelis B, Coll P, Navarro F. Prevalence of acquired AmpC beta-lactamases in Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes at a Spanish hospital from 1999 to 2007. Clin Microbiol Infect. 2010;16:472–6.
- Maurici da Silva R, Zimermann PJ, Moreira J. The Clinical Utility of Induced Sputum for the Diagnosis of Bacterial Community-Acquired Pneumonia in HIV-Infected Patients: A Prospective Cross-Sectional Study. BJID. 2008;10(2):89-93.
- Méndez C, Rossi A, Prado V. Comparative evaluation of the susceptibility to the antimicrobials of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* and *Shigella* isolates from clinical specimens in Latin- America. The Resistent

Group. Abstracts 99 of the IDSA 37 Annual Meeting Philadelphia; 1999. p. 57.

Disponible en: www.scielo.org.co

- Meseguer MA, Begoña J, Oliver A, Puig J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(7):430-6.
- Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Resolución N° 103. Reglamento para el establecimiento de los requisitos y procedimientos de seguridad biológica en las instalaciones en las que se hace uso de agentes biológicos y sus productos, organismos y fragmentos de estos con información genética. La Habana: CITMA; 2002. Disponible en: <http://www.medioambiente.cu/legislacion/resoluciones/R-103-02%20CITMA.htm>.
- Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Resolución N° 38. Lista Oficial de los Agentes Biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas. *Gaceta Oficial República de Cuba*. 2006; 56: 999-1001.
- Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski M, et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:99–101.
- Miró E, del Cuerpo M, Navarro F, Sabaté M, Mirelis B, Prats G. Emergence of clinical *Escherichia coli* isolates with decreased susceptibility to ceftazidime and synergic effect with co-amoxiclav due to SHV-1 hyperproduction. *J Antimicrob Chemother*. 1998;42:535–53.
- Miró E, Navarro F, Mirelis B, Sabate M, Rivera A, Coll P, et al. Prevalence of clinical isolates of *Escherichia coli* producing inhibitor-resistant betalactamases

at a University Hospital in Barcelona, Spain, over a 3-year period. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:3991–4.

- Morpeth SC, NM Thielman , HO Ramadhani , JD Hamilton y J Ostermann. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis on antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* in HIV-infected patients in Tanzania. J Acquir Immune Defic Syndr. 2008;47(5):91-585.
- Murray P, Rosenthal K, Pfaüer M. Microbiología Médica. 5ta Edición. Madrid: Elsevier; 2007.
- Murray PR, Washington JA. Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum. Mayo Clin Proc. 1975 Jun;50(6):339–344.
- Muzachiodi M y Ferrero S. Incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en el Hospital Escuela José F. de San Martín. Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas Tecnológicas; 2005. [aprox. 4 p.] Disponible en: www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-135.pdf
- Najera M. Determinación de β -lactamasas de amplio espectro (BLEA) y β -lactamasas de espectro extendido (BLEEs) en enterobacterias provenientes de la unidad periférica del instituto guatemalteco de seguridad social de la zona 11 [tesis]. Guatemala; 2005. Disponible en: www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman
- Nastro M, Montoto L, Saposnik E, García S, Barberis C, Vay C, et al. Resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en enterobacterias sin AmpC inducible. Evaluación de los nuevos puntos de corte. Revista Argentina de Microbiología. 2012; 44: 30-35.

- Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(7):524–34.
- Navarro F, Miró E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(9):638–45.
- Navarro F, Miró E. Update on CTX-M-type betalactamases. *Rev Med Microbiol*. 2002;13:63–73.
- Oliver A, Cantón R. Enterobacterias productoras de β lactamasas plasmídicas de espectro extendido. *Control Calidad SEIMC* [Citado el 17 de enero de 2013]. España: Madrid; 2004. Disponible en: <http://www.seimc.org/control/revisiones/bacteriologia/Blees.pdf>.
- Omeregbe R, Eghafona NO. Urinary tract infection among asymptomatic HIV patients in Benin City, Nigeria. *Br J Biomed Sci*. 2009;66(4):190-3.
- OMS. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. 2001.
- OMS. La contención de la resistencia a los antimicrobianos. En: *Perspectivas políticas de la OMS sobre medicamentos*. Abril, 2005.
- Oteo J, Campos J, Baquero F, Spanish members of the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001). *J Antimicrob Chemother* 2002;50:945-52.
- Parras F. Epidemiología actual de la infección por VIH/sida. En: Aguado J.M. *Tratado de enfermedades infecciosas*. España: Idepsa; 1998. p. 3861-7

- Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV. Estudio prospectivo internacional de la bacteremia por *K. pneumoniae*: Implicaciones de la producción de betalactamasas de espectro ampliado en las infecciones nosocomiales Ann Int Med. 2004;140:26-32.
- Patrick R, Jo E. Manual of clinical microbiology. 9na ed. Estados Unidos de América: Washington; 2007.
- Pavón S, Zalazar M, Morales M, Rojas M. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. CIENCIA ergo sum. 2011;18(2):164-70.
- Pérez M, Cabrera N, Battle MC, Estévez R. Etiología bacteriana de las infecciones respiratorias agudas en pacientes VIH/sida. Rev Cubana Med Trop. 2002;54(2):147-51.
- Petrosillo N, Pugliese G, Girardi E, *et al.* Nosocomial infections in HIV infected patients. Epidemiology and Social. 1999;13:599-605.
- Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54:24–38.
- Poveda L, Villamizar D, Sánchez F, Otta A, Guevara C, Jiménez M, Besso J. Infecciones nosocomiales en terapia intensiva. Antib Infect. 2005;2:40
- Puerta- García A, Mateos-Rodríguez F. Enterobacterias. Medicine. 2010;10(51):3426-31.
- Puerta H, Cantillo C, Consuegra C, Coronel W, Alvis N, Mattar S. Capacidad de los laboratorios de microbiología clínica de Cartagena para detectar microorganismos productores de betalactamasas de espectro expandido. Infectio. 2005;9(3):123-30.

- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile betalactamases. Clin Microbiol Rev. 2007;20:440–58.
- Radice M, Rodriguez C, Perazzi B, Castro S, Juárez J, Santini P, et al. Resistencia enzimática a betalactámicos en el género *Proteus* y evaluación de los fenotipos y genotipos de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en *Proteus mirabilis*. Rev Enferm Infecc y Microbiol Clin.2005 [citado el 12 de junio de 2012]; 23 (3): [aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://apps.elsevier.es/watermark/ctl>
- Ramos A, Hernández W, Nodarse R, Padrón A, De armas E, Del Rosario L. Detección precoz de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes graves. Rev Cub de Medic Inte y Emer. 2006;5(1):294-301
- Restoy GM, Ruiz RE, Arechavaleta JA. Susceptibilidad antimicrobiana de la Escherichia Coli aislada en pacientes con sepsis urinaria alta. Rev méd electrón[revista en internet]. 2006 [citado el 15 de diciembre de 2002]; 28(5): [aprox 2p]. Disponible en: <http://www.cpimtz.sld.cu/revista medica/año2006/tema1.htm>.
- Rivera M, Rodríguez C, Huayán G, Mercado P. Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacteriaceae* aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú. Rev Med Hered [revista en Internet]. 2011 [citado el 21 de mayo de 2012]; 22(2): [aprox. 5 p.].Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2011000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

- Rodríguez- Martínez J, Conejo M, De alba PD, López- Cerero L, Fernández- Echauri P, Pascual A. Asociación en un mismo plásmido de blaVIM-1 y qnrS2 en *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* aisladas en Sevilla. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(5):246–8.
- Romero R. Microbiología y Parasitología médica: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ra ed. Madrid: Médica Panamericana; 2007.
- Rupp ME, Fey PD. Extended-spectrum B-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: Considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs*. 2003;63:353-65.
- Sandrea-Toledo, Lisette, Paz-Montes, América, Pina-Reyes, Eyilde *et al*. Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un hospital universitario de Venezuela. *Kasmera*. 2007;35(1):15-25.
- Seral C, De la Gándara MP, Castillo FJ. Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(Supl 1):12-18.
- Shoorashetty RM, Nagarathnamma T, Prathibha J. Comparison of the boronic acid disk potentiation test and cefepime-clavulanic acid method for the detection of ESBL among AmpC-producing *Enterobacteriaceae*. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2011;29(3):297-301.
- StapletonPD, ShannonKP, FrenchGL. Carbapenem resistance in *Escherichia coli* associated withplasmid-determined CMY-4betalactamase production and

loss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43:1206–10.

- Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat clinical. Microbiol Rev. 2009;22: 664–89.
 - Suárez B, Hart M, Espinosa F, Salazar D. Detección de mecanismos de resistencia en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* multidrogorresistentes. Rev Cubana Med. 2012;51(3):228-38.
 - Suárez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009; 27(2):116-29.
 - Tacconelli E, Tumbarello F, Couda R. Depts. Infectious Diseases. Microbiology UCSC Rome Italy: Risk factors and nutritional status in HIV infected patients with enteric salmonellosis [Resumen]. En: 8th International Congress on Infectious Diseases, Boston 1998. p 144. Disponible en: <http://www.caibco.ucv.ve>
 - Taruf JD, Torres JA, Villega MV. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gramnegativas. Infect. 2008;12(3):217-26.
 - Thomson KS. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. J Clin Microbiol. 2010;48(4):1019-25.
 - Torres L, Benítez M, Torres O, Gagliota V, Calvo A, Rodríguez N, y col. Detección de integrones clase I en cepas de Enterobacterias productoras de b-lactamasas de espectro expandido tipo SHV y CTX grupo 2. VITAE 2005; 25
- Academia Biomédica Digital

- Torres L, Gagliotta V, Torres O, Benítez M, Domínguez M, Pedroza R. β -lactamasas de espectro expandido en enterobacterias aisladas en centros de salud de caracas. Rev Soc Ven Microbiol [revista en Internet]. 2006 jun [citado el 27 de junio de 2013];26(2): [aprox. 15 p.]. Disponible en: www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1315
- Treviño M, Martinez-Lama L, Romero-Jung P, Varón C, Moldes L, García-Riestra C, *et al.* Comparación entre las pruebas para la detección de β -lactamasas de espectro extendido de los sistemas Vitek 2 y Phoenix. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27(10):566–70.
- Truppia LA, Mollerach A, Di Conza JA, Radice M, Mugna V, Méndez E *et al.* Comparación de tres métodos microbiológicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas en Santa Fe (Argentina). Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005;23(9):525-8.
- Valdez-Dapena MM. Enterobacterias. En Llop A, Valdez Dapena M, Zuazo J. Microbiología y Parasitología Médicas. La Habana: Ciencias Médicas; 2001; p: 251- 79.
- Vila J, Martí S, Sanchez- Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother. 2010;59:1210-15.
- Villegas V, Correa A, Parez F, Zuluaga T, Radice M, Gutkind G, Casellas JM *et al.* CTXM-12 lactamase in *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolate en Colombia. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:629-31
- Villegas V, Sánchez MC, Chuaire L. Polymerase chain reaction and molecular diagnostics. Colomb Médica. 2009;40(3):347-52.

- Wallace JM, Hansen NI, Lavange L. Respiratory disease trends in the pulmonary complications of HIV infection study cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:72-80.
- Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36:8–14.
- Yepes A, Ávila E, Carreño H, Barreto J, Currea IY, Chaves ES, García O. Prevalencia de la infección urinaria adquirida en la comunidad en pacientes con VIH/sida. *Revista Facultad de Salud - RFS Enero - Junio 2010.* 2010;2(1):71-7.

ANEXOS

ANEXO 1

PROCEDIMIENTOS DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación bacteriana y susceptibilidad antimicrobiana mediante el sistema Vitek 2 Compact

A partir de un cultivo puro de 18-24 horas de incubación se siguieron los siguientes pasos:

- 1- Introducir los datos de los pacientes en el sistema computarizado.
- 2- Seleccionar dos tubos de poliestireno por microorganismo, uno para la identificación y el otro para la susceptibilidad. Añadir a cada uno 3 mL de solución salina 0.45%
- 3- Preparar en el primer frasco una suspensión del microorganismo con un patrón de turbidez entre 0,5-0,63 de la escala de McFarland, utilizando para ello el Densicheck. De obtenerse una densidad menor al límite de turbidez se adicionan colonias, de sobrepasar el valor máximo se desecha el tubo.
- 4- A partir del primer tubo se inoculan 145 µL (en el caso de los microorganismos gramnegativos) destinados a la susceptibilidad.
- 5- Colocar las tarjetas de identificación y susceptibilidad en los tubos correspondientes.
- 6- Introducir los datos de cada casete en el sistema computarizado.
- 7- Introducir los casetes en el equipo.

ANEXO 2

GUÍA PARA LA RECOGIDA DE LA INFORMACIÓN

No. _____

Nombre y apellidos: _____ HC. _____

Microorganismo aislado: _____

Sensible a _____

Intermedio a _____

Resistente a _____

Fenotipos de resistencia:

BLEEs _____

AmpC _____

Carbapenemasas _____

MDR Sí _____ No _____

Ingreso en UCI Sí _____ No _____