

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO**



**FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* MULTIRRESISTENTE EN  
PACIENTES INGRESADOS EN LOS DIFERENTES SERVICIOS DEL HOSPITAL NACIONAL ROSALES  
EN EL AÑO 2017.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO/A

EN LABORATORIO CLÍNICO

**PRESENTADO POR:**

ROBERTO CARLOS GONZÁLEZ CABALLERO

CARMEN DE LA PAZ HERRERA CARRILLO

JONATHAN ALEXIS GUZMÁN AMAYA

**ASESOR:**

LIC. JOSÉ ALBERTO ARGUETA

**CIUDAD UNIVERSITARIA, SEPTIEMBRE 2018.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**Autoridades académicas**

**Rector**

Msc. Roger Armando Arias

**Vicerrector académico**

Dr. Manuel de Jesús Joya

**Vicerrector administrativo**

Ing. Agr. Nelson Bernabé Granados Alvarado

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Decana**

Dra. Maritza Mercedes Bonilla Dimas

**Vicedecana**

Licda. Nora Elizabeth Abrego de Amado

**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**Directora**

Licda. Dálide Ramos de Linares

**LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO**

Msp. Miriam Cecilia Recinos de Barrera

**Agradecimientos:**

A Jehová Dios, por permitirme alcanzar mi meta y utilizar personas claves para aligerar mi carga, hacer mi camino sencillo y disfrutar cada instante esta experiencia inolvidable.

A mi jefe, señor Sub Comisionado Otto Hugo Urrutia, por impulsar y apoyar mi formación incluso en momentos difíciles para la institución, aún contra cualquier pronóstico, prejuicio y crítica, infinitas gracias.

A mi hermana Claudia Verónica González Caballero, por apoyar la educación de mis hijos y estar siempre dispuesta a ayudarme incondicionalmente.

Roberto Carlos González Caballero.

**Agradecimientos:**

A Dios principalmente, por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento, brindándome la oportunidad de culminar mi carrera, colocando las personas idóneas para mi formación profesional y personal.

A mis padres por ser los principales promotores de mis sueños, gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, apoyándome incondicionalmente en cada momento de mi vida, ofreciéndome lo mejor y buscando lo mejor para mi persona siempre.

A todas las personas que me apoyaron y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Carmen de la Paz Herrera Carrillo.

**Agradecimientos:**

A Dios, antes que todos, por regalar todas las bendiciones a mi vida y permitirme llegar hasta este punto, la culminación de mi carrera.

A mis padres, Lorena Amaya de Guzmán y José Guzmán Cañas, que con sacrificio, entrega y paciencia me han ayudado en todos los aspectos de mi vida hasta este momento. A mi abuela, Ángela Guzmán, quien siempre ha estado pendiente de mí, cuidándome, alentándome a ser mejor persona y a superarme cada día más. A mis hermanas, Pamela y Wendy, que han sido testigos del sacrificio y entrega que he dejado en esta carrera y que, en más de una ocasión, me brindaron su apoyo incondicional.

A mis compañeros y amigos, quienes de una u otra manera estuvieron disponibles para ayudarme en lo que yo necesitara y con quienes cultivamos un compañerismo que espero seguir conservando, amigos con los cuales pude contar en todo momento, en especial Graciela Rodríguez, quien siempre me apoyo en el transcurso de esta experiencia.

A todos aquellos profesionales del área de la salud, entre profesionales de laboratorio, médicos y demás, que siempre han estado prestos a ayudarme tanto profesional como personalmente y de quienes no me alcanzarían estas líneas para escribir todos sus nombres, tanto docentes de mi respetada universidad, como aquellas personas que laboran ejerciendo su profesión en hospitales y unidades de salud. Gracias a todos.

Jonathan Alexis Guzmán Amaya

## CONTENIDO

1.0 INTRODUCCIÓN.....	3
2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
2.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.....	5
3.0 JUSTIFICACIÓN.....	6
4.0 OBJETIVOS.....	8
5.0 MARCO TEÓRICO.....	9
5.1 Generalidades.....	9
5.2 Clasificación.....	10
5.3 Epidemiología.....	11
5.4 Regulación de los factores de virulencia.....	17
5.5 Métodos de identificación.....	24
5.6 Antibiograma.....	30
5.7 Antimicrobianos.....	36
6.0 DISEÑO METODOLÓGICO.....	42
7.0 RESULTADOS.....	46
8.0 DISCUSIÓN.....	52
9.0 CONCLUSIONES.....	57
10.0 RECOMENDACIONES.....	58
11.0 FUENTES DE INFORMACIÓN.....	59
12.0 ANEXOS.....	61

## 1.0 INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos representa un problema de salud pública emergente a nivel mundial declarado así por la Organización Mundial de la Salud. Los pacientes con infecciones causadas por bacterias farmacorresistentes corren mayor riesgo de muerte, además consumen más recursos sanitarios que los infectados por cepas no resistentes de las mismas bacterias u otras de diferente género. La resistencia de *Klebsiella pneumoniae*, una enterobacteria parte de la microbiota normal, que puede causar infecciones potencialmente mortales supera el tratamiento utilizado como último recurso (los antibióticos carbapenémicos) en casos de infecciones nosocomiales. Además de dar a conocer la naturaleza química de los antibióticos utilizados y cómo interactúan para estimular la producción de plásmidos de resistencia bacteriana. Pretendemos abordar de una manera muy extensa los principales hallazgos y estudios realizados en diferentes partes del mundo así también explicaremos el proceso de aislamiento que está estandarizado por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, equipos y procedimientos de diagnóstico implementados en el área de Bacteriología del Hospital Nacional Rosales. Todo con el fin de contar con un estudio integral y con datos actualizados, confiables y reales que permitan conocer la situación actual de la problemática.

## 2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno que aparece de forma natural con el tiempo, específicamente por modificaciones genéticas mediada por plásmidos que son producidos en respuesta a estímulos, como el mal uso y el abuso de los antimicrobianos. Como ejemplos de uso incorrecto se pueden citar su administración para tratar infecciones víricas, como los resfriados y gripe sin antes tener un examen confirmatorio de afección bacteriana, siendo este factor una condición desencadenante para el desarrollo de Resistencia a los antimicrobianos por *K. pneumoniae*. Por lo que a diferencia de otros patógenos causantes de enfermedades nosocomiales, debido a su ubicuidad en el tracto intestinal fácil diseminación y mecanismos de resistencia bacteriana propios del género, representa un problema de salud emergente a nivel mundial, siendo reconocido de esta manera por la Organización Mundial para la Salud al ser asociado a muchas causas de muertes y procesos infecciosos de difícil recuperación; sin embargo no se conoce la frecuencia con la que se aísla este género bacteriano en nuestro país, ni cuales servicios de hospitalización están relacionados a su aislamiento, la morbilidad y letalidad atribuible a *K. pneumoniae* en la región, Además de no existir un estudio con información estadística y actualizada que permita tener una noción de la magnitud de la problemática en estudio.



## 2.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA

- ¿Cuál es la frecuencia de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en pacientes ingresados en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales en el año 2017?
- ¿Del total de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* qué porcentaje de estos corresponde cepas multirresistentes?
- ¿Cuáles son los servicios de hospitalización en los que se ha aislado con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* multirresistente?

### 3.0 JUSTIFICACIÓN

Las bacterias son microorganismos vivos y como tales, están sujetas a los cambios naturales de la evolución biológica, transformándose constantemente, todo con el fin de adaptarse al medio en el que viven y así asegurar la perpetuidad de su especie. Diferentes bacterias desarrollan diferentes mecanismos de resistencia al ser expuestas a los mismos estímulos, uno de los mecanismos que las bacterias utilizan para asegurar su supervivencia es la resistencia que estas desarrollan frente a las diferentes drogas bactericidas (antibióticos). En la actualidad la producción de la enzima carbapenemasa se ha catalogado como el sistema más avanzado y complejo, debido a que permite a la bacteria resistir el embate de los antibióticos de última generación (los carbapenémicos).

*Klebsiella pneumoniae* es una de las bacterias que mejor han desarrollado su mecanismo de resistencia a los antibióticos, muestra de ello es que, algunas cepas han desarrollado mecanismos de producción de la enzima carbapenemasa, con lo cual inhiben los efectos que puedan tener esta clase de antibióticos. En El Salvador se presentan muchos casos de infecciones en los cuales está involucrada *K. pneumoniae* multiresistente, siendo este un problema a la salud pública que va aumentando día con día, esto como consecuencia de una farmacoterapia inadecuada a la que son sometidos los pacientes con infecciones bacterianas, lo que ocasiona que estos microorganismos desarrollen los complejos mecanismos de resistencia.

Lo que se desconoce y es el motivo de la presente investigación, es la frecuencia con la que estos casos se presentan, así como la población que es mayormente afectada por este tipo de microorganismos, el objetivo de conocer estos datos epidemiológicos, quizá no resuelva el problema, pero ayuda a dimensionarlo y así poder identificar grupos vulnerables, hacer

conciencia del uso de los antibióticos y evitar que este problema se convierta en una epidemia a nivel nacional.

## 4.0 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Conocer la frecuencia de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y de sus cepas multirresistentes, en pacientes ingresados en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales en el año 2017.

### 4.2 Objetivos específicos

- Conocer la frecuencia de aislamientos de *Klebsiella sp* en pacientes ingresados en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales en el año 2017.
- Conocer la frecuencia de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en pacientes ingresados en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales en el año 2017.
- Conocer qué porcentaje del total de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* corresponde a cepas multirresistentes.
- Identificar los servicios de hospitalización en los que se ha aislado con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* multirresistente.

## 5.0 MARCO TEÓRICO

### 5.1 Generalidades

*Klebsiella pneumoniae* es una bacteria Gram negativa, en forma de bastón, inmóvil, capsulada, fermentadora de lactosa, es una especie oportunista perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. *K. pneumoniae* muestra una estrecha relación genética con las especies de los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*. La palabra 'Klebsiella' fue acuñada en honor al patólogo alemán, Edwin Klebs, que había hecho importantes investigaciones en el campo de las enfermedades infecciosas.

Estos bacilos son parte de la microbiota normal en los seres humanos, pueden ser aislados de la piel, de la faringe y del tracto gastrointestinal. Poseen cápsula grande de polisacárido y sintetiza trifosfato de adenosina (ATP) de manera aerobia; pero también puede conmutar en una fermentación anaeróbica para obtener energía, por lo tanto, es catalogada como anaerobio facultativo. La cápsula que cubre una célula de *Klebsiella* sp le ayuda a ser resistente a muchos antibióticos. Estas bacterias tienen dos tipos de antígenos en la superficie de la célula; estos antígenos incluyen el lipopolisacárido (antígeno O) y el polisacárido capsular (antígeno K). Hay alrededor de 9 antígenos O y 77 antígenos K presentes en una célula *Klebsiella*, esto ayuda a dividir a los organismos en diferentes serotipos con base a su antigenicidad. Entre las diferentes especies del género *Klebsiella*, *Klebsiella pneumoniae* es la especie bacteriana más importante, desde el punto de vista médico.

*K. pneumoniae* está presente en el sistema respiratorio y en las heces de casi el 5 % de las personas sanas. Produce una cantidad (alrededor del 1 %) de las neumonías

bacterianas. *K. pneumoniae* puede producir consolidación pulmonar necrosante a causa de una hemorragia extensa. Produce infecciones urinarias y bacteremia con lesiones focales en pacientes débiles. Las bacterias del género *Klebsiella* figuran entre las 10 principales bacterias patógenas que ocasionan infecciones hospitalarias. (Jawetz, 2011, 219).

Se sabe que también es aislado del suelo, agua y verduras, con capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico en una forma más útil para las plantas, como lo es el amonio, por lo que es considerada una bacteria diazotrófica.

Es la segunda bacteria más común en el intestino del humano después de *Escherichia coli*. Cuando esta bacteria se escapa del intestino y pasa a cualquier parte del cuerpo, es que puede conducir a serios problemas de salud. Este patógeno oportunista se sabe que causa infecciones del tracto urinario, así como la enfermedad respiratoria grave, como neumonía. Una vez que consigue entrar en los pulmones, rápidamente se divide y da lugar a muchos síntomas perjudiciales. (Osorio, 2013,1-2)

## **5.2 Clasificación.**

- Reino: Bacteria
- Filo: Proteobacteria
- Clase: Gammaproteobacteria
- Orden: Enterobacteriales
- Familia: Enterobacteriaceae
- Género: Klebsiella
- Especie: pneumoniae

### 5.3 Epidemiología.

- En el 2004 en el Hospital Infantil de México se realizó un estudio donde se midió la presencia de betalactamasas SVH-5 de *Klebsiella pneumoniae* donde la letalidad en pacientes infectados fue del 50 %, además se comprobó que el personal de salud era fuente de contagio entre los pacientes. (Andrade et al, 2004)
- Diferentes estudios han demostrado la capacidad que tiene *Klebsiella sp* para producir betalactamasas de espectro extendido, usualmente mediada por plásmidos fácilmente transmisibles entre diferentes enterobacterias; la producción es favorecida por el uso de cefalosporinas de tercera generación, por lo que las opciones terapéuticas se limitan. En el 2012, Manisha en India, realiza un estudio en una sala de cuidados intensivos neonatales donde los pacientes con sepsis por *Klebsiella pneumoniae* tuvieron una mortalidad del 60 % y la mayoría de las cepas fueron resistentes a cefalosporinas de tercera generación (Manisha et al, 2012).
- Existe un estudio realizado en Italia por Fabbri et al, en una unidad de cuidados intensivos donde se encontró que los trabajadores de dicha área son hospederos de *Klebsiella pneumoniae* y encontró tasas elevadas de resistencia a ampicilina y piperacilina (Fabbri et al, 2013).
- En el estudio de Medina-Mejía en Colombia, llamó la atención el bajo porcentaje de resistencia a gentamicina (28.5 %), comparado con amikacina (con resistencia de 64.3 %) en el tratamiento de infecciones neonatales. (Medina-Mejía et al, 2000).
- Hospital Universitario Clínica San Rafael, Bogotá, D.C., Colombia. Para el análisis molecular se estudiaron 15 aislamientos obtenidos de 11 pacientes, resistentes a cefalosporinas de tercera generación en el tamizaje para detección de BLEE de tres

pacientes se obtuvo más de un aislamiento, los cuales se incluyeron en el estudio como episodios independientes debido a que se recogieron en fechas o desde sitios diferentes durante el tiempo de hospitalización; los aislamientos se recuperaron de pacientes que se encontraron en las unidades de cuidado intensivo (12/15, 80 %), medicina interna (2/15, 13,3 %) y pediatría (1/15, 6,7 %). La muestra más frecuente a partir de la cual se recuperó el microorganismo fue de hemocultivo (26,7 %), las características de los pacientes de los cuales se obtuvieron los aislamientos productores de BLEE se resumen en el cuadro siguiente.

**Cuadro 1. Información epidemiológica y molecular de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*.**

Paciente/ aislamiento	Edad/ sexo	Diag. de Infección	Fuente del aislamiento	Fecha de recolección	Servicio	Estancia (días)	Egreso	Patrones REP PFGE	Puntos isoelectricos
1/3550	71/M	Sitio de cirugía	Páncreas	20/04/01	UCI	48	Muerte	R1 P1	7,2 7,8 8,2
2/3995	77/F	Sepsis	Orina	07/05/01	UCC	81	Muerte	R1 P1	5,4 7,2 7,8 8,2 8,2
3/5254	61/M	Neumonía	Líquido pleural	26/06/01	UCC	29	Muerte	R2 P2	5,4 7,4 8,2 8,2
4/5747	54/M	Colonización	Tejido	16/07/01	Med. Int.	9	Mejoría	R3 P3	5,4 8,2
4/5784			Tejido	23/07/01	Med. Int.			R3 P3	5,4 7,8 8,2
5/7331	3 m/F	Colonización	Catéter	11/09/01	UCIP	27	Mejoría	R4 P4	5,4 7,2 8,2 8,2
6/9866	15 d/M	Sepsis	Orina	30/11/01	UCIN	30	Mejoría	R5 P5	6,8 7,7 8,2
7/10045	2 m/M	Neumonía	Secr. orotraq.	07/12/01	UCIP	24	Mejoría	R6 P6	5,4 7,4 >8,2 *
8/257	13/M	Sepsis	Secr. orotraq.	11/01/02	UCIP	43	Muerte	R7 P7	5,4 6,9 8,2 8,2
8/1114			Sangre	12/02/02	UCIP			R8 P7	5,4 7,2 8,2
9/366	69/M	Sitio de cirugía	Sangre	15/01/02	UCC	102	Muerte	R9 P8	5,4 7,2 7,8 8,2 8,2
9/1007			Sangre	07/02/02	UCC			R10 P9	5,4 7,2 7,8 8,2 8,2
9/1993			Mediastino	16/03/02	UCC			R9 P8	5,4 7,2 7,8 8,2 8,2
10/1939	2/M	Neumonía	Catéter	15/03/02	UCIP	14	Mejoría	R11 P10	8,2 8,2
11/2420	8 m/M	Bacteriemia	Sangre	01/04/02	Pediatría	16	Mejoría	R12 P11	7,4 8,2 8,2

BLEE: beta-lactamasa de espectro extendido; F: femenino; M: masculino; UCI: unidad de cuidado intensivo; UCC: unidad de cuidados coronarios; UCIP: unidad de cuidado intensivo pediátrico; UCIN: unidad de cuidado intensivo neonatal; Med. Int.: medicina interna; L. pleural: líquido pleural; Sec. Orotraq.: secreción orotraqueal; Dx: diagnóstico; PFGE: patrones electroforéticos con electroforesis en gel de campos pulsados; REP: patrones electroforéticos con REP-PCR; valor de pl en negrilla: punto isoelectrico (pl) detectado por bioensayo; \*: pl detectado por bioensayo con cefotaxima

Las causas de infección intrahospitalaria por *K. pneumoniae* productora de BLEE estuvieron principalmente asociadas con infección del sitio quirúrgico, sepsis y neumonía. El 81.8 % de estos pacientes estuvo en una unidad de cuidado intensivo en algún momento de su hospitalización y tuvo estancias prolongadas con rangos entre 14 y 102 días. En 5 pacientes la muerte fue atribuible a la infección.



- En abril-junio de 1998 ocurrió un brote de sepsis nosocomial por *K. pneumoniae* en los neonatos internados en la unidad de alto riesgo neonatal (UARN) del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IAHULA), Estado de Mérida, Venezuela, las cepas aisladas en septicemia en los neonatos con bajo peso al nacer y prematuros, como así también en muestras de nutrición parenteral, eran productoras de BLEE. Los datos de antibiograma y de detección de BLEE, sugirieron que los neonatos estaban infectados por un mismo antibiograma de *K. pneumoniae*, lo que hizo presumir que la portación de *K. pneumoniae* en las manos del personal que manipuló a los pacientes y preparó las soluciones parenterales jugó un papel importante en la transmisión de la bacteria.
- Los estudios moleculares revelaron que estas cepas contenían un plásmido en el cual se localizaban genes que codificaban para una BLEE tipo SHV-5. Posteriormente, tipificaron microbiológicamente las cepas de *K. pneumoniae* implicadas en el brote ocurrido en 1998, así como una cepa de *K. pneumoniae* aislada de un neonato con infección nosocomial durante el año 2002. Los resultados obtenidos permitieron establecer una relación epidemiológica entre el nuevo aislado y las cepas recuperadas durante el brote, sugiriendo la probable permanencia de *K. pneumoniae* en el área hospitalaria, quizás debido a fallas en la aplicación de medidas de control de la infección en la UARN. El brote se resolvió usando dos importantes medidas: reforzando el lavado de manos y con la indicación oportuna de imipenem a los neonatos afectados.

Se incluyeron todos los neonatos con sospecha de sepsis según criterio de su médico tratante (n: 321), a los que se cultivó muestras de: sangre (n: 276), LCR (n: 42) y extremo distal de catéter venoso (n: 3).

En 39 pacientes se precisó el diagnóstico etiológico, mediante 38 aislados de sangre: *K. pneumoniae* (n: 13), *Staphylococcus coagulasa negativa* (n: 8), *Acinetobacter sp* (n: 7), *Pseudomonas sp* (n: 5), *Candida albicans* (n: 3), *Pseudomonas aeruginosa* (n: 2), y un aislado en LCR: *Streptococciis sp*. De las 42 muestras de LCR estudiadas, sólo una dio cultivo positivo. No hubo cultivos positivos a partir de los catéteres endovenosos extraídos.

Cinco de las 13 cepas de *K. pneumoniae* fueron aisladas durante el período epidémico.

Los 321 neonatos recibieron terapia antimicrobiana empírica inicial, la que se ajustó según se conocieron los datos microbiológicos. La combinación de  $\beta$ -lactámicos con aminoglucósidos fue el tratamiento inicial empleado en 92,3 % (n: 36) de los pacientes con infección confirmada. En el resto se empleó la combinación de  $\beta$ -lactámicos más aminoglucósidos más fluconazol.

De las 25 muestras obtenidas de las manos del personal que laboraba en la unidad, en los turnos de mañana y tarde, en 5 (20 %) se aisló cepas multi-resistentes de *K. pneumoniae*.

En el ambiente inanimado se aisló cepas de *K. pneumoniae* multi-resistente de las tres soluciones jabonosas en uso y en la solución jabonosa del depósito. De igual manera, se aisló una cepa de *K. pneumoniae* de la manilla de uno de los lavamanos.

- La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. El 27 de FEBRERO de 2017 en GINEBRA, La Organización Mundial de la Salud (OMS) publica su primera lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. La lista se ha elaborado para tratar de guiar y promover la investigación y desarrollo (I+D) de nuevos antibióticos, como parte de las actividades de la OMS para combatir el creciente problema mundial de la resistencia a los antimicrobianos. En la lista se pone de relieve especialmente la amenaza que suponen las bacterias Gram negativas resistentes a múltiples antibióticos. Estas bacterias tienen la capacidad innata de encontrar nuevas formas de resistir a los tratamientos y pueden transmitir material genético que permite a otras bacterias hacerse farmacorresistentes. Esta lista es una nueva herramienta para garantizar que la I+D responda a necesidades urgentes de salud pública, señala la Dra. Marie-Paule Kieny, Subdirectora General de la OMS para Sistemas de Salud e Innovación. La resistencia a los antibióticos va en aumento y estamos agotando muy deprisa las opciones terapéuticas. Si dejamos el problema a merced de las fuerzas de mercado exclusivamente, los nuevos antibióticos que con mayor urgencia necesitamos no estarán listos a tiempo. La lista de la OMS se divide en tres

categorías con arreglo a la urgencia en que se necesitan los nuevos antibióticos: prioridad crítica, alta o media.

El grupo de prioridad crítica incluye las bacterias multirresistentes que son especialmente peligrosas en hospitales, residencias de ancianos y entre los pacientes que necesitan ser atendidos con dispositivos como ventiladores y catéteres intravenosos. Entre tales bacterias se incluyen las siguientes: *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y varias enterobacterias como *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia* y *Proteus*. Son bacterias que pueden provocar infecciones graves y a menudo letales, como infecciones de la corriente sanguínea y neumonías. Estas bacterias han adquirido resistencia a un elevado número de antibióticos, como los carbapenémicos y las cefalosporinas de tercera generación (los mejores antibióticos disponibles para tratar las bacterias multirresistentes). Los niveles segundo y tercero de la lista, las categorías de prioridad alta y media contienen otras bacterias que exhiben una farmacorresistencia creciente y provocan enfermedades comunes como la gonorrea o intoxicaciones alimentarias por salmonella. La primera lista mundial de la OMS de patógenos prioritarios es una nueva herramienta importante para garantizar y guiar la investigación y el desarrollo que permita lograr nuevos antibióticos.

- En un estudio realizado en el hospital del Instituto Nacional de Cancerología (ICAN) de México, se analizaron un total de 51,202 cultivos, realizados en este centro de salud, de los cuales se identificaron 14,480 bacterias (28.3 %). De éstas, se reportaron 11,427 Gram negativos (78.9 %); 2 080 Gram positivos (14.4 %); y 973 (6.6%) levaduras. *Escherichia coli* fue el principal microorganismo

aislado (56.1 %); 24 % de las cepas de la comunidad y 66 % de las nosocomiales fueron productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE). *Klebsiella pneumoniae* se identificó en 705 cultivos (4.8 %), 115 de los cuales fueron BLEE (16 %): 13.1 % de la comunidad y 29.8 % nosocomiales. *Pseudomonas aeruginosa* se identificó en 593 cultivos (4.1 %): 9% de la comunidad y 51 % nosocomiales.

Los pacientes con cáncer tienen mayor riesgo de infecciones debido a la inmunosupresión condicionada por la enfermedad, así como por el tratamiento, además de que algunos pacientes pueden presentar obstrucción anatómica del tracto urinario secundaria al tumor. Es frecuente que estos pacientes reciban diferentes esquemas de antibióticos, lo que condiciona presión selectiva bacteriana y favorece el desarrollo de cepas multidrogasresistentes (MDR). (Velázquez, 2015).

#### **5.4 Regulación de los factores de virulencia.**

Las bacterias patógenas y otros microorganismos patógenos se han adaptado a una vida saprofita o libre quizás a ciertos ambientes fuera del organismo y al hospedador humano. Durante el proceso de adaptación estos microorganismos aprenden a economizar sus necesidades y productos metabólicos. Estos microorganismos han creado sistemas complejos de transducción de señales para regular los genes que son importantes para la virulencia. Frecuentemente hay regulaciones ambientales que regula la expresión genética de la virulencia. Unas de las señales más frecuentes son la temperatura, la disponibilidad de hierro, osmolaridad, la fase del desarrollo, el pH y

determinados iones o nutrientes, así como la exposición ciertos antibióticos. (Jawetz, 2009,148)

- **Factores de virulencia antifagocíticos.**

Muchas bacterias patógenas son eliminadas rápidamente una vez que son detectadas por el sistema inmunitario a través de la fagocitosis, otras evaden la fagocitosis y los mecanismos microbicidas leucocitarios al absorber componentes del hospedador sano en su superficie celular (*Staphylococcus aureus*). *Klebsiella pneumoniae* tiene cápsula de polisacáridos muy extensa y notoria, la mayor parte de estas estructuras anti fagocitarias de la superficie exhiben una gran heterogeneidad antigénica por ejemplo existen más de 90 tipos de polisacáridos capsulares neumococicos y más de 150 tipos de proteína M del estreptococo A. (Jawetz,2009,154)

- **Mecanismos de resistencia**

Los mecanismos de resistencia mejor estudiados incluyen: cambios en proteínas de la membrana externa, bombas de e-flujo inespecíficas, producción de enzimas tipo  $\beta$ -lactamasa y modificaciones del sitio blanco. Los tres primeros mecanismos han sido bien descritos en bacterias Gram negativas mientras que el último en bacterias Gram positivas y casos puntuales en bacterias Gram negativas. La adquisición de estos mecanismos origina que la resistencia con frecuencia sea cruzada, pero hay excepciones donde una bacteria puede ser sensible a un carbapenémico y resistente a otro, como ocurre con cepas de *P. aeruginosa* que son sensibles a Imipenem y resistentes a Meropenem y Doripenem, de ello se deriva la necesidad de incluir en el antibiograma a todos los carbapenémicos que se requieran. (Monge, 2013)

- **Producción de enzimas que degradan la droga**

Las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que pierda su funcionalidad. En este caso, la producción de enzimas tipo  $\beta$ -lactamasas es el principal mecanismo de resistencia empleado. Estas enzimas periplásmicas hidrolizan los antibióticos  $\beta$ -lactámicos y evitan que la droga se pueda unir a su PBP blanco. Actualmente se utilizan dos esquemas de clasificación para las betalactamasas: uno se basa en la secuencia de aminoácidos de las enzimas (clasificación de Ambler), dando como resultado cuatro clases (A, B, C, y D) y el otro es una clasificación funcional propuesta por Bush y colegas en 1995, basada en los perfiles inhibitorios e hidrolíticos de las enzimas y se designan con numerales grupo 1, 2, 3 y 4. Sin embargo, en el año 2010 se postula una clasificación funcional actualizada, basada en características específicas de cada enzima. En el caso de los carbapenémicos las dos  $\beta$ -lactamasas que con mayor frecuencia se asocian a resistencia son las AmpC y las carbapenemasas. (Monge, 2013)

- **$\beta$ -lactamasas tipo AmpC**

Las  $\beta$ -lactamasas tipo AmpC o cefalosporinas, están involucradas en la resistencia a las cefalosporinas más que a las bencilpenicilinas y cefemidas. No se inhiben ante la presencia del ácido clavulánico, tazobactam ni EDTA. Se encuentran codificadas en el gen ampC que puede estar presente tanto en el cromosoma como en plásmidos. Con respecto a los carbapenémicos, AmpC presenta baja afinidad, sin embargo cuando hay sobreproducción de la enzima asociada con alteraciones en la permeabilidad de la membrana externa, como puede ser pérdida de porinas o expresión aumentada de

bombas de eflujo, es suficiente como para producir fenotipos de resistencia. (Monge, 2013)

- **Carbapenemasas**

Las carbapenemasas representan la familia más versátil de las  $\beta$ -lactamasas. Tienen la capacidad de hidrolizar tanto a los carbapenémicos como a otros  $\beta$ -lactámicos. Además presentan la característica de ser resistentes contra la acción de los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas disponibles. Pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en elementos genéticos móviles. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: serin carbapenemasas que pertenecen a la clase molecular A o D de Ambler y metalo- $\beta$ -lactamasas (MBLs) que corresponden a la clase B de Ambler, denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Estos grupos difieren en su mecanismo de hidrólisis, el modo de transferencia y la acción de los inhibidores. (Monge, 2013)

- **Serin carbapenemasas:**

Las serin carbapenemasas clase A hidrolizan penicilinas, cefalosporinas (en menor grado cefalosporinas de tercera y cuarta generación), monobactámicos y carbapenémicos. Su actividad hidrolítica depende del sustrato sobre el que actúan, por ejemplo, SME-3 y KPC-2 hidrolizan mejor el Imipenem que el Doripenem. Y son levemente inhibidas por el ácido clavulánico y el tazobactam.

Las carbapenemasas clase A pueden dividirse fenotípicamente en seis diferentes grupos, de los cuales cuatro grupos están formados por miembros de las enzimas SME, IMI/NMC-A, KPC y GES/IBC, que se caracterizan por tener en común tres motivos



altamente conservados esenciales para su actividad, mientras que SHV-38 y SFC-1 constituyen cada una un grupo diferente. Estas enzimas usualmente se encuentran presentes en bacterias que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, sin embargo han sido reportadas en aislamientos de *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* y *Klebsiella spp.*, en casos aislados o causantes de pequeños brotes, procedentes de diferentes partes del mundo.

Los genes que codifican por las enzimas SME, IMI, NCM, SHV-8 y SFC- 1 se localizan principalmente en el cromosoma pero existen reportes de aislamientos de *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* que poseen enzimas SME, IMI y NCM presentes en plásmidos. Los genes blaGES residen en cassettes genéticos principalmente dentro de integrones de clase 1, mientras que los genes blaKPC y blaIMI-2 están flanqueados por transposones ubicados dentro de plásmidos. Por otra parte, las carbapenemasas llamadas oxacilinasas se ubican dentro del grupo 2df de Bush (clase D de Ambler) descritas en 1980. Se caracterizan por su capacidad de hidrolizar cloxacilina y oxacilina (de ahí su nombre “oxacillinhidrolizing”), carbapenémicos, no hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido ni aztreonam (a excepción de OXA 27) y en general son inhibidas por el ácido clavulánico (menos OXA 23 que es resistente). Para el año 2007 se habían identificado más de 100 variantes, de las cuales 9 eran clasificadas como BLEE y 37 como carbapenemasas. Aunque se ha descrito que la hidrólisis a los carbapenémicos es débil, se incrementa si otros mecanismos de resistencia como bombas de eflujo, alteraciones en las porinas o modificaciones en el sitio blanco están presentes. Las betalactamasas tipo OXA se detectan principalmente en *A. baumannii*, habitualmente dentro de integrones situados en plásmidos o transposones, aunque

ciertos casos se han asociado a secuencias de inserción. Sin embargo, también se han hallado más raramente en *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* y otras especies próximas como *Aeromonas spp.* En el caso de *P. mirabilis* las cepas aisladas en Francia describen la producción de OXA-23 a partir de un gen cromosómico. (Monge, 2013)

- **Métalo beta lactamasas (MBLs) o carbapenemasas clase b.**

Este es quizá el grupo más relevante de carbapenemasas debido tanto a su diversificación estructural como a su diseminación prácticamente mundial y en diferentes especies bacterianas. Son enzimas que típicamente hidrolizan todos los  $\beta$ -lactámicos excepto monobactámicos y son inhibidas por quelantes de iones metálicos tales como EDTA, ácido dipicolínico o 1,10- $\sigma$ -phenantrolina, pertenecen al grupo B de Ambler y 3a y 3b en la clasificación de Bush. Los genes MBLs pueden ser transportados en cassettes dentro de integrones, transposones, plásmidos, elementos denominados regiones comunes (CRs) que pueden o no ser transferibles, o estar insertos en el cromosoma, lo que le confiere a especies como *Stenotrophomonas maltophilia* resistencia intrínseca a los carbapénemicos. La adquisición de estos genes potencialmente puede conferir resistencia a un amplio espectro de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y en algunas ocasiones pueden estar asociados con genes que confieren resistencia a aminoglicósidos, por lo que se pueden identificar bacterias con un fenotipo de resistencia a  $\beta$ -lactámicos y aminoglicósidos. Dentro de las MBLs se distinguen ocho grupos: IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, AIM, DIM y KHM. Las más importantes incluyen las familias VIM, IMP y SPM-1 las cuales han sido detectadas en cepas de *P. aeruginosa*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y *A. baumannii*. Es importante recalcar que

existen reportes que indican que el Doripenem es estable ante la hidrólisis de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y que es de 5 a 150 veces menos hidrolizado que el Imipenem por las enzimas IMP-1 y VIM-2. En el caso de SPM-1, esta enzima hidroliza el Meropenem y Doripenem cuatro veces más que al Imipenem. (Monge, 2013)

- **Alteraciones en la permeabilidad**

Las porinas son estructuras proteicas que forman un canal a través de la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Una de sus principales funciones es facilitar el transporte de pequeñas moléculas hidrófilicas tales como mono y disacáridos, nucleósidos y aminoácidos desde el medio externo al espacio periplásmico. Los carbapenémicos utilizan esta estructura para llegar a su sitio blanco, ante la presión de selección que ejercen, emergen cepas de bacterias mutantes deficientes en porinas, ya sea porque transportan mutaciones que generan porinas alteradas no funcionales o una expresión disminuida de éstas. De esta manera, la cantidad de carbapenémico que llega al espacio periplásmico disminuye considerablemente y por lo tanto se generan cepas con fenotipos de resistencia. (Monge, 2013)

- **Bombas de e-flujo**

Las bombas de e-flujo son estructuras proteicas capaces de expulsar del citoplasma y del periplasma bacteriano compuestos tóxicos para la bacteria, tales como metabolitos, detergentes, solventes orgánicos y antibióticos. Para su funcionamiento utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato de energía. Su expresión puede ser permanente o inducida. Este mecanismo de resistencia asociado a carbapenémicos se ha descrito en *P. aeruginosa*. (Monge, 2013).

- **Modificación del sitio blanco**

Las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une. Este mecanismo es principalmente utilizado en bacterias Gram positivas, sin embargo el número de reportes de Gram negativos resistentes a carbapenémicos mediado por este mecanismo ha ido en aumento. En el caso de los carbapenémicos, la modificación en las PBP disminuye su afinidad por los  $\beta$ -lactámicos sin afectar su función dentro de la célula bacteriana. Se ha demostrado que la resistencia de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) se debe a la baja afinidad de los carbapenémicos por la PBP-2a y en *Enterococcus*, principalmente *E. faecium*, a una PBP-5 modificada. Igual ocurre con la PBP-3 de *L. monocytogenes* o la PBP-3a de *Rhodococcus equi*. En el caso del neumococo que tiene alteradas sus PBP, presenta fenotipos de resistencia a la penicilina y sensible a los carbapenémicos pero con CMI más elevadas sobre todo ante el Ertapenem. Este mecanismo además podría ser el responsable que algunas especies de forma natural sean poco sensibles o resistentes, como *Corynebacterium urealyticum* y *Corynebacterium jeikeium*. (Monge, 2013)

## **5.5 Métodos de identificación**

La identificación bacteriana actualmente se realiza por medio de métodos convencionales, basados en las características fenotípicas, puesto que su realización y coste los hace más asequibles. Los esquemas tradicionales de identificación fenotípica bacteriana se basan en las características “observables” de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. El cultivo es el método diagnóstico de elección; permite el aislamiento del microorganismo, su identificación el

estudio de sensibilidad a los antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos. En el cultivo es esencial la correcta elección del medio de crecimiento y las condiciones de incubación.

- **Morfología macroscópica:**

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas se describen por sus características de tamaño, forma, consistencia, y a veces por su color. El tamaño de las colonias bacterianas es generalmente uniforme entre una misma especie. La forma está determinada por los bordes y el grosor de la colonia. El borde puede ser liso o rugoso e irregular; la colonia, abultada o plana. La textura de la colonia es también importante. Puede variar desde seca a viscosa, con superficie lisa o granular.

*Klebsiella pneumoniae* produce colonias grandes planoconvexas, mucoides, brillantes, de forma irregular, también se observan redondeadas, bordes ondulados. (Ver anexo 1)

- **Morfología microscópica:**

Son bacilos gramnegativos con y sin cápsula; un tamaño entre 0.5  $\mu\text{m}$  y 2.0  $\mu\text{m}$ . No forma endosporas, no tiene flagelo, por lo que es inmóvil. (Ver anexo 2 y 3)

- **Medios de cultivo:**

En los medios de cultivo las bacterias se multiplican y es necesario esperar al menos 18-24 horas para visualizarlas. En términos generales todas las bacterias tienen unos requerimientos nutricionales imprescindibles para su crecimiento. Necesitan una fuente

de energía, una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, algunas sales, oligoelementos y agua.

*Klebsiella pneumoniae* se desarrollan en muchos medios de cultivo, tanto líquidos como sólidos de base agar.

- Agar sangre.
- Agar chocolate.
- Agar MacConkey.
- Agar tripticasa soya
- Caldo infusión cerebro corazón.
- Agar eosina azul de metileno
- Agar xilosa lisina desoxicolato

Los fermentadores fuertes de la lactosa como algunas especies de *Escherichia*, *Klebsiella* y *Enterobacter*, producen colonias rojas rodeadas por una zona de bilis precipitada.

- ✓ Agar eosina azul de metileno

Las colonias fermentadoras fuertes típicas de lactosa en especial *Escherichia coli*, producen colonias negro verdosas con un brillo metálico, los fermentadores débiles, que incluyen *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Hafnia* producen colonias violáceas en un período de 24 a 48 horas.

✓ Agar xilosa lisina desoxicolato

Los microorganismos como *Escherichia coli* y algunas especies de *Klebsiella*, *Enterobacter* pueden utilizar más de un hidrato de carbono y producir colonias amarillas brillantes.

✓ Entérico de Hektoen

Este medio de cultivo está diseñado para aumentar el rendimiento de especies de *Salmonella* y *Shigella* a partir de una cantidad importante de microbiota intestinal normal. La concentración en sales biliares inhibe el crecimiento de todas las bacterias Gram positivas y retarda el crecimiento de muchas cepas coliformes y *Klebsiella pneumoniae*. (Koneman, 2003, 211- 213)

▪ **Identificación microbiana mediante el sistema VITEK 2.**

VITEK 2 es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil de desarrollo es interpretado de forma automática.

Las tarjetas reactivas tienen 64 pozos que contienen, cada uno, un sustrato de prueba individual. Con estos sustratos se miden varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibidoras. Las tarjetas están selladas en ambos lados por una película clara que evita el contacto entre las diferentes mezclas sustrato-microorganismo y a la vez permite la transmisión del nivel de oxígeno apropiada. Cada tarjeta tiene un tubito de transferencia pre-insertado para la inoculación. Estas tarjetas tienen códigos de barras que contienen información sobre el tipo de producto, número de lote, fecha de

caducidad y un identificador único que puede ser ligado a la muestra ya sea antes o después de cargar la tarjeta al sistema.

Existen 4 tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación de diferentes clases de organismos:

1. GN – Bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores.
2. GP - Cocos y bacilos no formadores de esporas Gram positivos
3. YST – Levaduras y organismos levaduriformes.
4. BCL – Bacilos formadores de esporas Gram positivos.

### **Preparación de la suspensión**

1. Transferir con asa estéril, a partir de un cultivo puro desarrollado durante 24 h en agar nutritivo o TSA, una cantidad suficiente de inóculo a un tubo de ensayo de polietileno claro de 12x75 mm que contiene 3 ml de solución salina estéril (solución acuosa de NaCl 0.45% a 0.5%, pH 4.5 a 7.0).
2. Ajustar la turbidez a 0.50-0.63 unidades de la escala de McFarland con el densitómetro
3. Colocar el tubo de ensayo que contiene la suspensión bacteriana dentro de la gradilla especial (casete), y la tarjeta de identificación se coloca en la ranura cercana, insertando el tubo de transferencia dentro del tubo con la suspensión correspondiente. Colocar el casete con las muestras en el sistema VITEK 2.
4. Una vez dentro del equipo, las muestras se someten a los siguientes procesos de forma automática:



- ✓ Inoculación Las muestras son transportadas a una cámara en la que se aplica vacío y en seguida se reintroduce nuevamente el aire, ésta acción hace que la suspensión bacteriana pase a través del tubo de transferencia hacia los micro canales que llenan todos los pozos.
- ✓ Sellado e incubación de las tarjetas. Las tarjetas inoculadas pasan por un mecanismo que corta los tubos de transferencia y las sella, previo a la carga dentro del carrusel-incubador. Todos los tipos de tarjetas se incuban en línea a  $35.5 \pm 1.0^\circ \text{C}$ .
- ✓ Lectura de las reacciones. Cada tarjeta es removida del carrusel-incubador cada 15 min, transportada al sistema óptico de transmitancia el que usa diferentes longitudes de onda del espectro visible para interpretar las reacciones de turbiedad o el color de los productos metabólicos, y devuelta a su sitio en el carrusel hasta el siguiente tiempo de lectura. Los datos son registrados a intervalos de 15 min durante el periodo de incubación total. Los cálculos se realizan con los datos “crudos” y se comparan en los umbrales para determinar las reacciones para cada prueba. Los resultados aparecen como “+”, “-“, o cuando las reacciones son débiles estas se indican como “?”
- ✓ Base de datos. Las bases de datos de los productos de identificación están contruidos con un gran número de cepas de microorganismos perfectamente caracterizados y probados bajo varias condiciones de cultivo. Estas cepas provienen de una variedad de fuentes clínicas e industriales, así como de colecciones de cultivo públicas (Eje.: ATCC) y universitarias.

## 5.6 Antibiograma

Existen otras denominaciones de resistencia como son:

- Resistencia relativa o intermedia:

Ocurre un incremento gradual de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados; la susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de concentración.

- Resistencia absoluta:

Sucedo un incremento súbito en la MIC de un cultivo durante o después de la terapia, es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual. Ejemplo de ello es la *Pseudomonas* spp resistente a gentamicina y el *Streptococcus pneumoniae* altamente resistente a penicilina y uso de levofloxacina.

- Seudoresistencia:

Ocurre una resistencia in vitro pero una gran efectividad in vivo, se denomina tolerancia antibiótica al fenómeno en el cual la diferencia entre la MBC (concentración bactericida mínima) y la MIC es muy grande lo cual ocurre con relaciones MBC/MIC mayores de 8 lo que permite la persistencia del microorganismo. (Ilabida et al, 1998)

Para la detección de la resistencia bacteriana en el laboratorio existen técnicas para saber cómo actúa un antimicrobiano ante una bacteria: in vivo e in vitro; el médico utiliza un antibiótico adecuado gracias al antibiograma o prueba de susceptibilidad

antimicrobiana reportado por el laboratorio. El NCCLS (Comité Nacional de Control de Calidad de los Estándares) tiene aprobadas tres técnicas:

- ✓ Difusión en disco.
- ✓ CIM (Concentración inhibitoria mínima sistematizada)
- ✓ TEST E A.
  - Interpretación del antibiograma:

Desde el punto de vista práctico es importante deducir desde el antibiograma el perfil de betalactamasas que produce un aislamiento. Así una *Klebsiella* que sea resistente a penicilina, cefalosporina de primera generación, ceftazidima y aztreonam pero sensible a cefotaxima y cefoxitina se debe considerar que produce una betalactamasa de espectro extendido que actúa sobre ceftazidima de manera preferente, se debe de considerar a esta bacteria capaz de resistir a la cefotaxima in vivo y se debe de informar como resistente a cefotaxima. Puede ser interesante estudiar en este caso como actúa frente a la administración de un inhibidor de la betalactamasa; si esta misma *Klebsiella* es también resistente a cefoxitina y cefotaxima posiblemente tiene un enzima AMP cíclico mediada por plásmido que no se afecta por un inhibidor de la betalactamasa. El screening para *K. oxytoca* debe diferenciarse del de *E. coli* y *K. pneumoniae*, ceftazidima es el mejor indicador de BLEE y puede ayudar a distinguir a cepas productoras de estas enzimas de cepas de *K. oxytoca* hiperproductoras de betalactamasa.

*K. oxytoca* puede presentar hiperproducción mediante mutación de la enzima cromosómica K1, estas cepas tiene un antibiograma que la diferencia de otros

aislamientos de *K. oxytoca*; son cepas resistentes a cefotaxima y ceftriaxona pero sensibles a ceftazidima, esto lo distingue de las enterobacterias con enzimas TEM o SHV de amplio espectro que son usualmente resistentes a la ceftazidima. Es fundamental desde este punto de vista realizar la identificación de la especie aislada así como estudiar una serie de betalactámicos que aunque pueden no ser una opción terapéutica nos informan del perfil de betalactamasa producida por una cepa, para identificar BLEE, según su halo de inhibición y para el uso de discos combinados de antibióticos. (Emery CL, 1997)

Los ensayos de susceptibilidad están indicados para apoyar la quimioterapia antimicrobiana de tratamiento en procesos infecciosos por bacterias en las que la identidad del microorganismo no es suficiente para predecir en forma confiable su susceptibilidad. Estos ensayos son a menudo indicados cuando se piensa que el organismo causante pertenece a una especie capaz de mostrar resistencia a los agentes antimicrobianos más comúnmente usados. Los mecanismos de resistencia incluyen la producción de enzimas inactivantes de la droga, que alteran el objetivo, o alteran la acción.

- **Detección fenotípica de mecanismos de resistencia por aproximación de discos:**
- Prueba de tamizaje:
- Esta prueba se realiza a las bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae cuando se observa en una prueba de tamizaje:

- Resistencia a una o más cefalosporinas de tercera generación (cefoperazone, cefotaxime, ceftazidime, ceftizoxime y ceftriaxone) y alguno de los siguientes resultados en carbapenémicos:



<b>Carbapenémico</b>	<b>Difusión en disco</b>	<b>Microdilución</b>
Ertapenem (10 ug)	19-21 mm	2 ug/ml
Meropenem (10 ug)	16-21 mm	2-4 ug/ml
Imipenem	Baja predicción de carbapenemasas	2-4 ug/ml

- El procedimiento de tamizaje se realiza de acuerdo a las recomendaciones generales para las pruebas de difusión en disco o la microdilución, se incuba a 36°C +/- 1, durante 16-18 horas. Pasado el tiempo de incubación deben leerse las zonas de inhibición del lado del agar usando luz reflejada.
- En caso de presentarse los diámetros de inhibición mencionados anteriormente debe realizarse la prueba confirmatoria.
- Los discos de antibióticos son ubicados estratégicamente para la detección fenotípica de los siguientes mecanismos de resistencia: Carbapenemasa del grupo 2f tipo KPC: discos de IMP y MEM de 15 a 20 mm de distancia del disco de ácido borónico (APB). Carbapenemasa del tipo Metalobetalactamasa (MBL): discos de IMP y MEM de 15 a 20 mm de distancia del disco de EDTA/SMA. Betalactamasa de espectro extendido tipo GES con actividad carbapenemasa:

discos de IMP de 15 a 20 mm de distancia del disco de CAZ. Betalactamasa de espectro extendido (BLEE): discos de CAZ y CTX de 15 a 20 mm de distancia del disco de AMC. Para la búsqueda de mecanismos enzimáticos de resistencia, se utiliza el Método microbiológico de HODGE modificado.

### **Prueba confirmatoria para la detección de un organismo productor de carbapenemasa**

- Método microbiológico de HODGE modificado:
- La prueba confirmatoria se realiza de acuerdo a las siguientes recomendaciones:
- Prepare una suspensión de una cepa de *Escherichia. coli* ATCC 25922, realice una suspensión 0.5 McFarland y haga una dilución 1:10 en solución salina al 0.85 %.
- Extienda el inóculo sobre la superficie del agar Mueller-Hinton siguiendo las recomendaciones del CLSI para las pruebas de rutina de difusión en disco
- Coloque un disco de meropenem en el centro del agar
- Tome de 3 a 5 colonias de un cultivo fresco del microorganismo a probar y realice una estría desde el borde del disco hacia la periferia, la longitud puede ser de 20-25 mm.
- Incube a 36°C +/- 1, en aerobiosis durante 16-18 horas
- Interpretación:

<p><b>Positivo:</b> Un resultado positivo se evidencia por el crecimiento de la cepa ATCC de <i>E. coli</i> en la parte de intersección entre el halo de inhibición generado por la difusión del antibiótico y la estría de la cepa problema formando una hendidura en la parte proximal al disco. Esto indica la presencia de carbapenemasas en la cepa problema que son liberadas al medio y permiten el crecimiento de <i>E. coli</i></p>	
<p><b>Negativo:</b> No se presenta crecimiento de <i>E. coli</i> ATCC en el punto de intersección de la estría de la cepa problema y el halo de inhibición generado por el carbapenem</p>	

(Higuera, 2016)

**Detección molecular de los genes codificantes de resistencia:**

- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar la presencia de genes que codifican las enzimas que confieren resistencia a carbapenemes (KPC), cefalosporinas (CTX-M y PER-2) y quinolonas (qnr), para lo se utilizan los siguientes cebadores:

- Cebadores utilizados para detección molecular de genes de resistencia

<b>Cebador</b>	<b>Secuencia 5'.....3'</b>
blaCTX-MU-F	ATG TGC AGY ACC AGT AAR GT
blaCTX-MU-R	TGG GTR AAR TAR GTS ACC AGA
blaPER-2-F	GTA GTA TCA GCC CAA TCC CC
blaPER-2-R	CCA ATA AAG GCC GTC CAT CA
blaKPC-F	AAC AAG GAA TAT CGT TGA TG
blaKPC-R	AGA TGA TTT TCA GAG CCT TA
qnrB-F	CCGACCTGAGCGGCACTGA
qnrB-R	CGCTCCATGAGCAACGATGCCT

Protocolo de amplificación: Desnaturalización inicial a 95°C por 5 min, 30 ciclos de desnaturalización a 95°C por 1 min, annealing a 50°C por 1 min y extensión a 68°C por 1 min, y extensión final a 72°C por 5 min (termociclador THERMO Electrón Corporation) (PXE 0,5 Thermal Cycler). Los productos de la amplificación son separados por electroforesis en gel de agarosa 2 %, en buffer TAE 0,5 X y teñidos con Bromuro de Etidio al 1 % para una observación posterior con luz UV con el equipo BIORAD UV Transilluminator 2000.

## **5.7 Antimicrobianos**

Para minimizar la confusión, todos los agentes antimicrobianos deberían ser informados usando nombres sin marcas o propietario (es decir nombres genéricos). Para enfatizar la relación de muchas drogas disponibles actualmente, deberían ser agrupadas por clase.



- ✓ **β-lactámicos.** Los antibióticos β-Lactámicos comparten un anillo central de 4 β-Lactam y su principal modo de acción es la inhibición de síntesis de la pared celular. Anillos adicionales a la estructura o grupos agregados al anillo β-Lactam determina si el agente es penicilina, cefem, carbapenem, o monobactam.
- ✓ **Penicilinas.** El espectro de actividad de la penicilina primaria incluye no productores de β-lactamasa, Gram positivos y algunas bacterias Gram negativas fastidiosas. Las acilamina penicilinas (ampicilina y amoxicilina) tienen actividad específica contra más especies de Gram negativas, incluyendo miembros de la familia *Enterobacteriaceae* no productoras de β-Lactamasa. Carboxi-penicilinas (carbenicilina y ticarcilina) y ureido-penicilinas (mezlocilina y piperacilina) tienen un amplio y considerable espectro contra Gram negativas. Penicilinas penicilinasas resistentes (cloxacilina, dicloxacilina, meticilina, nafcilina y oxacilina) que tienen un espectro predominantemente Gram positivos.

- Combinación de β-Lactámicos / Inhibidor de β-Lactamasa

Estos agentes antimicrobianos incluyen una penicilina y un segundo agente que tiene una mínima actividad antibacteriana pero funciona como un agente inhibidor de algunas β-Lactamasas. Actualmente, tres inhibidores de β-Lactamasas están en uso: clavulanato (ácido clavulánico), sulbactam, y tazobactam. El resultado de las pruebas de susceptibilidad para la penicilina sola no predice la actividad de su combinación con el inhibidor de β-Lactamasa

- Cefalosporinas y otros Cefems Diferentes antibióticos cefemes,

Incluyendo cefalosporina, pueden tener un espectro de actividad algo diferente contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Este grupo de drogas incluye las clásicas

cefalosporinas y antibióticos de otras subclases como las cefamicinas, oxacefemes y carbacefemes. Las distintas cefalosporinas a menudo son llamados como "primera, segunda", o "tercera" generación, basado en la extensión de su actividad contra la mayoría de bacterias Gram negativas más resistentes a antibióticos. No todos los representantes de un grupo específico o generación necesariamente tienen el mismo espectro de actividad. Debido a estas diferencias de actividad un representante de cada grupo puede ser seleccionado para la prueba de rutina.

- Carbapenems

Carbapenems difieren ligeramente en estructura de las penicilinas y son mucho más resistentes a la hidrólisis por  $\beta$ -Lactamasa, lo que da a ellos un amplio espectro de actividad contra muchas bacterias Gram positivas y Gram negativas.

- Monobactams

Estos antibióticos son los únicos que estructuralmente muestran una significativa actividad sólo contra bacterias Gram negativas aeróbicas. Son antibióticos  $\beta$ -Lactámicos monocíclicos. Aztreonam es el único monobactam aprobado para uso por la FDA.

- ✓ **Glicopéptidos** Antibióticos glicopeptidos comparten una compleja estructura química y el modo de acción es la inhibición de síntesis de la pared celular en sitios diferentes a los sitios de acción de los  $\beta$ -Lactámicos. La actividad de este grupo es dirigida primeramente a bacterias Gram positivas.
- ✓ **Aminoglicósidos.** Miembros de este grupo de antibióticos inhiben la síntesis de proteínas bacterianas a nivel del ribosoma. Esta clase de antimicrobianos está

compuesta por drogas que tienen distinta estabilidad a las enzimas modificadoras de aminoglicósidos. Esto determina diferente espectro de actividad de cada uno de sus miembros. Los aminoglicósidos son usados primeramente para tratar infecciones por bacterias aeróbicas Gram negativas o en combinación sinérgica con antibióticos inhibidores de la síntesis de la pared celular contra algunos Gram positivos resistentes.

- ✓ **Macrólidos.** Macrólidos están estructuralmente relacionados a antibióticos que inhiben la síntesis proteica a nivel del ribosoma. Hay varios miembros de esta clase actualmente en uso que pueden ser considerados para pruebas contra bacterias Gram positivas o Gram negativas con algunos requerimientos nutricionales especiales. Drogas de este grupo están estrechamente relacionadas entre sí, con pocas excepciones, solo es necesario probar de rutina la eritromicina.
- ✓ **Tetraciclinas.** Las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica a nivel del ribosoma de ciertas bacterias Gram negativas y Gram positivas. Las drogas en este grupo están estrechamente relacionadas y, con pocas excepciones, sólo la tetraciclina puede requerir ser probada de rutina. Las bacterias que son sensibles a tetraciclina pueden ser consideradas sensibles también a doxiciclina, minociclina.
- ✓ **Quinolonas.** Este grupo de compuestos incluye a un número de agentes estrechamente relacionados que funcionan primeramente por inhibición de la actividad de la DNA girasa de muchas bacterias Gram negativas y Gram positivas.

- ✓ **Sulfonamidas y Trimetoprim.** Este grupo de compuestos abarca varios agentes quimioterapéuticos con espectro similar de actividad resultante de la inhibición del metabolismo del folato. Sulfisoxazole es la sulfonamida más usada en el tratamiento de infecciones en el tracto urinario, y su selección es apropiada para ser probada in vitro. Sulfometoxazole es usualmente probada en combinación con trimetoprim, estos producen una inhibición secuencial en dos pasos del metabolismo del folato de algunas bacterias Gram positivas y Gram negativas.
- ✓ **Clases de droga simple.** En este grupo encontraremos antimicrobianos para los que no existen drogas relacionadas. Cloranfenicol, clindamicina, linezolid y quinupristin/dalfopristin que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas; rifampicina que es un inhibidor de la síntesis de RNA, no presentan otros compuestos relacionados y deben ensayarse individualmente en las pruebas in vitro. Nitrofurantoina actúa por inhibición de síntesis de muchas proteínas y etapas de ensamblaje a nivel del ribosoma, es útil sólo en la terapia de infecciones en el tracto urinario, debido a su extremada baja concentración en los otros fluidos del cuerpo. Fosfomicina, aprobada por la FDA para infecciones del tracto urinario, actúa inhibiendo enzimas que están involucradas en la síntesis de la pared celular.

**Antibiograma típico de *Klebsiella pneumoniae*.**

Amikacina-AK	++
Ampicilina-AM	R
Leufloxacina-LEV	++
Cefalotina-CF	R
Cefotaxina-CTX	+
Ceftriaxona-CRO	+
Cloronfenicol-CL	R
Gentamicina-GE	+
Netilmicina-NET	++
Nitsoforontoina-NF	+
Cefepime-FEP	+
Trymetioprim suliomefomenol-SXT	R

## 6.0 DISEÑO METODOLÓGICO

### 6.1 Tipo de estudio:

El proyecto de investigación que se realizó fue de tipo descriptivo, documental, transversal y retrospectivo.

- **Descriptivo:** porque se describen las características principales del problema de resistencia bacteria en *Klebsiella pneumoniae*, sin entrar en detalles sobre los factores que lo origina, describiendo y organizando los datos obtenidos en la investigación.
- **Documental:** porque se recopilaron datos que se generaron con el fin de conocer la frecuencia de aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* en los diferentes servicios de ingreso del Hospital Nacional Rosales.
- **Transversal:** porque se realizó una sola observación en cada uno de las unidades de observación, es decir, se tomó en cuenta el cultivo positivo a *K. pneumoniae*, de un paciente, sin tomar en cuenta si se le realizó o no otro cultivo posteriormente.
- **Retrospectivo:** la información se obtuvo de observaciones realizadas en el periodo comprendido de enero a diciembre del 2017.
- **Área de estudio:** la recolección de datos se realizó de una página web que pertenece al Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), conteniendo información del área de bacteriología, del laboratorio clínico del Hospital Nacional Rosales, de la red de servicios de tercer nivel del Ministerio de Salud.

## 6.2 Población, muestra y muestreo.

- **Población:** todos los cultivos positivos a aislamientos bacterianos de enero a diciembre del 2017.
- **Muestra:** aislamientos bacterianos positivos a *Klebsiella pneumoniae* durante enero a diciembre del 2017.
- **Muestreo:** en esta investigación el tipo de muestreo fue no probabilístico, también llamado por conveniencia ya que los resultados no se generalizan para toda la población porque se cuentan con criterios definidos para la muestra.

### **Criterios de inclusión:**

1. Cultivos bacteriológicos provenientes de mujeres y hombres ingresados en los diferentes servicios de hospitalización del Hospital Nacional Rosales.
2. Cultivos bacteriológicos con aislamientos positivos.
3. Cultivos con aislamientos positivos a *Klebsiella pneumoniae*.

### **Criterios de exclusión:**

1. Cultivo bacteriológico no provenientes de mujeres y hombres ingresados en los diferentes servicios de hospitalización del Hospital Nacional Rosales.
2. Cultivos bacteriológicos sin aislamientos positivos.
3. Cultivos con aislamientos positivos a otras bacterias diferentes a *Klebsiella pneumoniae*.

### **Método de investigación:**

El método empleado en este estudio fue de tipo hipotético deductivo, con un tratamiento de los datos y un enfoque cuantitativo.

### **Método científico**

Permitió estudiar el problema de forma sistemática a partir de la formulación del problema, interrelacionando las etapas y desarrollando un proceso confiable en la obtención de la información.

### **Método estadístico**

El método estadístico hipotético deductivo se aplicó para el análisis de los datos obtenidos, por lo que facilitará la presentación de la información y análisis de los datos que se obtuvieron.

## **6.3 Fuente y recolección de datos:**

### **Fuente de obtención de datos:**

Las fuentes de información que se utilizaron:

- Libros
- Documentos oficiales.
- Consultas de internet.
- Análisis estadístico de datos.
- Obtención de datos epidemiológicos.



### **Recolección de datos:**

Los datos se obtuvieron a través de información epidemiológica del área de bacteriología que se encuentra en la página web perteneciente al Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL). ([www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb))

### **Recopilación de datos.**

Una vez se obtuvieron los datos se procedió:

- Clasificar la información.
- Tabulación de datos.
- Análisis de los resultados estadísticos.

### **Procesamiento de la información**

Se utilizó Microsoft Excel para tabular los datos, realizar los gráficos y tablas con la información obtenida del hospital.

### **Interpretación y clasificación de la información**

Una vez recolectados los datos proporcionados por los documentos, se procedió al análisis estadístico respectivo. Los datos se tabularon y presentaron por gráficos de distribución de frecuencia, tablas, análisis descriptivos de los porcentajes de frecuencia de aislamiento en los diferentes servicios.

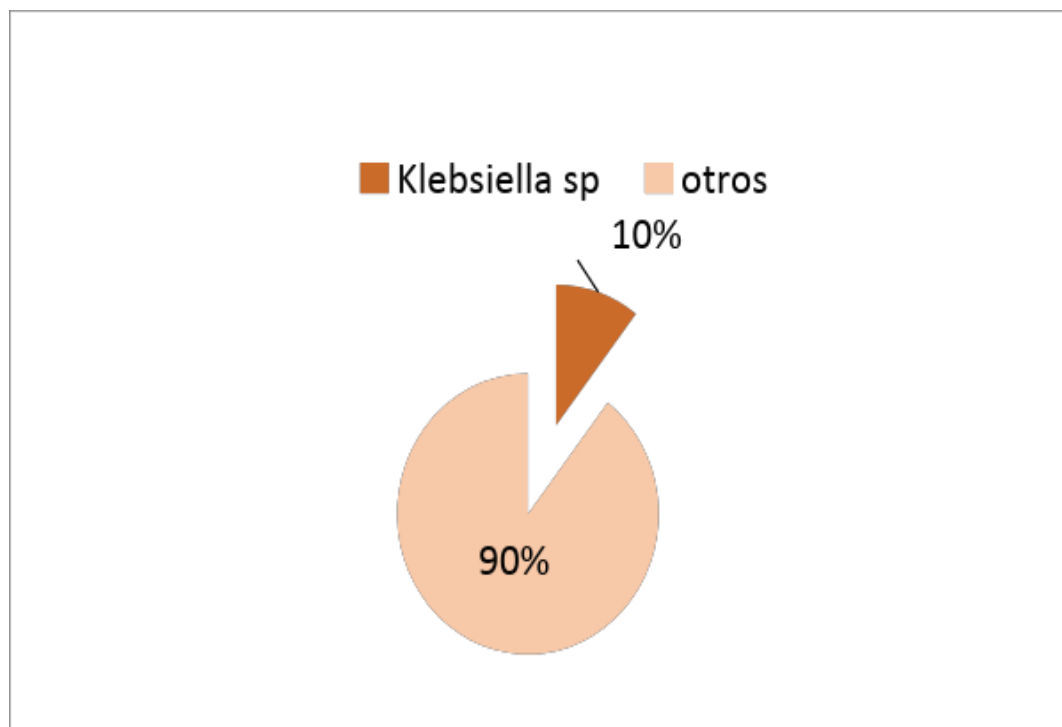
## 7.0 RESULTADOS

**Tabla N°1.** Frecuencia de aislamientos bacterianos positivos a *Klebsiella sp* en el Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre de 2017.

	Frecuencia	Porcentaje %
<i>Klebsiella sp</i>	920	10%
Otros	7890	90%
<b>Total</b>	<b>8810</b>	<b>100%</b>

Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

**Gráfico N°1.** Aislamientos bacterianos positivos a *Klebsiella sp* en el Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre de 2017.



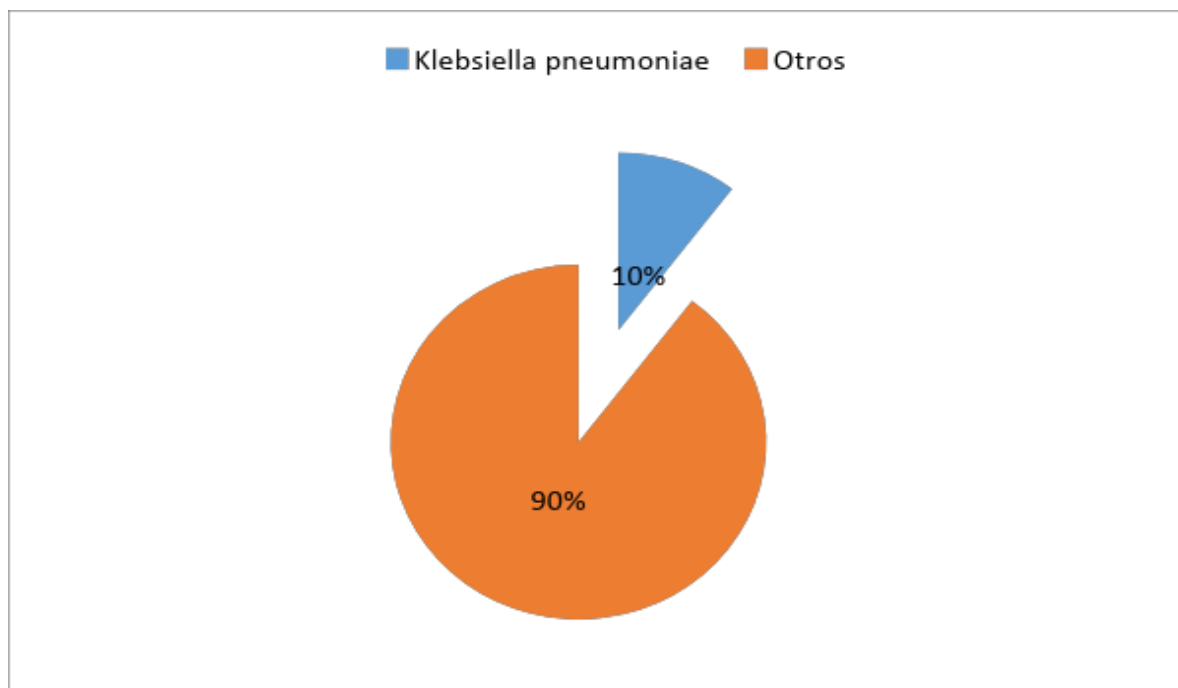
Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

**Tabla N°2.** Frecuencia de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en el Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre de 2017.

	Frecuencia	Porcentaje %
<b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>	911	10.34%
<b>Otros</b>	7899	89.66%
<b>Total</b>	8810	100%

Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

**Gráfico N°2.** Frecuencia de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en el Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre de 2017.



Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

**Tabla N°3.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* en los diferentes servicios del

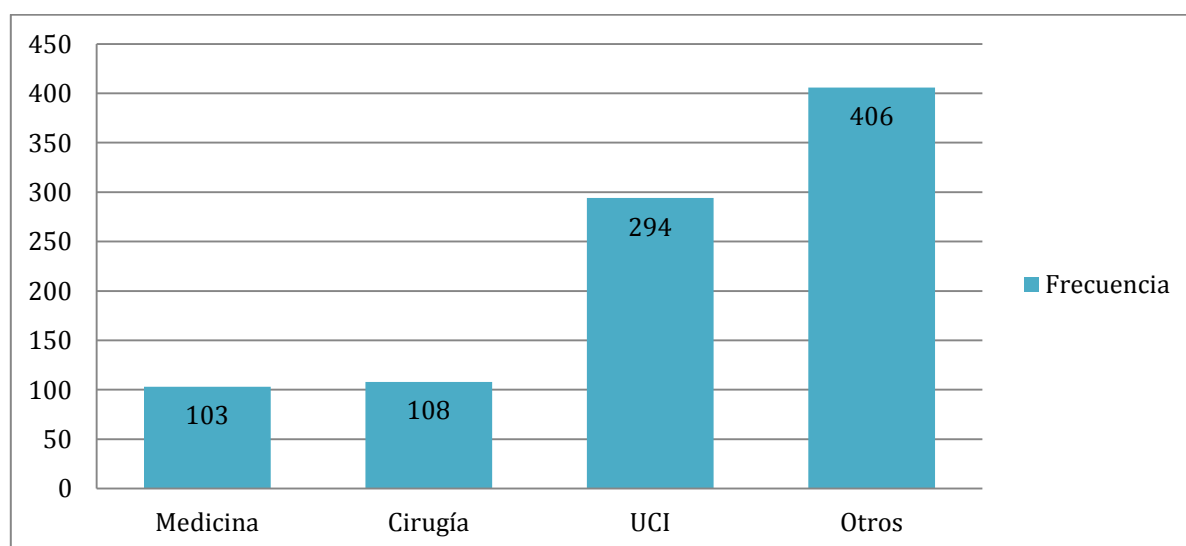
Servicio	Frecuencia	Porcentaje
Medicina	103	11.31%
Cirugía	108	11.86%
UCI	294	32.27%
Otros	406	44.57%
<b>Total</b>	<b>911</b>	<b>100.00%</b>

Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

\*(En el anexo 5 se pueden apreciar los servicios que han sido agrupados en la categoría “otros”)

**Gráfico N°3.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.



Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

**Tabla N°4.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente productora de BLEE (beta lactamasa de espectro extendido) en los diferentes servicios del Hospital Nacional

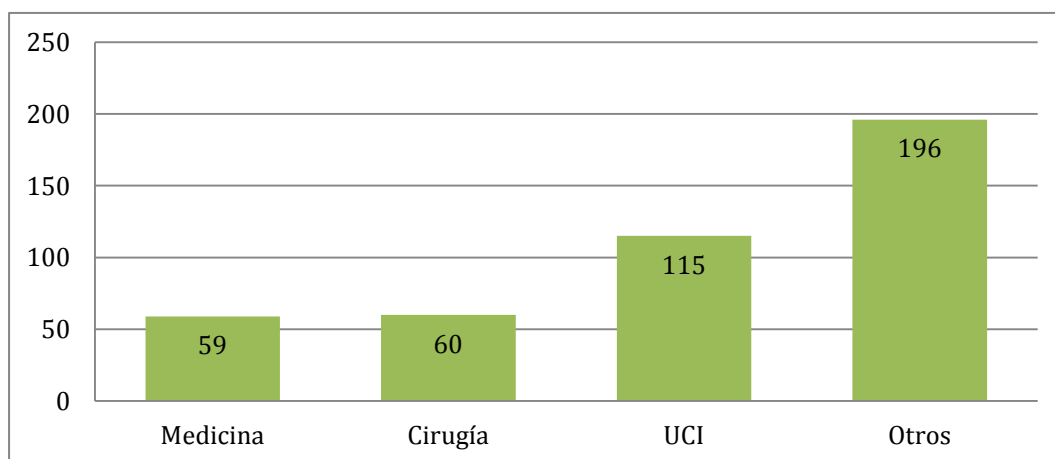
Servicio	Frecuencia	Total
Medicina	59	13.72%
Cirugía	60	13.95%
UCI	115	26.74%
Otros	196	45.58%
<b>Total</b>	<b>430</b>	<b>100.00%</b>

Rosales de enero a diciembre 2017.

Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

\*(En el anexo 6 se pueden apreciar los servicios que han sido agrupados en la categoría “otros”)

**Gráfico N°4.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente productora de BLEE (beta lactamasa de espectro extendido) en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.



Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

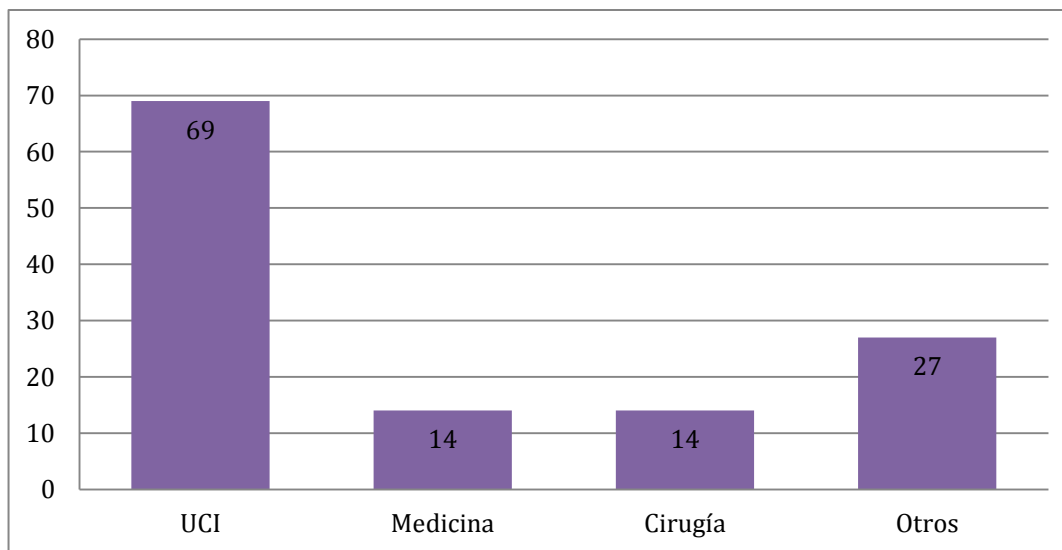
**Tabla N°5.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenémicos en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

Servicio	Frecuencia	Porcentaje
UCI	69	55.65%
Medicina	14	11.29%
Cirugía	14	11.29%
Otros	27	21.77%
<b>Total</b>	<b>124</b>	<b>100.00%</b>

Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

\*(En el anexo 7 se pueden apreciar los servicios que han sido agrupados en la categoría “otros”)

**Gráfico N°5.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenémicos en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.



Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

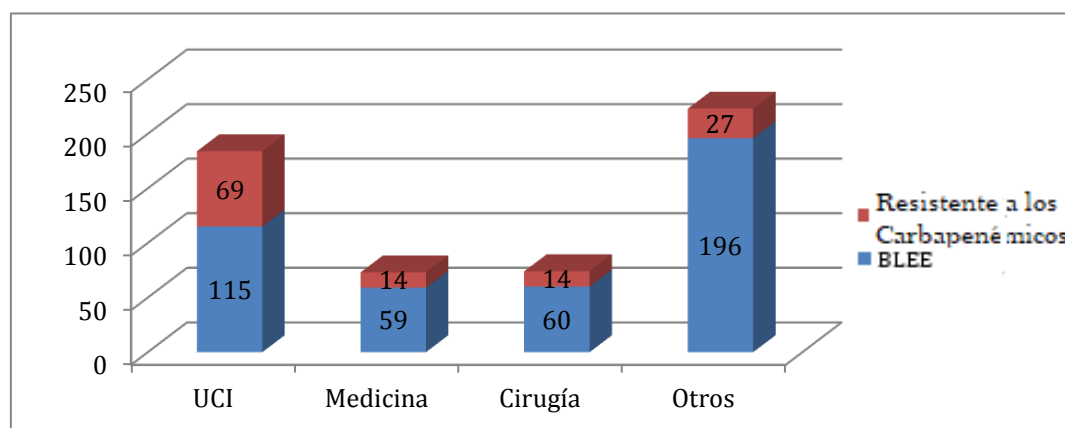
**Tabla N°6.** Frecuencia de aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenémicos y betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

Servicio	BLEE	Resistente a Carbapenémicos
UCI	115	69
Medicina	59	14
Cirugía	60	14
Otros	196	27
<b>TOTAL</b>	<b>430</b>	<b>124</b>

Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

\*(En el anexo 8 se pueden apreciar los servicios que han sido agrupados en la categoría “otros”)

**Gráfico N°6.** Frecuencia de aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenémicos y betalactamasa de espectro extendido en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.



Fuente: [www.centinela.salud.gob/vrb](http://www.centinela.salud.gob/vrb)

## 8.0 DISCUSIÓN

La presente investigación se realizó con datos generados en el período comprendido entre enero y diciembre del año 2017, en el área de bacteriología del Hospital Nacional Rosales, período en el cual se obtuvieron 8,810 aislamientos; entre los que se encontraron registrados, bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras. Usando el método VITEK 2 COMPAC, el cual realiza la identificación del microorganismo y el antibiograma en el mismo proceso, siendo posible obtener datos precisos en relación a la frecuencia de aislamiento de *Klebsiella sp*, *Klebsiella pneumoniae* y sus cepas multirresistentes. Obteniendo un total de 9 aislamientos de *Klebsiella sp*, 911 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y 7890 aislamientos restantes, correspondientes a otros microorganismos.

En estudios recientes:

En un estudio descriptivo enmarcado en la estrategia de vigilancia epidemiológica de la resistencia bacteriana desarrollado entre el año 2010 al 2012, en 13 instituciones de alta complejidad; Publicado por la Asociación Colombiana de Infectología, a través de la revista ELSEVIER DOYMA, el total de los aislamientos microbiológicos prevalentes fue de 111,036, de estos un 12.8 % de aislamientos corresponden a *Klebsiella pneumoniae*, una tasa muy cercana a los aislamientos obtenidos en el Hospital Nacional Rosales en el presente estudio, correspondientes a 10.34 % con solo un 2.46 % de diferencia entre los datos comparados, lo que da una certeza de confiabilidad en los resultados obtenidos.



El presente estudio se realizó en el único Hospital de Referencia del país, por lo que en este lugar son procesados un mayor número de muestras para estudios de identificación bacteriana, en comparación con otros hospitales de El Salvador y es aquí donde se atienden los casos médicos más complejos. Además en el presente estudio se toman en cuenta el total de muestras procesadas para cultivo bacteriano; no así, al número de personas de las cuales provienen estas muestras; puesto que a un mismo paciente se le pudo haber realizado más de un aislamiento bacteriano, procedente de un sitio anatómico diferente.

Se sabe por medio del sitio web del portal epidemiológico del Ministerio de Salud que el mecanismo de resistencia a los antimicrobianos encontrados el Hospital Nacional Rosales son las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas (como las cefalosporinas de tercera generación), el aztreonam, las penicilinas y las cefalosporinas de espectro reducido. Por el contrario, son incapaces de hidrolizar cefamicinas (cefexitina y cefotetán) y carbapenemen.

En el año 2017 en el Hospital Nacional Rosales no se contaba aún con metodologías para la determinación del tipo de mecanismo que las bacterias utilizaban para poder ser resistentes a los antibióticos carbapenémicos, por lo que en el presente informe, solamente hace referencia a estas bacterias como “resistentes a carbapenémicos”, sin entrar en detalle del mecanismo presente en ellas que les confieren tal característica; mientras que el 17 de noviembre de 2011, el Centro Nacional de Enlace para el Reglamento Sanitario Internacional (CNE) en Guatemala, emitió una alerta

epidemiológica por el aislamiento de cepas de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente, por carbapenemasa tipo Nueva Delhi metalobetalactamasa (NDM) en el país. Según la alerta publicada, el Laboratorio Nacional de Salud confirmó la presencia de NDM en dos cepas de *Klebsiella pneumoniae*, que fueron enviadas de dos hospitales de referencia nacional situados en la ciudad de Guatemala.

En el presente informe se obtuvieron un total de 430 cepas aisladas con multirresistencia mediada por BLEE, que equivale al 47.20 % de todos los aislamientos positivos a *Klebsiella pneumoniae* (911) y un total de 124 cepas aisladas resistentes a los antibióticos carbapen, correspondientes al 13.61 % del total de aislamientos positivos a *Klebsiella pneumoniae*; por lo que de los 911 aislamientos 554 son consideradas cepas multirresistentes equivalentes al 60.81 % de las 911 cepas aisladas. Ya que se considera como multirresistente a toda aquella bacteria que presenta resistencia a más de tres grupos de antibióticos, esto es un dato alarmante debido a que la farmacoterapia se está viendo obsoleta ante la presencia de estos mecanismos de resistencia y al parecer a medida que el tiempo avanza el porcentaje de multirresistencia va en aumento; por lo que es preciso tomar en cuenta las recomendaciones emitidas en estudios similares.

Los servicios en los cuales se reportó mayores aislamientos bacterianos positivos a *Klebsiella pneumoniae*, con mecanismos de resistencia tipo BLEE, y resistentes a los carbapenémicos, fueron la Unidad de Cuidados Intensivos, Unidad de Cuidados Intermedios y Unidad de Cuidados Quirúrgicos; lugares donde se encuentran encamados pacientes con cuadros clínicos como neumonías, peritonitis, shock séptico,

traumatismos, enfermedades renales, infartados, heridas quirúrgicas lo cual compromete su sistema inmune. Todos los pacientes que están en estos servicios presentan cuadros clínicos complicados, comprometiendo aún más su salud, estando muchos de ellos en estado de inconciencia, con ventilación asistida por maquinaria o ventilación manual; se sabe desde años atrás que *Klebsiella pneumoniae* es un microorganismo oportunista porque para presentarse como patógeno necesita que el estado del sistema inmunitario del paciente esté debilitado por cualquiera de las múltiples causas que puedan llevar esto, como por ejemplo, las mencionadas anteriormente. *K. pneumoniae* se propaga por medio de fómites, manos del personal hospitalario y por autoinfección. Adquiriendo resistencia en estos servicios debido a la farmacoterapia a la que son sometidos los pacientes ahí ingresados, ya que en muchas ocasiones hay una combinación de antibióticos para atacar una causa subyacente o foco central de una infección primaria. Datos que coinciden con estudios relacionados tales como el estudio de “Caracterización de pacientes con aislamiento de *Klebsiella* productora de carbapenemasa en un hospital pediátrico de tercer nivel de Bogotá, Colombia” llevado a cabo en el periodo entre los años 2012 y 2015, donde el servicio Unidad de Cuidados Intensivos Pediátrico aportó el 43 % de los aislamientos obtenidos en el estudio; los datos obtenidos en la presente investigación revelaron que en el Hospital Nacional Rosales, la Unidad de Cuidados Intensivos, la Unidad de Cuidados Intermedios y la Unidad de Cuidados Quirúrgicos aportaron un total de 215 aislamientos de cepas multirresistentes de *Klebsiella pneumoniae* (BLEE Y resistente a carbapenémicos), equivalentes al 38.8 % del total de aislamientos bacterianos multirresistentes reportados de todos los servicios del hospital. Datos muy cercanos y

que coinciden con los estudios antes realizados en relación a este patógeno brindándole a la presente investigación validez externa.

## 9.0 CONCLUSIONES

Según resultados y análisis de los mismos se concluye que:

- *Klebsiella pneumoniae* por su carácter de microorganismos patógeno oportunista, es causante de enfermedades nosocomiales, los datos obtenidos revelan que en el Hospital Nacional Rosales esta característica de *K. pneumoniae* no es la excepción puesto esta bacteria fue reportada de un total de 911 muestras procesadas lo que equivale a un 10.34 % de los aislamientos totales en el área de bacteriología del Hospital.
- Las cepas multirresistentes de *Klebsiella pneumoniae* que fueron aisladas corresponden a 554, por lo que podemos afirmar que un 60.81% de estas cepas poseen mecanismos de resistencia de tipo Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) o algún otro mecanismo que le confiere resistencia a los antibióticos carbapenémicos.
- Según estudios realizados y con base a los datos obtenidos se concluye que los servicios más afectados con infección por *Klebsiella pneumoniae* multirresistente son la Unidad de Cuidados Intensivos, Unidad de Cuidados Intermedios y Unidad de Cuidados Quirúrgicos, con el 38.80% de los aislamientos positivos.

## 10.0 RECOMENDACIONES

El problema creciente de la resistencia bacteriana a los fármacos antimicrobianos, al que la humanidad se enfrenta día a día, es debido a una serie de causales que pueden evitarse o prevenirse muchas veces con acciones mínimas o con un cambio de actitud de los profesionales de la salud.

Como grupo de investigación se hace la recomendación a todo el personal que trabaja en el cuidado y restauración de la salud de los pacientes, de realizar el lavado de manos de una manera frecuente, según técnica de esta actividad, antes y después de cada procedimiento, antes y después de atender a cada paciente y cuando esto se considere necesario.

Se recomienda al momento de tomar la decisión de que medicamento antimicrobiano se usará en la terapia de un paciente, tomar en cuenta que las bacterias desarrollan resistencia a los fármacos por una inadecuada utilización de estos o bien por un tratamiento inconcluso, con el fin de prevenir que las bacterias sigan desarrollando resistencia se recomienda consultar el antibiograma realizado a la bacteria que se quiere eliminar y de esta manera evitar que este fenómeno siga creciendo.

El control epidemiológico de este tipo de fenómenos es de crucial importancia, no solamente para *K. pneumoniae*, sino también para las demás bacterias y microorganismos, por lo tanto, se recomienda un control exhaustivo de los casos de infecciones por bacterias multirresistentes, para poder controlarlo y evitar así, su diseminación a la demás población.

## 11.0 FUENTES DE INFORMACIÓN

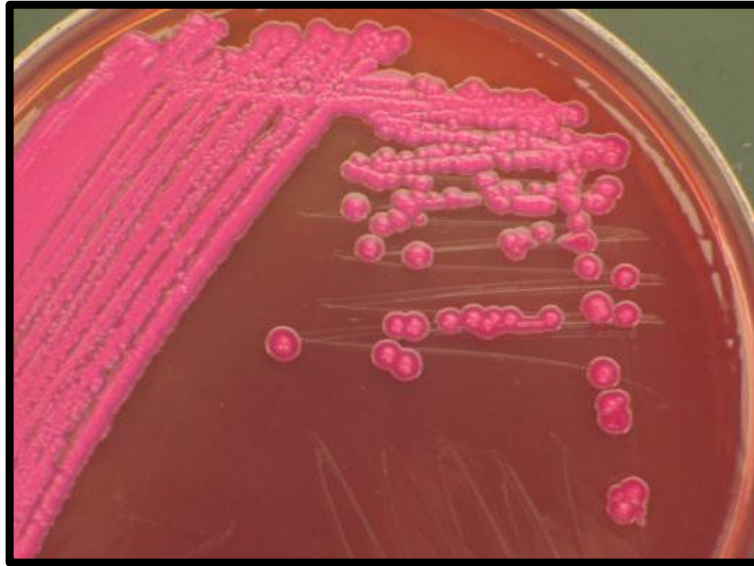
1. Andrade, V. Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* productora de betalactamasa SVH-5 en una unidad de cuidados intensivos. Vol. 46. N°6. México 2004. Pág. 524-528.
2. Argueta, José Alberto. Metodología. Guía para abordar los problemas de salud. Ciudad Universitaria, El Salvador. Folleto mecanografiado. 2017. Pág. 44-69.
3. Emery, C. Detection and clinical significance of extended-spectrum Betalactamases in a tertiary medical center. J Clin Microbiol. Vol. 35. 2006. Págs. 1-3.
4. Fabbri F. Outbreak of Ampicillin/ Piperacillin-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* in a Neonatal Intensive Care Unit (NICU): Investigation and Control Measures, Int. J. Environ. Res. Public Health. Vol. 10. 2013. Págs. 808-815.
5. González, R. Revista chilena de infectología: Brote por *Klebsiella pneumoniae* multirresistente y productora de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido en una unidad de alto riesgo neonatal. Vol.28. Chile 2011.
6. Iladiba I. Resistencia bacteriana: Supervivencia del más apto. vol. XII. 1998 Pág. 9.
7. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 25<sup>o</sup> edición. México D.F. Mc. Graw-Hill Interamericana editores S.A de CV. 2011. Pág.147-149, 154.
8. Koneman, E. Diagnostico microbiológico. Argentina. 5ta Edición. Editorial Panamericana. 2003. Págs. 205, 206, 211-215.

9. Manisha, M. Emergence of multi-drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Neonatal Intensive Care Units: concern about antimicrobial policies. Res. J.Recent. Sci Vol. 1. 2012. Págs. 275-280.
- 10.Monge, Karen. Terapéutica Médica. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXX. San José Costa Rica. 599. 2013. Pág. 1-7.
- 11.Navarro, Ferrán; Miró Elisana. El SEVIER: Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Vol. 28. (9). Noviembre 2010.
- 12.Organización Mundial de la Salud. OMS/OPS: lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Artículo Ginebra. 27 de Febrero de 2017.
- 13.Palma, Roberto. Diagnóstico Bacteriológico. Enterobacterias. Ciudad Universitaria, El Salvador. Clase 5 mecanografiada. 2015.
- 14.Palma, Roberto. Diagnostico Bacteriológico. Metabolismo Bacteriano. Ciudad Universitaria, El Salvador. Clase 7 mecanografiada. 2015.
- 15.Instituto de la salud pública de Chile. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana. Ministerio de Salud Gobierno de Chile:  
[www.ispch.cl/lab\\_sal/doc/manual\\_susceptibilidad.pdf](http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/manual_susceptibilidad.pdf)
- 16.Vargas, Jaime Alberto; Echeverría, Lina María. *Klebsiella pneumoniae*. Vol. 23. Junio 2010.

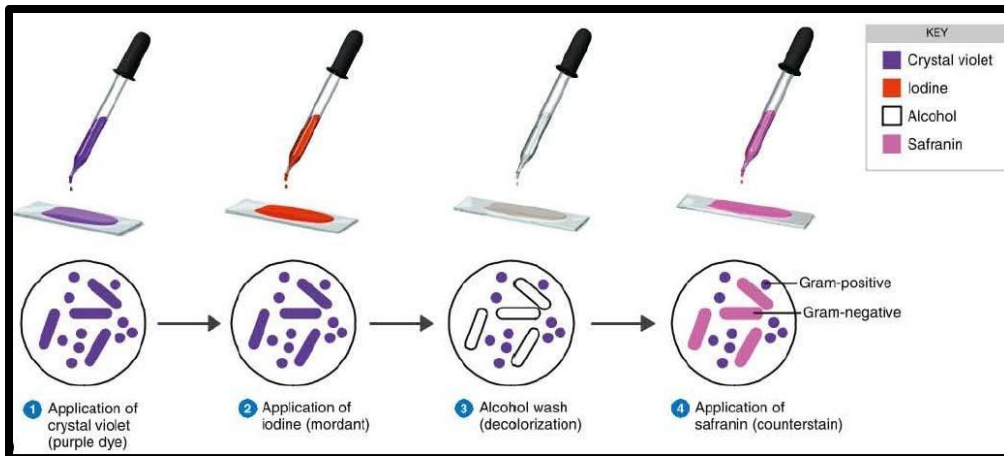


## 12.0 ANEXOS

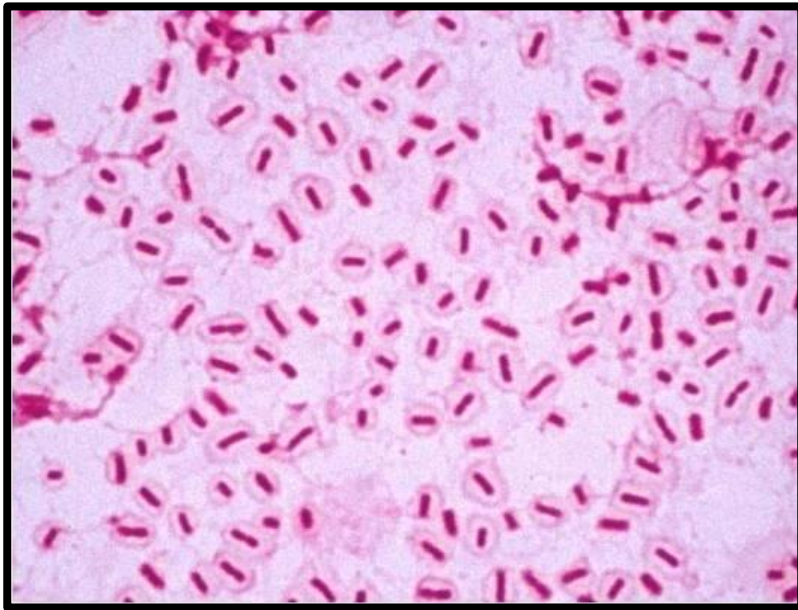
- Anexo N°1. Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en Agar Mac Conkey.



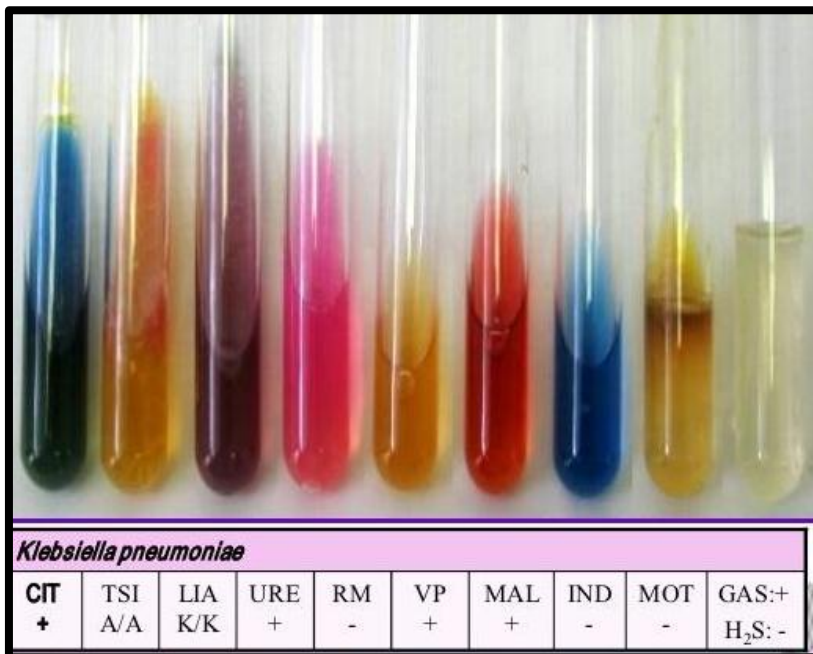
- Anexo N°2. Coloración de Gram



- Anexo N°3. Microscopia de *Klebsiella pneumoniae*.



- Anexo N°4. Bateria bioquímica de *Klebsiella pneumoniae*.



- Anexo N°5

**Tabla N°3.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

<b>Servicio</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Unidad de Cuidados Intensivos	157	17.23%
Consulta externa	87	9.55%
Unidad de Cuidados Quirúrgicos	72	7.90%
Unidad de Cuidados Intermedios	65	7.14%
Nefrología	54	5.93%
2 Medicina hombres	44	4.83%
2 Medicina mujeres	43	4.72%
Observación	41	4.50%
Sala de operación	39	4.28%
Endocrinología	36	3.95%
Emergencia	25	2.74%
2 Cirugía hombres	24	2.63%
Hemato Oncología	23	2.52%
Infectología	21	2.31%
1 Cirugía hombres	18	1.98%
3 Medicina hombres	16	1.76%
Hemodiálisis	15	1.65%
1 Cirugía mujeres	14	1.54%
Ortopedia	14	1.54%
4 Cirugía hombres	13	1.43%
Neurocirugía	13	1.43%
2 Cirugía mujeres	12	1.32%
3 Cirugía hombres	12	1.32%
Urología	12	1.32%
4 Cirugía mujeres	10	1.10%
Bienestar magisterial	9	0.99%
ICTUS	7	0.77%
3 Cirugía mujeres	5	0.55%
SOC	4	0.44%
Cardiología	3	0.33%
Servicio de respuesta rápida	3	0.33%
<b>Total</b>	<b>911</b>	<b>100.00%</b>

Anexo N°6

**Tabla N°4.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente productora de BLEE (beta lactamasa de espectro extendido) en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

Servicio	Frecuencia	Porcentaje
Unidad de Cuidados Intensivos	82	19.07%
Unidad de Cuidados Quirúrgicos	33	7.67%
Nefrología	31	7.21%
2 Medicina hombres	29	6.74%
Consulta externa	23	5.35%
Observación	23	5.35%
Endocrinología	21	4.88%
2 Medicina mujeres	19	4.42%
Infectología	15	3.49%
Sala de operación	12	2.79%
Emergencia	12	2.79%
2 Cirugía hombres	12	2.79%
1 Cirugía hombres	12	2.79%
3 Medicina hombres	11	2.56%
Hemodiálisis	10	2.33%
Ortopedia	10	2.33%
Hemato Oncología	8	1.86%
1 Cirugía mujeres	8	1.86%
3 Cirugía hombres	8	1.86%
Neurocirugía	7	1.63%
2 Cirugía mujeres	7	1.63%
Urología	6	1.40%
Bienestar magisterial	6	1.40%
4 Cirugía hombres	5	1.16%
4 Cirugía mujeres	5	1.16%
ICTUS	4	0.93%
3 Cirugía mujeres	3	0.70%
Cardiología	3	0.70%
Servicio de respuesta rápida	3	0.70%
SOC	2	0.47%
Unidad de Cuidados Intermedios	0	0.00%
<b>Total</b>	<b>430</b>	<b>100.00%</b>

- Anexo N°7

**Tabla N°5.** Aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenémicos en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

<b>Servicio</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Unidad de Cuidados Intensivos	42	33.87%
Unidad de Cuidados Intermedios	14	11.29%
Unidad de Cuidados Quirúrgicos	13	10.48%
2 Medicina mujeres	8	6.45%
Nefrología	7	5.65%
Hemato Oncología	6	4.84%
2 Medicina hombres	5	4.03%
1 Cirugía hombres	5	4.03%
Infectología	4	3.23%
Endocrinología	3	2.42%
2 Cirugía hombres	3	2.42%
Urología	2	1.61%
Sala de operación	2	1.61%
Ortopedia	2	1.61%
4 Cirugía hombres	2	1.61%
Neurocirugía	1	0.81%
3 Medicina hombres	1	0.81%
3 Cirugía mujeres	1	0.81%
3 Cirugía hombres	1	0.81%
2 Cirugía mujeres	1	0.81%
1 Cirugía mujeres	1	0.81%
SOC	0	0.00%
Servicio de respuesta rápida	0	0.00%
Observación	0	0.00%
ICTUS	0	0.00%
Hemodiálisis	0	0.00%
Emergencia	0	0.00%
Consulta externa	0	0.00%
Cardiología	0	0.00%
Bienestar magisterial	0	0.00%
4 Cirugía mujeres	0	0.00%
<b>Total</b>	<b>124</b>	<b>100.00%</b>

Anexo N°8

**Tabla N°6.** Frecuencia de aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenémicos y betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en los diferentes servicios del Hospital Nacional Rosales de enero a diciembre 2017.

<b>Servicio</b>	<b>BLEE</b>	<b>OXA/ KPC</b>
Unidad de Cuidados Intensivos	82	42
Unidad de Cuidados Quirúrgicos	33	13
Nefrología	31	7
2 Medicina hombres	29	5
Consulta externa	23	0
Observación	23	0
Endocrinología	21	3
2 Medicina mujeres	19	8
Infectología	15	4
Sala de operación	12	2
Emergencia	12	0
2 Cirugía hombres	12	3
1 Cirugía hombres	12	5
3 Medicina hombres	11	1
Hemodiálisis	10	0
Ortopedia	10	2
Hemato Oncología	8	6
1 Cirugía mujeres	8	1
3 Cirugía hombres	8	1
Neurocirugía	7	1
2 Cirugía mujeres	7	1
Urología	6	2
Bienestar magisterial	6	0
4 Cirugía hombres	5	2
4 Cirugía mujeres	5	0
ICTUS	4	0
3 Cirugía mujeres	3	1
Cardiología	3	0
Servicio de respuesta rápida	3	0
SOC	2	0
Unidad de Cuidados Intermedios	0	14
<b>Total</b>	<b>430</b>	<b>124</b>