

BETALACTAMASAS EN CULTIVOS DE *Escherichia coli* AISLADOS DE UROCULTIVOS, COPROCULTIVOS Y DE ALIMENTOS DE LA CIUDAD DE TRUJILLO 2011

Beta-lactamases in cultures of *Escherichia coli* isolated from urine cultures, stool cultures and food of the city of Trujillo 2011

Llenque – Díaz, Luis A.¹ y Acevedo- Hurtado, Yesenia E.²

RESUMEN

Se evaluó la presencia de betalactamasas en 90 cultivos de *Escherichia coli*, aislados de urocultivos, coprocultivos y de alimentos, proporcionados por el Laboratorio de Fisiología y Genética Microbiana, utilizando el método yodimétrico para determinar betalactamasas clásicas y el método de difusión de doble disco para betalactamasas de espectro extendido. Se encontró un 70% (21) de cultivos que presentaban betalactamasas clásicas provenientes de urocultivos y también de cultivos de alimentos, y un 50% (15) en coprocultivos. La producción de betalactamasas de espectro extendido por *E. coli* de urocultivos fue de 50% (15), seguida de un 30% (9) de coprocultivos. La evaluación de betalactamasas de espectro extendido por antibiótico arrojó 12 cultivos positivos para ceftazidima, 6 para cefotaxima y aztreonam y 3 para cefuroxima provenientes de urocultivos; así mismo, 9 cultivos fueron positivos para ceftazidima, 6 para cefuroxima y 3 para cefotaxima y aztreonam de coprocultivos. Un diagnóstico oportuno de estas enzimas en los cultivos microbianos aislados de muestras biológicas permitirá monitorear la incidencia de estas poblaciones resistentes a los antibióticos betalactámicos.

Palabras claves: *Escherichia coli*, Betalactamasas clásicas, Betalactamasas de espectro extendido.

ABSTRACT

Evaluated the presence of beta-lactamases in 90 cultures of *Escherichia coli* isolated from urine cultures, stool cultures and of food provided by the laboratory of Physiology and Microbial Genetics, using the method yodimetric to determine classical beta-lactamases and double disk diffusion method for extended-spectrum betalactamase. Found 70% (21) of crops which had from classical betalactamase urine cultures and food crops, and 50% (15) on stool cultures. The production of beta-lactamases of spectrum spread *E. coli* in urine cultures was 50% (15), followed by 30% (9) of stool cultures. The evaluation of antibiotic-spread spectrum betalactamase threw 12 positives for ceftazidime, cefotaxime and aztreonam 6 and 3 for cefuroxime from urine cultures; Likewise, 9 crops were positive for ceftazidime, 6 for cefuroxime and cefotaxime and aztreonam stool cultures 3. Early diagnosis of these enzymes in microbial cultures isolated from biological samples will allow monitoring the incidence of these populations resistant to beta-lactam antibiotics.

Keywords: *Escherichia coli*, classical beta-lactamases, extended-spectrum Betalactamase.

Presentado el 03.07.2012 aceptado el 08.11.2013

¹Docente del departamento de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo

²Tesista del departamento de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo

INTRODUCCION

Las bacterias son microorganismos simples que cohabitan con los seres humanos, en simbiosis permanente a nivel de piel, el tracto digestivo, vías respiratorias altas, oídos y otros muchos tejidos, constituyéndose en la flora microbiana normal e incluso algunos son benéficos y participan en muchos procesos bioquímicos¹. Otro grupo importante, generalmente las percibimos como causantes de daño, ya que pueden afectar desde sustancias inertes deteriorándolas hasta seres vivos causándoles enfermedad². Existe una alta incidencia de enfermedades infecciosas, causadas principalmente por enterobacterias, así como el surgimiento de cepas resistentes y multirresistentes a antibióticos³ siendo uno de los mayores problemas de la medicina actual y futura, ya que dificultan el tratamiento de las enfermedades

infecciosas y deterioran la calidad de vida del individuo⁴.

Las enterobacterias son el grupo más extenso y heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia médica, estos organismos son ubicuos que yacen en el suelo, el agua, y la vegetación; son el mayor componente de la flora normal intestinal pero son poco frecuentes en otros sitios del organismo; algunos organismos se asocian siempre con enfermedad mientras que otros como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* forman parte de la flora comensal y pueden causar infecciones oportunistas en determinadas circunstancias, como el género *Escherichia* que puede infectar el sistema nervioso central, tracto respiratorio bajo, torrente sanguíneo, tracto gastrointestinal y tracto urinario⁵. *Escherichia coli* es el miembro más representante de este grupo de enterobacterias⁶. Las cepas patógenas producen

infecciones entéricas (diarrea, disentería, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico) o extraintestinales (infecciones urinarias, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, abscesos, mastitis, infecciones pulmonares y de heridas), llegando a ser un patógeno mortal, muy competitivo en humanos y animales⁷. *E. coli* provoca en seres humanos 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775 mil muertes al año, afectando fundamentalmente a la población infantil de países en desarrollo⁸.

El tracto gastrointestinal de animales y humanos representa un ecosistema extremadamente favorable para los intercambios de genes de resistencia entre bacterias que pertenecen a géneros tanto iguales como diferentes, si dichas bacterias llegan hasta este sitio por la vía de los alimentos, se plantea que la diseminación se puede favorecer mucho más, la resistencia a los antimicrobianos afecta a la gran mayoría de los géneros y especies microbianas que pueden ser transferidos al hombre desde el ambiente por diferentes vías, entre ellas, la cadena alimentaria⁹.

Por otro lado, los antibióticos betalactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico, actúan inhibiendo la unión de los péptidos durante la formación de la pared celular, última etapa de la síntesis de la pared celular, de este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular¹⁰. Para que actúen los betalactámicos es necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que es cuando se sintetiza la pared celular. Así también pueden intervenir a nivel enzimático uniéndose a las transpeptidasas y carboxipeptidasas encargadas de alargar, dividir y dar forma a la bacteria, inhibiendo su acción, así también, actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano¹¹.

Desde 1970 se han desarrollado penicilinas y cefalosporinas de segunda generación, y durante los 80 y 90, la intensa actividad investigadora de la industria farmacéutica llevó al desarrollo de importantes innovaciones como las cefalosporinas de tercera y cuarta generación y la aparición de nuevas familias de antibióticos como quinolonas, monobactamas y tribactamas, carbapenemas, etc. Los antibióticos beta-lactámicos se caracterizan por la presencia del anillo betalactámico con una cadena lateral, que varía de unas penicilinas a otras, y un anillo de tiazolidina (doble anillo)¹². Las nuevas combinaciones con inhibidores betalactámicos se desarrollaron al final de los 90, además se optimizó la administración oral de antibióticos mediante el perfeccionamiento de diferentes mecanismos galénicos y se crearon los llamados fármacos “de diseño” (asociación amoxicilina/clavulánico)¹³. El ácido clavulánico tiene un núcleo similar al de las penicilinas con la

sustitución del átomo de azufre por un átomo de oxígeno (que incrementa la reactividad de la molécula y proporciona una afinidad mayor por las betalactamasas)¹⁴.

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico¹⁵. Con la aparición de los antibióticos en la terapéutica médica se hizo latente el problema de la resistencia bacteriana, pues los antibióticos que se usan para tratar las infecciones, usualmente son copia o modificación de sustancias elaboradas por microorganismos, entonces para sobrevivir, tuvieron que desarrollar simultáneamente mecanismos de protección contra los antibióticos y antídotos contra los mecanismos de protección (resistencia a los antibióticos)¹⁶.

Los genes que codifican los mecanismos de resistencia se ubican tanto en el cromosoma bacteriano como en plásmidos¹⁷ permitiendo intercambiar material genético entre poblaciones bacterianas originando la aparición de cepas nuevas con el ADN que codifica la resistencia a los antibióticos¹⁸. La adquisición del material genético por las bacterias susceptibles ocurre a través de la conjugación, transformación o transducción con transposones que a menudo facilitan la incorporación de genes de resistencia múltiple al genoma o plásmido, entonces la diseminación de estas cepas multirresistentes, se ha visto incrementada por diversos factores como el uso inadecuado de antibióticos, la migración nacional e internacional, las aglomeraciones de personas, entre otros¹⁹.

En la actualidad, los elevados niveles de resistencia a los antimicrobianos han incrementado los problemas relacionados con las enfermedades infecciosas, haciéndose cada vez más necesario el uso de nuevos antimicrobianos, que resultan ser más costosos y tóxicos para el hombre²⁰. El deterioro de la situación ha sido cada vez mayor por el uso creciente de los antibióticos en todo el mundo, en muchos países no han existido políticas restrictivas y donde las ha habido no han sido eficaces para evitar el abuso de los antibióticos²¹.

La resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos está mediada por mecanismos, como por ejemplo: alteración de los sitios blancos de la droga o proteínas fijadoras de penicilina (PBP, Penicillin Binding Protein), disminución de la permeabilidad de la membrana celular, hiperproducción cromosomal de betalactamasas, producción de betalactamasas de espectro extendido, o combinación de estos mecanismos²². La inactivación enzimática de las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) tiene mayor trascendencia clínica, codificadas por plásmidos,

transposones e integrones²³, estas se caracterizan por degradar el antibiótico mediante la ruptura del enlace amino del anillo β -lactam para producir metabolitos inactivos²⁴, y pueden ser neutralizadas por inhibidores específicos como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam²⁵.

Las infecciones por *E. coli* que producen betalactamasas se han tornado muy frecuentes, fenómeno emergente no sólo en nuestro país sino en diversas partes del mundo, por lo que es de gran importancia estudiar este problema en cultivos recientes de *E. coli* aislados de diferentes muestras biológicas por ser patógeno nosocomial y también comunitario, relacionada principalmente con la diseminación de elementos genéticos que albergan plasmidos de las BLEE, fenómeno de gran trascendencia epidemiológica y clínica; por que es importante conocer la frecuencia de cultivos de *E. coli* que producen betalactamasas, teniendo en cuenta la contaminación más común por heces hacia las vías urinarias y los alimentos; planteándose el siguiente problema científico ¿Cuál es la frecuencia de producción de betalactamasas clásicas y de espectro extendido en cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos, coprocultivos y alimentos?

Se establecieron los siguientes objetivos:

1. Determinar la producción de betalactamasas clásicas en cultivos de *Escherichia coli* aislados de muestras biológicas.
2. Determinar la producción de betalactamasas de espectro extendido en cultivos de *Escherichia coli* aislados de muestras biológicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Material biológico

90 cultivos puros de *Escherichia coli*, aislados de urocultivos, coprocultivos y alimentos, proporcionados por el laboratorio de Fisiología y Genética Microbiana de la Universidad Nacional de Trujillo.

2. Métodos y Técnicas

2.1. Reactivación del cultivo

A partir de cultivos puros de *Escherichia coli*, se realizó la reactivación sembrando por estría en superficie de placas petri con Agar Nutritivo, incubando a 37°C por 18 a 24 horas.

2.2. Determinación de cultivos de *Escherichia coli* productores de Betalactamasas

2.2.1. Método yodimétrico para la determinación cualitativa de betalactamasas clásicas²⁶

Se depositó 0.1 ml de solución de penicilina G-sódica a una concentración final de 6000 $\mu\text{g/ml}$ en un tubo de ensayo de 13 x 100 mm. Se preparó una suspensión bacteriana de cultivo puro de 18 a 24 horas de *Escherichia coli*, la suspensión tuvo una densidad equivalente al tubo N° 3 del nefelómetro de Mc Farland, se agitó durante 30 segundos y se

dejó reposar durante una hora a temperatura ambiente. Luego se añadió una gota de solución de almidón al 1%, mezclándose bien, para luego agregar una gota de solución yodurada. Se agitó con un movimiento rotatorio durante un minuto. Finalmente se realizó la lectura.

Se consideró la presencia de Betalactamasas Clásicas cuando se observó una decoloración rápida del azul intenso producido inicialmente en la suspensión bacteriana, cuando el color azul se mantuvo por más de diez minutos, la bacteria en estudio no fue considerada productora de Betalactamasas Clásicas.

2.2.2. Método de doble difusión con discos para determinación de Betalactamasas de espectro extendido²⁷

A partir de un cultivo joven de *Escherichia coli* incubado por 18 a 24 horas, se realizó una suspensión bacteriana en Solución Salina Fisiológica Estéril, ajustada al tubo N° 1 del nefelómetro de Mc Farland. Se sembró aproximadamente 20 μl de la suspensión en cada una de las placas con Agar Mueller Hinton, estriando con un hisopo estéril. A las placas sembradas se les colocó discos con antibiótico con carga estándar de 30 μg de Cefotaxima, Ceftazidima, Cefuroxima y Aztreonam, dispuestas a una distancia de 15 a 25 mm del disco de Amoxicilina/Ácido clavulánico (20/10 μg), colocado en el centro de la placa problema (Anexo 2). En otra placa, también sembrada, se colocó discos de Cefotaxima, Ceftazidima, Cefuroxima y Aztreonam, con las mismas cargas estándar, pero sin el disco de Amoxicilina/Ácido clavulánico, ésta fue placa control. Ambas placas se incubaron a 37°C durante 16 a 20 horas y posteriormente se realizó la lectura, midiendo los halos de inhibición, con la ayuda de una regla comparando la placa de prueba con la placa control.

Fue considerado como cultivo productor de BEE aquel que en la placa problema presentó aumento en el diámetro del halo de inhibición mayor o igual a 5 mm, en alguno de las cefalosporinas o del Aztreonam con relación a la placa control.

2.3. Presentación de datos y análisis estadístico:

Los datos se presentan en tablas según el número y porcentaje de cultivos que produjeron Betalactamasas clásica y de espectro extendido, indicando también los cultivos que no presentaron dichas enzimas; y se relacionó la presencia de betalactamasas de los cultivos aislados de las diferentes muestras en estudio, mediante la Prueba del Friedman²⁸, para investigar si existe diferencia significativa entre los grupos.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestra la distribución de frecuencias de producción de Betalactamasas

Clásicas en cultivos de *Escherichia coli* aislados de muestras biológicas, se destaca un mayor porcentaje en urocultivos (70 %) y cultivos de alimentos (70%) productores de betalactamasas clásicas.

En la Tabla 2 se observa la distribución de frecuencias de cultivos de *Escherichia coli* productores de BLEEs, aislados de muestras biológicas, en el cual se observa el 50% de

positividad en urocultivos y un 30% en coprocultivos.

En la Tabla 3 se observa la frecuencia de cultivos de *Escherichia coli* productores de BLEEs por el método de doble difusión de disco, en el que se detalla la producción de la enzima por cada antibiótico utilizado, resaltando la mayor producción en ceftazidima para urocultivos 12 y coprocultivos 9.

Tabla 1. Frecuencias de cultivos de *Escherichia coli* productores de Betalactamasas Clásicas aislados de urocultivos, coprocultivos y cultivos de alimentos.

Prueba de Friedman: no significativa ($p > 0.05$)

N°:

Cultivos	Urocultivo		Coprocultivo		Alimentos	
	N°	%	N°	%	N°	%
Positivos	21	70	15	50	21	70
Negativos	9	30	15	50	9	30
TOTAL	30	100	30	100	30	100

Número de cultivos

#: Porcentaje de cultivos

Tabla 2. Frecuencias de cultivos de *Escherichia coli* productores de Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE), aislados de urocultivos, coprocultivos y cultivos de alimentos.

Cultivos	Urocultivo		Coprocultivo		Alimentos	
	N°	%	N°	%	N°	%
Positivos	15	50	9	30	0	0
Negativos	15	50	21	70	30	100
TOTAL	30	100	30	100	30	100

Prueba de Friedman: altamente significativa ($p < 0.01$)

N°: Número de cultivos

#: Porcentaje de cultivos

Tabla 3. Número de cultivos de *Escherichia coli* productores de Betalactamasas de Espectro Extendido para cada antibiótico evaluado por el método de doble difusión de disco.

<i>Escherichia coli</i> aislados de	Cefotaxima	Aztreonam	Ceftazidima	Cefuroxima
	N°	N°	N°	N°
Urocultivos *	6	6	12	3
Coprocultivos **	3	3	9	6
Alimentos	0	0	0	0
TOTAL	9	9	21	9

*Prueba de Friedman: significativa ($p < 0.05$)

**Prueba de Friedman: altamente significativa ($p < 0.01$)

DISCUSION

Escherichia coli desempeña un importante papel en la fisiología del intestino, se le considera como la más abundante de las bacterias anaerobias facultativas intestinales y se excreta diariamente con las heces entre $10^8 - 10^9$ UFC/g de heces y por sus características es uno de los indicadores de contaminación fecal más utilizados, por lo que su distribución en el ambiente está determinada por su presencia en el intestino²⁹. Se transmite hacia el tracto urinario y por contacto humano directo durante la preparación de los alimentos y del agua, tiene la capacidad de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos³⁰, favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, etc. por ello se puede hallar en alta concentración en diferentes tipos de muestras biológicas³¹.

De los 90 cultivos de *E. coli* analizados, 21 cultivos (70%) de los urocultivos fueron positivos a betalactamasas clásicas, 15 (50%) de los coprocultivos y 21 (70%) aislados de alimentos (Tabla 1). Estos datos no presentaron diferencia significativa según la prueba de Friedman ($p > 0.05$) cuando se realizó el análisis entre los tres grupos, lo que indica que el porcentaje de producción de la enzima es muy semejante cuando el microorganismo es aislado de muestras de orina, heces y alimentos. Estas bacterias contaminan los alimentos durante la manipulación de personal infectado de los alimentos crudos o a través de las manos, superficies y utensilios contaminados⁹. Estos resultados refuerzan la importancia de una apropiada limpieza y desinfección de las superficies y del lavado de manos, sobre todo después del contacto con reservorios potencialmente contaminados³².

Entre los principales mecanismos utilizados por las bacterias para crear resistencia a los antibióticos, tenemos: uno, cambiando la estructura de las PBP's para evitar el acceso de los antibióticos; otro, desarrollando cambios en su membrana externa que la hacen impermeable a algunos antibióticos; y por la presencia de una bomba de eflujo que excreta el antibiótico desde el espacio periplásmico al medio ambiente³³. La producción de enzimas contra antibióticos, es otro de los mecanismos más extendidos entre las bacterias que desarrollan resistencia, que se dirigen en forma específica hacia un determinado antibiótico, como es el caso de la cloranfenicol-acetil-transferasa, la cual es una enzima capaz de destruir la molécula del cloranfenicol, o produciendo una enzima betalactamasa, que destruye el anillo betalactámico de los antibióticos tipo penicilinas, cefalosporinas y sus derivados³⁴, consideradas de espectro reducido por la limitada eficacia³⁵. Esta propiedad se confirmó mediante el método yodométrico utilizando bencilpenicilina o penicilina G como sustrato, en presencia de β -

lactamasa se produce ácido peniciloico, cuando reacciona con el yodo-yoduro potásico, el pH del medio disminuye y se reduce el yodo de la mezcla yodo-almidón desapareciendo el intenso color azulado de este complejo; en ausencia de β -lactamasa no se decolora la mezcla yodo-almidón³⁶.

La pared bacteriana es de importancia fundamental para la bacteria porque de ella depende, en gran parte su potencialidad infecciosa; por lo que, las penicilinas actúan como falsos sustratos en la transpeptidación, fijándose e inhibiendo a las transpeptidasas y carboxilpeptidasas de la membrana bacteriana, interfiriendo en la última etapa de la formación de la pared celular³⁷. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por presión osmótica intracelular¹⁴. Si bien es cierto que la efectividad de la defensa bacteriana presentada en un inicio, tuvo mucho éxito frente a los antibióticos betalactámicos, sin embargo, fue rebasada por nuevos casos de resistencia, en donde ahora las betalactamasas se modificaron para hidrolizar tanto al anillo lactámico, como a los inhibidores de la enzima que aparecieron como producto de los avances farmacéuticos³⁸.

Fenotípicamente, el rasgo que más llamaba la atención era que se trataba de enzimas que combinaban la posibilidad de transmisión plasmídica³⁹, similar a las betalactamasas clásicas, con una considerable capacidad para hidrolizar cefalosporinas de tercera generación⁴⁰. La frecuencia de la producción de las BLEE varía geográficamente y la administración indiscriminada de cefalosporinas de amplio espectro es un factor común en las instituciones, siendo las BLEE un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica, que alcanza tasas preocupantes en diversos países entre ellos el Perú⁴¹.

La mayoría de los métodos descritos para detectar microorganismos productores de BLEE se han diseñado para *E. coli* y *Klebsiella*, y se fundamentan en la inhibición de estas enzimas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de betalactamasas, el método de doble difusión de disco y el ensayo confirmatorio para la detección de BLEE ofrecen resultados equivalentes y son metodologías útiles para la detección de estas enzimas, se basa en la misma técnica que el antibiograma en placa: la colocación de discos o tiras de papel absorbente con concentraciones conocidas de antimicrobianos⁴².

El principio del método involucra el uso de una cantidad constante de antimicrobianos en un reservorio (discos de papel) aplicado sobre la superficie del agar en el cual se ha cultivado el microorganismo en cuestión. Se formará así por difusión, un gradiente de concentración del antimicrobiano y la sensibilidad del microorganismo estará indicada por el tamaño de la

zona de inhibición del crecimiento alrededor del disco. El diámetro obtenido dependerá no sólo de la sensibilidad del microorganismo y la carga del disco, sino también del espesor de la capa del agar, su pH y composición, de la capacidad de difusión del antibiótico en el medio, la temperatura, la velocidad de duplicación bacteriana, y el tamaño y fase de crecimiento del inoculo⁴³.

De esta manera, se identificaron 15 cultivos BLEE positivos en urocultivos (50%), a diferencia de los hallados en coprocultivos, que alcanzaron apenas 9 positivos a la producción de BLEE (30%), estas cifras contrastan enormemente con el valor hallado en cultivos de cuyas muestras fueron alimentos, en los cuales no se encontró BLEE positivo en ninguno (Tabla 2). De acuerdo al análisis de grupos, mediante la prueba estadística de Friedman, se encontró una alta diferencia significativa entre ellos con un error del 1%, pudiendo afirmar que la producción de BLEE en *E. coli* aislada a partir de distintas muestras biológicas (heces, orina y alimentos), es variable. Permitiendo sugerir que la presencia de *E. coli* en coprocultivos y su menor índice de BLEE al compararlo con urocultivos, se le puede atribuir a la característica de flora normal, ya que por serlo aún no ha adquirido en su mayoría resistencia a los antibióticos. Más aún, la producción de BLEE en muestras de alimentos es nula (0%), dando a entender que la contaminación de los alimentos por materia fecal presenta microorganismos que aún no han adquirido la capacidad de producir BLEE.

En la Tabla 3, se puede apreciar la cantidad de cultivos productores de BLEE para cada disco de antibiótico utilizado, teniendo en urocultivos un máximo de 12 cultivos de *E. coli*, que presentaron producción de BLEE para el antibiótico ceftazidima, y un mínimo de 3 para cefuroxima, así como para cefotaxima y aztreonam 6 cultivos. Al realizar el análisis estadístico comparando estos grupos de antibióticos, resultó tener diferencia significativa con un 5% de error, es decir, los valores obtenidos en cada grupo de antibióticos son diferentes. Del mismo modo se observa que, los valores hallados en coprocultivos, presentando los antibióticos cefotaxima y aztreonam sólo 3 cultivos presentaban BLEE positivas, 6 a 9 cultivos para los antibióticos cefuroxima y ceftazidima respectivamente. El análisis estadístico determinó una diferencia significativa elevada, con 1% de error, por lo cual los valores analizados son diferentes al compararlos entre los grupos de antibióticos.

Los datos anteriores permiten explicar la producción de enzimas BLEE que se producen en forma inducible, es decir la producción de la enzima está directamente relacionada con la presencia del antibiótico mostrando susceptibilidad a cefalosporinas (cefotaxima, cefuroxima, ceftazidima)⁴⁴. El mecanismo de acción de las

cefalosporinas radica en la inhibición de la síntesis del componente mucopéptido de la pared celular bacteriana de manera similar a la penicilina, dependiendo su actividad antibacteriana de la capacidad para atravesar la pared celular de la misma, resistir la inactivación por las betalactamasas y unirse e inactivar a las proteínas ligadoras de la penicilina⁴⁵.

Los monobactames entre los que encuentra el aztreonam, constituyen un nuevo grupo de antibióticos, carecen de estructura bicíclica, sólo poseen un anillo betalactámico; el aztreonam es resistente a las betalactamasas, cuya actividad es exclusiva contra bacterias gramnegativas, atravesando la pared celular y uniéndose firmemente a las PBP-3, enzima necesaria en las etapas finales de la transpeptidación y formación de la pared celular, impidiendo su función normal⁴⁶. Las BLEEs pueden ser inhibidas por el tazobactam, el sulbactam u otros inhibidores de betalactamasas, como el ácido clavulánico que se une en combinaciones sinérgicas con antibióticos como amoxicilina o ticarcilina y pertenece a las clavamas⁴⁶. La combinación de amoxicilina con ácido clavulánico da como resultado un efecto sinérgico bactericida, ampliando el espectro de actividad de la ampicilina contra muchas cepas bacterianas productoras de betalactamasas, que son resistentes a la amoxicilina sola⁴⁷.

Un tipo particular de inhibición irreversible es la conocida como inhibición "suicida", en la cual la enzima queda covalentemente modificada e inactiva y el inhibidor se autodestruye, estos inhibidores suicidas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam) exhiben este tipo de cinética de inhibición, aunque en las primeras fases se comportan como inhibidores competitivos debido a la similitud estructural con las moléculas a que se asocian, la asociación con ácido clavulánico supone la recuperación de la actividad de amoxicilina frente a microorganismos de las especies productoras de betalactamasas y hacia una amplia gama de bacterias resistentes que producen la enzima naturalmente⁴⁰.

Las bacterias productoras de este tipo de betalactamasas también son resistentes en un 30% a 60% a los betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas, constituyendo un problema terapéutico y epidemiológico.⁴⁸ La necesidad del seguimiento de las bacterias productoras de BLEE está basada en varias razones principales como la potencial transmisión de cepas con resistencia antibiótica múltiple, así también la aparición de brotes de infección nosocomial con alta morbilidad y mortalidad, sin dejar de mencionar que son causa de un uso excesivo de antibióticos de amplio espectro, cuyo control de las resistencias limita los brotes epidémicos⁴⁸.

El deterioro de la situación ha sido cada vez mayor por el uso creciente de los antibióticos

en todo el mundo, no solamente con propósitos terapéuticos humanos, sino que también se han utilizado excesivamente en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas de los animales y en la promoción del crecimiento de éstos, sin dejar de mencionar el uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos y desinfectantes que ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficiencia la acción bactericida de algunos agentes⁴⁹.

En base a los hallazgos obtenidos, podemos concluir que:

1. Los cultivos de *Escherichia coli* aislados de muestras biológicas presentan betalactamasas clásicas.
2. Los cultivos evaluados producen betalactamasas de espectro extendido para los antibióticos evaluados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Tejeda A, Hernández R, Solís J. El microcosmos biológico: ¿Aliado o adversario de la salud humana? Rev. de Salud Cient. y Tecnol. de la Universidad Veracruzana. La ciencia y el hombre. 2003; 16; 3:1-5. Fecha de acceso: 3 Nov2011. Disponible en: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol16num3/articulos/microcosmos/>
2. Miraval N, Guzmán U, Cordier A. Prevalencia puntual de infecciones intrahospitalarias en el Hospital Regional III-IPSS Cuzco. Rev. Med. Peruana; 1997.
3. Echevarría J. Estado actual de la resistencia bacteriana. Lima – Perú. Rev. Diagnóstico. 2008; 47(4):164-174.
4. Forero J. Betalactamasa de Espectro Extendido en Pediatría. Pediatría. 2002; 37(4): 12 – 15.
5. Murray P, Kobashi G, Pfaller M, Rosenthal K. Microbiología Médica. Harcourt Brace. España; 2009.
6. Alarcón B, Li J. Serotificación de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en cuadros diarreicos agudos de niños menores de cinco años. Hospital Nacional Docente Madre – Niño San Bartolomé, noviembre 2000 – marzo 2001. Tesis para obtener el título profesional de Licenciado en Tecnología Médica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
7. Faleiro P. Formación de biopelículas por *Escherichia coli* y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a biopelículas. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Departamento de Microbiología
- II. Memoria para optar el grado de Doctor. Madrid – España; 2010.
8. Souza V, Castillo A, Rocha M. Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. Rev. INCI. Vol. 2001; 26(10): 513 – 517.
9. Puig Y, Espino M, Leyva V. Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revisión de la literatura. Panorama Cuba y Salud. 2011; 6 (1): 30-38.
10. Abarca G, Herrera M. Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. Cuba; 2001.
11. Daza R. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. 1998; 22:3.
12. Marín M, Gudíol F. Antibióticos betalactámicos. Enf. Infecc. Microbiol. Clin. 2003; 21(1): 42 – 45.
13. Brooks G, Butel J, Morse S. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 19ª ed. México Manual Moderno; 2008.
14. Malgor L, Valsecia M. Farmacología Médica, Farmacología Antimicrobiana: Antibióticos Betalactámicos, Sección V. Farmacología Dermatológica; 2002.
15. Sussman O, Mattos L, Restrepo A. Resistencia bacteriana. Hospital Universitario San Ignacio. Unidad de Infectología. Bogotá – Colombia. 2001; 43(1): 91.
16. Echevarría J. Resistencia bacteriana. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Rev. Med. Hered. 1998; 9: 2.
17. Pavón S, Zalazar M, Morales M, Rojas M. Presencia de β – lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. Universidad Autónoma del Estado de México - Toluca. Rev. CIENCIA 2011;18: 2-6.
18. Muzachiodi M y Ferrero S. Incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina; 2005.
19. Becerra G, Plascencia A, Luévanos A, Domínguez M, Hernández I. Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. Enf. Inf. y Microb. 2009; 29 (2): 70 – 76.
20. Labarca J, Araos R. Resistencia antimicrobiana: Problema en aumento y soluciones escasas. Rev. Chil. Infect. 2009; 26(1): 8 – 9.
21. Mendoza A. El formidable reto de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Rev. de la Facultad de Medicina de la UNAM. 2011; 51: 4.-8

22. Seral C, Pardos de la Gándara M, Castillo F. Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enferm Infecc. Microbiol. Clin.* 2010; 28 (1): 12-18.
23. Cano M, Domínguez M, Ezpeleta C, Padilla B, Arellano E, Martínez L. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Enf. Infecc. Microbiol. Clin.* 2008; 26(4): 220 – 229.
24. Greca A. Resistencia Bacteriana y los nuevos antibióticos. VI Jornadas Internacionales de Medicina Interna - X Jornadas de Medicina Interna del Litoral Argentino; 2000. Fecha de acceso: 23 oct. 2011. Disponible en: <http://www.amir.org.ar/ExPresidentes/Greca%20Resistencia%20bacteriana%20y%20nuevos%20atb.pdf>
25. Paterson D, Bonomo R. Betalactamasas de Espectro Extendido: Actualización clínica. *Rev. Clin. Microbiol.* 2005; 18: 657 – 86.
26. Mercado M, Horna F, LLenque L. Bacterias productoras de betalactamasas clásicas y de espectro ampliado aisladas de cinco ambientes del Hospital de apoyo “San Ignacio” de Casma, Ancash-Perú entre Noviembre 2005 y Abril 2006. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias, mención Microbiología Clínica. Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de Trujillo; 2009.
27. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N°30; 2002.
28. Díaz A. Diseño estadístico de experimentos. 2ª ed. Edit. Universidad de Antioquía. Colombia; 2009.
29. Michanie S. *Escherichia coli* O157:H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. *Rev. Énfasis Alimentos.* 2003; 9:3.
30. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Prevención de la *E. coli* en los alimentos. El Marco de Gestión de Crisis para la Cadena Alimentaria (FCC). Fecha de acceso 15 Oct. 2011. Disponible en: www.fao.org/fileadmin/user_upload/fcc/news/fao_prevencion.de.lae.coli.en.los.alimentos_fcc_es.pdf
31. HIDRORED MÉXICO. Indicadores de contaminación fecal en aguas. Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua. 2003. Fecha de acceso 15 Oct. 2011. Disponible en: http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/pdfs/Capitulo_20.pdf
32. 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 de Cajamarca, Perú. *Rev. Méd. Hered.* 2011; 22: 2.
33. Choquehuanca G. Las betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. SIRIVS. Fecha de acceso 10 nov. 2011. Disponible en: http://veterinaria.unmsm.edu.pe/salud%20anim_al_otro.html
34. Herrera M, Moya T, Vargas A, Campos M. Cepas productoras de betalactamasa de efecto expandido en el Hospital Nacional de Niños. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera.* Costa Rica. 2002; 37:1-2.
35. García J, Cantón R, García E, Gómez M, Martínez L, Rodríguez C, Vila J. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología Clínica: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2001. Fecha de acceso 25 nov. 2011. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap12.htm>
36. Ramos A, Hernandez W, Nodarse R, Padrón A, De Armas E, Del Rosario L. Detección precoz de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes graves. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias.* Vol. 2006; 5: 1
37. Abanto L. Producción de betalactamasa clásica y de espectro extendido por *Escherichia coli* aislada de urocultivos provenientes del centro de salud La Noria, La Libertad, 2009. Tesis para obtener el Título de Biólogo – Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2010.
38. Serrano C. Grados de sensibilidad y cuantificación de betalactamasa clásicas de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionados por el laboratorio de Fisiología y Genética Bacteriana obtenidos de tesis de pre y post grado aislados de ambientes, materiales y equipos de zonas críticas del Hospital Belén de Trujillo. Trabajo de Capacidad Profesional para obtener el título de Biólogo – Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo; 2009.
39. Muñoz J. Betalactamasas de espectro extendido ¿son un serio problema en España? *Rev. Esp. Quimioterap.* 2004; 17(4): 314-316. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/17/4/314.pdf>
40. Solórzano A. Betalactamasas de espectro extendido en nuestro medio: Aportaciones científicas. 2004. Universidad de Granada. Fecha de acceso 17 oct. 2011. Disponible en:

- <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/1664/1/16915173.pdf>
41. Sánchez L, Ríos R, Máttar S. Detección de beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aislados en una clínica de Villavicencio, Colombia. Asociación Colombiana de Infectología. 2008; 12: 3
 42. Oliver A, Cantón R. Enterobacterias productoras de beta-lactamasas plasmídicas de espectro extendido, 2003. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica. Boletín de Control de Calidad SEIMC. Fecha de acceso 17 oct. 2011. Disponible en: <http://www.seimc.org>
 43. MINISTERIO DE SALUD. Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. Instituto nacional de enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina; 2001.
 44. Arias C, Panesso D, Zúñiga M. Guías para el uso racional de antibióticos β -lactámicos: mecanismos de resistencia y su interpretación clínica. Biomédica. 2003; 23 (18): 134-40.
 45. Sánchez L, Sáenz E, Pancorbo J, Lanchipa P. Antibióticos sistémicos en dermatología: Betaláctamicos - Carbapenems - Aminoglucósidos - Macrólidos. Dermatología Peruana. 2004; 14 (1): 3 – 5.
 46. Sáenz E, Sánchez L. Antibióticos tópicos. Dermatología. Perú. 2005;15(1):5
 47. Gómez J. Las infecciones del pie diabético: un nuevo enfoque terapéutico. Rev. Esp. de Quimioter. 1999; 7(191): 4.
 48. Perozo A, Castellano M. Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia Enterobacteriaceae. Kasmera. 2009; 37(1): 25-37.
 49. Cabrera C, Fabián R, Zúñiga E. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Corporación Editora Médica del Valle Colomb. Med. 2007; 38(2): 149-158.

Correspondencia

Luis Alberto Llenque-Díaz

Centro Laboral

Docente Auxiliar D.E. del Departamento Académico de Microbiología y Parasitología de la Facultad de CC. Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

Dirección

Calle Juan de la Cierva N° 195 2do.piso.
Urbanización Pay Pay, Trujillo – Perú.

Teléfono: 215933.

Email: lullediaz@yahoo.com.