

## **Bacterias productoras de $\beta$ -lactamasas clásicas y de espectro ampliado aislados de pacientes con infecciones del tracto urinario del Hospital IV "Víctor Lazarte Echegaray" EsSalud – Trujillo, 2009**

Producing bacteria of  $\beta$  - lactamases classic and extended spectrum isolated from patients with urinary tract infections Hospital IV "Victor Lazarte Echegaray " EsSalud - Trujillo, 2009

David García-Cedrón<sup>1</sup>, Verónica Saravia-Cueva<sup>2</sup>, Judith Alcalde-Mosqueira<sup>3</sup>

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú

[davidgc4@hotmail.com](mailto:davidgc4@hotmail.com)<sup>1</sup> [vpsc4e@hotmail.com](mailto:vpsc4e@hotmail.com)<sup>2</sup> [judithgeorgette@hotmail.com](mailto:judithgeorgette@hotmail.com)<sup>3</sup>

### **RESUMEN**

Se determinó la frecuencia de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas clásicas y de espectro ampliado aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario atendidos en el Hospital IV "Víctor Lazarte Echegaray" EsSalud de Trujillo desde Abril a Agosto del 2009. Se obtuvieron muestras de orinas las cuales fueron sembradas en Agar Sangre y Agar MacConkey, identificando a las especies bacterianas mediante pruebas bioquímicas y microbiológicas automatizadas. Para la detección de  $\beta$ -lactamasas clásicas se empleó el método yodométrico mientras que para la detección de B-lactamasas de espectro ampliado (BLEAs) se utilizó el método de Sinergia del Doble Disco. Las especies bacterianas frecuentes productoras de  $\beta$ -lactamasa fueron: *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter aerogenes*; y las especies bacterianas productoras de BLEAs frecuentes fueron: *P.vulgaris*, *E. aerogenes*, *Kluyvera ascorbata*, *P.aeruginosa* y *Citrobacter freundii*. Se concluye que existe una alta frecuencia de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica y de espectro ampliado.

**Palabras clave:** Infección del Tracto urinario, Resistencia Antibiótica, B-Lactamasas.

### **ABSTRACT**

To determine the frequency of classic  $\beta$ -lactamases and extended spectrum from cultures from patients with urinary tract infections treated at the Hospital IV "Victor Lazarte Echegaray" EsSalud Trujillo from April to August 2009, were obtained samples of urine the which they were planted on blood agar and MacConkey Agar, bacterial species were identified by morphological and biochemical tests and automated microbiology system.  $\beta$ -lactamase activity was visualized by the iodometric method and extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) production was detected by the double-disk synergy test. The most frequent  $\beta$ -lactamase producing bacteria was *Proteus vulgaris*, followed by *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter aerogenes*; the most common bacteria found to produce ESBLs include *P.vulgaris*, *E. aerogenes*, *Kluyvera ascorbata*, *P.aeruginosa* and *Citrobacter freundii*. In conclusion, we found a high frequency of  $\beta$ -lactamase and ESBL producing bacteria.

**Keywords:** urinary tract infection, Antibiotic Resistance, B-Lactamases.

Recibido: 25 Abril 2015

Aceptado: 15 Diciembre 2015

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones de tracto urinario (ITU) se definen como la entrada y multiplicación de microorganismos en uretra, vejiga, uréteres o riñones. Los microorganismos causales pueden ser bacterias, virus, hongos o parásitos, pero son las bacterias las que con mayor frecuencia se encuentran como agentes etiológicos.<sup>1</sup>

Trabajos realizados por Becerra<sup>2</sup> en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray”-Essalud de Trujillo, muestran a *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Morganella*, como causantes de ITU, todos ellos constituyentes de la flora intestinal y por lo tanto, usualmente no patógenos y más bien considerados como agentes oportunistas, debido a que alcanzan el tracto urinario cuando las defensas están disminuidas.<sup>2</sup>

Una vez realizado el diagnóstico de ITU y la identificación del agente etiológico, el tratamiento dependerá de las características del huésped, la naturaleza del microorganismo y la eficacia de los antibióticos<sup>3</sup>. Son innumerables los antibióticos y quimioterapéuticos que se han producido, cada uno de ellos más potente que el anterior, de mayor espectro antimicrobiano y con nuevos mecanismos de acción, pero paralelamente a ello, ha surgido también el fenómeno de la resistencia bacteriana.<sup>4</sup>

Los mecanismos de resistencia adquiridos y transmisibles son los más importantes y consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos. Una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos, del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas.<sup>5-8</sup>

La producción de la enzima  $\beta$ -lactamasa es el mecanismo de resistencia más común a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenems). Toda bacteria tiene la capacidad de sintetizar esta enzima, ya que los microorganismos pueden poseer en forma nativa la información genética necesaria para la producción de  $\beta$ -lactamasa, o adquirir la capacidad de hacerlo por transferencia del DNA desde otros microorganismos.<sup>4,9,10</sup>

Con el propósito de conocer la evolución de la resistencia bacteriana y la producción de  $\beta$ -lactamasas clásicas en bacterias, Rodríguez y col.<sup>12</sup>, realizaron en México un estudio con 1358 cultivos bacterianos aislados de infecciones nosocomiales demostrando que el porcentaje de bacterias Gram negativas productoras de  $\beta$ -lactamasa fue superior al de Gram positivas. Otros trabajos han demostrado la presencia de  $\beta$ -lactamasa clásica en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli*.<sup>11</sup>

Trabajos sobre la sensibilidad antibiótica de bacterias causantes de ITU se han realizado en el Hospital Nacional Cayetano Heredia donde se analizó un total de 1249 urocultivos positivos procedentes de pacientes no hospitalizados y se aisló: *E. coli* (70%), *Klebsiella* spp. (5%) y *Citrobacter* sp. (3%), encontrando a *E. coli* sensible a amikacina, nitrofurantoína, ceftriaxona y ciprofloxacina en 93,4%, 88,8%, 78% y 44,5% respectivamente; mientras que en los pacientes hospitalizados se aisló *E. coli* (49%) *Enterococcus* spp. (11,39%) y *Klebsiella* spp. (8,42%), encontrando a *E. coli* sensible a amikacina, nitrofurantoína, ceftriaxona y ciprofloxacina en 88,89%, 75,28%, 43,88% y 26,04% respectivamente.<sup>12</sup>

En otros estudios de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas clásicas y de espectro ampliado realizado en pacientes con ITU atendidos en el Centro de salud II-Talara en el 2003, se encontró que de los 250 urocultivos positivos para *E. coli*, 232 (93%) fueron productores de  $\beta$ -lactamasas.<sup>13</sup>

En los últimos años se han descrito nuevas  $\beta$ -lactamasas denominadas  $\beta$ -lactamasas de Espectro Ampliado (BLEAS), que son un grupo de enzimas de codificación plasmídica, derivadas de las  $\beta$ -lactamasas clásicas<sup>14</sup>. En un estudio en el Laboratorio de Análisis Clínicos “Loayza” en Chota-Cajamarca en el 2008, se evaluó la producción de  $\beta$ -lactamasas y BLEAS en cultivos de *E. coli* aislados de pacientes con ITU, encontrándose que de 148 cultivos de *E. coli*, 40 (32,4%) fueron productores de  $\beta$ -lactamasas y 32 (21,6%) fueron productores de BLEAS de los cuales el 3,4% corresponden al antibiótico de cefuroxima, el 5,4% a ceftazidima, el 6,1% a ceftazidima, el 6,8% a aztreonam.<sup>15</sup>

Teniendo en cuenta la importancia que presenta las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas en la salud humana, se determinó las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas clásicas y de BLEAS aislados de los pacientes con infección del tracto urinario hospitalizados y de consulta externa que fueron atendidos en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray” EsSalud de la ciudad de Trujillo de Abril a Agosto del 2009, lo cual permitirá proponer estrategias futuras, para el adecuado y responsable tratamiento antibiótico de los pacientes.

## MATERIAL Y METODOS

### **Población muestral**

La población estuvo constituida por todos los cultivos de orina (278) aislados de los pacientes (142 mujeres, 97 hombres y 39 niños) con infecciones del tracto urinario y diagnosticados con urocultivo positivo en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray” EsSalud-Trujillo durante los meses de Abril a Agosto del 2009.

### **Muestra**

Se trabajó con los 278 cultivos del universo muestral. Basándose en las características morfológicas de las colonias, en la reacción al Gram, las pruebas bioquímicas y la microbiología automatizada, dichos cultivos fueron identificados y conservados hasta su procesamiento.

### **Métodos y Técnicas**

#### **Toma de muestra**

Se tomó en la primera orina de la mañana, caso contrario se le explicó al paciente que debería abstenerse de orinar durante las 3 horas previas al examen para disminuir los falsos negativos.<sup>16</sup>

#### **Recolección de la muestra**

En los niños, se realizó la higiene de la zona genital y se empleó la bolsa colectora. En las mujeres, se higienizó la zona genital de adelante hacia atrás, colocando un tapón vaginal (torunda de gasa y/o algodón). En los hombres se retrajo el prepucio e higienizó el glande y surco balanoprepucial. Se eliminó el primer chorro y se recolectó en un frasco estéril una cantidad de 10 – 20 mL.<sup>16</sup>

**Conservación de la muestra**

Las muestras que no fueron tomadas en el laboratorio, fueron transportadas dentro de un contenedor con hielo. Todas las muestras fueron procesadas en un periodo no mayor de 2 horas de obtención.<sup>16</sup>

**Aislamiento primario**

Las muestras de orina sin centrifugar fueron sembradas en Agar Mac Conkey (AMC) y Agar Sangre (AS) utilizando el método del asa calibrada, luego se incubaron a 37°C durante 24-48 horas. Posteriormente, se evaluó el crecimiento y se estimó el número de UFC/mL.<sup>16</sup>

**Identificación bioquímica diferencial de los microorganismos**

Realizado el recuento, se procedió a la identificación bioquímica de los microorganismos de acuerdo a las características de cultivo observadas. Para bacilos gram negativos se procedió a sembrar en los medios de Triple Sugar Iron (TSI), Lysine Iron Agar (LIA), Citrato, Sulfuro Indol Movilidad (SIM) y Úrea, incubándolos a 37°C por 18-24 horas<sup>17</sup>, mientras que para cocos gram positivos se sembró en Manitol Salado incubándolos de la misma manera. Así mismo, se utilizó la microbiología automatizada que consistió en preparar una suspensión de los microorganismos aislados y dispensándolos en los paneles (para gram gramnegativos o grampositivos según corresponda), e incubándolos a 37°C por 18-24 horas. Dichos paneles permitieron la identificación correcta de especies que no pudieron ser identificadas por la bioquímica tradicional.

**Aislamiento secundario**

Una vez identificado el microorganismo, las colonias aisladas fueron sembradas en Agar Soya Tripticasa e incubadas a 37°C durante 24 horas para la obtención de cultivos puros.<sup>16</sup>

**Antibiograma**

El antibiograma se realizó de forma manual a través del método de Kirby-Bauer (difusión de los discos en Agar Mueller Hinton AMH)<sup>16</sup>, el cual se corroboró con el antibiograma distribuido en el panel de microbiología automatizada. (Dato no mostrado).

**Determinación de  $\beta$ -lactamasas**

A partir de los cultivos puros correctamente identificados, se procedió a realizar la detección de: las B-lactamasas clásicas empleando el método yodométrico cualitativo y las B-lactamasas de espectro ampliado con el método de Sinergia del Doble Disco<sup>18</sup>.

**Determinación de  $\beta$ -lactamasas clásicas**

Se depositó 0,1 ml. de solución de penicilina G sódica (a una concentración final de 6000ug/ml.) en un tubo de ensayo. A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de incubación se realizó una suspensión en la solución de penicilina.

Se agitó durante 30 segundos y luego se dejó reposar la mezcla por una hora a temperatura ambiente. Después se agregó 2 gotas de almidón 1% a la suspensión bacteriana en solución de penicilina y luego 1 gota de solución yodurada, agitando durante 1 minuto.

Se consideró presencia de B-lactamasas clásicas cuando se observó una decoloración rápida del azul intenso formado inicialmente. Si la suspensión bacteriana permanece azul por más de 10 minutos, el cultivo no es productor de B-lactamasas clásicas.<sup>18</sup>

**Determinación de B-lactamasas de espectro ampliado (BLEAS) (Mercado y col.<sup>18</sup>)**

A partir de un cultivo puro se realizó una suspensión bacteriana ajustada al tubo No 0,5 del nefelómetro de MacFarland. Con ayuda de un hisopo estéril embebido en la suspensión se

sembró por duplicado en placas con AMH. En una de las placas se colocaron discos con carga estándar de 30 ug. de cefotaxima, ceftazidima, cefuroxina y aztreonam dispuestos a una distancia de 15 a 25 mm de los discos de amoxicilina/ácido clavulánico.

En la otra placa que sirvió de testigo, se colocaron solo los discos de cefotaxima, ceftazidima, cefuroxina y aztreonam. Ambas placas fueron incubadas a 37°C por 18-24 horas, procediéndose a medir los halos de inhibición.

Un incremento en el tamaño de los halos de inhibición mayor o igual a 5 mm en el control con relación al testigo, será considerada B-lactamasas de espectro ampliado.<sup>18</sup>

### **Análisis de Resultados**

Los resultados fueron analizados utilizando la prueba de Ji-cuadrado con un nivel de confianza de 0.95, para determinar si existe relación significativa entre los microorganismos aislados y la producción de la enzima  $\beta$ -lactamasa.<sup>1</sup>

## **RESULTADOS**

De los 278 cultivos bacterianos procedentes de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital IV "Víctor Lazarte Echegaray" EsSalud de la ciudad de Trujillo- Perú; 159 cultivos fueron productores de la enzima  $\beta$ -lactamasa clásica (57,2%) de los cuales las especies bacterianas más frecuentes fueron *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter aerogenes* (Tabla 1).

En la Tabla 2, observamos que el 31.4% de los urocultivos son productores de  $\beta$ -lactamasa de espectro ampliado (BLEA); siendo las especies bacterianas más productoras: *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *Kluyvera ascorbata*, y la menos frecuente es *E. coli*.

La Tabla 3 muestra que las especies *P. vulgaris*, *S. saprophyticus* y *C. freundii* tienen el mismo porcentaje en la producción de  $\beta$ -lactamasa clásica como de BLEA, y las especies bacterianas que le siguen en importancia son *K. oxytoca* y *P. aeruginosa*; por otro lado *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus* producen mayor cantidad de  $\beta$ -lactamasas clásicas que de BLEA. Así mismo, el análisis estadístico de Ji-cuadrado muestra que existe diferencia significativa entre los gérmenes bacterianos evaluados y la producción de  $\beta$ -lactamasas y de espectro ampliado.

En la Tabla 4, se observa la acción bactericida de 4 discos de sensibilidad (cefotaxima, ceftazidima, cefuroxina y aztreonam) frente a las especies de bacterias productoras de BLEA que se aislaron a partir de los urocultivos, en la cual se observó una diferencia significativa entre los diferentes géneros bacterianos con respecto al antibiótico cefotaxima (CTX).

## **DISCUSIÓN**

La resistencia bacteriana se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. La producción de la enzima  $\beta$ -lactamasa es el mecanismo de resistencia más común a los antibióticos B-lactámicos.<sup>15,20</sup>

De acuerdo a los resultados se encontró un 57,2% de cultivos productores de  $\beta$ -lactamasa clásica (Tabla 1), esto es explicable ya que toda bacteria tiene la capacidad de sintetizar esta enzima, puesto que los microorganismos pueden poseer en forma nativa la información

**Tabla 1.** Bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica aisladas de urocultivos de pacientes con infección del tracto urinario atendidos en el Hospital IV "Víctor Lazarte Echegaray" EsSalud-Trujillo de Abril a Agosto del 2009.

Especies	Cultivos evaluados	$\beta$ -lactamasa clásica *	
		N°	%
<b>Bacterias Gram negativas</b>			
<i>Escherichia coli</i>	139	68	48,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	12	47,6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16	13	81,3
<i>Citrobacter diversus</i>	20	10	50,0
<i>Morganella morganii</i>	21	10	47,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	4	66,7
<i>Citrobacter freundii</i>	11	6	54,6
<i>Proteus vulgaris</i>	9	9	100,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	4	66,7
<i>Kluyvera ascorbata</i>	4	1	25,0
<b>Bacterias Gram positivas</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	13	81,3
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	9	9	100,0
<b>TOTAL</b>	<b>278</b>	<b>159</b>	<b>57,2</b>
$X^2_w = 57,15$		$X^2_t = 34,28$	p.e. = 0,05

\*Detectada mediante el método yodométrico.

**Tabla 2.** Bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa de espectro ampliado aisladas de urocultivos de pacientes con infección del tracto urinario atendidos en el Hospital IV "Víctor Lazarte Echegaray" EsSalud-Trujillo de Abril a Agosto del 2009.

Especies	Cultivos evaluados	B-lactamasa de espectro ampliado*	
		N°	%
<b>Bacterias Gram negativas</b>			
<i>Escherichia coli</i>	139	19	13,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	9	42,9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16	6	37,5
<i>Citrobacter diversus</i>	20	8	40,0
<i>Morganella morganii</i>	21	9	42,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	3	50,0
<i>Citrobacter freundii</i>	11	2	50,0
<i>Proteus vulgaris</i>	9	8	88,9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	3	50,0
<i>Kluyvera ascorbata</i>	4	2	50,0
<b>TOTAL</b>	<b>278</b>	<b>87</b>	<b>31,4</b>
$X^2_w = 29,251$		$X^2_t = 29,578$	p.e.= 0,05

\* Detectada mediante el método de doble difusión de disco.

**Tabla 3.** Bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa clásicas y  $\beta$ -lactamasa de espectro ampliado aisladas de urocultivos de pacientes con infección del tracto urinario atendidos en el Hospital IV "V́ctor Lazarte Echegaray" EsSalud-Trujillo de Abril a Agosto del 2009.

ESPECIES	Cultivos evaluados aislados	Cultivos productores de	
		B-lactamasa clásica* (%)	B-lactamasa de Espectro Ampliado** (%)
<b>Bacterias Gram negativas</b>			
<i>Escherichia coli</i>	139	48,9	13,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	47,6	42,9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16	81,3	37,5
<i>Citrobacter diversus</i>	20	50,0	40,0
<i>Morganella morganii</i>	21	47,6	42,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	66,7	50,0
<i>Citrobacter freundii</i>	11	54,6	54,6
<i>Proteus vulgaris</i>	9	100,6	88,9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	16	66,7	50,0
<i>Kluyvera ascorbata</i>	4	25,0	50,0
<b>Bacterias Gram positivas</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	81,3	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	9	100,0	0
<b>TOTAL</b>	<b>278</b>	<b>66,2</b>	<b>31,4</b>

$X^2_w = 29,342$        $X^2_t = 29,598$       p.e.= 0,05

\* Detectada mediante el método yodométrico.

\* Detectada mediante el método de doble difusión de disco.

**Tabla 4.** Acción bactericida de los diferentes discos de sensibilidad frente a las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (BLEA) aisladas de urocultivos de pacientes con infección al tracto urinario atendidos en el Hospital IV "V́ctor Lazarte Echegaray" EsSalud-Trujillo de Abril a Agosto 2009. CXM = Cefuroxima , CAZ = Ceftazidima, CTX = Cefotaxima, AZT = Aztreonam

ESPECIES	BLEA		CXM		CAZ		CTX		AZT		PRUEBA $X^2_w$ *
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
<b>Bacterias Gram negativas</b>											
<i>Escherichia coli</i> (n=139)	19	13,7	4	21,1	4	21,1	8	42,1	8	42,1	6,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=21)	9	42,9	2	22,2	2	22,2	4	44,4	5	55,6	11,2
<i>Klebsiella oxytoca</i> (n=16)	6	54,6	0	0	0	0	0	0	6	100,0	0,9
<i>Citrobacter diversus</i> (n=20)	8	40,0	0	0	0	0	6	75,0	4	50,0	7,9
<i>Morganella morganii</i> (n=21)	9	42,9	2	22,2	2	100,0	4	40,0	5	55,6	11,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=6)	3	50,0	0	0	0	0	2	33,3	2	66,7	8,8
<i>Citrobacter freundii</i> (n=11)	6	54,6	0	0	0	0	0	0	6	100,0	0,9
<i>Proteus vulgaris</i> (n=9)	8	40,0	0	0	0	0	6	75,0	4	50,0	7,9
<i>Enterobacter aerogenes</i> (n=6)	3	50,0	0	0	3	100,0	3	100,0	3	100,0	8,9
<i>Kuyvera ascorbata</i> (n=4)	2	50,0	0	0	2	100,0	2	100,0	2	100,0	5,9
<b><math>X^2_w</math>**</b>	<b>11,4</b>		<b>7,2</b>		<b>15,8</b>		<b>16,3</b>				

\*  $X^2_t = 16,607$

\*\*  $X^2_t = 26,987$

genética necesaria para la producción de  $\beta$ -lactamasa, o adquirir la capacidad de hacerlo por transferencia del DNA desde otros microorganismos.<sup>2</sup>

Estos resultados guardan relación con los obtenidos por García y Mercado<sup>22</sup>, quien reporta que el 56,3% de bacterias aisladas de pacientes atendidos en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray” son productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica, así mismo concuerda con los obtenidos por Loayza<sup>15</sup>, quien ha demostrado un 67,6% de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica en pacientes con infecciones del tracto urinario.

Por otro lado, estos resultados varían un poco de los encontrados por Anhuamán<sup>23</sup> quien reporta que el 72,4% de bacterias aisladas de infecciones intrahospitalarias en el área de Ginecoobstetricia del Hospital Regional Docente de Trujillo, son productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica.

Se encontró también que las bacterias más frecuentes productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica fueron: *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter aerogenes*. (Tabla 1). Son múltiples los factores que originan bacterias resistentes; sin embargo, los más importantes son probablemente la falta de cumplimiento en el tratamiento, la falta de diagnóstico etiológico y el uso excesivo e inapropiado de agentes de amplio espectro y de última generación para la profilaxis y el tratamiento de las infecciones.<sup>4, 9, 22</sup>

Dichos resultados coinciden en cierta forma con los resultados obtenidos por otros autores quienes encontraron a *K. pneumoniae*, *Enterobacter* sp, *C. freundii*, *Klebsiella* sp como bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa más frecuentes<sup>8</sup>. Al analizar estadísticamente los resultados se observó que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los cultivos evaluados y la producción de B-lactamasa clásica, lo que indica la peligrosidad de cada una de ellas.

Con respecto a las bacterias grampositivas productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica, Anhuamán<sup>23</sup> reportó a *S. aureus* como una de las bacterias nosocomiales productoras de B-lactamasa clásica más frecuente, en la presente investigación se reporta a *Staphylococcus saprophyticus* como la bacteria que está empezando a causar preocupación clínica en cuánto a la producción de  $\beta$ -lactamasa clásica. Así mismo, en estudios multicéntricos hospitalarios en España realizados en 1991, 1994 y 1997, se observó que el 95% de cepas de *S. aureus* nosocomiales producen  $\beta$ -lactamasas.<sup>24</sup>

En relación a las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa de espectro ampliado (BLEAs) aisladas de pacientes atendidos en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray”, se obtuvo un 31,4% siendo las más frecuentes: *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Kluyvera ascorbata* (Tabla 2), analizando estadísticamente se encontró que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la producción de BLEAs con respecto a las bacterias evaluadas.

García y Mercado<sup>23</sup> demostraron que de las bacterias aisladas a partir de pacientes con procesos infecciosos atendidos en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray”, un 30,8% fueron capaces de producir BLEAs. Dichos resultados no difieren a los encontrados en el presente trabajo.

Esto puede deberse a que no todas las bacterias son igualmente impermeables a los mismos antibióticos, siendo las enterobacterias de sensibilidad intermedia. Además, es importante conocer que la eficiencia de la  $\beta$ -lactamasa depende de la velocidad de hidrólisis, de la finalidad del antibiótico<sup>8,11,25</sup>. Otras variantes en la acción de las  $\beta$ -lactamasas son la cantidad de enzimas producidas, la sensibilidad de la proteína fijadora frente al antibiótico y la velocidad de difusión del antibiótico en el periplasma de la bacteria.<sup>1,26</sup>

La Tabla 3, muestra que *Citrobacter freundii* obtiene la misma frecuencia de los urocultivos productores de  $\beta$ -lactamasas clásica como de BLEA, esto es explicable si se tiene en cuenta que las BLEA son derivadas de  $\beta$ -lactamasa clásica<sup>4</sup>. Así también *E. coli*, *K. oxytoca* y *S. aureus*, entre otras producen mayor frecuencia de  $\beta$ -lactamasas clásica en relación a BLEA, lo cual es considerado un peligro latente ya que una vez que se adquirida la resistencia a la penicilina y a otros antibióticos derivados, fácilmente puede adquirirse resistencia a cefalosporinas de tercera generación, por cambios puntuales en el gen de  $\beta$ -lactamasa<sup>5,19</sup>

En la Tabla 4, muestra una mayor frecuencia de urocultivos productores de BLEAs respecto al  $\beta$ -lactámico cefotaxima; es decir una mayor cantidad de urocultivos resistentes a este antibiótico, siguiéndole el aztreonam. Al respecto, el Ministerio de Salud del Perú en el año 2003, menciona que las Enterobacterias están desarrollando resistencia frente al azteonam y a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación mediante la producción de BLEAs.<sup>27</sup>

Considerando los resultados encontrados, sería necesario realizar estudios orientados a la detección de otras especies de bacterias productoras de BLEAs, ya que son causantes de brotes nosocomiales y su detección precoz permitirá mejorar el tratamiento e iniciar las medidas de aislamiento de los pacientes, así como, lograr el control o la erradicación de posibles brotes intrahospitalarios.

## CONCLUSIONES

Las bacterias productoras de  $\beta$ -Lactamasas clásicas aisladas de urocultivos de pacientes atendidos en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray” fueron: *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aaprophyticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*.

Las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa de espectro ampliado para los urocultivos de pacientes atendidos en el Hospital IV “Víctor Lazarte Echegaray” fue significativa, siendo las especies bacterianas más frecuentes: *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Kluyvera ascorbata*.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. George, J. New mechanism of bacterial resistant to antimicrobial agents. *Rev. Med.* 1991; 324(9): 601-602.
2. Becerra, R. Grados de sensibilidad y producción de B-lactamasas en pacientes del Hospital Víctor Lazarte Echeagaray. Trujillo. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2003
3. Vélez, H.; W. Rojas; J. Borrero y J. Restrepo. Enfermedades Infecciosas. Corporación para Investigación Biológicas. Medellín-Colombia. 1992.
4. Barrera B, Canales A, Martínez P, Vidal M, Sakurada A, Vial M. Incidencia de beta-lactamasas de espectro extendido en el Hospital clínico de la Universidad de Chile. *Rev. Hosp. Univ. Chile* 2005; 16(2): 101-106.
5. Emery, C. L. and L.A. Weymouth. Detección and Clinical significance of extended-spectrum B-lactamase in tertiary-Care medical center. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35: 2061-2067.
6. Funcei, J. Antimicrobianos en el adulto. Antibióticos clásicos. Simposio Internacional de Infectología Lima-Perú. 1999.
7. Fernández O. Tratamiento de las infecciones por microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido: Un nuevo reto terapéutico *Hosp* 2005; 29:351-353.
8. García, J.A. Bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa clásica y de espectro ampliado aisladas de muestras de procesos infecciosos. 2003.
9. Braude, A. *Microbiología Clínica*. Edit. Panamericana. Buenos aires. Argentina. 1994.
10. Corso, A. y M. Galas. Proyecto de prevención y control de la resistencia de los antimicrobianos en América. INEI. Buenos aires. Argentina. 2000.
11. Rodríguez E; R. Morfan y S. Esparza. Producción de betalactamasas y patrones de resistencia bacteriana. *Rev. Médica. México* 1994; 130(5): 355-360.
12. Charella, P. Fukuda J, Chaparro E, Yi Augusto. Infección del tracto urinario en pediatría: Etiología y tratamiento. *Rev Med Hered.* 1993; 4: 178-181.
13. Mendoza, G. Serotipos de *Escherichia coli* en infecciones del tracto urinario y su relación con la producción de B-lactamasa clásica y B-lactamasa de espectro ampliado en pacientes del centro de salud II-Talara. Tesis de maestría para optar el Grado de Maestro en Ciencias. Universidad Nacional de Trujillo. 2003.
14. Fierer, J. And D. Guiney. Extend Spectrum B-lactamasas: A plaque of plasmids. *American Medical Association.* 2000; 281(6): 563-564.
15. Loayza, C. Producción de Betalactamasas Clásicas y De Espectro Ampliado en *Escherichia coli* aislados en pacientes atendidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos "Loayza" Chota, Cajamarca-Perú. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2008.
16. Koneman E; S. Allen; W. Jauda; P. Schreckenberger y W. Winn. *Diagnóstico Microbiológico*. Edit. Panamericana 5<sup>0</sup>Edic. Buenos aires. Argentina. 1999.
17. Castillo, C. Grados de sensibilidad antibacteriana y producción de B-lactamasas por bacterias aisladas de la sala de operaciones ginecológicas del Hospital regional Docente de Trujillo, Perú. Diciembre 97- Febrero 98. Tesis para optar el título de Biólogo-Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 1998.
18. Mercado, P.; L. Llenque, A. García. *Guía Práctica Fisiología y Genética Bacteriana*. UNT-Perú. 2002.
19. Steel, R. y J. Torrie. *Bioestadística. Principios y procedimientos*. 2da. Ed. Editorial. Mc Graw-Hill. Colombia. 1985.

20. Bisso, A. Resistencia Bacteriana. Terapia de contrarresistencia. Rev. MAD 1994; 3(1) pp: 55-61. Ene-Feb. 94. Perú.
21. La Peña, L. Resistencia a antibióticos en nuestra media visión global del problema. Boletín Sociedad Pediatría. España 1999; 39:243-247.
22. García, A. y P. Mercado. B-lactamasas producidas por bacterias aisladas de infecciones Intrahospitalarias, Trujillo-Perú. Enero –Julio 2002. Dpto de Microbiología y parasitología. Tesis de Pregrado. Universidad Nacional de Trujillo. 2003.
23. Anhuamán, R. Bacterias productoras de betalactamasas clásica y de Espectro Ampliado aisladas de infecciones Intrahospitalarias y de ambiente de Ginecoobstetricia y Cirugía del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2000.
24. Hernández, J.R.; Pascual; R. Cantón; L. Martinez y grupo de estudio de infecciones hospitalarias (GEIM). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000. Enfermedades infecciosas Microbiología Clínica 2003. 21:77-82.
25. Hernández W, Nodarse R, Padrón A. Resistencia bacteriana en las bacterias productoras de betalactamasas extendidas (BLEE). Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias 2006; 5(1): 32-41.
26. Gómez-Garcés JL. Enteropatógenos bacterianos y antimicrobianos de ayer a hoy. Rev. Esp Quimioterapia 1996; 9:171-176.
27. Angel, R. La resistencia de las bacterias a los antibióticos. Un camino sin retorno. Rev. Ciencia Hoy 2000; 10(59): 1-5.