

# **$\beta$ -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en gérmenes gramnegativos aislados de muestras clínicas en los servicios de hospitalización. Unidad de infectología. Hospital Universitario “Dr. Ángel Larralde”. Estado Carabobo, enero – septiembre 2013**

Jennifer Moreno, Yelitza Castillo, Antonio Delgado, Fernando Ayala, Andrealicia Pinto, Mildred Lima, Andrea De Freitas, Aracely Valera, Zenaida Castillo

## **RESUMEN**

**Introducción:** Las infecciones nosocomiales representan un importante problema de salud, agravado por la resistencia bacteriana a las drogas antimicrobianas. La incidencia de infecciones causadas por bacterias gramnegativas, resistentes a múltiples fármacos se ha incrementado en los últimos años. En los bacilos gramnegativos, el mecanismo más importante de resistencia es la inactivación por  $\beta$ -lactamasas. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) y carbapenemasas, en gérmenes gramnegativos, aislados de muestras clínicas en los servicios de hospitalización del Hospital Universitario “Dr. Ángel Larralde”, entre enero y septiembre 2013. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio descriptivo, diseño no experimental, corte transversal. Se incluyeron 130 cepas de bacilos gramnegativos, productoras de  $\beta$ LEE y carbapenemasas, aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales. **Resultados:** El mayor número se presentó en el servicio de cirugía y terapia intensiva. Las infecciones del sitio quirúrgico fueron las más frecuentes. Los gérmenes aislados con mayor frecuencia fueron *A. baumannii* y *P. aeruginosa*. Hubo detección fenotípica de  $\beta$ LEE en 68 cepas (52,31 %), carbapenemasas en 62(47,69 %). Los gérmenes  $\beta$ LEE (+), más frecuentes fueron *E. coli* (26,4 %) y *K. pneumoniae* (25 %), todas las cepas  $\beta$ LEE (+) tuvieron sensibilidad de 100 % a los carbapenems. La detección de carbapenemasas predominó en *A. baumannii* (54,83 %) y *P. aeruginosa* (30,64 %). Las cepas de *A. baumannii* presentaron sensibilidad adecuada a colistin y tigeciclina. En *P. aeruginosa* hubo sensibilidad total al colistin y parcial al aztreonam. En los casos de Enterobacterias, existió sensibilidad al colistin y tigeciclina. **Conclusiones:** En la investigación, se presentó detección fenotípica de  $\beta$ LEE en 68 cepas, predominando en (*E. coli*, *K.*

*pneumoniae* y *P. aeruginosa*), hubo detección de carbapenemasas en 62, siendo más frecuente en (*A. baumannii* y *P. aeruginosa*). La resistencia bacteriana tiene implicaciones sociales y económicas enormes, dadas por el incremento de la morbilidad y mortalidad; resulta vital implementar medidas, dirigidas a fomentar la prevención de emergencia de resistencia y el uso racional de antibióticos.

**Palabras clave:** Infecciones nosocomiales,  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, carbapenemasas, resistencia bacteriana.

## **SUMMARY**

**Introduction:** Nosocomial infections are a major health problem, which is aggravated by bacterial resistance to antimicrobial drugs, especially those caused by gramnegative bacilli. In the last decade has increased the incidence of infections caused by gramnegative bacteria resistant to multiple drugs. In gramnegative bacilli, the most important mechanism of resistance is inactivation by  $\beta$ -lactamases. **Objective:** To determine the prevalence of extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ES $\beta$ L) and carbapenemases in gramnegative specimens isolated from patient hospitalized at the University Hospital “Dr. Angel Larralde”, between January and September 2013”. **Materials and Methods:** A descriptive, non-experimental, cross-sectional study. A total of 130 strains of extended spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases producing gramnegative bacilli obtained from patients with nosocomial infections, admitted to different hospitalization services, were studied. **Results:** The highest number of infections occurred in the surgical and intensive care services. Surgical site infections were the most frequent ones. The most frequently isolated bacteria were *A. baumannii*

and *P. aeruginosa*. There was phenotypic detection of ES $\beta$ L in 68 strains (52,31 %) and carbapenemases in 62 strains (47,69 %). ES $\beta$ L (+) germs most commonly detected were *E. coli* (26,4 %) and *K. pneumoniae* (25 %). All ES $\beta$ L (+) strains had 100 % sensitivity to carbapenems. The carbapenemases were detected more frequently in *A. baumannii* (54,83 %), *P. aeruginosa* (30,64%) and *K. pneumoniae* (11,29. *A. baumannii* had adequate sensitivity to Colistin and Tigecycline. Strains of *P. aeruginosa*, were fully sensitive to Colistin and Aztreonam. All cases of infection with enterobacteria were sensitive to Colistin and Tigecycline. **Conclusions:** There was predominance in detection of ES $\beta$ L (*E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*). There was also an important percentage of Carbapenemases detection (*A. baumannii* and *P. aeruginosa*). Bacterial resistance has enormous social and economic implications, given the increased morbidity and mortality related to them. Several factors have contributed to its occurrence; therefore, it is vital to implement measures to promote the prevention of the emergence of bacterial resistance and to promote the rational use of antibiotics by the medical staff.

**Key words:** Nosocomial infections,  $\beta$ -lactamase and extended spectrum (ESBLs), carbapenemases, bacterial resistance.

## INTRODUCCIÓN

La infección nosocomial representa uno de los mejores indicadores de calidad de atención debido a su frecuencia, la gravedad que conllevan, el aumento significativo de los costos que implica su ocurrencia y porque reflejan el resultado de acciones del equipo de salud. Se definen como aquellas adquiridas durante la estancia en un hospital y que no estaban presentes ni en el período de incubación ni en el momento del ingreso del paciente. Las infecciones que ocurren después de 48 horas del ingreso suelen considerarse nosocomiales; comprenden las infecciones contraídas en el hospital, pero manifiestas después de 48 a 72 horas del alta hospitalaria y también las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento <sup>(1)</sup>. Representan un importante problema de salud que se ve agravado por la resistencia bacteriana a las drogas antimicrobianas, especialmente las causadas por bacilos gramnegativos <sup>(3,4)</sup>.

En la última década, se ha incrementado la incidencia de infecciones causadas por bacterias gramnegativas resistentes a múltiples fármacos, incluyendo Enterobacterias multirresistentes (MR), *Pseudomonas aeruginosa*-MR y *Acinetobacter baumannii*-MR. Estos microorganismos generalmente están implicados en infecciones

graves, las infecciones que causan y tienen un peor pronóstico que las debidas a patógenos sensibles <sup>(5)</sup>.

Factores como la edad avanzada, severidad de la enfermedad, enfermedades de base, exposición previa a antibióticos, estancia en UCI, la utilización de hemodiálisis, uso de sonda vesical, uso de catéteres intravenosos, cirugías, asistencia respiratoria mecánica, trasplante de médula ósea y de órganos sólidos y estancia hospitalaria prolongada, se han asociado a las infecciones por gérmenes gramnegativos de adquisición nosocomial con carácter de multirresistencia. Además, cada tipo de infección presenta unos factores de riesgo específicos <sup>(5,6)</sup>.

El uso universal, indiscriminado y arbitrario de los antibióticos, ha traído consecuencias serias, debido a la violación del equilibrio entre los microorganismos y los seres más evolucionados <sup>(4)</sup>. 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 estos, así como por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico <sup>(7)</sup>.

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, continúan siendo el grupo más frecuentemente utilizado, debido a su espectro, gran eficacia, pocos efectos colaterales y escasa toxicidad. La resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, constituye un problema clínico creciente en todo el mundo <sup>(4)</sup>.

En los bacilos gramnegativos, el mecanismo más importante de resistencia es la inactivación por  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE), que tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia o sensibilidad disminuida a penicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni carbapenémicos (ertapenem, imipenem, meropenem, doripenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico. Estas betalactamasas pertenecen a la clase molecular A de Ambler y entre ellas se encuentran las de tipo TEM y SHV (derivadas de enzimas con menor espectro de hidrólisis), la familia CTX-M (procedente de betalactamasas cromosómicas del género *Kluyvera*), y otras menos prevalentes como PER, VEB, BES, GES, TLA y SFO, incluidas todas ellas en el grupo funcional 2be de Bush y Jacoby <sup>(8,9)</sup>. Estas enzimas son producidas constitutivamente y transmitidas por plásmidos que pueden ser transferidos de un germen a otro <sup>(8)</sup>.

Otras enzimas  $\beta$ LEE también pertenecientes

a la clase A, aunque del subgrupo 2b son las betalactamasas CMT (complex mutant TEM) como la TEM-50. Algunas enzimas de la familia OXA (clase D de Ambler y grupo funcional 2de), se consideran también  $\beta$ LEE y se han descrito con mayor frecuencia en *P. aeruginosa*. Desde su descripción inicial, se han identificado más de 300 BLEE diferentes, y la mayoría pertenece a las familias TEM, SHV y CTX-M<sup>(9)</sup>.

Las primeras  $\beta$ LEE se describieron en Alemania en 1983, en diferentes aislados de enterobacterias. Se han encontrado en la gran mayoría de las enterobacterias, esencialmente en *E. coli* y *K. pneumoniae*, y en bacilos gramnegativos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*<sup>(11)</sup>.

Las  $\beta$ LEE son un problema con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica que alcanza tasas preocupantes. La producción de  $\beta$ LEE en estos países mostraron variaciones marcadas de un país a otro, con rangos entre un 5 % a 73 %.<sup>(13)</sup> En el año 2006, Torres y col.<sup>(8)</sup>, realizaron la detección fenotípica y molecular de  $\beta$ LEE a 224 aislados de enterobacterias. El 91,1 % de las cepas analizadas fueron productoras de  $\beta$ LEE. El análisis de CIM para ceftazidima, cefotaxima, cefepima y aztreonam mostró una mayor proporción de cepas  $\beta$ LEE con actividad ceftazidimasa, compatibles con las familias SHV y/o TEM, y en menor proporción pertenecientes a la familia CTX-M. Esta investigación permitió detectar el tipo de  $\beta$ LEE circulante en estos centros y fue el primer reporte de la determinación de  $\beta$ LEE del tipo CTX-M, en Venezuela.

Guzmán y Torres, en el año 2011, reportaron datos acerca de la prevalencia de  $\beta$ LEE desde el año 2006 al 2009 en Venezuela, con hallazgo de un 91,2 % de 228 enterobacterias con identificación presuntiva por fenotipo, eran portadoras de enzimas  $\beta$ LEE (SHV 63,3 %; CTX-M 14 %; 4 % combinaciones). Entre el 2008 y 2009 la proporción de  $\beta$ LEE en *Klebsiella pneumoniae* se encontró entre 30 % y 35 % y en *E. coli* entre 25 % y 30 %. Prevalencia CTX-M (cerca del 60 %), seguido de SHV<sup>(14)</sup>.

En el mismo sentido, en los últimos años se ha producido una gran alarma por la gran dispersión de los bacilos gramnegativos resistentes a los carbapenémicos, por producción de betalactamasas, capaces de hidrolizar este grupo de antimicrobianos. Estas enzimas se denominan genéricamente carbapenemasas y se agrupan en las diferentes clases moleculares de Ambler, que se corresponden con diferentes grupos funcionales de la clasificación de Bush y Jacoby<sup>(8)</sup>.

El grupo más importante de carbapenemasas, lo constituyen las metalo-betalactamasas pertenecientes a la clase B o grupo 3 de Bush y Jacoby. Las enzimas principales son las IMP y VIM que tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos betalactámicos con la excepción del aztreonam y no se inhiben por el ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam. Sin embargo, se inhiben por agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico. Con características similares se han descrito enzimas de los grupos SPM, GIM, SIM, AIM, DIM y KHM, y más recientemente el enzima NDM-1 que ha creado una importante alarma mediática debido al perfil mutirresistente o panresistente de los aislados que la producen<sup>(8)</sup>.

Otro grupo importante de carbapenemasas son las de clase A (grupo 2f), cuyo primer representante fue la betalactamasa SME, confieren un fenotipo con pérdida marcada de sensibilidad a los carbapenémicos y un perfil hidrolítico que incluye el aztreonam y en menor medida a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. No son inhibidas por el EDTA, pero como peculiaridad destaca la inhibición parcial por ácido clavulánico (mejor con tazobactam). Otras enzimas relacionadas son las de los grupos IMI (IMI-1 y -2) y NMC-A. No obstante, dentro de las carbapenemasas de clase A, las que tienen mayor importancia epidemiológica son las denominadas KPC, las cuales son de naturaleza plasmídica. Las enzimas KPC se han descrito no solo en enterobacterias, sino también en *P. aeruginosa* y en *A. baumannii*<sup>(8)</sup>.

Desde el punto de vista fenotípico, las enzimas KPC hidrolizan de forma eficiente penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Como excepción tendrían una menor tasa de hidrólisis de las cefamicinas, no se inhiben por el ácido clavulánico, pero sí por el ácido borónico, inhibidor que se utiliza para su reconocimiento fenotípico<sup>(8)</sup>.

En el grupo de las OXA (clase D de Ambler y 2df de Bush y Jacoby) también se encuentran variantes que hidrolizan los carbapenémicos. Entre ellas destacan las variantes de los subgrupos OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143 y, en menor medida, OXA-51 descritas en *Acinetobacter spp.* y sobre todo la OXA-48, descrita en enterobacterias, en países del entorno mediterráneo<sup>(8)</sup>. La expresión de un fenotipo compatible con la presencia de una carbapenemasa, generalmente ilustrado por la sensibilidad disminuida o resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro y a alguno de los carbapenémicos, es importante verificar que existe un mecanismo de inactivación de los

carbapenémicos. Se recomienda investigar este hecho en las cepas en las que los valores de CIM de los carbapenémicos se incrementan por encima de los correspondientes puntos de corte epidemiológicos<sup>(8)</sup>.

La cepa de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos, fue aislada en el año 1996 en Carolina del Norte, siendo designada como *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC-1). La KPC-2 fue aislada en Baltimore y la KPC-3 en la ciudad de New York<sup>(16)</sup>.

En agosto de 2010, se informó sobre la emergencia de un mecanismo de resistencia en enterobacterias, causante de brotes y relacionado con un aumento en la morbilidad y mortalidad intrahospitalaria en India, Pakistán e Inglaterra. Posteriormente se notificaron casos en otros países de Europa, Japón, Australia, Canadá y Estados Unidos de América. Este mecanismo, por su origen geográfico, se denominó "New Delhi metalobetalactamasa" (NDM)<sup>(16,17)</sup>.

Torres<sup>(18)</sup>, acota que en Venezuela, son escasos los estudios que evidencien el tipo de mecanismo de resistencia involucrado en la resistencia a los carbapenems, en investigaciones se ha demostrado que de 100 cepas de bacilos gramnegativos (*P. aeruginosa* y *A. baumannii*) resistentes a carbapenems, un 40 % aproximadamente, muestra actividad hidrolítica (carbapenemasas) y de este porcentaje alrededor de un 25 %, fueron detectadas como metalo- $\beta$ -lactamasas (MBLs). Se ha observado que en su mayoría son MBLs de la familia VIM y que en dichos aislados se evidencia la presencia de integrones clase I. Por otra parte, estudios realizados por el Dr. Manuel Guzmán Blanco, a través del SENTRY, con aislados de Venezuela, revelan la presencia de MBLs tipo VIM-2 en *P. aeruginosa*. Principalmente estas enzimas han sido detectadas en aislados de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, sin embargo, la diseminación ha llegado hasta diversas especies de las enterobacterias (*K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. coli*, etc.).

En un análisis presentado por Guzmán<sup>(14)</sup>, en el año 2011, se reportó en cuanto a las enzimas inactivadoras de carbapenems en Venezuela, 31 aislamientos confirmados por biología molecular entre 2009 y 2010 (20 *Klebsiella pneumoniae* y 11 *Enterobacter spp.*). Es vital recordar que diferentes especies bacterianas no solo poseen  $\beta$ LEE y carbapenemasas, sino también desconfiguración y desaparición de porinas, bombas de eflujo y sistemas complejos de islas genéticas e integrones que complican aún más el panorama y sobre todo se dificulta la detección a nivel de laboratorio<sup>(7)</sup>.

La resistencia antimicrobiana necesita monitoreo y manejo global porque los genes de resistencia y las cepas viajan entre diferentes países. La vigilancia de la resistencia bacteriana a antimicrobianos depende enteramente de la monitorización local<sup>(3,10)</sup>.

Por tal razón, se establece como objetivo general: Determinar la prevalencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en gérmenes gramnegativos, aislados de muestras clínicas en los servicios de hospitalización del Hospital Universitario "Dr. Ángel Larralde", en el período de tiempo comprendido entre enero y septiembre 2013.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio clínico, descriptivo. El diseño adoptado fue no experimental, de corte transversal y prospectivo. Consistió en la caracterización de un fenómeno, con el fin de establecer su comportamiento en un período determinado, en el lapso de tiempo enero – septiembre 2013.

Se incluyeron cepas de bacterias gramnegativas, productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) y carbapenemasas, aisladas de pacientes adultos, portadores de infecciones nosocomiales, ingresados en los siguientes servicios de hospitalización del Hospital Universitario Dr. Ángel Larralde: Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Cirugía, Traumatología, Medicina Interna y Gineco-obstetricia, en el período comprendido entre enero 2013 y septiembre 2013. Para la recopilación de la información necesaria se evaluaron los datos aportados por la historia clínica.

La muestra fue de tipo no probabilística, circunstancial, constituida por 130 cepas provenientes de pacientes portadores de infecciones por gérmenes gramnegativos, que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: Pacientes adultos portadores de diversos procesos infecciosos, con muestras para cultivos tomadas y procesadas en los laboratorios de bacteriología de referencia, César Sánchez Font y Galeno, ubicados en el Estado Carabobo. Pacientes con aislamiento de gérmenes gramnegativos productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) y carbapenemasas en diversas muestras clínicas. Como criterios de exclusión se establecieron: Muestras clínicas de pacientes con aislamiento de gérmenes gramnegativos, sin expresión de resistencia bacteriana mediada por enzimas tipo  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) y carbapenemasas. Cultivos bacterianos

procesados en otros laboratorio diferentes a los mencionados. Cultivos con reportes de baja calidad, en cuanto a aislamiento y susceptibilidad antimicrobiana.

Los resultados de este estudio se analizaron a través del programa estadístico para computadora (Statistica versión 8.0). Se realizaron tablas y gráficos estadísticos, arrojando conclusiones pertinentes a la pregunta de investigación.

## RESULTADOS

Se evaluaron un total de 130 cepas bacterianas, aisladas de pacientes adultos portadores de infecciones intrahospitalarias, por gérmenes gramnegativos con expresión de multiresistencia. El mayor número de casos se presentó en el servicio de cirugía y en la unidad de cuidados intensivos, con 45 (34,62 %) y 38 (29,23 %) respectivamente. Las infecciones del sitio quirúrgico se observaron con mayor frecuencia (22,31 %), seguidas por infecciones de partes blandas (18,46 %) y neumonías asociadas a ventilación mecánica (10,00 %).

En el estudio, los gérmenes gramnegativos aislados con mayor frecuencia fueron *Acinetobacter baumannii* <sup>(35)</sup>, *Pseudomonas aeruginosa* <sup>(31)</sup>, *Klebsiella pneumoniae* <sup>(24)</sup> y *Escherichia coli* <sup>(19)</sup>. (Figura 1).

En cuanto al mecanismo de resistencia, hubo detección fenotípica de  $\beta$ LEE en 68 aislamientos, lo cual representa el (52,31 %), detección fenotípica de carbapenemasas en 62 cepas bacterianas (47,69%). Los gérmenes que con mayor frecuencia presentaron detección fenotípica de  $\beta$ LEE, fueron *Escherichia coli* (26,47 %), *Klebsiella pneumoniae* (25,00 %) y *Pseudomonas aeruginosa* (17,65 %). La detección de carbapenemasas fue más

Tabla 1. Distribución de bacilos gramnegativos según el mecanismo de resistencia  
Unidad de Infectología. Hospital Universitario "Dr. Ángel Larralde". Enero – septiembre 2013. Estado Carabobo.

	BLEE (%) N=68	Carbapenemasa (%) N=62
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 (2,94)	34 (54,83)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12 (17,65)	19 (30,64)
<i>Escherichia coli</i>	18 (26,47)	1 (1,61)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17 (25,00)	7 (11,29)
<i>Enterobacter cloacae</i>	6 (8,82)	1 (1,61)
<i>Proteus mirabilis</i>	6 (8,82)	-
<i>Providencia stuarti</i>	4 (5,88)	-
<i>Morganella morganii</i>	2 (2,94)	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1 (1,47)	-

Fuente: Datos Propios de la investigación (2013)

frecuente en *Acinetobacter baumannii* (54,83 %), *Pseudomonas aeruginosa* (30,64 %) y *Klebsiella pneumoniae* (11,29 %). (Tabla 1).

Una vez analizado el patrón de sensibilidad de *Acinetobacter baumannii*, se determinó que las cepas que expresaron  $\beta$ LEE eran sensibles a los antibióticos carbapenems tipo meropenem e imipenem; por el contrario, cuando se presentó la detección fenotípica de carbapenemasas, se demostró resistencia a los mismos, manteniendo una sensibilidad adecuada a la polimixina E (Colistin), presentando la mayoría, una concentración inhibitoria mínima (CIM)  $\leq$  a 0,5  $\mu$ g/mL y al uso de tigeciclina con CIM que oscilaban entre 1 y 2  $\mu$ g/mL, a excepción de una cepa, en la que la CIM se encontró en 4  $\mu$ g/mL. (Tabla 2).

En cuanto a *Pseudomonas aeruginosa*, se reportaron 12 aislamientos con detección fenotípica de  $\beta$ LEE, sensibles a imipenem y

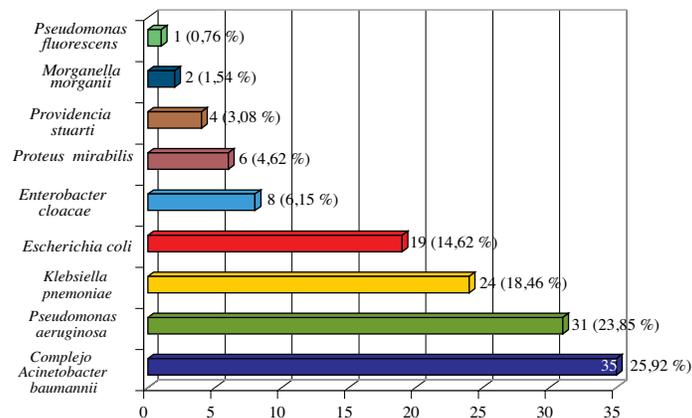


Figura 1. Distribución de casos de infecciones por bacilos gramnegativos según la especie bacteriana. Unidad de Infectología. Hospital Universitario "Dr. Ángel Larralde". Enero – Septiembre 2013. Estado Carabobo.

meropenem. Se evidenció un total de 19 cepas productoras de carbapenemasas, sensibles al colistin, con CIM entre 0,5 y 2 µg/mL. Con respecto al uso de aztreonam, 6/19 cepas fueron sensibles, 3/19 presentaron sensibilidad intermedia y 10/19 fueron resistentes. (Tabla 3).

En el reporte de enterobacterias, el total de las cepas productoras de BLEE fueron sensibles a ertapenem, imipenem y meropenem. En los

casos de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae*, en los cuales se evidenció la detección fenotípica de carbapenemasas, se observó resistencia al uso de carbapenems y buena actividad al colistin, con CIM que oscilan entre 0,5 y 1 µg/mL, y tigeciclina con CIM entre 0,5 µg/mL y 1 µg/mL en todas los aislamientos, en los casos en los que el laboratorio reportó dichos antibióticos.

Tabla 2. *Acinetobacter baumannii*. Mecanismos de resistencia y patrón de sensibilidad. Unidad de Infectología. Hospital Universitario "Dr. Ángel Larralde". Enero – septiembre 2013. Estado Carabobo.

	Sensibilidad Carbapenems N	Sensibilidad Colistin N (CIM)	Sensibilidad Tigeciclina N (CIM)
<i>Acinetobacter baumannii</i> BLEE N=2	2	1 (≤ 0,5 µg/mL)	1(0,5 µg/mL)
CARBAPENEMASA N=34	0	24(≤0,5 µg/mL) 9 (1 µg/mL) 1 (2 µg/mL)	8 (0,5µg/mL) 1 (0,75 µg/mL) 17 (1 µg/mL) 5 (2 µg/mL) 1(4 µg/mL)

CLSI 2013: CIM Colistin (S: ≤ 2 / R: ≥ 4).

Fuente: Datos Propios de la investigación (2013).

Tabla 3. *Pseudomonas aeruginosa*. Mecanismos de resistencia y patrón de sensibilidad. Unidad de Infectología. Hospital Universitario "Dr. Ángel Larralde". Enero – septiembre 2013. Estado Carabobo.

	Sensibilidad Carbapenems N	Sensibilidad Aztreonam N	Sensibilidad Colistin N (CIM)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BLEE N=12	12	12 (R)	10(≤0,5 µg/mL) 2 (1 µg/mL)
CARBAPENEMASA N=19	0	6 (S) 3 (I) 10 (R)	11(≤ 0,5 µg/mL) 7 (1 µg/mL) 1 (2 µg/mL)

CLSI 2013: CIM Colistin (S: ≤ 2, I: 4, R: ≥ 8). Aztreonam (S: ≤ 8, I: 16, R: ≥ 32)

Fuente: Datos Propios de la investigación (Moreno; 2013).

Se presentó un aislamiento de *Pseudomonas fluorescens* βLEE+, con sensibilidad a imipenem y meropenem.

## DISCUSIÓN

En la última década, se ha incrementado la incidencia de infecciones causadas por bacterias

gramnegativas resistentes a múltiples fármacos, incluyendo enterobacterias multirresistentes (MR), *Pseudomonas aeruginosa*-MR y *Acinetobacter baumannii*-MR1–3. Este aumento de la resistencia antimicrobiana, unido al poco desarrollo de nuevos antibióticos, hace que cada vez se disponga de menos opciones terapéuticas para el tratamiento de dichas enfermedades infecciosas.

Recientemente, se ha publicado una propuesta para la definición estandarizada de multirresistencia adquirida en enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, en la que, de una forma genérica, se define esta situación cuando existe resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos, a los que habitualmente son sensibles, incluyendo betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas), carbapenems, aminoglucósidos y quinolonas. De igual forma, las bacterias que solo son sensibles a uno o 2 grupos de antimicrobianos, se consideran con resistencia extrema, y las que son resistentes a todos los antimicrobianos disponibles, panresistentes <sup>(5,19,20)</sup>.

Aceptando estas condiciones, el término “microorganismo multirresistente” se ha utilizado sobre todo para bacterias clásicamente hospitalarias, que han desarrollado resistencia a múltiples antimicrobianos, y que son capaces de ocasionar brotes; enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) y bacilos gramnegativos (BGN) no fermentadores como *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a distintos grupos de antimicrobianos <sup>(20)</sup>.

El presente estudio, se llevó a cabo en una población de pacientes adultos, portadores de infecciones nosocomiales por bacilos gramnegativos, cuyas cepas presentaron expresión de mecanismos de resistencia bacteriana. El objetivo principal de la presente investigación, fue determinar la prevalencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en gérmenes gramnegativos, aislados de diversas muestras clínicas, siendo posible evidenciar, que el mayor número de casos se presentó en el servicio de cirugía y en la unidad de cuidados intensivos (UCI), lo cual es frecuente, ocurriendo de forma similar en gran parte de la bibliografía consultada <sup>(2,3,15,16,20,21)</sup>. Pérez en el año 2003, acotó que las UCI representan el recurso más idóneo para salvar la vida de los pacientes en estado crítico, pero esa esperanza de vida tiende a complicarse, dado que las UCI están propensas a albergar microorganismos multirresistentes causantes de infección nosocomial <sup>(15,23)</sup>.

Los gérmenes aislados con mayor frecuencia, fueron los bacilos gramnegativos no fermentadores, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. Ambos se comportan como patógenos oportunistas, especialmente en pacientes inmunosuprimidos, principalmente en el ámbito hospitalario, en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y en unidades de críticos oncohematológicos <sup>(5)</sup>. *A. baumannii* es un patógeno nosocomial que puede sobrevivir

largo tiempo en superficies expuestas al medio ambiente, probablemente por la formación de biocapas, lo cual dificulta la prevención de la transmisión nosocomial del microorganismo. En el medio hospitalario estos patógenos han sido aislados de humidificadores, equipos de ventilación, la piel del personal, colchones, cojines y otros equipamientos <sup>(5,22)</sup>.

*P. aeruginosa* logra sobrevivir en ambientes y temperaturas propias del entorno clínico y crece fácilmente en medios de cultivo habituales, pues sus requerimientos nutritivos son escasos <sup>(5)</sup>. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, fueron las enterobacterias más frecuentes, lo cual coincide con la evidencia de varios estudios realizados previamente <sup>(8,4,14,15,24)</sup>.

En la presente investigación, hubo detección fenotípica de  $\beta$ LEE en 68 aislamientos (52,31 %). Los gérmenes que con mayor frecuencia presentaron detección fenotípica de  $\beta$ LEE, fueron *Escherichia coli* (26,47 %) y *Klebsiella pneumoniae* (25,00 %), lo cual se asemeja a lo evidenciado por Paterson y Rodríguez <sup>(25,26)</sup>, quienes detectaron en distintas investigaciones, que *K. pneumoniae* y *E. coli* fueron las especies de mayor importancia inicial en cuanto a la producción de  $\beta$ LEE, causando brotes nosocomiales en grandes hospitales, principalmente en unidades de cuidados intensivos, quirúrgicas y neonatales. Fariñas y Martínez <sup>(5)</sup>, hacen referencia a que en la actualidad, en España, se calcula que entre el 5 % y el 15 % de las cepas de *E. coli* aisladas de muestras clínicas producen  $\beta$ LEE. Este porcentaje puede ser aún mayor en *K. pneumoniae* (aunque existen importantes variaciones locales).

Albarado y col. en el año 2009, llevaron a cabo un estudio donde se evaluó la frecuencia de enterobacterias nosocomiales productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en pacientes reclusos en un hospital de Cumaná-Venezuela. Se obtuvieron 35 aislados bacterianos, 27/35 aislados (77,14 %) produjeron  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y *Klebsiella pneumoniae* fue la especie más frecuente en la producción de estas, con 14/35 (40,0 %). Los investigadores concluyen que largos períodos de hospitalización, constituyen uno de los principales factores de riesgo para adquirir infecciones intrahospitalarias y la aparición de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido resultan del mal uso de cefalosporinas de amplio espectro, lo cual plantea retos importantes por la necesidad de usar carbapenémicos con el riesgo de ejercer una presión selectiva que cause, a futuro, su resistencia <sup>(12)</sup>.

Perozo y col. <sup>(29)</sup>, en un estudio realizado en un

hospital de Maracaibo-Venezuela, determinaron la presencia de gérmenes productores de  $\beta$ LEE en pacientes ingresados en UCI, obtuvieron que 16/46 (39,02 %) cepas de *E. coli* y 31/59 (52,54 %) de *K. pneumoniae* resultaron positivas en un total de 100 cepas evaluadas.

Muzachiodi y Ferrero<sup>(24)</sup>, reportaron una elevada frecuencia de cepas  $\beta$ LEE en pacientes ingresados en un hospital de Corrientes – Argentina, ocurriendo en este caso lo contrario al presente estudio, siendo aislado con mayor frecuencia *Proteus spp.*, de las 39 cepas (39,8 %) de *Proteus spp.*  $\beta$ LEE (+), 36 (92,3 %) correspondieron a *Proteus mirabilis* y 3 (7,7 %) a *Proteus vulgaris*; en segundo lugar se identificó *Escherichia coli*, 17 (17,3 %), seguido por *Klebsiella spp.* 16 (16,3 %).

El CDC (Centers for Diseases Control and Prevention), reportó que cerca de 26 000 (19 %), de las infecciones nosocomiales por gérmenes pertenecientes a la familia de las enterobacterias, son causadas por enterobacterias productoras de  $\beta$ LEE. En orden de frecuencia se reporta *Klebsiella spp.*  $\beta$ LEE, con un estimado de 17 000 episodios infecciosos (23 %) y una tasa de defunciones aproximada de 1 por cada 100 pacientes. En segundo lugar se encuentra *E. coli*, con 9 000 casos (14 %) y cerca de 600 muertes reportadas por dicha causa<sup>(30)</sup>.

En el reporte de enterobacterias, el total de las cepas productoras de  $\beta$ LEE fueron sensibles en su totalidad a los carbapenems (ertapenem, imipenem y meropenem). Las opciones de tratamiento en las infecciones causadas por enterobacterias productoras de  $\beta$ LEE son limitadas, ya que, como se ha indicado, presentan resistencia a la gran mayoría de betalactámicos. Los únicos beta-lactámicos que mantienen actividad frente a las enterobacterias productoras de estas enzimas son, además de las cefamicinas, como la cefoxitina, las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas (como amoxicilina-clavulánico o piperacilina-tazobactam) y los carbapenémicos (imipenem, meropenem, ertapenem). No obstante, existen dudas respecto a la utilización de cefamicinas y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas<sup>(5)</sup>.

En cuanto a los aislamiento de bacilos gramnegativos no fermentadores, con expresión de  $\beta$ LEE, se evidenció sensibilidad en el antibiograma a los carbapenems tipo Imipenem y Meropenem, lo cual coincide con lo reportado por algunos autores en estudios previos<sup>(11,15,24)</sup>.

En el mismo sentido, en la presente investigación, se observaron 62 cepas bacterianas con detección fenotípica de carbapenemasas, la cual fue más

frecuente en los aislamientos de *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli*.

En la casuística del presente trabajo, el germen en el cual se detectó con más frecuencia la expresión fenotípica de carbapenemasas, fue *Acinetobacter baumannii*; ocurriendo esto, de forma similar en lo reportado en diferentes bibliografías<sup>(22,27-30)</sup>.

Falagas y Gurjar<sup>(28,29)</sup> en sus investigaciones, acotan que la infección nosocomial por especies de *Acinetobacter*, especialmente multidrogo-resistente es muy frecuente a nivel mundial. La mortalidad atribuida a la infección por *Acinetobacter baumannii*, se encontró entre 8,4 %-36,5 % en diversos estudios realizados por sus equipos de trabajo.

Un estudio realizado en el (National Taiwan University Hospital), en el año 2005, se reportó la prevalencia de resistencia a carbapenémicos, entre aislados de bacilos gramnegativos, de la unidad de cuidados intensivos, encontrándose las cepas de *Acinetobacter baumannii* en el 50,5 % de los casos, específicamente, de 81 aislamientos en muestras clínicas, el 49 % tenía expresión de carbapenemasas<sup>(27)</sup>.

*Pseudomonas aeruginosa*, es un patógeno oportunista asociado con una tasa elevada de infecciones adquiridas en la institución hospitalaria, el aislamiento de resistencia a carbapenems es alarmante y requiere de la implementación de medidas de control para lograr prevenir la expresión de carbapenemasas<sup>(31)</sup>. Según datos recientemente publicados por el CDC (Centers for Diseases Control and Prevention)<sup>(30)</sup>, un estimado de 12 000 infecciones nosocomiales, asociadas a *Acinetobacter spp.* ocurren en Estados Unidos cada año. Cerca de 7 000 (63 %), de estas, son multidrogo-resistente y un aproximado de 500 fallecimientos son atribuidos a dicha infección. Cerca de 51 000 infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* ocurren en Estados Unidos cada año; más de 6 000 (13 %) de estas son multidrogo-resistente, con una tasa de 400 defunciones por año atribuidas a estos cuadros clínicos. Un aproximado de 140 000 infecciones por enterobacterias se reportan cada año; cerca de 9 300 son causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas. Cada año, aproximadamente 600 muertes resultan de infecciones causadas por las dos especies más frecuentes, *Klebsiella spp.* y *E. coli* resistente a carbapenems<sup>(30)</sup>.

Una vez analizado el patrón de sensibilidad de los gérmenes con expresión fenotípica de carbapenemasas en el presente estudio,

*Acinetobacter baumannii*, mantuvo una sensibilidad adecuada a la polimixina E (Colistin) y tigeciclina.

En cuanto a *Pseudomonas aeruginosa*, se evidenció un total de 19 cepas productoras de carbapenemasas, sensibles al colistin, con CIM entre 0,5 y 2 µg/mL.

En los casos de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae*, productoras de carbapenemasas, se observó sensibilidad al colistin y tigeciclina.

La prevalencia de carbapenemasas se está incrementando a nivel mundial, afectando directamente el uso de la terapéutica antimicrobiana. Las opciones terapéuticas son limitadas y muchos pacientes requieren combinación de terapias optimizadas. Existen pocas guías de ayuda al clínico para el uso de la terapia antimicrobiana. Datos de estudios realizados, sugieren que el uso de dos drogas es mejor que una, y el ejemplo común incluye la utilización de un carbapenem con colistin o la combinación con tigeciclina para el tratamiento de las enterobacterias y especies de *Acinetobacter* sensibles. Frecuentemente en estos casos, la farmacodinamia del carbapenem es optimizada, recurriendo a altas dosis por intervalos prolongados <sup>(16,33)</sup>.

El colistin es una de las drogas de primera línea en el tratamiento de los gérmenes que expresan resistencia a los carbapenems. La neurotoxicidad y nefrotoxicidad, son los principales efectos adversos; desafortunadamente, ha habido reportes de cepas resistentes al colistin. La eficacia de la tigeciclina es un tanto limitada, debido al incremento de la resistencia in vitro en cepas productoras de carbapenemasas, las concentraciones séricas y urinarias son bajas y los expertos no recomiendan su uso en monoterapia en los casos de bacteriemia e infecciones del tracto urinario <sup>(16)</sup>.

En el tratamiento de *Pseudomonas aeruginosa*, se ha sugerido recientemente en el caso de cepas multirresistentes, que el aumento de las dosis habituales de colistin se asocia con una mayor erradicación microbiológica, y deberá tenerse en cuenta el aumento de nefrotoxicidad que ello conlleva <sup>(5)</sup>.

En un estudio multicéntrico realizado en España, considerando las bacteriemias por *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos, el uso de tratamiento combinado no se asoció a una menor mortalidad (temprana o global), que la observada con un tratamiento en monoterapia si se usa un compuesto al que *P. aeruginosa* sea sensible <sup>(5)</sup>.

En cuanto a *Acinetobacter baumannii*, Fariñas y col. <sup>(5)</sup>, en un estudio español publicado el año 2013, señalan que la resistencia a carbapenémicos

ha aumentado significativamente entre el año 2000 y 2010, acotando que en la actualidad colistin y tigeciclina (o la combinación de ambas) son los compuestos habitualmente empleados en el tratamiento de las infecciones por *Acinetobacter spp.* resistentes a carbapenémicos.

Torres y col. <sup>(8)</sup>, hacen referencia a que la presencia de plásmidos de alto peso molecular en las bacterias, sugiere que la presión ejercida por el uso de antibióticos en áreas como UCI, ha favorecido la diseminación y prevalencia no solo de plásmidos transferibles, sino de otros elementos genéticos como transposones e integrones que codifican altos niveles de resistencia. Esto pudiera estar diseminándose fácilmente entre los aislados bacterianos que producen infecciones intrahospitalarias en las distintas áreas del centro asistencial, probablemente, debido al excesivo uso de antibióticos β-lactámicos de amplio espectro.

La presente investigación, presenta algunas limitaciones. En primer lugar no se dispone de la CIM de todos los antibióticos reportados en los antibiogramas utilizados, lo cual pudo haber sido fundamental en el análisis de la resistencia a las opciones terapéuticas; en segundo lugar, el estudio fue limitado a la detección fenotípica de ambos mecanismos de resistencia, no siendo posible la realización del estudio molecular, por lo cual resultaría interesante en un futuro, continuar la investigación y realizar el estudio de cada cepa bacteriana, a fin de observar la emergencia de resistencia en la institución de una forma más objetiva, sirviendo dichos datos, al reporte del Estado Carabobo en el programa de resistencia bacteriana nacional.

## CONCLUSIONES

El mayor número de casos con patologías infecciosas se presentó en el servicio de cirugía y en la unidad de cuidados intensivos. Las infecciones del sitio quirúrgico, infecciones de partes blandas y neumonías asociadas a ventilación mecánica fueron las más frecuentes.

Los gérmenes gramnegativos aislados con mayor frecuencia fueron *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

Se presentó detección fenotípica de βLEE en 68 aislamientos, siendo los gérmenes más frecuentes, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Detección fenotípica de Carbapenemasas en 62 cepas bacterianas, aisladas con mayor frecuencia en *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*.

En las cepas productoras de βLEE, se observó

sensibilidad de un 100 % a los carbapenems. En el reporte de las Enterobacterias, el total de las cepas fueron sensibles a los antibióticos ertapenem, imipenem y meropenem. Los bacilos gramnegativos no fermentadores, presentaron sensibilidad adecuada a los antibióticos imipenem y meropenem; por lo tanto los carbapenems continúan siendo la primera opción terapéutica en este ámbito.

En cuanto a la detección fenotípica de carbapenemasas:

*Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, presentaron buena respuesta al colistin. Los aislamientos de *A. baumannii*, mantuvieron CIM adecuadas al uso de tigeciclina. En los casos de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae*, hubo sensibilidad al colistin y a tigeciclina en todos los aislamientos. Solo 6 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* mostraron sensibilidad al aztreonam.

Las infecciones nosocomiales representan un importante problema de salud, que se ve agravado por la resistencia bacteriana a las drogas antimicrobianas, especialmente las causadas por bacilos gramnegativos. La resistencia bacteriana tiene implicaciones sociales y económicas enormes, dadas por el incremento de morbilidad y mortalidad, aumento de los costos de los tratamientos y de las largas estancias hospitalarias generadas. Por lo cual, resulta vital la implementación de medidas dirigidas a fomentar la prevención de la emergencia de resistencia y el uso racional de antibióticos por el personal médico.

## RECOMENDACIONES

Implementar medidas específicas de prevención de infecciones, en primer lugar fomentando la limpieza rutinaria de las áreas hospitalarias, con el uso adecuado y oportuno de los métodos de desinfección y esterilización, lo cual es fundamental en la prevención de infecciones.

Mantener la higiene oportuna de las manos y/o utilización adecuada de antisépticos efectivos, por parte del personal de salud, antes y después de estar en contacto con cada paciente.

Implementar medidas de bioseguridad en el personal de salud, tales como uso de equipo de protección personal (guantes, mascarilla, gorro, escudos faciales o lentes de seguridad, bata, y botas para el calzado).

Es vital el conocimiento de los gérmenes aislados con mayor frecuencia en cada servicio de hospitalización y sus patrones de sensibilidad y resistencia. Realizar reportes periódicos, a fin de poder establecer datos desde el punto de

vista epidemiológico, los cuales son pieza clave en la vigilancia y prevención de la resistencia bacteriana.

Instaurar las medidas de aislamiento, en pacientes portadores de procesos infecciosos por cepas bacterianas con carácter de multirresistencia, con la finalidad de prevenir la transmisión del agente desde los pacientes colonizados o infectados a las personas susceptibles, en el ambiente hospitalario.

Educación en el uso apropiado de antibióticos al personal médico, promoviendo la instauración de medidas orientadas al manejo adecuado de los mismos.

Insistir ante la coordinación de farmacia de cada centro, en la importancia del uso de antibióticos no genéricos, que contengan reportes de estudios farmacológicos de la molécula, lo cual es vital en el momento de prevenir la emergencia de resistencia.

Implementar reglas en el momento de prescribir dichos fármacos, haciendo énfasis en que la coordinación de los antimicrobianos, debe estar a cargo de la unidad de Infectología de cada centro.

Mantener el funcionamiento adecuado de la comisión de infecciones hospitalarias, manteniendo una vigilancia activa.

Realizar de forma periódica jornadas científicas de actualización, dirigidas a todo el personal de salud y limpieza de la institución, sobre prevención y control de infecciones en el área hospitalaria.

## REFERENCIAS

1. Pujol M, Limon E. Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Sistemas y programas de vigilancia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. [Serie en Internet] 2010 [citado 10 de Febrero de 2013]; 31 (2): 108-113. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
2. Medeiros A. Evaluation and dissemination of β-lactamases accelerated by generations of β-lactam antibiotics. *Clin Infect Dis*. [Serie en Internet] 1997 [citado 10 de Febrero de 2013]; 24(1): 519-45. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
3. Revert C. Estudio epidemiológico de la infección nosocomial en el servicio de UCI del Hospital Universitario de Canarias. [Tesis Doctoral]. Servicio de publicaciones Universidad de la Laguna. [Serie en Internet] 2005 [citado 10 de Febrero de 2013]. Disponible en URL: <ftp://tesis.bbtk.ull.es/ccppytec/cp217.pdf>
4. Carmona O, Guzmán M, Martín G. Resistencia Bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela. *Revista Sociedad Venezolana de Microbiología*. [Serie en Internet] 2002 [citado 18 de Febrero de 2013]. Disponible en URL: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S13155562003000100013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S13155562003000100013&script=sci_arttext)
5. Fariñas My Martínez L. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm*

- Infec Microbiol Clin. [Serie en Internet] 2013 [citado 18 de Febrero de 2013]; 31(6):402-409. Disponible en URL: <http://zl.elsevier.es/>
6. Levy G, Gould I, Endimiani A, Ramón Pardo P, Daikos G, Hsueh P, et al. Detection, treatment, and prevention of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Recommendations from and International Working Group. Journal of Chemotherapy. [Serie en Internet] 2013 [citado 20 de Agosto de 2013]; 0(0): 1-12. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
  7. Sussmann O, Mattos L, Restrepo A. Resistencia Bacteriana. [Serie en Internet] 2001 [citado 20 de Agosto de 2013]. Disponible en URL: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF>.
  8. Torres L, Gagliotta V, et al.  $\beta$ -lactamasas de Espectro Expandido en Enterobacterias aisladas en Centros de Salud de Caracas. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. [Serie en Internet] 2006 [citado 18 de Febrero de 2013]; 26: 80-88. Disponible en URL: [www.scielo.org.ve/](http://www.scielo.org.ve/)
  9. Navarro F, Jorge C, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Beatriz Mirelisa. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. Enferm Infecc Microbiol Clin. [Serie en Internet] 2011 [citado 18 de Febrero de 2013]; 29(7):524-534. Disponible en URL: <http://www.elsevier.es>
  10. Cantón R, Valverde A, Novais A, Baquero F, Coque T. Evolución y panorama actual de las BLEE. Enferm Infecc Microbiol Clin. [Serie en Internet] 2007 [citado 18 de Febrero de 2013]; 25 (2):2-10. Disponible en URL: <http://www.elsevier.es>
  11. Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. Trends microbial. [Serie en Internet] 2006 [citado 18 de Febrero de 2013]; 14:413-20. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
  12. Canton R, Loza E, Aznar J, Calvo J, Cercenado E, Cisterna R, et al. Sensibilidad de microorganismos gramnegativos de infecciones intraabdominales y evolución de los aislados con B-lactamasas de espectro extendido en el estudio SMART en España (2002-2010). Rev Esp Quimioter. [Serie en Internet] 2011 [citado 16 de Mayo de 2013]; 24(4): 223-232. Disponible en URL: [http://seq.es/seq/0214-3429/24/4/canton\\_esp.pdf](http://seq.es/seq/0214-3429/24/4/canton_esp.pdf)
  13. Mattar S, Martínez P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las B-lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. Infectio. [Serie en Internet] 2007 [citado 16 de Mayo de 2013]; 11(1): 23-35. Disponible en URL: [www.scielo.org.co/pdf/inf/v11n1/v11n1a05.pdf](http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v11n1/v11n1a05.pdf)
  14. Guzmán Blanco M. Resistencia bacteriana a los antibióticos. La epidemia silenciosa. Red de sociedades científicas médicas venezolanas, nota técnica n°38. [Serie en Internet] 2011 [citado 16 de Febrero de 2013]. Disponible en URL: [www.rscmv.org.ve/pdf/nota\\_tecnica38.pdf](http://www.rscmv.org.ve/pdf/nota_tecnica38.pdf)
  15. Albarado L, García J, et al. Frecuencia de Enterobacterias nosocomiales productoras de  $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido, Cumaná, Venezuela. Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. [Serie en Internet] 2009 [citado 16 de Febrero de 2013]; 7(11):1-110. Disponible en URL: <http://worldwidescience.org/>
  16. Pérez F, Van D. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a menace to our most vulnerable patients. Cleveland clinic journal of medicine. [Serie en Internet] 2013 [citado 22 de Agosto de 2013]; 80(4): 225-233. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
  17. Nordmann P, Poirel L, Toleman M, Walsh T. Does broad-spectrum B-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infectious caused by gram-negative bacteria? J Antimicrob Chemother. [Serie en Internet] 2011 [citado 22 de Agosto de 2013]; 66(4): 689-292. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
  18. Torres L. La era de las Carbapenemasas. Sociedad Venezolana de Microbiología. Escuela de Bioanálisis UCV. [Serie en Internet] 2005. [citado 22 de Enero de 2013]; Disponible en URL: [http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/bitstream/123456789/3717/1/ TESIS\\_YR.pdf](http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/bitstream/123456789/3717/1/ TESIS_YR.pdf)
  19. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. [Serie en Internet] 2012 [citado 22 de Agosto de 2013]; 18: 268-281. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
  20. López-Pueyo M, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. Med Intensiva. [Serie en Internet] 2011 [citado 22 de Agosto de 2013]; 35(1)41-53. Disponible en URL: <http://www.elsevier.es>
  21. Irala-Estévez J, Martínez-Condor D, Díaz-Molina C, et al. Comparison of different methodological approaches to identify risk factors of nosocomial infections in intensive care units. Intensive Care Med. [Serie en Internet] 2001 [citado 22 de Agosto de 2013]; 27:1254-1262. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22>. Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii* oximoron: Commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. Front Microbiol. [Serie en Internet] 2012 [citado 22 de Agosto de 2013]; 3:148. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
  23. Pérez C. Antimicrobianos en unidades de cuidados intensivos: Uso empírico. Rev Chil Infectol. [Serie en Internet] 2008 [citado 22 de Febrero de 2013]; 20: 70-73. Disponible en URL: [www.scielo.cl/pdf/rci/v20s1/art12.pdf](http://www.scielo.cl/pdf/rci/v20s1/art12.pdf)
  24. Muzachiodi M, Ferrero S. Incidencia de Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del hospital José F. de San Martín. Facultad de Cs. Exactas Nat y Agrim. Dpto de Bioquímica. Argentina. [Serie en Internet] 2005 [citado 22 de Febrero de 2013]. Disponible en URL: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-135.pdf>
  25. Paterson DL, Bonomo RA. Extended- beta-lactamasas: A clinical update. Clin Microbiol Rev. [Serie en Internet] 2005 [citado 22 de Agosto de 2013]; 18: 657-86. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
  26. Rodríguez J, Pascual A. Clinical significance of extended spectrum betalactamasas. Expert Rev Anti Infect Ther. [Serie en Internet] 2008 [citado 22 de agosto de 2013]; 6: 671-83. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
  27. Karuniawati A, Saharman Y, Lestian D. Detection of Carbapenemase encoding genes in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from patients at intensive unit careipto Mangunkusumo hospital in 2011. The Indonesian Journal of Internal Medicine. [Serie en Internet] 2013 [citado 22 de Agosto de 2013]; 45(2): 101-106. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)

28. Falagas M, Rafailidis PI. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: No longer a controversial issue. *Crit Care*. [Serie en Internet] 2007 [citado 22 de agosto de 2013]; 11: 104. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
29. Gurjar M, Saigal S, Baronia A, Rao B, Azim A, Poddar B. Carbapenem-resistant *Acinetobacter ventilator-associated pneumonia*: Clinical characteristic and outcome. *Indian J Crit Care Med*. [Serie en Internet] 2013 [citado 22 de agosto de 2013]; 17(3): 129-134. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
30. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. antibiotic resistance threats in the united states, 2013. [Serie en Internet] 2013 [citado 15 de septiembre de 2013]. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
31. Meletis G, Exindari M, Vavatsi N, Sofianov D, Diza E. Mechanisms responsible for the emergence of Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Hippokratia*. [Serie en Internet] 2012 [citado 15 de septiembre de 2013]; 16(4):303-307. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
32. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Consensus Process. [Serie en Internet] 2013 [citado 15 de Septiembre de 2013]. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
33. Quinn J. Carbapenemases: A worldwide threat. *Expert Rev Anti Infect Ther*. [Serie en Internet] 2013 [citado 15 de septiembre de 2013]; 11(7):643-644. Disponible en URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)
34. Mandell G, Douglas R, Bennett J. (2006). *Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica*. (6ª edición). Buenos Aires: Médica Panamericana.