



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“DETERMINACIÓN DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA
PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS
ANTIMICROBIANOS”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Autor: Montaluisa Colcha, Mario Daniel

Tutora: Dra. Mg. Tabares Rosero, Lourdes Gioconda

Ambato – Ecuador

Mayo, 2016

Ambato – Ecuador

Mayo 2016 APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Proyecto de Investigación sobre el tema:

“DETERMINACIÓN DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS” de Montaluisa Colcha Mario Daniel estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Marzo del 2016

LA TUTORA

.....

Dra. Mg. Tabares Rosero Lourdes Gioconda

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Proyecto de Investigación “**DETERMINACIÓN DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**” como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autor del trabajo de grado.

Ambato, Marzo del 2016

EL AUTOR

.....

Montaluisa Colcha, Mario Daniel

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, Marzo del 2016

EL AUTOR

.....

Montaluisa Colcha, Mario Daniel

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación, sobre el tema **“DETERMINACIÓN DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS”** de estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Marzo del 2016

Para constancia firman

.....
PRESIDENTE/A

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

Dedico este proyecto para mis padres por su apoyo, consejos, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar.

A mi esposa e hija por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar. A mis hermanos quienes han sido una motivación para siempre seguir adelante como un ejemplo de superación

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”.

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por todo lo que soy y a la vez a varias personas que han formado parte de mi vida con su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

ÍNDICE

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
INDICE DE GRÁFICOS	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1
1.1 TEMA.	2
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	2
1.2.1 CONTEXTUALIZACION.	2
1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.3 JUSTIFICACIÓN	5
1.4 OBJETIVOS	7
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	7
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
CAPÍTULO II	8
2.1. ESTADO DEL ARTE.....	8

2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO	12
2.2.1. ENTEROBACTERIAS	12
2.2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.....	12
2.2.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
2.2.4 ANTIMICROBIANOS	14
2.2.4.1 CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS	15
2.2.4.2 ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS	17
2.2.5 BETALACTAMASAS	19
2.2.5.1 BETALACTAMASAS DE AMPLIO ESPECTRO BLEA	19
2.2.5.2 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)	21
2.2.6 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD BACTERIANA	22
2.2.6.1 LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBIDORA (CMI).....	22
2.2.6.2 LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)	24
2.2.7 RESISTENCIA BACTERIANA	27
2.2.8. HIPÓTESIS	31
CAPÍTULO III	32
MARCO METODOLÓGICO	32
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	32
Investigación Mixta (Campo-Laboratorio)	32
3.2 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO	33
3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	33
3.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	34
3.4.1 Variable Independiente: Resistencia a los antimicrobianos.....	34
3.4.2 Variable Dependiente: Determinación de enzimas BLEE producidas por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	35

3.4. DESCRIPCION DE LA INTERVENCION Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCION DE INFORMACION.....	36
3.5. ASPECTOS ETICOS.....	49
CAPÍTULO IV.....	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1. TABULACIÓN.....	51
DISCUSIÓN	60
CAPÍTULO V.....	61
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	61
5.1. CONCLUSIONES	61
5.2. RECOMENDACIONES	62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
Bibliografía	63
LINKOGRAFÍA:	65
CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA	69
ANEXOS	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Clasificación Enterobacterias.....	13
Tabla N° 2 Antibiótico – Concentración.....	46
Tabla N° 3 Edad.....	49
Tabla N° 4 Género.....	50
Tabla N° 5 Observación del Gram De Gota Fresca.....	51
Tabla N° 6 Identificación Bacteriana en el Urocultivo.....	52
Tabla N° 7 Antibiograma.....	53
Tabla N° 8 Antibiograma.....	54
Tabla N° 9 Antibiograma.....	55
Tabla N° 10 Antibiograma.....	56
Tabla N° 11 Prueba confirmatoria para producción de BLEE.....	57
Tabla N° 12 Datos del Estudio.....	58
Tabla N° 13 Sensibilidad a los antibióticos.....	61
Tabla N°14 Relación.....	65

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°1 <i>Klebsiella</i>	14
Gráfico N°2 Antibiograma Disco – Placa.....	25
Gráfico N° 3 de E – Test.....	26
Gráfico N°4 Edad.....	49
Gráfico N°5 Género.....	50
Gráfico N°6 Observación del GRAM DE GOTA FRESCA.....	51
Gráfico N° 7 Identificación Bacteriana en el Urocultivo.....	52
Gráfico N° 8 Antibiograma Gráfico N° 9 Antibiograma.....	53
Gráfico N° 10 Antibiograma.....	54
Gráfico N° 11 Antibiograma.....	55
Gráfico N° 12 Prueba confirmatoria para producción de BLEE.....	56

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“DETERMINACIÓN DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS”

Autor: Montaluisa Colcha Mario Daniel

Tutora: Dra. Mg. Tabares Rosero Lourdes Gioconda

Fecha: Febrero del 2016

RESUMEN

La presencia de fracaso terapéutico en las infecciones por enterobacterias ha dirigido este estudio hacia los mecanismos de resistencia de dichos microorganismos y se ha comprobado la presencia de bacterias productoras de enzimas inactivadoras de los antibióticos betalactámicos (betalactamasas). Dentro del grupo de bacterias productoras de betalactamasas se encuentran las llamadas betalactamasas de espectro extendido o BLEE capaces de lograr resistencia bacteriana a las cefalosporinas de 3^{ra} y 4^{ta} generación, lo cual es un serio problema en el tratamiento de infecciones en pacientes hospitalizados en el Hospital Latacunga y por la importancia de este problema de salud, se propuso identificar la presencia de estos microorganismos y su comportamiento in vitro a los antimicrobianos que utilizamos. Los Antimicrobianos β -lactámicos son las drogas más usadas para el tratamiento de infecciones bacterianas tanto a nivel de la comunidad como hospitalario. El amplio espectro, la baja toxicidad y la actividad fuertemente bactericida sobre la mayoría de los microorganismos son algunas de las causas de su amplia utilización. Para determinar la presencia de estas bacterias se realizaron cultivos de orina de pacientes hospitalizados. El 66,7% de los cultivos estudiados presentaron en infecciones por *Klebsiella pneumoniae* y cepas productoras de BLEE.

PALABRAS CLAVES: ENTEROBACTERIAS, ENZIMAS, INACTIVADORAS, KLEBSIELLA_PNEUMONIAE, RESISTENCIA, ANTIMICROBIANOS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

"DETERMINATION OF BLEE PRODUCED BY KLEBSIELLA
PNEUMONIAE AND ITS RELATIONSHIP WITH THE ANTIMICROBIAL
RESISTANCE"

Author: Montaluisa Colcha, Mario Daniel

Tutor: Dr. Mg. Tabares Rosero Lourdes Gioconda

Date: February 2016

SUMMARY

The presence of therapeutic failure in Enterobacteriaceae infections has conducted this study to the mechanisms of resistance of these microorganisms and inactivating enzymes of the beta-lactam antibiotics (betalactamase)-producing bacteria are proven. Within the Group of beta-lactamase-producing bacteria are the so-called beta-lactamases of spread spectrum or ESBL able achieve bacterial resistance to cephalosporins of 3rd and 4th generation, which is a serious problem in the treatment of infections in hospitalized patients in the Latacunga Hospital and by the importance of this health issue, proposed identify the presence of these microorganisms and their behavior in vitro to antimicrobial agents we use. The beta-lactam antimicrobials are the most used drugs for the treatment of bacterial infections, both at the level of the community as a hospital.

The broad spectrum, low toxicity and the strongly bactericide on the majority of microorganisms are some of the causes of its extensive use. Hospitalized patients urine cultures were performed to determine the presence of these bacteria. 66.7% of the crops studied presented infection by *Klebsiella pneumoniae* and BLEE producing strains.

KEYWORDS: ENTEROBACTERIACEAE, ENZYMES, INACTIVATOR,
KLEBSIELLA_PNEUMONIAE, ANTIMICROBIAL RESISTANCE.

INTRODUCCIÓN

"Al investigar de forma continua durante varios meses, poniendo todos mis esfuerzos sobre las consultas, buscando respuesta a miles de preguntas.

Buscando ayuda con profesionales para despejar las dudas.

Al realizar las identificaciones y luego de vivir momentos con los pacientes espero que todas aquellas experiencias impregnadas en este proyecto para que sirvan de ayuda a mis sucesores de la Universidad Técnica de Ambato

- MARIO MONTALUISA -

La investigación planteada tiene no solo interés científico sino que implica un gasto elevado en los presupuestos destinados a la salud y obligan a dirigir todos los esfuerzos necesarios para establecer criterios terapéuticos en correspondencia con este problema. A pesar de la importancia de este tema se han reportado estudios al respecto en nuestro país pero son muy limitados. Por esta razón decidimos estudiar el comportamiento in vitro de *Klebsiella pneumoniae* en relación con el antibiograma e identificar cepas BLEE positivas en el Hospital de Latacunga.

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE o en inglés ESBL) han ganado en importancia dada la responsabilidad que poseen como mecanismos de resistencia a los antibióticos betalactámicos especialmente a las cefalosporinas de 3^{ra} y 4^{ta} generación y en menor medida pero sin dejar de ser importante a los aminoglucósidos.¹ En los últimos años se han dado datos sobre la prevalencia de las cepas productoras de BLEE y se han reportado diversos brotes hospitalarios, en ocasiones prolongados en el tiempo.

Se desconoce la prevalencia real de las BLEE, y son probablemente subestimadas las cifras que habitualmente se comunican. Desconocer su presencia puede llevarnos a utilizar antibióticos de poca eficiencia sobre estos microorganismos.

En los pacientes hospitalizados en el Hospital de Latacunga en quienes se detecta infecciones por bacterias productoras de enzimas BLEE, es importante dar a conocer los resultados para prevenir y evitar el mal uso de los antimicrobianos.

CAPÍTULO I

1.1 TEMA.

“DETERMINACION DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS”

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

1.2.1 CONTEXTUALIZACION.

En los últimos años, la resistencia antibiótica es considerada un problema creciente a nivel mundial, la detección de enzimas β -lactamasas de espectro extendido BLEE producidas por *Klebsiella pneumoniae* ha ido aumentando de forma alarmante. Basados en diferentes informes internacionales la enterobacteria *Klebsiella pneumoniae* es uno de los agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia como causante de infecciones intrahospitalarias.

La resistencia antimicrobiana ha emergido como un asunto de salud pública importante, puesto que se sigue en aumento a pesar de la introducción de nuevos antibióticos, y las bacterias se han asociado con un incremento de la morbilidad y mortalidad de pacientes, así como de los costos en cuanto al tratamiento².

La producción de BLEE, por diversos patógenos de importancia clínica y en especial de *Klebsiella pneumoniae* que fué objeto de nuestro estudio, constituye un importante problema mundial en el tratamiento de las

infecciones graves. Este problema se complica no sólo por la resistencia desarrollada a los antimicrobianos, sino también por las formas de mantener y transmitir la información genética de bacteria a bacteria para desarrollar la resistencia.²

Cada patógeno puede requerir una estrategia compensatoria específica cuando emergen cepas resistentes en un ambiente clínico. Por ello son de especial interés los mecanismos responsables de la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a Cefalosporinas de amplio espectro, como la Ceftazidima y la Ceftriaxona, sobre todo las Betalactamasas de espectro extendido, que han sido consecuencia del uso indiscriminado de estos antibióticos y que son mediadoras de una aumentada incidencia de brotes de microorganismos resistentes en las unidades de cuidados intensivos².

La tendencia actual en todo el mundo es la realización de estudios de vigilancia epidemiológica para tratar de establecer e identificar patógenos prevalentes y así desarrollar estrategias de control y prevención encaminadas a ayudar al médico a supervisar más de cerca la terapia antibiótica o a seleccionar una terapia alterna para el adecuado manejo de infecciones.

En América Latina las infecciones bacterianas, sobre todo producidas por Gram negativos, comienzan a incrementar su resistencia de manera notable. Esto significa que las bacterias vienen evolucionando, sobreviviendo y multiplicándose en cepas más difíciles de tratar, lo que puede causar enfermedades graves o la muerte.

En un estudio realizado, la tasa de producción de BLEE por las enterobacterias en países de Latinoamérica es más alta que en otras regiones del mundo por ejemplo la tasa más alta de producción de BLEE fue encontrada en aislamientos provenientes de América Latina (34,6 %), comparado con Europa (19,7 %) y Norte América (10 %)³.

En Colombia, un estudio de resistencia en bacilos gramnegativos realizado por el Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas

(CIDEIM), realizado en ocho hospitales de tercer nivel de atención de las ciudades de Bogotá, Medellín y Cali, reveló que el 32,6% de las cepas de *K. pneumoniae* cultivadas en pacientes en unidades de cuidados intensivos (UCI) y 29,8% de aquellas cultivadas en pacientes hospitalizados en otros servicios eran BLEE positivas, predominando las del grupo CTX-M.⁹ La colonización intestinal por enterobacterias resistentes es un factor clave en la epidemiología de las enterobacterias productoras de BLEE^{10,11}. Este estudio indicó una frecuencia de 64,2% de enterobacterias productoras de BLEE.

En la ciudad de Cuenca se analizaron un total de 274 muestras de orina de pacientes ambulatorios que acudieron a los Centros de Salud 1, 2 y 3 durante el periodo comprendido entre mayo y junio del año 2013; con el fin de obtener al menos 100 muestras de orina positivas para *Escherichia coli*.

Se recuperó 103 cepas de *Escherichia coli* y se continuó el estudio con la identificación de la producción de Beta Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE), mediante la técnica descrita en el manual CLSI actualizado a enero del 2013. Se realizaron las pruebas presuntivas y confirmatorias, aplicando el método convencional de difusión en agar, en placas de agar Mueller-Hinton, con un inóculo Mac Farland 0,5 y ensayando los discos de antimicrobiano. Para la prueba presuntiva se empleó los discos de Aztreonam, Cefotaxime, Ceftazidime y Ceftriaxona; para la prueba confirmatoria se utilizaron los discos de Ceftazidime y Cefotaxime en combinación con ácido clavulánico; la producción de BLEE se determinó mediante la diferencia del diámetro de los halos según se indica en la técnica.

Los resultados mostraron que de 103 cepas de *E. coli* se recuperaron siete (6.8%) cepas productoras de BLEE y si se considera que la población con la que se trabajó fue de pacientes ambulatorios resulta muy importante la realización de los métodos de identificación de BLEE como apoyo para la correcta terapia antimicrobiana, previniendo de esta manera la diseminación de cepas de *E. coli* productoras de BLEE¹⁴.

El cantón Latacunga no es la excepción según datos del Ministerio de Salud del Ecuador, en cuanto a la presencia de casos relacionados con enterobacterias productoras de BLEE como la *Klebsiella pneumoniae*, en el año 2012 se han detectado casos confirmados de esta bacteria la cual es difícil de combatir debido a su amplia resistencia a los antimicrobianos, casos que han ido en aumento hasta la actualidad, motivo por el cual se han implementado protocolos de identificación y confirmación de estas bacterias, con el fin de estar prevenidos ante futuros brotes.¹³

1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿ *Klebsiella pneumoniae* produce enzimas BLEE que causan resistencia los antimicrobianos?

PREGUNTAS DIRECTRICES

1. ¿La técnica de Kirby Bauer servirá para identificar cepas productoras de enzimas β -lactamasas de espectro extendido en *Klebsiella pneumoniae*?
2. ¿Será *Klebsiella pneumoniae* resistente a los antimicrobianos?
3. ¿Cuál será la relación de la presencia de enzimas β -lactamasas de espectro extendido de *Klebsiella pneumoniae* con los antimicrobianos?

1.3 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la resistencia de las bacterias a antimicrobianos constituye un problema mundial que dificulta el tratamiento de las infecciones, en particular, las intrahospitalarias, la detección eficaz y oportuna de cepas bacterianas productoras de betalactamasas, especialmente las de espectro extendido (BLEE), constituye un verdadero reto para los laboratorios de Microbiología, debido al enorme impacto terapéutico y económico que implica su presencia en infecciones intrahospitalarias.

La finalidad de esta investigación es identificar las enzimas BLEE producidas por *Klebsiella pneumoniae* y su relación con la resistencia a los antimicrobianos, para poder brindar un tratamiento adecuado a los pacientes internos en el Hospital Provincial General de Latacunga y mejorar su calidad de vida.

La presente investigación es factible realizarla porque se dispone de todos los recursos necesarios para su ejecución, como es el caso de los recursos humanos, económicos, materiales y bibliográficos.

Existe también por parte del investigador interés y motivación para realizarlo en el tiempo previsto y con los recursos ya establecidos.

Se considera también que la metodología prevista es la herramienta adecuada para tener acceso a la recolección de datos, procesamiento de información y establecimiento de resultados.

Esta investigación es de beneficio para todos pacientes ambulatorios y hospitalizados pues la aparición de bacterias productoras de BLEE tiene importantes repercusiones clínicas y terapéuticas, la mayoría de los aislamientos tienen codificada la resistencia en plásmidos que pueden ser transferidos a otros microorganismos y pueden ser causantes de brotes en Instituciones de Salud.

Por otro lado aumentan la morbimortalidad nosocomial y limitan las opciones terapéuticas, incrementando el uso de antibióticos costosos, el impacto que se logra además de identificar la persistencia de la infección y resistencia al tratamiento actual o una posible multiresistencia, es un mayor control en el diagnóstico y tratamiento de infecciones

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar enzimas BLEE producidas por *Klebsiella pneumoniae* y su relación con la resistencia a los antimicrobianos.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Utilizar la técnica de Kirby Bauer para identificar cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de enzimas β -lactamasas de espectro extendido.
2. Determinar la resistencia a los antimicrobianos producida por *Klebsiella pneumoniae*
3. Relacionar la presencia de enzimas β -lactamasas de espectro extendido con la resistencia a los antimicrobianos en *Klebsiella pneumoniae* .

CAPÍTULO II

2.1. ESTADO DEL ARTE

Enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa) Rev. Tendencias, 2011 (IN PRESS) es un estudio sobre Carbapenemasas en *Klebsiella pneumoniae*. *Klebsiella pneumoniae* es uno de las enterobacterias que más frecuentemente se aísla como responsable de infecciones nosocomiales. En Uruguay, como a nivel mundial, se asiste a una amplia y reciente diseminación de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), de diversos sub-grupos de CTX-M las cuales además de generar resistencia frente a oximinocefalosporinas, se acompañan de mecanismos de resistencia transferibles a quinolonas y aminoglucósidos. Por otra parte, otro aspecto preocupante es la producción de carbapenemasas, en plásmidos, lo que ha derivado a la transmisión de los mismos a otras enterobacterias y otros bacilos no fermentadores, además de la asociación de resistencia a otros antimicrobianos ⁽¹⁾.

Precisamente lo que ha motivado esta revisión es el aislamiento reciente de *K. pneumoniae* productora de KPC en una unidad de cuidados críticos del interior de nuestro país. Puntualmente *Klebsiella pneumoniae* (así como otras enterobacterias) puede producir diferentes betalactamasas con acción sobre diferentes betalactámicos que pueden resumirse en:

1. BLEEs (confiere resistencia a cefalosporinas de tercera generación, inhibibles por inhibidores tipo ácido clavulánico pero sensible a carbapenemes) Hay en Uruguay un aumento sostenido de estas cepas ⁽¹⁾.
2. Cefalosporinasas de clase C: presentes en el cromosoma de muchas enterobacterias como *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia spp*, *Morganella spp* etc. En los últimos años se observa una mayor diseminación de este tipo de enzimas en *K. pneumoniae*, *E.coli* y *Salmonella spp* codificadas en

plásmidos de multiresistencia. Estas enzimas confieren resistencia a penicilinas semisintéticas, cefalosporinas de 1era a 3era generación y excepcionalmente a cefasloporinas de cuarta generación; no son inhibibles ni por clavulánico ni por EDTA, pero recientemente se ha demostrado que son inhibidas por ácido borónico⁽¹⁾.

3. KPC (resistencia a todos los betalactámicos, las cefalosporinas, la penicilina y monobactámicos, generalmente con nivel de resistencia intermedio a los carbapenemes, característicamente la concentración inhibitoria mínima baja luego de la adición de ácido clavulánico en los test de susceptibilidad). Hay en la región, tanto en Argentina como en Brasil. Descritos en Uruguay los dos primeros casos en abril 2010 en una unidad de cuidados críticos en Maldonado. Particularmente destacamos la asociación de resistencia frente a otros antimicrobianos codificada en el mismo plásmido. Tienen en común con las BLEE el ser al menos parcialmente inhibidas por clavulánico, y con las cefasloporinasas de clase C el ser inhibidas por ácido borónico⁽²⁾.

Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasa tipo metalobetalactamasa. Como enzima única confieren resistencia a todos los betalactámicos menos a los monobactámicos (aztreonam). Son además inhibidas por EDTA. En Brasil se describió una metalo- β -lactamasa IMP-1. No hay detectadas en Uruguay⁽⁵⁾.

En el estudio realizado en el año 2011 por A. Carolina González R., Florimar Gil G. docentes de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Microbiología y Parasitología, Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología bajo el título “BROTE POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* MULTIRESISTENTE Y PRODUCTORA DE B-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN UNA UNIDAD DE ALTO RIESGO NEONATAL” indican que la *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasa de espectro expandido (BLEE) ha jugado un papel importante como causa de infecciones en la unidad de alto riesgo neonatal (UARN) del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA). En el trabajo se describió un brote ocasionado por esta bacteria en los neonatos hospitalizados en dicha unidad durante el mes de febrero 2011, así como también,

cepas aisladas en los meses siguientes al brote y además, se estudió el ambiente y el personal, como posible fuente de esta bacteria. Las cepas de *K. pneumoniae* aisladas del brote fueron del mismo fenotipo de resistencia, productoras de (BLEE tipo TEM y SHV y pertenecían al mismo genotipo que las cepas aisladas de las manos y de las soluciones jabonosas, posible fuente de infección, lo cual indica que se trataba del mismo clon. El brote se resolvió usando dos importantes medidas: reforzando el lavado de manos y con la indicación oportuna de imipenem a los neonatos afectados ⁽⁴⁾.

Entre los microorganismos comúnmente involucrados en la sepsis nosocomial se encuentran los bacilos gram-negativos de la familia *Enterobacteriaceae*, especialmente especies del género *Klebsiella* ⁽⁶⁾.

Muchos de los brotes de infección nosocomial se debieron a la diseminación de cepas resistentes a β -lactámicos, resistencia mediada por enzimas productoras de β -lactamasas de espectro extendido (pLEE) que son transportadas en plásmidos⁷. La gravedad de estas infecciones se incrementó por que las cepas implicadas fueron multi-resistentes a antimicrobianos ⁽¹⁾.

En la unidad de alto riesgo neonatal (UARN) del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IAHULA), Estado de Mérida, se han realizado diversos estudios con la finalidad de conocer la frecuencia de las infecciones nosocomiales, así como, las características clínicas, microbiológicas y epidemiológicas de los brotes ocurridos en esta unidad ⁽²⁾.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el año 2011 reforzó sus actividades en este tema, creando la red de vigilancia de la susceptibilidad a los antibióticos la cual inició con aislamientos de *Salmonella spp*, *Shigella spp*. y *Vibrio cholerae*, posteriormente, se incluyeron otras especies como *Streptococcus pneumoniae* (invasivos), *Haemophilus influenzae* (invasivos) *Neisseria meningitidis* y *Escherichia coli* (infección urinaria), igualmente especies aisladas en infecciones asociadas al cuidado de la salud (IAACS), tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus spp*, *Klebsiella spp*. y *Enterobacter spp*⁽⁵⁾.

Schwaber and Carmeli, 2008 y Thomson, 2010 indicaron que uno de los principales problemas que han centrado la atención a nivel académico, científico, de las autoridades sanitarias y de la comunidad en general, son las infecciones producidas por enterobacterias resistentes a los carbapenémicos (ERC), las cuales están emergiendo como importantes patógenos en los centros de cuidado de salud. Lo anterior debido principalmente a que los antibióticos de elección para el tratamiento de las infecciones producidas por Gram negativos; son precisamente betalactámicos de amplio espectro tales como cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona), betalactámicos en combinación con inhibidores de betalactamasas (piperacilina-tazobactam) y los carbapenémicos (meropenem y doripenem principalmente) ⁽⁹⁾.

La resistencia a este tipo de antibióticos puede resultar por la combinación de diversos mecanismos asociados, tales como la presencia de enzimas tipo betalactamasas sumada a una disminución de la permeabilidad de la membrana externa. También es producida por la presencia de enzimas tipo carbapenemasas como KPC sigla del inglés *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase y metalo betalactamasas, capaces de hidrolizar 2 Introducción antibióticos betalactámicos incluidos los carbapenémicos. La mayoría de estos tipos de carbapenemasas, se encuentran asociadas a elementos genéticos móviles, que les permiten la transferencia y diseminación en el ambiente hospitalario ⁽⁷⁾.

Munoz-Price et al., 2013 en su investigación indican que muchos países aún no han establecido protocolos para la detección de los productores de carbapenemasas, sin embargo, se ha demostrado que la prevalencia puede diferir substancialmente por regiones, mientras que países como Israel, Grecia y Colombia son endémicos para este tipo de enzimas, hay lugares donde solo se han reportado casos importados (Australia, Nueva Zelanda y Canadá). Teniendo en cuenta las características de diseminación y el rápido incremento en el número de reportes a nivel mundial, el control de este mecanismo de resistencia es un tema que ha generado espacios de discusión y consenso en entidades de vigilancia epidemiológica internacionales. Tal es el caso de la OPS que, en el año 2010 generó una alerta regional donde direcciona a todos los laboratorios nacionales de

referencia a priorizar la búsqueda de carbapenemasas a través de la red de vigilancia centinela en cada país, a fin de conocer la situación de cada uno de ellos y establecer las pautas de control y prevención ⁽⁸⁾.

Otro de los aspectos relevantes que centraron esfuerzos en la detección de carbapenemasas, fue que su presencia se ha asociado con incremento en la morbilidad y la mortalidad, particularmente de los pacientes infectados por *K. pneumoniae*, el cual puede ser el microorganismo causal del 20% al 30 % de los casos de neumonías asociadas al cuidado de la salud de la región, y se encuentra entre los tres primeros patógenos aislados en bacteriemias intrahospitalarias por Gram negativos con tasas de mortalidad de más del 50% ^(18,19,20).

2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO

2.2.1. ENTEROBACTERIAS

Las enterobacterias pertenecen a la familia Enterobacteriaceae las cuales constituyen un grupo heterogéneo y grande de bacterias GRAM negativas. Su nombre está dado por la localización habitual como bacterias saprofitas del tubo digestivo, las cuales son ubicuas, encontrándose en el suelo, el agua y la vegetación, en forma universal, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre.

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, son las bacteria más prevalentes de esta familia.

2.2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

- Fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o no.
- Son aerobios no formadores de esporas que pueden crecer en anaerobiosis (anaerobios facultativos)
- Producen catalasa
- No ven favorecido su crecimiento por la presencia de NaCl
- Reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones)
- No licuan el alginato

- Son oxidasa-negativos
- La mayoría son móviles (con flagelos peritricos) ^(18,19).

Clasificación Enterobacterias importantes desde el punto de vista clínico.

Tabla Nº 1 Clasificación Enterobacterias

Género	Especies
<i>Escherichia</i>	<i>coli, alberti, alvei</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae, oxytoca, granulomatis</i>
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>aerogenes, cloacae, aglomerans, gergoviae, sakazakii</i>
<i>Serratia</i>	<i>marcencens</i>
<i>Hafnia</i>	<i>alves</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii, amalonaticus, diversus</i>
<i>Yersinia</i>	<i>pestis, enterocolitica, pseudotuberculosis</i>
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis, vulgaris</i>
<i>Providencia</i>	<i>rettgeri, stuartii</i>
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
<i>Shigella</i>	<i>dysenterii, flexneri, sonnei, boydei</i>
<i>Plesiomonas</i>	<i>shigelloides</i>
<i>Edwarsiella</i>	<i>tarda</i>
<i>Ewingella</i>	<i>americana</i>

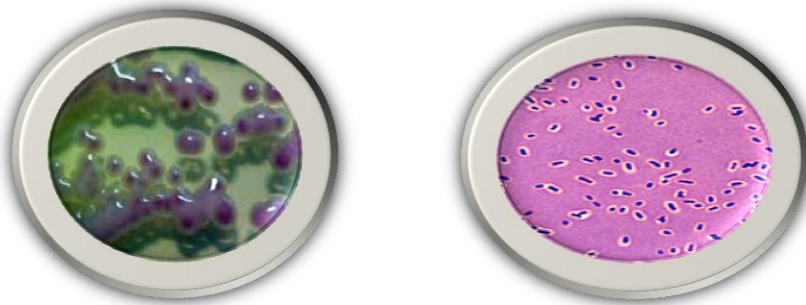
Fuente: Elaborado por el investigador

2.2.3 *Klebsiella pneumoniae*

Los microorganismos del género *Klebsiella* son bacilos Gram negativos pertenecientes a la familia de Enterobacteriaceae, la asimilación y la fermentación de la lactosa se puede observar en el agar MacConkey donde las colonias son de color rosado y en el medio Kligler o TSI donde son Ácido/Ácido, es decir fermentador de la lactosa más producción de gas; y en la fermentación acetónica o prueba de Voges Proskauer son positivos, sus condiciones óptimas de cultivo son en agar nutritivo a 37 °C, pH de 7.0, presión osmótica de 1 atm. anaerobia facultativa, inmóvil y usualmente encapsulada.

El género *Klebsiella* está formado por varias especies, entre las que se encuentran: *K. pneumoniae*, *K. oxitoca*, *K. planticola*, *K. terrígena*, *K. azanea*^(18,19).

Gráfico N°1 *Klebsiella* spp.



Fuente: [https:// bacterias&espv](https://bacterias.espv).

2.2.4 ANTIMICROBIANOS

Son sustancias químicas sintetizadas por microorganismos que poseen acción antimicrobiana.

Existen distintos tipos de antimicrobianos de acuerdo a su uso:

- **Desinfectantes:** Son sustancias que se usan en sistemas inanimados, estos eliminan la carga microbiana totalidad.

- **Sanitizantes:** Su característica es destruir la carga microbiana por completo, sólo se aplican a sistemas inanimados
- **Antisépticos:** Estas sustancias reducen y controlan la presencia de microorganismos potencialmente patógenos, sólo se pueden aplicar externamente en seres vivos es decir a nivel de piel y/o mucosas únicamente.
- **Antimicrobianos de uso sistémico:** Actúan en el organismo, pudiendo ser ingeridos por vía oral, absorbidos por piel con el uso de apósitos y/o inyectados, estos reducen y controlan la presencia de microorganismos que han invadido los tejidos ⁽¹⁸⁾.
- **Antimicrobianos Discos de Sensibilidad:** se utilizan para pruebas semicuantitativas de sensibilidad in vitro de patógenos bacterianos comunes de crecimiento rápido y de ciertos patógenos bacterianos exigentes, por medio del procedimiento de prueba de difusión de disco en agar. Entre ellos se incluyen *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Vibrio cholerae* y, mediante procedimientos modificados, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* y otros.

2.2.4.1 CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

A los agentes antimicrobianos de uso sistémico se clasifican según su origen, efecto antimicrobiano, espectro de actividad y mecanismo de acción.

Origen:

- **Naturales:** Se obtienen a partir de microorganismos como hongos, Bacterias, etc.
- **Sintéticos:** Se obtienen por síntesis química en todos los casos.
- **Semisintéticos:** Para obtenerlos se realizan modificaciones químicas de antimicrobianos naturales, con la finalidad de mejorar su acción.

Efecto:

- **Bacteriostático:** Sirven para complementar los mecanismos defensivos del huésped, la máxima concentración no tóxica que se alcanza en suero y tejidos impide el desarrollo y multiplicación de los microorganismos, sin destruirlos, pudiendo éstos multiplicarse nuevamente al desaparecer el agente antimicrobiano⁽²⁰⁾.
- **Bactericida:** Estas sustancias son de acción letal sobre los microorganismos, por lo que éstos pierden irreversiblemente su viabilidad, son lisados, fagocitados o destruidos⁽²⁰⁾.

Espectro de actividad:

- **Amplio:** Actúan sobre la mayoría de especies microbianas como ejemplo podemos hablar de la Tetraciclina.
- **Intermedio:** Actúan sobre un número limitado de microorganismos especialmente bacterias como ejemplo tenemos a los Macrólidos.
- **Reducido:** Actúan sobre un pequeño número de especies microbianas las cuales desaparecerán como ejemplo tenemos la Polimixina⁽²⁰⁾.

Mecanismo de acción:

- Inhiben la síntesis de la pared celular.
- Alteran la permeabilidad celular.
- Inhiben la síntesis proteica.
- Inhiben la síntesis de DNA y RNA⁽²⁰⁾.

2.2.4.2 ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS

Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, constituyendo la familia más numerosa de antimicrobianos de amplio espectro y la más utilizada en la práctica clínica. Son compuestos de acción bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, que presentan escasa toxicidad para el ser humano y poseen un amplio margen (espectro) terapéutico⁽¹³⁾. La gran familia de antibióticos betalactámicos está constituida por:

PENICILINAS

Fueron los primeros antibióticos de origen biológico usados en la terapéutica. Originalmente se obtuvieron de una mezcla de penicilinas conocidas como F, G, K y X de cultivos del moho *Penicillium notatum*, aunque los mejores resultados se lograron con *P. chrysogenum*, del cual se pudo aislar la penicilina G “natural” (1). En la actualidad, el término penicilina se usa para denominar a un grupo de antibióticos de origen natural y semi-sintético, que tienen un núcleo básico común, el ácido 6-aminopenicilánico (6-APA)⁽¹⁹⁾.

Todas las penicilinas son bactericidas debido a su capacidad de inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana. Su principal inconveniente son las reacciones alérgicas que originan, las cuales se producen entre el 5 – 10% de las personas sanas normales. No obstante, éstas se encuentran entre los antibióticos más útiles y que con más frecuencia se prescriben^(14, 17,18).

En la actualidad se dispone de los siguientes tipos de penicilinas^(14, 17,18): Penicilina G: Se utiliza por vía intravenosa (penicilina G sódica o cristalina), intramuscular (penicilina G procaínica, penicilina G benzatínica) u oral (penicilina V). Es el antibiótico de primera elección en las infecciones causadas por estreptococos y en la sífilis. Muchas bacterias, sin embargo, la inactivan produciendo penicilinasas de origen cromosómico (penicilinasas “natural”).

Penicilinas resistentes a la penicilinas (tipo cloxacilina): Destruyen algunas bacterias grampositivas que producen penicilinas natural, como estafilococos y neumococos. Las más utilizadas son: oxacilina (por vía intravenosa) y dicloxacilina (por vía oral). Aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina): Tienen más actividad frente a las bacterias gramnegativas productoras de penicilinas natural, y al asociarse con inhibidores de betalactamasa (ácido clavulánico o sulbactam) también son efectivas contra bacterias que producen BLEA, como *Haemophilus influenzae*. Penicilinas anti-Pseudomonas (carbenicilina, mezlocilina y piperacilina): Como su nombre lo indica, actúan contra *Pseudomonas spp.* (Género de bacilo gramnegativo no fermentador, oxidasa positivo, que causa infecciones graves y multi-resistentes)^(14, 17,18).

CEFALOSPORINAS

Son antibióticos similares a las penicilinas y provienen de modificaciones químicas del anillo 7-amino-cefalosporánico, sintetizados por primera vez a partir de hongos del género *Cephalosporium*. Se clasifican en "generaciones", según el tipo de bacterias que destruyen⁽¹⁵⁾ :

- Cefalosporinas de 1ª generación (cefalexina, cefalotina, cefazolina, cefadroxilo, entre otras): Principalmente son útiles contra muchas bacterias gram positivas y sólo unas pocas gram negativas.
- Cefalosporinas de 2ª generación (cefuroxima, cefamandol, cefaclor, cefonicida, entre otras): Son efectivas contra pocos gérmenes gram positivos y gram negativos en igual proporción.
- Cefalosporinas de 3ª generación (ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona, cefpodoxima, cefixima, entre otras): Principalmente son muy eficaces contra muchas bacterias gram negativas y sólo unas pocas gram positivas.
- Cefalosporinas de 4ª generación (cefepima): Útiles contra *Pseudomonas spp.* y otras bacterias gram negativas relacionadas^(17,18).

MONOBACTÁMICOS Y CARBAPENÉMICOS

Son betalactámicos sintéticos con actividad preponderante contra bacterias gram negativas resistentes a las penicilinas y cefalosporinas ⁽¹⁶⁾ . Aztreonam es el principal representante de los monobactámicos e imipenem, meropenem y ertapenem constituyen el grupo de los carbapenémicos. La producción de BLEE por parte de ciertas enterobacterias (bacilos gram negativos fermentadores, oxidasa negativos, que habitan en el intestino de los animales superiores) les confiere resistencia al aztreonam, pero sensibilidad al imipenem ⁽⁶⁾ .

2.2.5 BETALACTAMASAS

Son enzimas producidas principalmente por bacilos gramnegativos, sobre todo *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli*, aunque también son frecuentes en *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa* y otros. Estas enzimas permanecen dentro de la célula e inactivan a los betalactámicos en el espacio periplásmico; esto es, en el espacio entre la membrana externa y la membrana citoplásmica ⁽²²⁾ .

La actividad de las betalactamasas constituye el principal mecanismo de resistencia de las bacterias a los antibióticos betalactámicos. Sus genes de producción pueden encontrarse en el cromosoma o en elementos genéticos extracromosomales (plásmidos, transposones e integrones).

2.2.5.1 BETALACTAMASAS DE AMPLIO ESPECTRO BLEA

Se han descrito tres grupos de bacterias productoras de betalactamasas.

Un primer grupo son productoras de betalactamasas “clásicas” o de amplio espectro (BLEA), las cuales infringen resistencia bacteriana contra aminopenicilinas y carboxipenicilinas; pero mantienen la sensibilidad a las cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos.

La base de este esquema de clasificación recae en la homología de las proteínas (similitud de aminoácidos) y no en las características fenotípicas.

Ambler divide a las betalactamasas en cuatro clases principales: (A, B, C y D).

Las de la clase A, han ampliado su espectro de acción mediado por mutaciones puntuales a partir de enzimas con actividad reducida a las penicilinas, como es el caso de las OXA derivadas.

Las clase A, que suelen ser sensibles a la acción del ácido clavulánico y presentan una menor actividad frente a meropenem que a imipenem, de estas la KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase) es la más ampliamente diseminada en todo el mundo⁽¹⁷⁾.

Las de clase B no presentan actividad frente a aztreonam y su acción es inhibida con EDTA.

Las enzimas de clase C están generalmente codificadas en el cromosoma bacteriano y son típicamente inducibles por betalactámicos.

Las enzimas de clase D constituyen un grupo reducido de enzimas plasmídicas con actividad incrementada sobre oxacilina.

La acción de los agentes antimicrobianos en la pared celular activa un mecanismo genético en cascada que inicia la producción de betalactamasa. La producción de betalactamasas inducibles cesa ante la ausencia de los agentes antimicrobianos en la pared celular o alrededor de ella.

Betalactamasas constitutivas son aquellas que la bacteria produce en forma continua. Un ejemplo de producción de betalactamasa constitutiva es la enzima cromosómica BLEA SHV-1 de *Klebsiella pneumoniae* que interviene en la resistencia contra ampicilina y ticarcilina^(14, 17,18).

La caracterización genética de aislamientos de *K.pneumoniae* KPC-3, de las carbapenemasas tipo KPC hidrolizan betalactámicos de todas las clases, nitrocefina, cefalotina, bencilpenicilinas, ampicilina y piperacilina son antibióticos siempre afectados en presencia de esta enzima.

Característicamente tienen un alto potencial de diseminación debido a su localización en plásmidos transferibles, se han aislado de diferentes especies bacterianas, principalmente en las enterobacterias, como *K. pneumoniae*,

microorganismo con alta capacidad para acumular y transferir determinantes de resistencia ¹⁷.

Estas enzimas se han asociado con grandes brotes de Gram negativos multirresistentes en hospitales en todo el mundo incrementándose el problema debido a las dificultades en el control de la infección por este microorganismo y a las altas tasas de mortalidad.

La mayoría de las infecciones y grandes brotes con *E. coli* Carbapenemase (ECR), ocurren cuando se requieren hospitalizaciones prolongadas, pacientes admitidos en UCI ^(14, 17,18).

2.2.5.2 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) derivadas como mutantes de las BLEA, típicamente codifican mutaciones puntuales que resultan en cambios de 1 a 4 aminoácidos. Estas sustituciones inducen alteraciones en el sitio activo de la enzima, que reducen la actividad de BLEE en *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* un grupo amplio de antibióticos que incluyen cefalosporinas de espectro extendido (de segunda, tercera y cuarta generación).

La frecuencia de las infecciones debidas a bacterias que producen BLEE difiere según el área geográfica y la institución de salud implicada.

El programa SENTRY las reporta con un 45% de frecuencia en Latinoamérica y sólo 7% en los Estados Unidos.

Las especies de *Klebsiella spp.* productoras de BLEE se reportan hasta en un 34%. La resistencia apareció concomitante al uso de cefalosporinas de tercera generación. Esas enzimas son producidas más comunmente por *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli*, pero se presentan también en otras bacterias gramnegativas como *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Serratia*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, y *Capnocytophaga ochracea* ⁽¹⁹⁾.

La BLEE se origina debido a la expresión de genes mutantes ya presentes en el cromosoma o en plásmidos de muchas bacterias. El 25 a 30% de las cepas de *E.*

coli son resistentes a la ampicilina, por poseer un plásmido portador del gen TEM-1⁽²⁹⁾.

Desde un punto de vista epidemiológico, el principal reservorio de bacterias productoras de BLEE resulta ser el tracto digestivo y su transmisión es fácil a partir de las manos de las personas. Se han extendido por todo el mundo y muchas veces generan brotes epidémicos, constituyendo una amenaza para la evolución favorable de las infecciones, sobre todo hospitalarias. En Latinoamérica y Ecuador la forma de BLEE más frecuente corresponde a los tipos TEM, SHV y CTX (esta última inducida por cefotaxima)⁽²⁹⁾.

2.2.6 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD BACTERIANA

Las pruebas de sensibilidad bacteriana se llevan a cabo mediante el antibiograma que sirve para medir la sensibilidad de una cepa bacteriana a uno o varios antibióticos. El estudio de la sensibilidad in vitro es uno de los requisitos previos para la eficacia in vivo de un tratamiento antibiótico. También es importante para realizar estudios sobre la evolución de las resistencias bacterianas que permite revisar los protocolos de la antibioticoterapia empírica⁽²⁹⁾.

2.2.6.1 LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBIDORA (CMI)

Es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico. Es la mínima cantidad de Antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas.

Es el método habitual utilizado en los laboratorios de Microbiología Clínica.

Para llevarlo a cabo es necesario utilizar cepas control (de referencia) con el fin de que los resultados sean reproducibles y comparables. Este método nos ofrece información sobre la sensibilidad de las bacterias S (sensible), I (intermedia) y R (resistente).

SENSIBLE si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual.

RESISTENTE si la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. No es de esperar ningún efecto terapéutico sea cual fuere el tipo de tratamiento.

INTERMEDIA cuando el éxito terapéutico es imprevisible. Se puede conseguir efecto terapéutico en ciertas condiciones (fuertes concentraciones locales o aumento de la posología)^(14, 17).

Las β -lactamasas de amplio espectro (BLEA) son enzimas producidas por bacilos gram-negativos, que se originan por mutación de los genes de β -lactamasas mediados por plásmidos convencionales. Las cepas de *Klebsiella* spp. y *E. coli* que producen β -lactamasas de amplio espectro (BLEA) pueden ser clínicamente resistentes a la terapia con penicilinas, cefalosporinas o aztreonam, a pesar de aparentar tener sensibilidad in vitro a algunos de estos agentes. Algunas de estas cepas mostrarán zonas de inhibición por debajo de la población normal de sensibilidad pero, por encima de los puntos límite normales para determinadas cefalosporinas de amplio espectro o aztreonam; dichas cepas pueden ser analizadas para detectar la posible producción de BLEA por medio de los puntos límite de los análisis de detección de BLEA antes de declarar resultados de penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro o aztreonam. Otras cepas pueden producir resultados intermedios o ser resistentes mediante los puntos límites normales a uno o más de estos agentes. En todas las cepas con BLEA, los diámetros de zona para una o más de las cefalosporinas de amplio espectro o aztreonam deben incrementarse en la presencia de ácido clavulánico, como se determina en las pruebas de confirmación fenotípicas. Los resultados del análisis deben ser interpretados como resistentes para todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam en todas las cepas productoras de BLEA⁽¹⁴⁾.

Existen diferentes técnicas de laboratorio que permiten medir o calcular de forma rutinaria, y de manera semicuantitativa, las CIM (métodos manuales y métodos automatizados o semiautomatizados). Se puede realizar mediante:

- 1.- Difusión en agar: Disco placa y E test
- 2.- Dilución: Medio sólido y Medio líquido (micro/macrodilución)
- 3.- Mecanizados y Automatizados ⁽¹⁴⁾.

2.2.6.2 LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.

Métodos

En un primer momento, el método estándar utilizado para las pruebas in vitro fue el de dilución en caldo, que proporcionaba un resultado cuantitativo.

Actualmente existen varios métodos que se utilizan para llevar a cabo los estudios de sensibilidad a los antibióticos y todos ellos se realizan bajo condiciones estandarizadas por organismos internacionales ⁽¹⁸⁾.

DILUCIÓN EN CALDO

Se colocan concentraciones decrecientes del agente antimicrobiano, generalmente diluciones 1:2, en tubos con un caldo de cultivo que mantiene el desarrollo del microorganismo.

Los antibióticos se preparan en “soluciones madre” concentradas y luego se diluyen en caldo hasta obtener las concentraciones apropiadas.

Un tubo de caldo se mantiene sin inocular como control negativo de crecimiento. Después de un periodo de incubación adecuada se observa la turbidez de los tubos que indica el desarrollo bacteriano.

El microorganismo crecerá en el tubo control y en todos los que no contengan suficiente antibiótico que sea capaz de inhibir su desarrollo ⁽¹⁸⁾.

La concentración de antibiótico que presente ausencia de crecimiento es la Concentración Mínima Inhibitoria. Para medir la Concentración Mínima Bactericida CMB se debe realizar la prueba de actividad bactericida, que emplea el mismo sistema de dilución en caldo que para medir la sensibilidad.

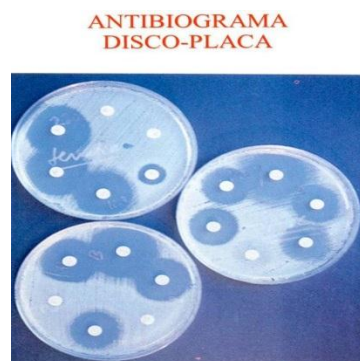
A partir de la CMI, se siembra una cantidad conocida de inóculo de cada uno de los tubos de caldo que no tienen turbidez en placas de agar, y el número de colonias que crece en estos subcultivos, después de incubar por un tiempo, se compara con el número de UFC/ml del cultivo original. La mínima concentración del agente antibacteriano que permite sobrevivir a menos de 0,1 % del inóculo original se denomina concentración bactericida mínima (CBM) ⁽¹⁸⁾.

DIFUSIÓN EN AGAR

Este método incorpora el antimicrobiano a discos de papel de filtro. Su introducción permitió agilizar la determinación de la sensibilidad de las cepas bacterianas frente a un número importante de antimicrobianos de forma simultánea. El empleo de los discos de papel de filtro para las pruebas de sensibilidad está estandarizado y se correlaciona con las CMIs.

Durante muchos años, y a pesar de ser una técnica puramente cualitativa, el método de difusión por disco (o método Kirby-Bauer), en función sobre todo de su comodidad, economía y fiabilidad, ha sido uno de los más utilizados en los laboratorios ⁽¹⁸⁾.

Gráfico N°2 Antibiograma Disco - Placa



Fuente: [https:// bacterias&espy](https://bacterias&espy).

El microorganismo a investigar se inocula en una o varias placas de agar y sobre su superficie se disponen los discos correspondientes a varios antibióticos.

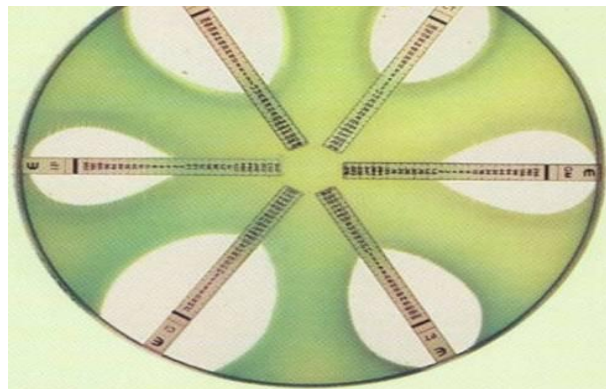
Se incuban las placas durante 16-24 horas y se estudia el crecimiento en ellas. Se valora el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor de cada disco y se compara con las referencias oportunas publicadas por la NCCLS.

De esta manera se sabe si el microorganismo es Sensible, Intermedio o Resistente a cada uno de los antibióticos ⁽¹⁸⁾.

MÉTODO DE E-TEST

Es un método más reciente, es una combinación de características de los métodos anteriores. Se trata de una técnica cuantitativa en placa que permite obtener una lectura directa de CMI en $\mu\text{g/ml}$, ya que se emplean tiras plásticas impregnadas en concentraciones crecientes de antibiótico.

Gráfico N° 3 de E - Test



Fuente: [https:// bacterias&espv](https://bacterias&espv).

El microorganismo se inocula en una placa y sobre ella se deposita la tira del antibiótico (o antibióticos) a ensayar. Se incuba durante 16-24 horas a 35°C y se valora la zona de inhibición alrededor de cada tira. La CMI se lee directamente observando el punto más bajo de la elipse que presente el crecimiento ⁽²⁰⁾.

MÉTODOS AUTOMATIZADOS

La mayoría de estos métodos utilizan sistemas de microdilución en medio líquido sobre microplacas con pocillos en “U” e interpretan el crecimiento bacteriano en los diferentes pocillos por medio de un autoanalizador (mediciones por turbidez o fluorescencia). Anteriormente se hacía por lectura óptica del técnico a través de un espejo invertido.

Son sistemas fáciles y rápidos, generalmente automatizada o semiautomatizada. Son métodos ideales para grandes volúmenes de trabajo. Una de sus grandes limitaciones es que sólo ofrecen garantía para investigar microorganismos de crecimiento rápido y que no tengan requerimientos especiales⁽²⁰⁾.

2.2.7 RESISTENCIA BACTERIANA

La resistencia bacteriana es la capacidad que tienen las bacterias de soportar los efectos de los antibióticos o biocidas destinados a eliminarlas o controlarlas.

El término resistencia múltiple o multirresistencia se utiliza cuando una cepa bacteriana es resistente a varios antimicrobianos o tipos de antimicrobianos distintos.

Por ejemplo, la tuberculosis multirresistente es resistente de forma simultánea a diversos antibióticos que pertenecen a diferentes grupos químicos.

Las bacterias de “resistencia cruzada” son aquellas que han desarrollado métodos de supervivencia eficaces frente a distintos tipos de moléculas antimicrobianas con uno o varios mecanismos de acción similares.

Las bacterias pueden transmitir parte de su material genético a otras bacterias. Se habla de “corresistencia” cuando la información genética que codifica varios mecanismos de resistencia no relacionados se transmite en una sola ocasión/un solo proceso y se expresa en los nuevos huéspedes bacterianos⁽²⁰⁾.

TIPOS DE RESISTENCIA

Natural o intrínseca.

Es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos, como lo demuestra el aislamiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos, de una edad estimada de 2000 años encontradas en las profundidades de los glaciares de las regiones árticas de Canadá.¹ Además, los microorganismos que producen antibióticos son por definición resistentes.

En el caso de la resistencia natural todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico⁽⁵⁾.

Adquirida.

Constituye un problema en la clínica, se detectan pruebas de sensibilidad y se pone de manifiesto en los fracasos terapéuticos en un paciente infectado con cepas de un microorganismo en otros tiempos sensibles.⁵

La aparición de la resistencia en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación.

En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético móvil como integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas.^{1,6}

De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos.

MECANISMOS DE RESISTENCIA

Las bacterias han desarrollado varios mecanismos para resistir la acción de los antibióticos. El primero de ellos es por la posición de un sistema de expulsión activa del antimicrobiano, una especie de bomba expulsora que utilizan las bacterias para la excreción de productos residuales o tóxicos, con la que puede eliminar además muchos de estos agentes antibacterianos^{1-3,7}.

El segundo, se realiza mediante la disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana, con la pérdida o modificación de los canales de entrada (porinas).

La producción de enzimas inactivantes de los antibióticos constituye el tercer mecanismo.

De esta forma son inhibidos los aminoglucósidos,⁷ el cloranfenicol por la acetil transferasa,⁷ y el caso más típico, el de las beta lactamasas, para el grupo de los beta lactámicos.^{8,9} En años recientes la aparición de beta lactamasas de amplio espectro que incluyen a las antibetalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam), dificulta el uso de estos antibióticos tan utilizados.¹⁰

Por último, algunos antibióticos ejercen su acción contra las bacterias uniéndose a una proteína esencial para la supervivencia de estas. La resistencia bacteriana se produce cuando el germen modifica la proteína diana, y cambia su función o produce enzimas distintas^(8,9,11).

RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS

Los antibióticos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos) inhiben la síntesis de la pared celular de las bacterias susceptibles al unirse a varios tipos de proteínas estructurales, como las proteínas fijadoras de penicilinas (PBP) localizadas sobre la superficie de la membrana citoplasmática. Aunque penetran con facilidad la envoltura de las bacterias grampositivas, en los gérmenes gramnegativos sólo pueden ingresar a través de las porinas ubicadas en la bicapa lipídica externa⁽¹⁹⁾.

Los mecanismos de resistencia bacteriana contra los betalactámicos son:

- Cambios en la estructura de las proteínas PBP, que impiden la unión del antibiótico a su lugar de acción.
- Alteraciones en las porinas de la membrana externa, disminuyendo la permeabilidad del fármaco hacia el interior de la pared bacteriana. • Extracción activa o bomba de flujo, que reduce las concentraciones de antibiótico disponible.
- Producción de betalactamasas, que inactivan al antimicrobiano (inhibición enzimática).

MODIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS PBP

Puede ocurrir por mutación de los genes que codifican para estos péptidos o por la adquisición de genes extraños que codifican para nuevas proteínas PBP con menor afinidad por los antibióticos betalactámicos. Este mecanismo de resistencia es importante en ciertos cocos grampositivos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y en bacterias gramnegativas como *Neisseria spp.* Y *H. influenzae*. Recientemente se han encontrado varias cepas de *Proteus spp.* Resistentes a imipinem como resultado de la modificación estructural de las PBP.

IMPERMEABILIDAD DE LA PARED POR CAMBIOS EN LAS PORINAS

Mecanismo descrito con mayor frecuencia en gérmenes gramnegativos. Consiste en la modificación de las porinas de la membrana externa (como resultado de mutaciones cromosómicas), de manera que la penetración del antibiótico es más difícil y se reduce en gran medida la cantidad del fármaco que puede interactuar con las PBP.

Gérmenes como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* presentan alteraciones de las porinas que impiden el ingreso de betalactámicos y quinolonas (familia de antibióticos bactericidas que inhiben la DNA-girasa, cuyos representantes más conocidos son ciprofloxacino y norfloxacino). Cuando la mutación ocurre para una porina compartida por varios

medicamentos, la resistencia suele ser múltiple. En otras ocasiones, la porina es específica para determinado agente y por lo tanto, la resistencia también lo es (por ejemplo la resistencia de *P. aeruginosa* a los compuestos carbapenémicos).

2.2.8. HIPÓTESIS

Hi.-Las enzimas BLEE producidas por *K. pneumoniae* producen resistencia a los antimicrobianos” y se rechaza la Hipótesis Nula.

Ho.-Las enzimas BLEE producidas por *K. pneumoniae* no producen resistencia a los antimicrobianos.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación que se realizó fue de carácter:

Descriptivo

Porque se describió la situación de las infecciones urinarias y de la resistencia bacteriana en muestras de orina de pacientes hospitalizados, se estudió la evolución de la infección y los factores de riesgo mediante datos obtenidos, de encuestas y el estudio microbiológico, con las herramienta requeridas en el Laboratorio Clínico del hospital Latacunga.

Correlacional

Se relacionó la variable dependiente: Determinación de enzimas BLEE producidas por *Klebsiella pneumoniae* con la variable independiente la resistencia a los antimicrobianos para aportar con un análisis de asociación de las variables a través de métodos estadísticos, la cual permitió la validación de las hipótesis.

Investigación Mixta (Campo-Laboratorio)

Fue una investigación de campo porque la información obtenida fue directa de la población investigada es decir que se trabajó en el lugar de los hechos como es el Hospital de Latacunga, teniendo contacto de manera directa con la realidad que presentan las pacientes con el fin de obtener información necesaria.

Fue de Laboratorio porque se realizaron cultivos bacterianos en el Laboratorio Clínico en el Hospital de Latacunga de manera cuantitativa. Dicha información nos ayudó a cumplir los objetivos planteados.

3.2 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

CAMPO: Salud - Laboratorio Clínico

ÁREA: Microbiología Clínica

ASPECTO: Resistencia bacteriana de *Klebsiella pneumoniae*.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

Población

Se analizaron 300 muestras de pacientes hospitalizados a los que se les realizó cultivos de orina. De los cuales en 100 se obtuvo crecimiento bacteriano, 200 resultaron negativos.

De los 100 positivos, solo en 40 se obtuvo el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*, por lo tanto estas muestras se constituyen en la población motivo de muestro de estudio

Se realizó la investigación con 40 cepas de *Klebsiella pneumoniae* que fueron identificadas a partir de la población original en el laboratorio de Microbiología del Hospital de Latacunga.

Criterios de Inclusión

- Muestras con cultivo positivo para *Klebsiella pneumoniae*.
- Que sean sospechosas de producir BLEE
- Que cuenten con consentimiento informado para poder realizar el estudio.

Criterios de Exclusión

- Muestras con una baja concentración bacteriana
- Muestras con cultivo positivo para otras bacterias.
- Muestras de *Klebsiella pneumoniae* con halos de Sensibilidad de ≥ 5 mm a Aztreonam.

3.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

3.4.1 Variable Independiente: Resistencia a los antimicrobianos

CONCEPTUALIZACION	DIMENCIONES	INDICADORES	ITEMS	TECNICA	INSTRUMENTO
Es un fenómeno por el cual un microorganismo presenta inmunidad a los efectos de los antimicrobianos como son los antibióticos	<p>Inmunidad</p> <p>Efecto antibiótico</p> <p>Falta de sensibilidad a los antibióticos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Sensible • Resistente <p>Producción de enzima BLEE</p>	<p>¿Ha suspendido alguna vez su tratamiento?</p> <p>¿Tiene conocimiento sobre los beneficios de un adecuado tratamiento?</p> <p>¿Se ha auto medicado?</p>	<p>Observación</p> <p>Cultivo y Antibiograma</p>	<p>Registro de notas</p> <p>Archivos Físicos</p>

Elaborado por: El investigador

Fuente: Investigación de campo

3.4.2 Variable Dependiente: Determinación de enzimas BLEE producidas por *Klebsiella pneumoniae*

CONCEPTUALIZACION	DIMENSIONES	INDICADORES		ITEMS	TECNICA	INSTRUMENTOS
La determinación de las β-lactamasas de espectro extendido nos permite identificar mediante técnicas estandarizadas si son enzimas capaces de generar resistencia a los antibióticos betalactámicos y Cefalosporinas incluyendo las de 4 ^{ta} cuarta generación.	Técnicas estandarizadas	ANTIBIOTICO-CONCENTRACION	HALO DE INHIBICION	<i>¿Klebsiella pneumoniae</i> producirá BLEE?	Observación Antibiograma	Registro de notas Protocolo Microbiológico CLSI
			POSIBLE BLEE			
		Aztreonam 30mg	≤ 27 mm			
		Ceftazidima 30mg	≤ 22 mm			
		Cefotaxima 30mg	≤ 27 mm			
	Ceftriaxona 30mg	≤ 25 mm				
Resistencia a los betalactámicos y cefalosporinas	Fracaso Terapéutico					

Elaborado por: El investigador

Fuente: Investigación de campo

3.4. DESCRIPCION DE LA INTERVENCION Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCION DE INFORMACION.

Para la recolección de la información de los datos que fueron necesarios para la elaboración de este proyecto de investigación se procedió del siguiente modo:

1. Se verificó los recursos humanos y económicos disponibles para realizar el estudio.
2. Se presentó una solicitud al director del Hospital Provincial General de Latacunga durante el periodo de Febrero – Abril del 2015 para que nos extienda el permiso de poder proceder con la ejecución del proyecto de investigación.
3. Después de la aceptación de la solicitud se procedió a seleccionar la población y la muestra para el estudio.
4. Se procedió a pedir el consentimiento informado para el estudio.
5. Se procedió al reconocimiento del área de trabajo y de los equipos en donde se realizaron todos los procesos de nuestra investigación
6. Se procesaron los cultivos de orina usando protocolos CLSI.
7. Se estudiaron 40 muestras de orina con cultivo positivo para *Klebsiella pneumoniae* identificadas en el laboratorio de Microbiología del Hospital de Latacunga el periodo de Febrero – Abril del 2015.

PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Revisión de la información

Una vez que se recogieron todos los datos aplicando los instrumentos necesarios se procedió a la revisión de información para detectar errores, eliminar inconsistencias y organizar los datos de forma clara y precisa para su posterior tabulación.

Para la tabulación de datos se utilizó el programa informático EXCEL en el cual se desarrollaron cuadros, gráficos luego de lo cual se procedió con el análisis e interpretación de los mismos para sacar las conclusiones.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Para la recogida, transporte y manipulación de muestras podrán tenerse en cuenta los protocolos establecidos por la CLSI.

La correcta recogida y conservación de la orina para urocultivos es fundamental para que puedan obtenerse resultados fiables.

Los puntos clave son:

- Mujeres: Obtención de la primera orina de la mañana previo aseo genital, se debe desechar el inicio del chorro y tomar la muestra del chorro medio de la orina.
- Hombres: Retracción del prepucio de manera que el chorro de orina salga directamente.

EXAMEN MICROSCÓPICO

El procedimiento elegido debe permitir:

- Recuento de leucocitos al menos semicuantitativo
- Detección de células epiteliales (CE): su presencia indica muy probablemente contaminación de la muestra por contacto con secreciones de genitales externos, por lo tanto la muestra no es apta para el cultivo

IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

El procedimiento para la identificación bacteriana es el siguiente:

EL GRAM DE GOTA FRESCA

Permite establecer en forma aproximada el número de bacterias presentes y se considera que una orina contiene más de 100.000 colonias /ml o 10^5 UFC/ml, si existe al menos una bacteria por campo en 20 campos observados con lente de inmersión.

Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana, como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana,

considerándose bacterias Gram positivas a las que se visualizan de color morado, y bacterias Gram negativas a las que se visualizan de color rosa.

Procedimiento

- Recoger muestras de calidad analítica
- Colocar una gota de orina sin centrifugar en el centro de un portaobjetos.
- Dejar secar a temperatura ambiente o fijarlas utilizando un mechero.
- Agregar azul violeta (cristal violeta o violeta de genciana) y esperar un minuto.
- Enjuagar con agua.
- Agregar lugol y esperar un minuto aproximadamente.
- Enjuagar con agua.
- Agregar alcohol acetona y esperar entre 5 y 30 segundos según la concentración del reactivo.
- Enjuagar con agua.
- Tinción de contraste agregando safranina o fucsina básica y esperar un minuto. Este tinte dejará de color rosado-rojizo las bacterias Gram negativas y de color morado a las bacterias Gram Positivas.

NO SE CULTIVARÁN

Por no ser muestras adecuadas:

- Catéteres de Foley.
- Orina de micción o de catéter para anaerobios.
- Orinas de más de 2 horas de su recogida sin conservación adecuada.

CULTIVO

Se siembra cuantitativamente, con asa calibrada de 0.5 umL sobre el agar sangre + agar MacConkey, incubar a 35-37° C en aerobiosis durante 24-48 horas.

Lectura de cultivo en UFC/ml

Menos de 1.000 ó 10.000 UFC, se informará:

“Menos de 1.000 ó 10.000 UFC/ml”.

De 10.000 a 100.000 UFC/mL.

- Un patógeno sin células epiteliales

Informar microorganismo, número de colonias, antibiograma y valorar clínicamente

- Dos patógenos

Informar microorganismos, número de colonias y solicitar nueva muestra.

- Más de dos patógenos

Informar “Cultivo mixto, probable contaminación”.

> 100.000 ó más UFC/mL.

- Un patógeno

Informar identificación más antibiograma

- Más de dos especies

Informar “cultivo mixto, probable contaminación”.

- Con ayuda de un hisopo tomamos una cantidad de la muestra y formamos este símbolo (>).

- Con ayuda del aza de platino estriamos toda la placa Petri formando cuatro lados estriados y culminamos el estriado en el centro de la placa.

- Almacenamos la placa Petri de forma invertida e incubamos a 37°C durante 24h.
- Luego se realizó las pruebas bioquímicas para su identificación

Pruebas Bioquímicas

Las pruebas o ensayos bioquímicos, son pruebas simples que se han desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas o determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc.

No significan de ninguna manera un estudio profundo del metabolismo bacteriano. Para llevarlas a cabo, se pueden utilizar diferentes sistemas de trabajo (medio de cultivo, indicador, revelador, etc.) que puede ser diferente aún para el mismo ensayo si se trata de diferentes microorganismos, por ejemplo se debe suplir con factores de crecimiento el medio de cultivo para estudiar la fermentación de distintos azúcares cuando se sabe que el microorganismo en estudio es exigente.

Citrato

El citrato de sodio es una sal del ácido cítrico, un compuesto orgánico simple que constituye uno de los metabolitos del ciclo de los ácidos tricarbónicos. Generalmente los microorganismos que emplean el citrato como única fuente de carbono, utilizan sales de amonio como única fuente de nitrógeno.

Siembra:

Inocular el tubo con agar Citrato de Simmons realizando siembra por estría tomando una colonia del microorganismo en estudio. Incubación Incubar a 37 oC por 24 horas.

Interpretación de Resultados:

El desarrollo de un color azul intenso en 24-48 horas indica una prueba positiva y revela que el microorganismo en estudio ha sido capaz de utilizar el citrato en el medio con la formación de productos alcalinos. La prueba también es positiva en ausencia de color azul si existe crecimiento del microorganismo a lo largo de la estría de inoculación⁹.

Urea

Medio utilizado para diferenciar microorganismos en base a la actividad ureásica. Se utiliza para identificar bacterias que hidrolizan urea, tales como *Proteus spp.*, otras enterobacterias y estafilococos.

En el medio de cultivo, la tripteína y la glucosa, aportan los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el rojo de fenol es el indicador de pH.

El agar es el agente solidificante. Las bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberan amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio de cultivo haciendo virar el indicador rojo de fenol del color amarillo al rojo.

Es recomendado especialmente para la detección de la actividad ureásica en bacterias que hidrolizan lentamente la urea ya que la fermentación de la glucosa presente activa la enzima ureasa microbiana.

Siembra:

Inocular el microorganismo en estría en la superficie del agar en pico de flauta. Incubación Incubar por 24h a 37°C.

Interpretación de Resultados

Un cambio de color del medio a Rojo fucsia indica que la urea fue hidrolizada por la ureasa del microorganismo. Ausencia de cambio de color indica reacciona negativa⁹.

SIM

Sulfide Indole Motility (SIM); se utiliza para determinar la producción de sulfuro, formación de indol y movilidad de los microorganismos entéricos. Medio de cultivo en el cual la tripteína y la peptona aportan nutrientes para el desarrollo microbiano.

El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas y particularmente de la tripteína y puede ser metabolizado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa.

El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Ehrlich o de Kovacs, para originar un compuesto de color rojo. A partir del tiosulfato de sodio los microorganismos pueden generar ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro presente formándose un compuesto de color negro. El agar es el agente solidificante y a esta concentración le otorga al medio la propiedad de ser semisólido, condición necesaria para detectar movilidad, que se evidencia por el enturbiamiento del medio o por crecimiento que difunde más allá de la línea de siembra del microorganismo en estudio.

Siembra:

Inocular al medio realizando siembra por picadura hasta la mitad del medio a partir del cultivo del microorganismo en estudio. Incubación Incubar 24 horas a 37o C. al finalizar este periodo añadir 5 gotas del reactivo de Erlich o Kovacs por la pared del tubo.

Interpretación de Resultados

Producción de Hidrógeno Sulfurado (H₂S) Positivas: Ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.

Negativas: El medio permanece sin cambio de color. Producción de Indol El desarrollo de un color rojo-fucsia en la interfase reactivo-medio de cultivo,

segundos después de añadir el reactivo de Erlich o Kovacs indica la presencia de indol y por lo tanto una prueba positiva.

Motilidad Formación de nata la parte superior de medio indica viabilidad del microorganismo, desarrollo de turbidez hacia los lados de la estría de inoculación indica motilidad positiva.

Rojo de Metilo y Voges Proskauer:

Medio utilizado para la realización del ensayo de Rojo de Metilo y Voges Proskauer. Es particularmente útil para la clasificación de enterobacterias. En el medio de cultivo, la pluripeptona aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano y la glucosa es el hidrato de carbono fermentable. La glucosa puede ser metabolizada por los microorganismos, a través de distintas vías metabólicas.

La prueba Rojo de metilo

Es cuantitativa para la producción de ácido y requiere que los microorganismos produzcan ácidos fuertes a partir de la glucosa, de forma que el medio del pH descienda a menos de 4.4.

Esta distinción puede hacerse a través del indicador rojo de metilo que presenta color amarillo por encima de un pH de 5.1 y solo presenta color rojo cuando el pH desciende a 4.4.

Siembra:

Inocular en el caldo RMVP con una colonia del cultivo del microorganismo en estudio.

Incubación:

Incubar 24-48 horas a 37° C.

Interpretación de Resultados

Rojo de Metilo el desarrollo de un color rojo estable en la superficie del medio indica que la producción de ácido es suficiente como para bajar el pH a 4.4 y es una prueba positiva.

Cuando ocurre la formación de un color amarillo la prueba es negativa.

Voges Proskauer

Determina la capacidad de algunas bacterias para generar un producto final neutro (acetoina y 2,3 Butanodiol) a partir de la fermentación de la glucosa. Los productos neutros formados en la presencia de oxígeno atmosférico, alcalisis (Hidróxido de Potasio al 40%) y peptonas, se oxidan en diacetilo, reactante para el color producido en la reacción. El α naftol actúa como catalizador para revelar un complejo color rojo.

Siembra:

Inocular en el caldo RMVP con una colonia del cultivo del microorganismo en estudio.

Incubación:

Incubar 24-48 horas a 37° C. finalizado este periodo dividir el contenido en dos tubos al primer tubo adicionar 5 gotas del revelador Rojo de metilo, al segundo tubo adicionar los reactivos reveladores 6 gotas (0.6ml) de la solución de Alfa Naftol y 2 gotas (0.2ml) de la solución de Hidróxido de Potasio al 40%, dejar en reposo durante 10-15 minutos.

Interpretación de Resultados.

Voges Proskauer una prueba positiva está indicada por el desarrollo de un color rojo a los 15 minutos de añadido los reactivos reveladores por la presencia de acetoína.

Una prueba negativa da un color cobrizo.

Con la ayuda de una aguja de platino tomamos una colonia y la estiramos en un portaobjetos con solución salina para hacer un Gram.

Con el gram y las pruebas bioquímicas confirmamos de que se trata un bacilo Gram negativo, en este caso la bacteria *Klebsiella Pneumoniae*.

TÉCNICA DE KIRBY BAUER PARA EL ANTIBIOGRAMA

Para realizar el antibiograma seguimos los siguientes pasos:

- Preparar el medios de cultivo agar Mueller Hinton.
- Preparamos un inóculo tomando con el asa de platino una colonia, Ajustamos la turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de Mc. Farland

PREPARACION DEL INOCULO

Seleccionar 4 6 5 colonias del microorganismo en estudio, preferencialmente de un cultivo puro o de un cultivo en que se haya obtenido el aislamiento primario del microorganismo. No utilizar cultivos de más de 24 horas.

Transferir estas colonias, simplemente tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica a un tubo que contenga de 3-5 C.C. de caldo estéril de Mueller-Hinton o de Trypticase-soya.

Incubar este cultivo a 35°C. por un tiempo prudencial de 2 a 8 horas hasta que se produzca un crecimiento moderado.

Diluir el cultivo con solución salina estéril o caldo estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland lo cual corresponde aproximadamente a 10⁸ microorganismos viables por ml ⁶.

SIEMBRA DE LA MUESTRA

Cuando ha habido una infección nosocomial causada por *Klebsiella pneumoniae*, las cepas aisladas se someterán simultáneamente al sistema de detección de BLEE en base a las normas de difusión de discos para antibiograma recomendadas por el CLSI

1. Sumergir un aplicador de algodón estéril, dentro de la suspensión del microorganismo en estudio. No usar cultivos sin diluir.

2. Colocar el aplicador por encima del nivel del contenido del tubo y rotar contra las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.

3 Sembrar el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio con el aplicador.

Hacer esta siembra en tres direcciones y bordes. Evitar inóculos muy concentrados o muy diluídos.

4. Permitir que la superficie del medio sembrado se seque durante 5-20 minutos, manteniendo la caja con la tapa cerrada.

5. Colocar los discos sobre la superficie del agar con un dispensador o con pinzas estériles; con éstas, presionar los discos ligeramente sobre el agar para asegurar un contacto uniforme.

6. Se coloca los discos para antibiograma de enterobacterias que recomienda el CLSI (aztreonam, ceftazidima y cefotaxima), amoxicilina + ácido clavulánico y cefoxitina; de la manera que se muestra a continuación: ATM 30 µg 2,0cm CAZ 30 µg 2,0cm AMC 20/10 µg 2,0cm CTX 30 µg 3,0cm FOX 30 µg ATM = aztreonam, CAZ = ceftazidima, AMC = amoxicilina + ácido clavulánico, CTX = ceftriaxona, FOX = cefoxitina ².

A partir de la misma caja Mac Conkey, se siembra también en una placa de detección de BLEA Vitek®, de acuerdo a las especificaciones de la casa fabricante.

7. A las 18 horas de incubación a $35 \pm 2^\circ$ C, como recomienda el CLSI, se procede a observar y medir los diámetros de los halos de inhibición para cada disco de antibiograma en la caja de Mueller-Hinton sembrada.

8. Se analiza los valores y los resultados se interpreta de la siguiente manera

Gráfico N° 4 de Halos de Sensibilidad



Fuente: [https:// bacterias&espv](https://bacterias&espv).

MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICON

Medir la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada.

Medir el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con una regla sobre el respaldo de la caja de Petrí sin remover la tapa.

Una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición. Si se ha usado agar sangre para la prueba, la medición de la zona de inhibición debe hacerse sobre la superficie removiendo la tapa de la caja.

Si se necesita un resultado muy rápido, el diámetro de la zona de inhibición puede leerse después de 6-8 horas de incubación pero estas lecturas deben confirmarse posteriormente, al término del período de incubación de 18 horas.

ANTIBIOTICO-CONCENTRACION	HALO DE INHIBICIÓN
Aztreonam 30mg	≤ 27 mm
Ceftazidima 30mg	≤ 22 mm
Cefotaxima 30mg	≤ 27 mm
Ceftriaxona 30mg	≤ 25 mm

Tabla N° 2 Antibiótico – Concentración

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos deben interpretarse de acuerdo con el CLSI

Para la prueba alternativa en estudio, se considerará como “positivo para BLEE” solamente cuando se den simultáneamente:

- 1) Halos de resistencia para uno o más de los betalactámicos ceftazidima, cefotaxima o aztreonam.
- 2) Deformación de los halos normalmente circulares, con ensanchamiento del hemi-diámetro cercano al disco de amoxicilina + ácido clavulánico.
- 3) Halo de sensibilidad a cefamicina (cefoxitina).

Para la misma prueba, se considerará como “positivo para betalactamasas no-BLEE (BLEA)” (otro tipo de betalactamasas como AmpC y metaloenzimas) si se observaran los fenómenos 1 ó 2 por separado y/o si hubiera resistencia a la cefoxitina.

Finalmente, se considera como “negativo para BLEE y BLEA” si no hay ninguno de los 3 fenómenos (es decir, halos circulares dentro del rango de sensibilidad para ceftazidima, cefotaxima y aztreonam).

TEST CONFIRMATORIO DE LA PRESENCIA DE BLEE SEGÚN EL CLSI.

- Este test requiere el uso de discos habituales de Ceftazidima 30mg y de Cefotaxima 30mg así como de Ceftazidima/Acido Clavulánico (30mg/10mg) Cefotaxima/Acido Clavulánico (30mg/10mg) con los que se realiza el test de disco difusión sin ninguna variante.
- Si los discos de Ceftazidima/Acido Clavulánico y Cefotaxima/Acido Clavulánico presentan zonas de inhibición superiores a 5mm. a aquellos

producidos por el disco de Ceftazidima y Cefotaxima respectivamente, se considera el test como positivo.

3.5. ASPECTOS ETICOS

Hay que tomar en cuenta los artículos de la constitución como:

Salud

Art. 32.-La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir.

El Estado garantizará este derecho mediante políticas económicas, sociales, culturales, educativas y ambientales; y el acceso permanente, oportuno y sin exclusión a programas, acciones y servicios de promoción y atención integral de salud, salud sexual y salud reproductiva. La prestación de los servicios de salud se regirá por los principios de equidad, universalidad, solidaridad, interculturalidad, calidad, eficiencia, eficacia, precaución y bioética, con enfoque de género y generacional.

El concepto de Sumak Kawsay ha sido introducido en la Constitución ecuatoriana de 2008, con referencia a la noción del “vivir bien” o “Buen Vivir” de los pueblos indígenas. Posteriormente fue retomado por el Plan Nacional para el Buen Vivir 2009-2013. Se trata entonces de una idea central en la vida política del país. Por esta razón es importante analizar su contenido, su correspondencia eventual con la noción de “Bien Común de la Humanidad” desarrollado en el seno de la Organización de las Naciones Unidas, y sus posibles aplicaciones en las prácticas internacionales. La pertinencia de esta referencia está reforzada por el conjunto de las crisis provocadas por el agotamiento del sistema capitalista.

Consentimiento informado

En el presente Proyecto de Investigación se utilizó el Consentimiento Informado para explicarles a los pacientes los pormenores de la práctica que se les va a efectuar y de pedirle su permiso expresamente resguardando los derechos humanos.

El consentimiento informado se aplicó a los pacientes.

Se considera que el consentimiento informado implica que el investigador se asegure de que los consiguientes elementos le han quedado claro a los representantes:

- Características de la decisión o el procedimiento.
- Importancia de la decisión.
- Riesgos, Beneficios, Incertidumbres de cada opción.
- Costo de los procedimientos.
- Aceptación o rechazo de la decisión o el procedimiento por parte del enfermo.

El trabajo de investigación fué de absoluta confidencialidad en todos los aspectos salvaguardando la integridad del paciente.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TABULACIÓN

Se estudiaron 40 muestras de orina de pacientes hospitalizados, en el periodo Febrero – Abril del 2015 en el Hospital de Latacunga con cultivos positivos para *Klebsiella pneumoniae*.

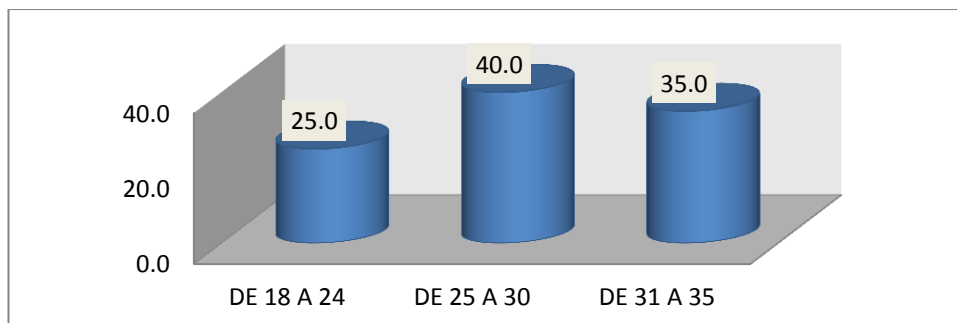
1.- Edad.

Tabla N° 3 Edad

RANGOS	EDAD	
	f	%
DE 18 A 24	10	25,0
DE 25 A 30	16	40,0
DE 31 A 35	14	35,0
TOTAL	40	100,0

Fuente: Historia Clínica
Elaborado por: El Investigador

Gráfico N°5 Edad



Fuente: Historia Clínica
Elaborado por: El Investigador

Análisis:

En el caso de los rangos de edad, 10 pacientes están entre 18 y 24 años lo que representa el 25.0%, 16 pertenecen al rango entre 25 y 30 años correspondiendo el 40.0 % y 14 pertenecen al rango de edad entre 31 y 35 años que corresponden al 35.0 %

Interpretación:

Los pacientes en el Hospital de Latacunga que se encuentran en el rango de edad entre los 25 a los 30 años de edad son los de mayor frecuencia en el grupo de estudio.

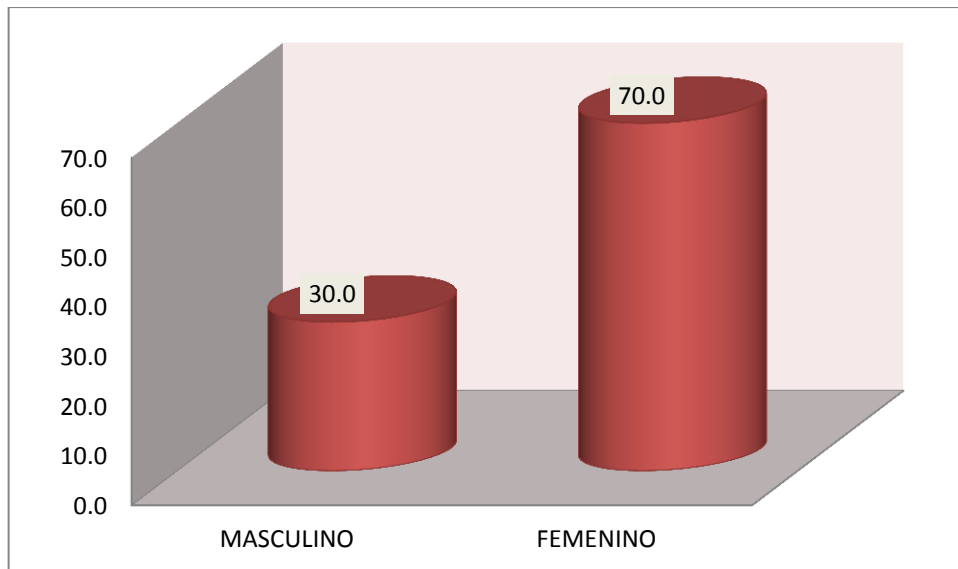
2.- Género

Tabla N° 4 Género

SEXO	f	%
	MASCULINO	12
FEMENINO	28	70,0
TOTAL	40	100,0

Fuente: Historia Clínica
Elaborado por: El Investigador

Gráfico N°6 Género



Fuente: Historia Clínica
Elaborado por: El Investigador

Análisis:

En el caso del género de los pacientes analizados, 12 son masculinos que representa el 30.0 % y 28 son femeninos que representan el 70.0 %.

Interpretación:

Los pacientes del género Femenino hospitalizados en el Hospital de Latacunga son los de mayor frecuencia en el grupo de estudio.

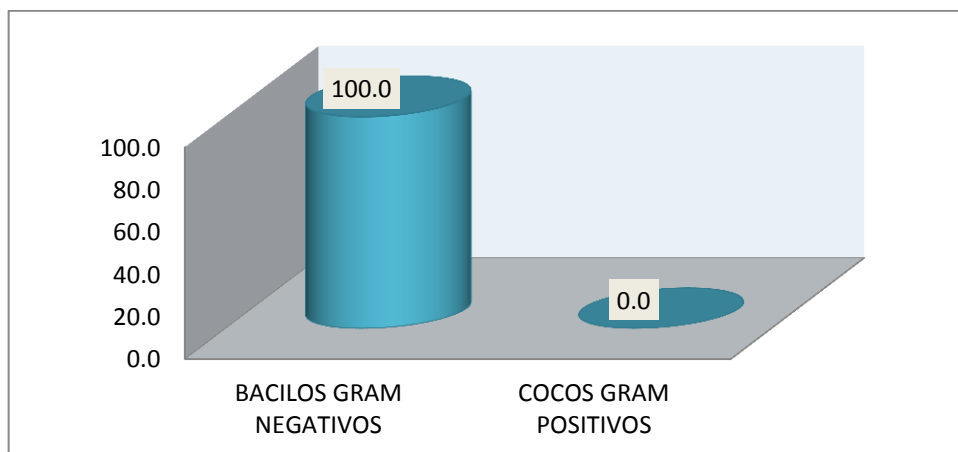
3. Observación del GRAM DE GOTA FRESCA

Tabla N° 5 Observación del GRAM DE GOTA FRESCA

	GRAM	
	f	%
BACILOS GRAM NEGATIVOS	40	100,0
COCOS GRAM POSITIVOS	0	0,0
	40	100,0

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología
Elaborado por: El Investigador

Gráfico N°7 Observación del GRAM DE GOTA FRESCA



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología
Elaborado por: El Investigador

Análisis:

En el caso del Gram de gota fresca 40 muestras presentaron Bacilos GRAM negativos, que corresponden al 100 %.

Interpretación:

La totalidad de las muestras presentaron Bacilos Gram negativos.

4. Antibiograma

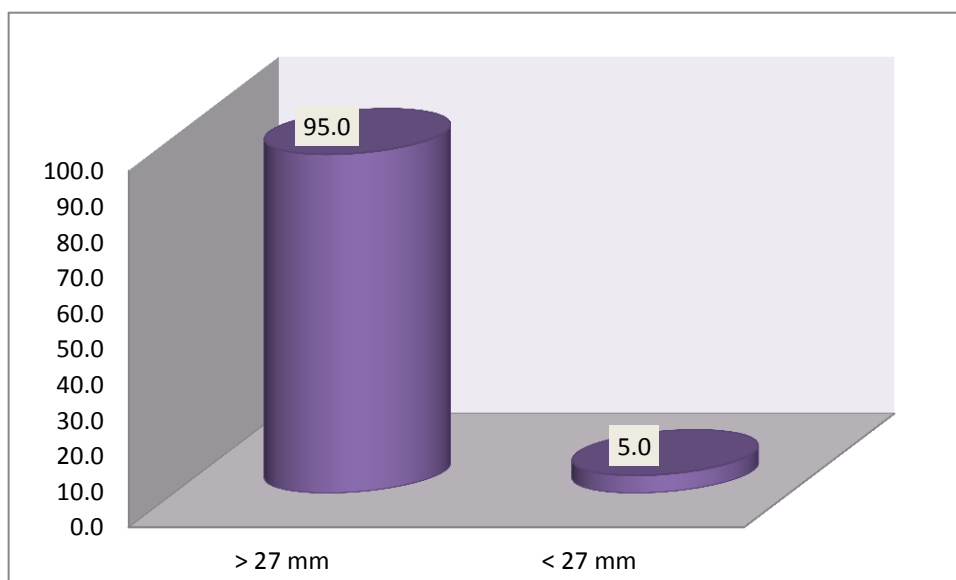
Tabla N° 6 Antibiograma

Halos	Aztreonam 30mg	
	f	%
> 27 mm	38	95,0
≤ 27 mm	2	5,0
TOTAL	40	100,0

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 8 Antibiograma



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

38 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 27 mm lo que corresponde al 95% y 2 muestras presentaron un halo de inhibición menor a 27mm correspondiendo al 5%.

Interpretación:

El 95% de las muestras fueron sensibles a Aztreonam de 30 mg y el 5% de las mismas corresponden a una posible producción de enzimas BLEE.

5. Antibiograma

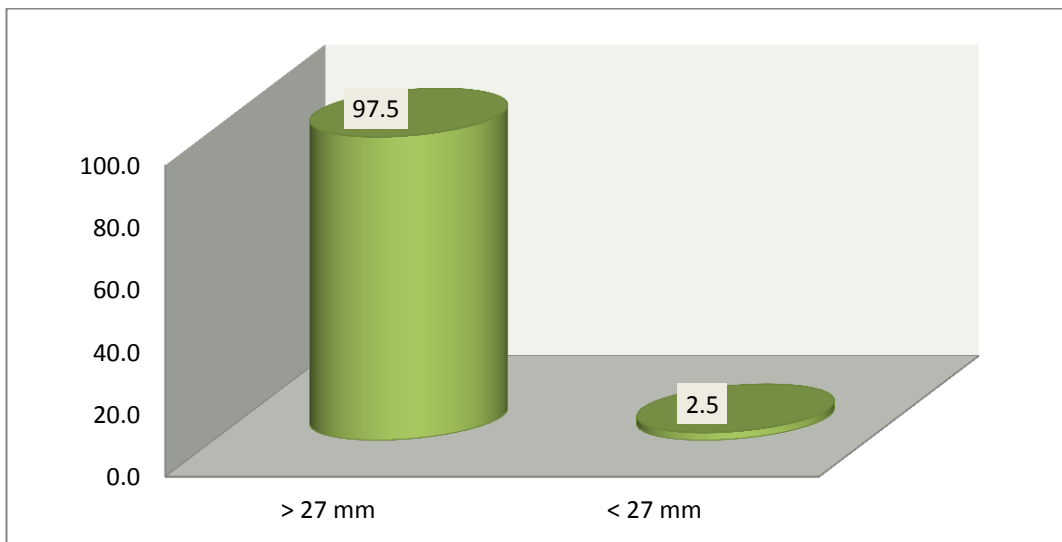
Tabla N° 7 Antibiograma

Halos	Cefotaxima 30mg	
	f	%
> 27 mm	39	97,5
≤ 27 mm	1	2,5
TOTAL	40	100,0

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 9 Antibiograma



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

Para la Cefotaxima de 30 mg 39 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 27 mm que corresponden al 97.5% y 1 muestra un halo de inhibición menor o igual a 27 mm que corresponde al 2.5%

Interpretación:

El 97.5% de las muestras fueron sensibles a Cefotaxima de 30 mg y el 2.5% de las mismas corresponden a una posible producción de enzimas BLEE.

6. Antibiograma

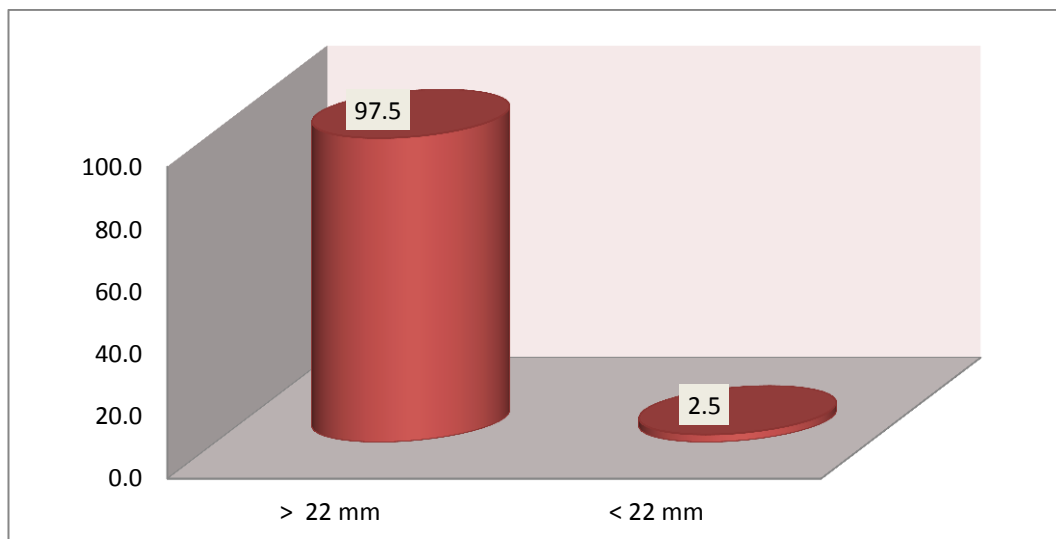
Tabla N° 8 Antibiograma

Halos	Ceftazidima 30mg	
	f	%
> 22 mm	39	97,5
≤ 22 mm	1	2,5
TOTAL	40	100,0

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 10 Antibiograma



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

Para la Ceftazidima de 30 mg 39 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 22 mm que corresponden al 97.5% y 1 muestra un halo de inhibición menor o igual a 22 mm que corresponde al 2.5%

Interpretación:

El 97.5% de las muestras fueron sensibles a Ceftazidima de 30 mg y el 2.5% de las mismas corresponden a una posible producción de enzimas BLEE

7. Antibiograma

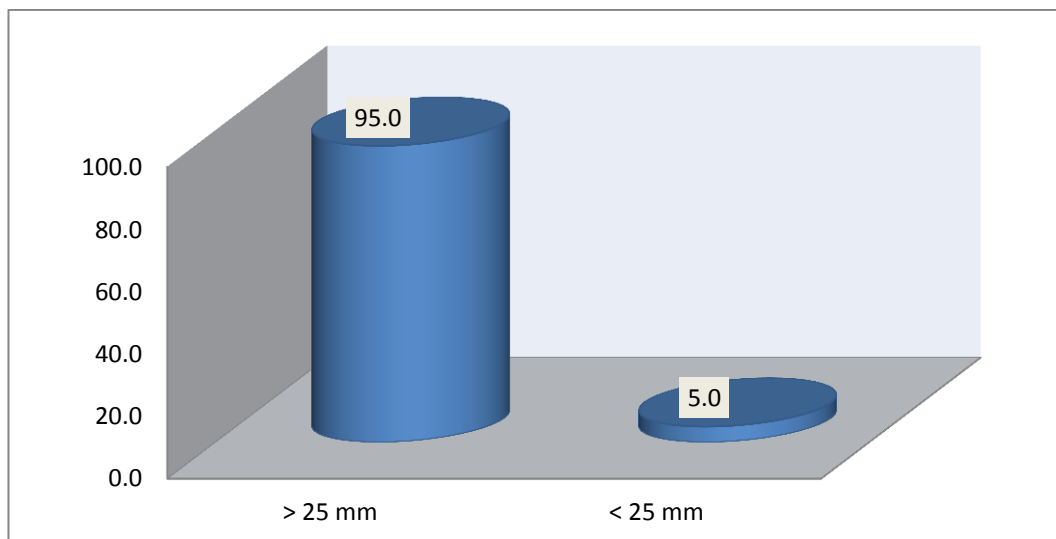
Tabla N° 9 Antibiograma

Ceftriaxona 30mg	Sensibilidad	
	f	%
> 25 mm	38	95,0
≤ 25 mm	2	5,0
TOTAL	40	100,0

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 11 Antibiograma



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

Para la Ceftriaxona de 30 mg 38 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 25 mm que corresponden al 95% y 2 muestras un halo de inhibición menor o igual a 25 mm que corresponde al 5%

Interpretación:

El 95% de las muestras fueron sensibles a Ceftriaxona de 30 mg y el 5% de las mismas corresponden a una posible producción de enzimas BLEE

8. Prueba confirmatoria para producción de BLEE

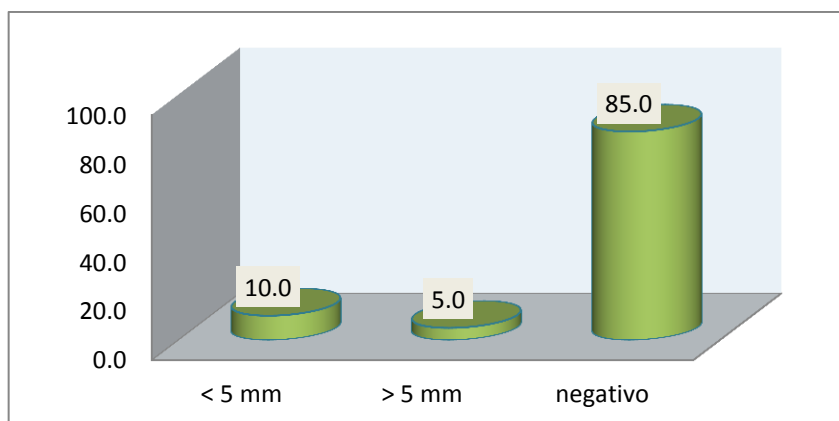
Tabla N° 10 Prueba confirmatoria para producción de BLEE

Halos	Cefotaxima + Ac. Clavulánico 30 mg vs. Cefotaxima sola	
	f	%
< 5 mm	4	10,0
> 5 mm	2	5,0
negativo	34	85,0
TOTAL	40	100,0

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 12 Prueba confirmatoria para producción de BLEE



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

Para la Cefotaxima + Ácido Clavulánico de 30 mg vs. Cefotaxima sola, 4 muestras presentaron un halo de inhibición menor a 5 mm que corresponden al 66.7% y 2 un halo de inhibición mayor a 5 mm que corresponde al 33.3%

Interpretación:

El 66.7% de las muestras corresponden a una producción de enzimas BLEE y el 33.3% de las mismas no producen enzimas BLEE

Tabla N°14 de Relación

TABLA DE RELACION					
		PRUEBA CONFIRMATORIA PRODUCCIÓN DE BLEE (Cefotaxima + Ac. Clavulánico 30 mg vs. Cefotaxima sola)			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> posible productora de enzimas BLEE	RANGOS	< 5 mm	> 5 mm	sin prueba confirmatoria	TOTAL
	positivo	4	2	0	6
	negativo	0	0	34	34
	TOTAL	4	2	34	40

DISCUSIÓN

De las muestras 40 analizadas que presentaron *Klebsiella pneumoniae* 6 muestras presentaron posible producción de enzimas BLEE y 34 no presentaron posibilidad de producción de enzimas BLEE.

Con las 6 muestras se realizó la prueba confirmatoria para producción de enzimas BLEE obteniendo 4 cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de enzimas BLEE correspondientes al 66.7% y 2 cepas de *Klebsiella pneumoniae* no productoras de enzimas BLEE correspondientes al 33.3%.

Por lo anteriormente exouesto se acepta la hipótesis alterna (H1) **“Las enzimas BLEE producidas por *K. pneumoniae* producen resistencia a los antimicrobianos”** y se rechaza la Hipótesis Nula (Ho) **“Las enzimas BLEE producidas por *K. pneumoniae* no producen resistencia a los antimicrobianos”**

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. En el estudio realizado se analizaron un total de 40 muestras de orina de pacientes hospitalizados en el Hospital de Latacunga en el período Febrero – Abril 2015, de las cuales se logró aislar mediante el urocultivo y prueba bioquímicas *Klebsiella pneumoniae*, con estas muestras se continuó el estudio determinando la presencia (BLEE); obteniendo un total de 4 muestras con esta característica, cifra que se puede considerar alta dada la población estudiada de pacientes hospitalizados.
2. En cuanto a los microorganismos causantes de infecciones en pacientes hospitalizados en el Hospital de Latacunga en el período Febrero – Abril 2015 se observa que *Klebsiella pneumoniae* tiene una prevalencia muy alta en la población.
3. Se puede considerar a *Klebsiella pneumoniae* es un agente muy importante en las infecciones de los pacientes hospitalizados.
4. La sensibilidad de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* para los antibióticos usados en la identificación de BLEE fueron Aztreonam 95%, Ceftazidima 97.5%, Cefotaxima 97.5% y Ceftriaxona 95%, mientras que en las cepas BLEE positivas la sensibilidad frente a Aztreonam fue de 5%, Ceftazidima 2.5%, Cefotaxima 2.5% y Ceftriaxona 5%, observándose una disminución en la sensibilidad a antimicrobianos por parte de las cepas BLEE positivas.

5.2. RECOMENDACIONES

1. La identificación de BLEE debería implementarse en los laboratorios ya que mediante el presente estudio, se observó la presencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de enzimas BLEE, considerando que la identificación resulta sencilla, de bajo costo y facilitaría en gran medida el tratamiento.
2. Es de suma importancia combatir las causas para que se dé la producción de enzimas BLEE, entre las principales tenemos la automedicación y la falta de cumplimiento en el tratamiento por parte de los pacientes.
3. El personal de salud debe orientar a los pacientes para que cada tratamiento pueda culminar de manera eficaz.
4. La producción de enzimas BLEE es característica para muchas enterobacterias es por esto que se debería ampliar su identificación a otros géneros como *Klebsiella*; dado que hay diferentes tipos de BLEE el presente estudio podría continuarse mediante la identificación genotípica de los mismos, pudiendo obtener resultados para un estudio más completo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bibliografía

1. Alvarez y Bouquet. (1995). Manual de Tecnicas en Microbiologia Clinica. Washington: Primera Edicion.
2. Ambato, M. d. (20 de marzo de 2013). Estudios sobre la neumonia nosocomial. (L. Medina, Entrevistador)
3. Ausina y Ruiz. (2006). Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid- España.
4. Bailey y Scott. (2009). Diagnostico Microbiologico. Buenos Aires - Argentina: 12ava. ed.
5. Cordova,Peña y Otros. (2011). Neumonía asociada con ventilador en pacientes de la unidad de cuidados intensivos. Medicina Interna de México, 2-3.
6. Hospital San Camilo. (2011). Manual de Procedimientos de Laboratorio Clinico. Chile: Segunda Edicion.
7. Instituto Nacional de Salud (Peru). (2001). Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Microbiologia.
8. Koneman, E. (2006). Diagnostico Microbiologico. Madrid- España: sexta ed.
9. LLlop, Valdez y Zuazo. (2001). Microbiologia y Parasitologia Medica. La Habana: Tomo 1.
10. Lozada, C. (2003). Fase Pre-analitica en Microbiologia.
11. Mac Faddin, J. (2003). Pruebas bioquimicas para la Identificacion de bacterias de Importancia Clinica. 3era Edicion.
12. MacFaddin, J. (2000). Pruebas Bioquimicas para la Identificacion de Bacterias de Importancia Clinica. Buenos Aires - Argentina: Tercera Edicion.
13. Masson,S.A. (2005). Bacteriologia Clinica. Barcelona, España: III TOMO.

14. Montenegro, E. (JUNIO de 2012). Neumonía Nosocomial Asociada A La Ventilación Mecánica. Tesis de Especialidad. Quito, Ecuador.
15. Organización Mundial de la Salud. (2003). Prevención de las Infecciones Nosocomiales. 2da. edición.
16. Organización Mundial de la Salud. (2009). Guía de la OMS- Higiene de Manos en la Atención de la Salud. Primer Desafío Global de Seguridad del Paciente .
17. Prats, G. (2008). Microbiología Clínica. Buenos Aires-Madrid: 1er. Tomo.
18. Romero, R. (2007). Microbiología y Parasitología humana. Argentina: 3era. edición.
19. Ruiz y Guillen. (2005). diagnóstico Microbiológico.
20. Salud Madrid. (2007). Prevención y Control de la Infección Nosocomial. Madrid: 1er Tomo.
21. Villavicencio y Ochoa. (2006). guía para la prevención de neumonías intrahospitalarias. Cusco.

LINKOGRAFÍA:

1. Aguilera y Ortíz. (2010). *Neumonía nosocomial en la unidad de cuidados intensivos*. Recuperado el 12 de octubre de 2014, disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/med/vol36_2_97/med04297.htm
2. Albrechts, C. (2010). *Departamento de Microbiología Medica y Virologia de la Universidad de Kiel-Alemania*. Recuperado el 13 de febrero de 2015, disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88898/>
3. Becton, Dickinson and Company. (8 de Abril de 2008). *SIM Medium*. Recuperado el 25 de Mayo de 2015, disponible en http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/L007503%2808%29%280408%29_ES.pdf
4. Britania Lab. (31 de Diciembre de 2014). *Tioglicolato Medio Fluido Sin Indicador*. Recuperado el 23 de octubre del 2014 disponible en <http://britannialab.com.ar/esp/productos/b02/tiogmedflusinindic.htm>
5. C. Rivas, M. Mota. (2008). *Bacterias Aerobias*. Recuperado el 15 de enero de 2013, disponible en <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteriasAnaerobias.pdf>
6. Consejo Superior de Investigaciones Científicas "CSIC". (2010). *Bacterias Oportunistas*. Recuperado el 12 de diciembre de 2014, disponible en www.abc.com.py/articulos/bacterias-oportunistas-87974.html
7. Constitución del Ecuador. (2008). *Derechos del buen vivir*. Recuperado el 13 de marzo de 2015, disponible en http://www.eruditos.net/mediawiki/index.php?title=Derechos_del_buen_vivir
8. Corneros, C. (2011). *Manual de procedimientos de Laboratorio Clínico*. Obtenido de http://www.seis.es/documentos/informes/secciones/adjunto1/CAPITULO6_1.pdf

9. Dr. Ruano, Maldonado y Salazar. (2004). *Frecuencia de infección nosocomial en terapia intensiva*. Recuperado el 20 de marzo de 2015, disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol42_1_04/hie05104.htm
10. Educa-Madrid. (2010). *Medios de cultivo. tipos, clasificación, enumeración, elaboración general y utilización de los mismos. tecnicas de inoculacion, incubacion y recuento de la muestra biologicas*. Recuperado el 24 de febrero del 2015 disponible en <http://www.educa2.madrid.org/web/educamadrid/principal/files/0e8a6919-7eeb-423f-9fa8-b9c866aab3ff/Medios%20de%20cultivo.pdf>
11. Garcias,Rodriguez y Otros. (2004). *Tecnica para aspiracion por tubo endotraqueal*. Recuperado el 14 de febrero de 2015, disponible en <http://www.enferurg.com/protocoloschus/1304.pdf>
12. Grupo Argentino-Latino Americano. (2005). *Neumonia intrahospitalaria*. Recuperado el 18 de diciembre de 2014, disponible en http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13077956&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=6&ty=47&accion=L&origen=bronco&web=http://www.archbronconeumol.org&lan=es&archivo=6v41n08a13077956pdf001.pdf
13. Grupo de estudios de vigilancia de infeccion nosocomial en uci. (2003-2005). *Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Unidades de Cuidados Intensivos*. Recuperado el 20 de diciembre de 2014, disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0210-56912007000100002&script=sci_abstract
14. Hospital de Clinicas. (2004). *manual de tomas de muestra para estudio bacteriologico,parasitologico y micologico*. Recuperado el 14 de noviembre de 2014, disponible en <http://www.slideshare.net/doctor-Alfredo-Bolano/laboratorio-8536468>

15. Ntramedic. (09 de Mayo de 2011). *Infecciones nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos* . Recuperado el 16 de 12 de 2015, disponible en http://www.intramed.net/buscar_resultado.asp?buscar_texto=neumonia%20intrahospitalaria&contenidoTipoID=31
16. Jimenez, M. (Diciembre de 2011). *Metodos de Siembra*. Recuperado el 26 de marzo del 2015. Disponible en <http://metodosdsiembras.blogspot.com/>
17. Juárez, M. (20 de marzo de 2012). *Tincion Gram*. Recuperado el 23 de abril del 2015. Disponible en <http://www.slideshare.net/Mardj/prctica-2-tincin-de-gram>
18. Laboratorios Britania S.A. (Febrero de 2010). *Sangre Agar Base*. Recuperado el 17 de mayo del 2015 disponible en <http://www.bio-bacter.com/Insertos/Medio%20de%20tioglicolato%20usp%20fluido.pdf>
19. Londoño, Fernandez y Otros. (2001). *Neumonia Nosocomial*. Recuperado el 24 de diciembre de 2015, disponible en <http://www.encolombia.com/medicina/pediatrica/pedi37102-neumonia>
20. Ministerio de Salud de Chile- Hospital del Salvador. (Diciembre de 2008). *Normas de prevencion de la neumonia nosocomial asociada a la ventilacion mecanica*. Recuperado el 21 de Febrero de 2015, disponible en <http://www.hsalvador.cl/documentos/Prevneumonianosocomial.pdf>
21. Oyola y Arce. (2011). *Factores de riesgo asociados a la neumonia intrahospitalaria en pacientes de cuidados intensivos*. Recuperado el 18 de noviembre de 2014, disponible en http://www.medicinainterna.org.pe/revista/revista_24_3_2011/factores_de_riesgo_asociados_a_neumonia.pdf
22. Ramírez , Robustillo y Otros. (12 de Diciembre de 2007). *Prevencion y control de la neumonia nosocomial*. Recuperado el 22 de Diciembre de 2014, disponible en <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=applicati>

on%2Fpdf&blobheadername1=Content-
disposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3D
GuiaBPC-
+Infecci%C3%B3n+Nosocomial+5+mayo+2009.pdf&blobheadervalue2
=language%3Des%26sit

23. Ruano, Maldonado y Otros. (2004). *Frecuencia de infección nosocomial en terapia intensiva*. Recuperado el 29 de marzo de 2014, disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol42_1_04/hie05104.htm
24. Secretaría Distrital de Salud de Bogota. (2004). *Neumonía Nosocomial*. Recuperado el 24 de Febrero de 2015, disponible en <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20IIH/002%20Neumonía.pdf>
25. Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía . (Julio - Diciembre de 2005). *Neumonía Nosocomial*. Recuperado el 17 de abril de 2015, disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/neumo/nt-2005/nt052e.pdf>

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA

EBRARY: Cordero, D. C. M., & Rojo, V. F. A. (2007). Parasitología general. España: McGraw-Hill España recuperado el 19/05/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10505109&p00=parasitologia>

EBRARY: López, P. M. C., Corredor, A. A., & Nicholls, O. R. S. (2012). Atlas de parasitología (2a. ed.). Colombia: Editorial El Manual Moderno Colombia. Recuperado el 19/05/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10995520&p00=parasitologia>

EBRARY: Rodríguez, P. E. G. (2013). Parasitología médica. México: Editorial El Manual Moderno. Recuperado el 19/05/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10853474&p00=parasitologia>

EBRARY: Rodríguez, B. E. (2009). Manual de prácticas de parasitología I y II. México: Universidad Autónoma de Guerrero.. Recuperado el 19/05/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10287194&p00=parasitologia>

EBRARY: Vidal, M. V. M., Aguirre, M. M. L., & González, S. D. (2010). Atlas de los helmintos parásitos de cíclidos de México. México: Instituto Politécnico Nacional. Recuperado el 19/05/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10365908&p00=parasitologia>

ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**



CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

TEMA: “DETERMINACIÓN DE BLEE PRODUCIDAS POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS”

He leído y he comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que se ha realizado.

Consiento voluntariamente mi participación en esta investigación como paciente voluntario y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que se me afecte de ninguna manera.

Nombre del participante:

Edad de participante:

Fecha:

Firma del representante

Numero de cedula

Si el paciente es analfabeto

Debe firmar un testigo que sepa leer y escribir (si es posible esta persona debería ser seleccionada por el participante).

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y la persona Ha tenido la oportunidad de hacer las preguntas.

Confirmo que la persona ha dado el consentimiento para que su representado participe en la presente investigación.

Nombre y firma del testigo:

Nombre y firma del investigador:

CODIGO	EDAD	SEXO	GRAM DE GOTA FRESCA	UROCULTIVO	CITRATO	UREA	TSI	LIA	SIM	MR	VP	IDENTIFICACIÓN
1	30	MASCULINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	29	MASCULINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
4	26	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
5	27	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
6	28	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
7	29	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
8	29	MASCULINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
9	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
11	29	MASCULINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
12	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
13	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
14	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
15	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
16	25	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

35	31	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
36	30	MASCULINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
37	35	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
38	33	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
39	35	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
40	31	FEMENINO	bacilos Gram (-)	POSITVO	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

IDENTIFICACION	Aztreonam 30mg	Cefotaxima 30mg	Ceftazidime 30mg	Ceftriaxona 30mg	POSIBLE PRODUCCIÓN DE BLEE	PRUEBA CONFIRMATORIA PRODUCCIÓN DE BLEE (Cefotaxima + Ac. Clavulánico 30 mg vs. Cefotaxima sola)	PRODUCCIÓN DE BLEE
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	> 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm	(+)	< 5mm	(+)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	> 25 mm	(+)	< 5mm	(+)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	< 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm	(+)	> 5 mm	(-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	> 25 mm	(+)	< 5mm	(+)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	< 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm	(+)	> 5 mm	(-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	> 22 mm	≤ 25 mm	(+)	< 5mm	(+)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 27 mm	≤ 27 mm	≤ 22 mm	≤ 25 mm			

Fotos

Ubicación y personal de trabajo



Recepción de la muestra



Observación en Fresco de la muestra



Observación del Gram de la Muestra



Siembra e incubación



Identificación de la bacteria



AGAR MAC CONKEY



Escherichia coli



Klebsiella pneumoniae



Detección de enzimas BLEE



CONFIRMACIÓN DE BLEE

