



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**GENES DE RESISTENCIA PRESENTES EN BACTERIAS PRODUCTORAS DE
CARBAPENEMASAS EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO,
CUENCA. 2017-2018.**

**Proyecto de Investigación previo a la
Obtención del Título de Licenciado
en Laboratorio Clínico**

AUTORAS:

Andrea Ivana Bonilla Chacón
CI: 1400641179
andreitab_96@hotmail.com

Mónica Carolina Buestán Ortega
CI: 0104778295
caritobuestan_95@hotmail.com

DIRECTORA:

Lcda. Ivanna Solmayra Agreda Orellana. Esp.
CI: 1900599935

CUENCA–ECUADOR

08 de agosto de 2020

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Los genes adquieren diferentes mecanismos moleculares de resistencia mediante mutaciones a nivel cromosómico o transferencia horizontal de material genético entre bacterias de la misma o diferente especie. Conocer los mecanismos de resistencia bacteriana y sus genes implicados permitirá optimizar la vigilancia epidemiológica, políticas de control y uso de antibióticos a nivel mundial.

OBJETIVO GENERAL: Establecer los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018.

METODOLOGÍA: El estudio fue de tipo descriptivo, retrospectivo y de corte transversal. Se analizaron los reportes a partir de resultados de cultivos positivos por bacterias que presentaron resistencia al menos a un carbapenémico en el área de microbiología del HVCM y el gen de resistencia confirmado por el INSPI-RAM-CUENCA.

RESULTADOS: Del 100,00% de genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas el 56,58% correspondió al sexo masculino por ser el más vulnerable a infecciones bacterianas. El grupo de edad de 70-79 años presentó el 16,95% de reportes de genes de resistencia, siendo la muestra de secreciones purulentas las más identificada con 44, 92%. El servicio hospitalario de clínica reportó el 51,70% de cepas, prevaleciendo *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC en el 71,18% del total de los reportes.

CONCLUSIONES: El gen de resistencia frecuente en el HVCM fue *bla_{KPC}*, identificado en pacientes del sexo masculino de la tercera edad. El principal género/especie bacteriano fue *Klebsiella pneumoniae*.

PALABRAS CLAVES: Genes Bacterianos. Resistencia Bacteriana. Carbapenemasas. Carbapenémicos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Genes acquire different molecular resistance mechanisms through mutations at the chromosomal level or horizontal transfer of genetic material between bacteria of the same or different species. Knowing the mechanisms of bacterial resistance and the genes involved will allow us to optimize epidemiological surveillance, control policies and antibiotic use worldwide.

GENERAL OBJECTIVE: To establish the resistance genes present in carbapenemase producing bacteria in the Vicente Corral Moscoso Hospital, Cuenca. 2017-2018.

METHODOLOGY: The study was descriptive, retrospective and cross sectional. The reports were analyzed based on results of positive cultures for bacteria that presented resistance to at least one carbapenem in the microbiology area of the HVCM and the resistance gene confirmed by the INSPI-RAM-CUENCA.

RESULTS: Of the 100,00% of resistance genes present in carbapenemase producing bacteria, 56,58% corresponded to the male sex because it was the most vulnerable to bacterial infections. The 70-79 year old age group presented 16,95% of resistance genes reports, with the purulent secretion sample being the most identified with 44,92%. The Clinic's hospital service reported 51,70% of strains, with *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemase type KPC prevailing in 71,18% of the total reports.

CONCLUSION: The gen of frequent resistance in HVCM was *bla_{KPC}*, identified in male patients of the third age. The main bacterial genus/species was *Klebsiella pneumoniae*.

KEY WORDS: Bacterial Genes. Bacterial Resistance. Carbapenemases. Carbapenems.

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AMPC: Betalactamasa de la clase molecular C de Ambler

APB: Ácido fenilborónico

ATCC: American Type Culture Collection

BGN: Bacterias gram negativas

BGP: Bacterias gram positivas

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios

CMI: Concentración mínima inhibitoria

DNTPS: Desoxirribonucleótidos trifosfato

ECIM: Método modificado de inactivación de carbapenémicos con el agregado de EDTA

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EPC: Enterobacterias productoras de Carbapenemasas

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GIM: German imipenemase

HVCM: Hospital Vicente Corral Moscoso

IASS: Infecciones asociadas a la atención en salud

IMP: Active on Imipenem-Imipenemasa

INS: Instituto Nacional en Salud

INSPI-RAM: Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública-Resistencia a los antimicrobianos

ISO: International Organization for Standardization



ITU: Infección del tracto urinario

KPC: Klebsiella pneumoniae betalactamasa

LCR: Líquido cefalorraquídeo

MBL: Metalobetalactamasas

MCIM: Método modificado de inactivación del carbapenémico

MSP: Ministerio de Salud Pública

NDM: New Delhi Metalobetalactamasa

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

OXA: Enzima tipo OXA-oxacilinasas

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

SIM: Seoul imipenemase

SNC: Sistema nervioso central

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

UCI: Unidad de cuidados intensivos

UFC: Unidad formadora de colonias

VIM: Verona integron-encoded metallo-b-lactamasas

ÍNDICE

CAPÍTULO I	16
1 INTRODUCCIÓN	16
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
3 JUSTIFICACIÓN	19
CAPÍTULO II	21
4 FUNDAMENTO TEÓRICO	21
4.1 Bacterias	21
4.2 Generalidades de las bacterias	21
4.3 Genoma bacteriano	21
4.4 Antibiótico	22
4.5 Clasificación de los antibióticos	23
4.6 Carbapenémicos	23
4.7 Antibiograma	24
4.8 Resistencia bacteriana	25
4.9 Mecanismos de resistencia bacteriana	25
4.10 Clasificación de las Carbapenemasas	26
4.10.1 Carbapenemasas del Grupo A	27
4.10.2 Carbapenemasas del Grupo B	27
4.10.3 Carbapenemasas del Grupo D	27
4.11 Métodos de Identificación Bacteriana	28
4.12 Muestras biológicas características de carbapenemasas	30
4.12.1 Sangre	30
4.12.2 Orina	30
4.12.3 Secreciones purulentas	30
4.12.4 Líquidos biológicos	30
4.12.5 Hisopado rectal	31
4.12.6 Catéter	31
4.13 Factores de riesgo en pacientes portadores de carbapenemasas	31
4.14 Epidemiología	32
4.15 Control de Calidad	33
4.15.1 Control de Calidad – Área Pre analítica	33
4.15.2 Control de Calidad – Área Analítica	33



4.15.3	Control de Calidad – Área Post-analítica	34
4.15.4	Control de Calidad Interno	34
4.15.5	Control de Calidad Externo	34
CAPÍTULO III		35
5	OBJETIVOS	35
5.1	General:.....	35
5.2	Específicos:.....	35
CAPÍTULO IV		36
6	DISEÑO METODOLÓGICO	36
6.1	Tipo de Estudio	36
6.2	Área de Estudio.....	36
6.3	Universo y Muestra.....	36
6.4	Criterios de Inclusión y de Exclusión	36
6.5	Variables	36
6.6	Operacionalización de las Variables	37
6.7	Métodos, Técnicas e Instrumentos	37
6.8	Plan de Tabulación y Análisis.....	37
6.9	Aspectos Éticos.....	38
CAPÍTULO V		39
7	RESULTADOS Y TABLAS	39
CAPÍTULO VI		49
8	DISCUSIÓN	49
CAPÍTULO VII		55
9	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
CAPÍTULO VIII		57
10	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
11	ANEXOS	65
11.1	ANEXO 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	65
11.2	ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	67
11.3	ANEXO 3: AUTORIZACIÓN DEL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.	39
Tabla 2: Distribución del género/especie bacteriano de cepas aisladas en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.....	40
Tabla 3: Distribución según la variable sexo en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.	41
Tabla 4: Distribución por grupos de edad en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.	42
Tabla 5: Distribución según muestra biológica obtenida de pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.....	43
Tabla 6: Distribución por servicio hospitalario en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.	44
Tabla 7: Relación entre grupos de edad y sexo en pacientes que se aislaron cepas productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.....	45
Tabla 8: Relación entre la variable sexo y el género/especie bacteriano aislados en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.....	46
Tabla 9: Relación entre el género/especie bacteriano y los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas aisladas en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.....	47
Tabla 10: Relación entre el género/especie bacteriano y la muestra biológica obtenidas en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.	48

Cláusula de licencia y autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

Andrea Ivana Bonilla Chacón, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del proyecto de investigación **“Genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este proyecto de investigación en el Repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 08 de agosto de 2020



Andrea Ivana Bonilla Chacón

CI. 1400641179

Cláusula de propiedad intelectual

Andrea Ivana Bonilla Chacón, autora del proyecto de investigación “**Genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenido expuesto en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 08 de agosto de 2020



Andrea Ivana Bonilla Chacón

CI. 1400641179

Cláusula de licencia y autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

Mónica Carolina Buestán Ortega, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del proyecto de investigación **“Genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este proyecto de investigación en el Repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 08 de agosto de 2020



Mónica Carolina Buestán Ortega

CI. 0104778295

Cláusula de propiedad intelectual

Mónica Carolina Buestán Ortega, autora del proyecto de investigación “**Genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenido expuesto en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 08 de agosto de 2020



Mónica Carolina Buestán Ortega

CI. 0104778295



AGRADECIMIENTO

A Dios por dirigir nuestras vidas y brindarnos la inteligencia necesaria para desenvolvernos en el campo de la salud, mediante actitudes y aptitudes que nos permitirán aportar de gran manera a la sociedad.

A nuestras familias por su amor incondicional, sacrificio, esfuerzo para ver cumplir nuestras metas y ser un pilar fundamental en nuestras vidas; con su paciencia, dedicación y apoyo constante.

A la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad de Cuenca y de manera especial a sus docentes, los cuales con sus conocimientos nos supieron brindar bases sólidas para que cada año vayamos adquiriendo sabiduría y formando nuestro propio camino.

A la especialista en microbiología Lcda. Solmayra Ágreda y al Mg. Roberto Aguirre por encaminar y ser una guía en esta investigación; aportando a nuestra formación profesional y permitiendo llegar a la culminación de este trabajo investigativo.

Al Hospital Vicente Corral Moscoso y al Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública-Cuenca que apoyaron, orientaron y dedicaron su valioso tiempo para que se pueda llevar a cabo este proyecto que será de gran relevancia y utilidad para el personal interesado.

Andrea Ivana Bonilla Chacón

Mónica Carolina Buestán Ortega



DEDICATORIA

A Dios por ser mi base espiritual y moral, que me ha guiado a lo largo de los años como persona y ahora como profesional. Por ser mi fortaleza en los momentos difíciles y por haberme regalado los mejores años universitarios.

A mis padres, Iván Bonilla y Aida Chacón, que me han dado lo mejor de ellos, su amor y apoyo incondicional en cada área de mi vida y que con sacrificio dieron todo por verme cumplir cada meta y sueño planteado a lo largo de mi etapa estudiantil. A ellos mi infinita honra, amor y agradecimiento.

A mi hermana Karen, que es la luz de mi vida y la motivación para alcanzar mis ideales, ella es y será mi impulso personal por siempre.

Por último, a mi familia que a pesar de la distancia creyeron en mis capacidades, a mis amigos que fueron como hermanos en esta ciudad que me acogió e hizo sentir como en casa y a cada persona que apoyó en mi desarrollo personal y profesional.

Andrea Ivana Bonilla Chacón

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación está dedicado primeramente a Dios, ya que él me ha demostrado su amor incondicional en todo momento, ha sido mi guía y mi fortaleza. Las situaciones difíciles que se han presentado en este largo trayecto, no hubieran sido superadas sin él de mi lado.

A mis padres Manuel y Libia, por las enseñanzas, los valores, las noches de desvelo y su predisposición. Me formaron con disciplina, pero con libertad para tomar mis propias decisiones, creando la persona que soy hoy en día, motivando todos mis sueños y anhelos; son el pilar de mi vida.

A mis abuelos maternos Lauro e Inés (+), mis segundos padres, definitivamente la sabiduría se adquiere conforme avanzan los años; con su dura enfermedad me enseñaron que las batallas se pelean hasta el último instante, que la familia es lo más importante, pero sobre todo que hay que ser justos, honestos y rectos, ya que lo demás viene por añadidura.

A mis hermanos Paúl y Matías, día a día sus palabras de motivación forjaron en mí, más que un objetivo una promesa, la cual se está cristalizando y servirá de motor para emprender nuevos retos en nuestras vidas.

Finalmente, y no menos importante a mis familiares y amigos por sacar mi mejor versión, creer en mí, ayudarme desinteresadamente; en definitiva, por aportar de diversas maneras en mi vida personal y ahora profesional.

Mónica Carolina Buestán Ortega

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad la resistencia causada por bacterias multirresistentes representa uno de los principales problemas de salud pública. La familia de bacterias más importantes a nivel internacional, nacional y local son las Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC), su importancia radica en los genes que presentan y sus propiedades de hidrólisis causando un bloqueo en la acción de los principales grupos de antibióticos (1).

Según Rodríguez E, los principales genes de resistencia en bacterias productoras de carbapenemasas son: *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} y *bla*_{OXA}. La epidemiología varía según la geografía, así España reporta el gen *bla*_{OXA-48} encontrado en *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) mientras que en la India el gen *bla*_{NDM} prevalece desde su descubrimiento en el año 2008. Estados Unidos reportó *bla*_{KPC} como el gen más frecuente, descubierto en 1996 que posterior a su aislamiento se diseminó en agentes entéricos gram negativos por todo el mundo. Ecuador en el año 2010 realizó el primer aislamiento de *K. pneumoniae* productora de KPC-2 (2,3).

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente con factores predisponentes asociados a la prescripción médica inadecuada con excesivo uso de carbapenémicos, procedimientos quirúrgicos invasivos, inmunosupresión y hospitalización en áreas de cuidados críticos. Estos factores han generado que las bacterias presenten mecanismos de supervivencia y generen capacidades para evadir la acción bactericida o bacteriostática propia de los antibióticos (4).

Según Iñiguez et al, la mortalidad atribuida a Enterobacterias productoras de carbapenemasas representa un 47% y 68% en el Ecuador (1,3).

El estudio de los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso en los años 2017-2018, permitirá conocer datos estadísticos a nivel local y regional que servirán para la divulgación del tema con la finalidad de que sea comprensible para el personal de la salud; así como para descubrir los genes de resistencia presentes en EPC en cada una de las áreas del hospital (5).

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el año 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) señalaron la importancia de implementar estrategias de control, vigilancia y prevención de microorganismos que expresan mecanismos de resistencia, esto debido a las altas tasas de mortalidad a nivel mundial con cifras entre 40-50% en las bacterias más prevalentes, que repercuten en el ámbito de la salud humana por lo que requieren medidas urgentes de atención con un enfoque integral y coherente (6,7).

La diseminación de los genes de resistencia bacteriana a nivel global con base en la ubicación geográfica se detallan a continuación: La primera carbapenemasa resistente a antibióticos carbapenémicos fue reportada en Japón en la década de 1980 en una cepa de *Aeromonas hydrophila* y ya para el año 2000 los reportes incluían Hong Kong, Singapur y Sureste Asiático en *Acinetobacter baumannii* (8).

En un estudio realizado en el Hospital de Madrid-España por Brañas et al, se identificaron siete especies de bacterias, predominando: *K. pneumoniae* con 78,9% y *E. cloacae* con 16,4%; de la estadística anterior sobresale que *K. pneumoniae* es resistente a carbapenémicos en un 88,7% para ertapenem, 21,4% para imipenem y 20,8% para meropenem y la segunda especie bacteriana presenta un 86,6%, 54,3% y 34,3% para el mismo orden de carbapenémicos. El gen más frecuente en el primer caso es *bla_{OXA-48}* con 91,1% y *bla_{VIM}* con 71,4% (9).

En el caso de los Estados Unidos los microorganismos multirresistentes representan el 60% de causas de infecciones bacterianas asociadas a la atención hospitalaria, el porcentaje es superior en países subdesarrollados y de menor ingreso económico. En 1996 en Carolina del Norte se identificó la primera cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC (10).

A nivel de Centroamérica, la primera alerta epidemiológica se dio en el año 2011 por el aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* productora de NDM-1 asociada a los cuidados en salud en un Hospital de la ciudad de Guatemala (11).

Nastro et al, de la Universidad de Buenos Aires trabajaron en los datos obtenidos de aislamientos bacterianos desde el año 2010 al 2015, registrando un número de 154 pacientes que presentaron 173 colonizaciones causadas por EPC. El rango de edad

considerado fue de 17 a 99 años con una incidencia en los 65 años y sin presentar casos en pacientes menores de 17 años. Por otra parte, el sexo con mayor incidencia en el estudio fue en los pacientes masculinos con 58% frente al femenino con 42%. En este estudio se comprobó que en 172 episodios la infección se asociaba a la atención hospitalaria y los cuidados de salud, mientras que sólo un caso se encontraba asociado a mala prescripción médica (12).

En los años 2009 al 2011, Ocampos & Takahasi de Paraguay recopilaron 76 cepas portadoras de carbapenemasas (KPC). De éstas el 87% fue del género/especie *K. pneumoniae*, seguido por el 11% de *E. cloacae* y el 2% de *K. oxytoca* y *S. marcescens*. A diferencia del estudio realizado por Nastro et al, en Argentina donde identificaron por métodos fenotípicos y moleculares la presencia del gen *bla_{KPC}* en géneros de enterobacterias como *E. coli*, *P. mirabilis*, *Enterobacter spp*, *S.marcescens*, *K. oxytoca*, *Providencia spp* y *Citrobacter freundii* (10,12).

Según Sacsquispe & Bailón en su estudio realizado en el período 2013-2017 en hospitales de Perú reportaron 83 genes de resistencia en cepas de EPC: el gen *bla_{KPC}* en 26 cepas (31,3%), el gen *bla_{NDM}* en 56 cepas (67,5%) y el gen *bla_{IMP}* en una cepa (1,2%) identificadas por técnicas de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) (13).

En Ecuador en el Hospital Homero Castañier Crespo, Iñiguez et al, reportaron la primera carbapenemasa en un paciente de sexo masculino del área de UCI en el que se tomó para cultivo una muestra de secreción purulenta aislando *K. pneumoniae* productora de KPC-2 por métodos fenotípicos e identificación genotípica utilizando PCR confirmando la carbapenemasa y su mecanismo de resistencia (3).

Mediante revisiones bibliográficas se pudo evidenciar el aumento paulatino de las tasas de mortalidad, observando resultados de años anteriores en los cuales se presentó un porcentaje del 19 al 21% y en la actualidad dicho valor aumentó a un 25%. Éste último resultado se obtuvo de un estudio realizado en el 2018 por Rojo et al, sobre infecciones causadas por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas en el Hospital Universitario de España. En el año 2017 Robalino & Vallejo ejecutaron un estudio en el HVCN en el que llegaron a la conclusión de que las tasas de mortalidad a causa de *K. pneumoniae* se presenta en 54 de cada 100 personas diagnosticadas (14,15).

Dada la importancia del estudio de Enterobacterias productoras de carbapenemasas, sus genes de resistencia a nivel mundial, nacional y regional y a su escasa información epidemiológica local. Hemos planteado la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso de la ciudad de Cuenca en los años 2017-2018?

3 JUSTIFICACIÓN

La diseminación de las cepas resistentes a los carbapenémicos representa un problema de salud en todo el mundo ya que durante los últimos años se han venido realizando una serie de estudios con el objetivo de disminuir o eliminar las resistencias. El uso irracional o indiscriminado de antibióticos por parte del ser humano es la causa principal que se presenta hoy en día y que es necesario combatirla mediante vigilancia epidemiológica del tránsito de clones con diferentes perfiles de resistencia y principales enzimas (16).

Los hospitales constituyen el área donde se emplean los antibióticos en gran medida dejando en muchas de las ocasiones sin ninguna alternativa para tratar infecciones; esto debido a que las bacterias generan multiresistencia disminuyendo un adecuado tratamiento e incrementando la estancia hospitalaria de un paciente, afectando sus ingresos económicos y de sus familiares si permanece en un centro privado o generando gastos al estado si su permanencia es en un centro público; sin dejar de lado que frente a la existencia de dichos aspectos incrementa a gran escala la tasa de mortalidad (16).

Por lo cual es necesario concienciar tanto al personal médico como a los familiares de un paciente para desarrollar medidas preventivas, disminuir el uso indiscriminado de antibióticos, evitar la presencia de infecciones hospitalarias y a su vez la diseminación de bacterias con multiresistencias que promueven un cambio representativo en las tasas de morbilidad y mortalidad (17,18).

La falta de divulgación sobre el tema y los pocos estudios realizados en el país fomentan la elaboración de este trabajo investigativo que permitirá a las autoras involucrarse en un campo poco experimentado e investigado; a la vez que puede ser empleado para una publicación con fines científicos. Se ha decidido realizar esta investigación en el Hospital Regional Vicente Corral Moscoso porque abarca la zona 6 del Ecuador, es el hospital más completo de Cuenca ya que cuenta con un sistema



estandarizado y automatizado obteniendo reportes fidedignos que ayudarán de manera total a la recolección de información, la elaboración de la base de datos y al personal médico que al conocer los perfiles de resistencia tendrán mayor cautela a la hora de prescribir los medicamentos.

La investigación tiene gran relevancia social debido a que proporciona datos estadísticos actuales acerca de los genes de resistencia presentes en el área de estudio, incentivando al control y la prevención de las multirresistencias ocasionadas por carbapenemasas. La universidad se beneficiará con una actualización de registros que parten de bases actuales y reales permitiendo a los estudiantes del área de la salud un conocimiento profundo fortaleciendo sus aptitudes durante su formación académica.

CAPÍTULO II

4 FUNDAMENTO TEÓRICO

4.1 Bacterias

Se denomina “bacterias” a los microorganismos procariotas que no poseen núcleo ni organelos completos, que en conjunto con las arqueas, integran los seres vivos primitivos y de mayor número alrededor del mundo. Se adaptan a diversas condiciones y hábitats, pudiendo subsistir en ambientes extremadamente hostiles (19).

4.2 Generalidades de las bacterias

Las bacterias se pueden clasificar de acuerdo a diversos criterios como: estructura de la célula, metabolismo y por características de diferentes componentes. La morfología de las bacterias es de tres tipos: cocos, bacilos y formas helicoidales (espiroquetas), siendo la tinción de Gram la coloración más usada para la identificación general de las bacterias; así las BGP retienen el cristal violeta dando una coloración violeta/morado a diferencia de las BGN que no lo hacen, presentando una coloración rosado/rojo y que a su vez poseen una endotoxina que aumenta su virulencia (19,20).

Estos microorganismos poseen importantes capacidades de adaptación a distintas condiciones ambientales que se basan en la información genética que poseen, así como su capacidad infecciosa que permite colonizar tejidos, invadirlos y producir sustancias tóxicas al hospedador (19,20).

4.3 Genoma bacteriano

Consiste en una molécula bicatenaria de ADN circular con una longitud de varios millones de pares de bases, además algunas bacterias poseen plásmidos que son pequeñas moléculas bicatenarias circulares de ADN que se replican de forma autónoma ya que portan su propio origen de replicación. Los plásmidos no poseen genes esenciales para la bacteria, pero sí contienen genes que confieren propiedades fenotípicas útiles para su adaptación y crecimiento es así que se clasifican según distintos criterios: a) Tamaño (pares de bases), b) Número de copias en la bacteria, c) Genes que porta (Plásmidos de virulencia, de resistencia antibiótica, etc.) y d) Grupos de incompatibilidad. Según Pierce B, la transferencia genética y recombinación bacteriana se da por tres mecanismos: (21).

- a) Conjugación: El material genético se transfiere de forma directa de una bacteria donadora a otra receptora. Posterior a la conjugación se da el entrecruzamiento entre las secuencias homólogas del ADN transferido y el cromosoma de la célula receptora (21).
- b) Transformación: La bacteria capta ADN del medio en el cual crece, para recombinar los genes introducidos con los del cromosoma bacteriano (21).
- c) Transducción: Un bacteriófago (virus bacteriano) transporta ADN de una bacteria a otra, en el interior se produce la recombinación del ADN introducido con el del cromosoma bacteriano (21).

Las bacterias son potencialmente patógenas para el hombre cuando portan plásmidos particulares que contienen genes que le permiten expresar moléculas de adhesión a los tejidos del huésped o sintetizar sustancias tóxicas; es el caso de las bacterias que contienen plásmidos con genes que codifican enzimas capaces de degradar algunos antibióticos generando un problema de resistencia, muy común en nuestros tiempos. Un antibiótico tiene la función de destruir la estructura de la bacteria o su capacidad de dividirse o reproducirse por lo que es necesario conocer los aspectos más relevantes en cuanto a su mecanismo de acción en EPC (21).

4.4 Antibiótico

Las enfermedades infecciosas desde la antigüedad han sido causa de elevadas tasas de mortalidad a nivel mundial. Se observó en la era pre-antimicrobiana que la meningitis bacteriana provocó la muerte en un 90% de los casos. Las infecciones a nivel faríngeo, ótico y de los pulmones representaban problemas graves; de este último la neumonía, tuberculosis y tosferina de etiología bacteriana causaban la muerte debido a la poca eficacia de los medicamentos contra los gérmenes presentes en las vías respiratorias. Los antibióticos fueron el descubrimiento médico más importante en el siglo XX con la invención de la Penicilina, fue Alexander Fleming que en una placa contaminada con *Penicillium notatum* logró la inhibición de crecimiento bacteriano de *S. aureus* (22).

Según Rodríguez et al, se define como antibióticos a las sustancias de origen natural, semisintético o sintético que tienen la capacidad de detener el crecimiento bacteriano o provocar la muerte del microorganismo ya que ejercen su acción en función de la estructura bacteriana y sus propiedades farmacocinéticas o farmacodinámicas (23,24).

4.5 Clasificación de los antibióticos

Bado et al, clasifica a los antibióticos de acuerdo a: 1) Relación microorganismo-antibiótico; indica si los fármacos son bacteriostáticos o bactericidas, 2) Mecanismo de acción; se define como la capacidad del antibiótico de inhibir o destruir a la bacteria, 3) Espectro de acción; se trata de la disponibilidad del fármaco para ejercer su efecto sobre un número limitado o ilimitado de microorganismos y 4) Farmacocinética y farmacodinamia; consiste en la acción del individuo frente al antibiótico y viceversa (22,25).

Según su estructura química están constituidos por: B-lactámicos, glicopéptidos, aminoglucósidos, macrólidos y quinolonas (22,25).

Los B-lactámicos tienen función bactericida e inhiben la pared de la célula bacteriana en la última etapa de la síntesis de peptidoglicano. A diferencia de los glicopéptidos que inhiben la última etapa del ensamblado y síntesis. En los aminoglucósidos se da la unión irreversible a la subunidad 30s del ribosoma y en los macrólidos se unen de manera reversible a la unidad 50s. Por último las quinolonas ejercen una acción bactericida inhibiendo la topoisomerasa, importante en el superenrollamiento del ADN (22,25).

A su vez los B-lactámicos se clasifican en cuatro grupos: Penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos; esta familia de antibióticos posee una estructura química compuesta por un anillo betalactámico que determina su mecanismo de acción. Es por ello que las bacterias que presentan resistencias a estos antibióticos tienen la capacidad de producir enzimas (betalactamasas) que hidrolizan su estructura principal (26,27).

4.6 Carbapenémicos

Son sustancias constituidas por un anillo azobicyclo producto de la condensación de un anillo pirrolidínico y B-lactámico, el primer carbapenémico descubierto para uso clínico fue imipenem y posteriormente surgieron ertapenem y meropenem respectivamente. Tienen un principio activo contra gram positivos (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) y gram negativos (*Enterobacterias*). Según su espectro de acción se clasifican en: a) ertapenem: no presenta actividad frente a bacilos gram negativos no fermentadores y b) meropenem, imipenem y doripenem que presentan actividad (28-30).

Los carbapenémicos junto con los otros antibióticos B-Lactámicos se emplean en infecciones de piel, partes blandas, endocarditis, infección de las vías respiratorias, urinarias, SNC, osteoarticular e intraabdominal, entre otras patologías. Su importancia radica en la resistencia, actividad y sobre todo en el amplio espectro; características que son útiles para una monoterapia, tratamiento empírico y una terapia dirigida (BGN multirresistentes/BLEE). Los carbapenémicos son semejantes en espectro, pero difieren en la actividad del antimicrobiano (siendo la clave de cada antibiótico) (30).

4.7 Antibiograma

De acuerdo al CLSI el antibiograma se define como una prueba estándar in vitro que valora la susceptibilidad de una bacteria al enfrentarla a un antibiótico para posteriormente ser reportada como sensible o resistente al fármaco con base en la concentración mínima inhibitoria que orienta la decisión terapéutica. En la antigüedad se consideraba un método sencillo, pero en los últimos años la complejidad ha incrementado debido a la multirresistencia a causa de mecanismos que evaden la acción del antimicrobiano (31).

Los métodos actuales para el estudio de sensibilidad (antibiograma) estandarizados y aprobados por la CLSI son: Kirby-Bauer modificado, método de gradiente (E-test) y métodos de dilución (microdilución en caldo) siendo el primero el más utilizado por ser de fácil reproducción y control, teniendo como principal ventaja su bajo costo (32).

La técnica de Kirby-Bauer modificado consiste en: a) Agar Mueller Hinton por presentar una elevada reproducibilidad en las pruebas de sensibilidad, b) Preparación del inóculo bacteriano (0.5 Mc Farland); escala constituida por sulfato de bario que asemeja una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml, c) Siembra masiva y colocación de discos a una distancia de 15mm evitando la superposición de halos y d) Tras 18-24h de incubación (35-37°C) se realiza la lectura de la sensibilidad bacteriana según los puntos de corte del halo de inhibición (31).

La concentración inhibitoria mínima (CIM) de los principales carbapenémicos según el CLSI en el 2017 fueron: ertapenem, imipenem y meropenem con una CIM (ug/mL): sensible ≤ 4 , intermedio 8, resistente ≥ 16 y doripenem: sensible ≤ 2 , intermedio 4, resistente ≥ 8 (33).

4.8 Resistencia bacteriana

Según Bado et al, se considera como la capacidad de la bacteria para sobrevivir en concentraciones séricas o plasmáticas del antibiótico que en condiciones normales inhiben el crecimiento bacteriano o matan a otros microorganismos. Esta propiedad que tienen las bacterias puede ser natural o adquirida de otras cepas bacterianas con la misma característica de ser resistentes al efecto bacteriostático o bactericida de los antibióticos (22).

Cuando se presenta algún tipo de infección causada por bacterias resistentes incrementa el riesgo de morbimortalidad, esto debido a que la terapia antibiótica no surge efecto. Pero no solo afecta a nivel de salud sino también económico ya que el estado invierte en fármacos nuevos, de alto precio, importados y más sofisticados que se van a emplear en un individuo o en una pequeña población por lo cual no es recíproco lo que se genera (34).

4.9 Mecanismos de resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es de dos tipos: La primera es la natural o intrínseca que no varía por ser propia de la especie, es el caso de la resistencia a vancomicina en bacterias gram negativas. La segunda es la adquirida o variable que es la más importante en el área de Laboratorio Clínico ya que la resistencia está dada en función de la variabilidad genética bacteriana. Los mecanismos de resistencia se adquieren por mutación o transferencia de material genético mediante transposones, integrones o plásmidos que son elementos genéticos transferibles; agrupándose en cinco mecanismos básicos: inactivación enzimática, modificación del sitio diana, alteración de la membrana bacteriana, alteración de la entrada del antibiótico dependiente de energía (vía metabólica) y por bombas de eflujo, actuando en función del mecanismo que expresen y la acción del antibiótico (35).

La inactivación del antibiótico es el último recurso empleado frente a la incapacidad de un microorganismo de detener la acción de esta sustancia, por ello las bacterias han elaborado varios métodos enzimáticos; uno de ellos lo constituyen las betalactamasas, cuya función radica en la capacidad de modificar o inactivar antibióticos betalactámicos (carbapenémicos, cefalosporinas y penicilinas) (35,36).

Las enzimas betalactamasas varían en la forma de inactivar un antibiótico y en la susceptibilidad a inhibidores (clavulanato, tazobactam y sulbactam); siendo las de mayor importancia BLEE y AmpC (36).

4.10 Clasificación de las Carbapenemasas

Las B-Lactamasas de las bacterias constituyen una compleja agrupación de enzimas con diversas propiedades en base a: parámetros cinéticos, localización extra-intracelular, codificación fuera o dentro del cromosoma, expresión genética o propiedades físico químicas; estos parámetros han sido utilizados para proponer y establecer una clasificación basada en dos esquemas: la clasificación molecular de Ambler y la clasificación funcional de Bush, Jacoby y Medeiros (37).

La clasificación molecular de Ambler (1980) se basó en la similitud de los aminoácidos sin prestar atención a las características fenotípicas; su división consistía en cuatro clases: A, B, C y D. La Clase A: penicilinasas que poseen un residuo de serina en el centro activo y la Clase B: cefalosporinasas metalo-beta-lactamasas que requieren zinc como cofactor. Jaurin & Grundstrom en 1981 adjudicaron a la clasificación la Clase C: cefalosporinasas con una serina en su centro activo y años más tarde se añade la Clase D: enzimas que hidrolizan oxacilina de otras B-lactamasas tipo serina (37,38).

Bush en 1989 establece una clasificación más precisa basándose en la homología funcional y la presencia o ausencia de inhibición por el ácido clavulánico para finalmente disponer de la propuesta de Bush-Jacoby-Medeiros que incluye subdivisiones: “2b”: B-lactamasas de amplio espectro que son inhibidas por el ácido clavulánico, “2be”: BLEE inhibidas por el ácido clavulánico que hidrolizan a las cefalosporinas de tercera generación y el monobactámico aztreonam, “2br”: B-lactamasas de amplio espectro que no son inhibidas por el ácido clavulánico, “2c”: enzimas que hidrolizan la carbenicilina y son inhibidas por ácido clavulánico, “2d”: enzimas que hidrolizan la cloxacilina, “2e”: cefalosporinas inhibidas por ácido clavulánico y “2f”: enzimas que hidrolizan carbapenémicos y son débilmente inhibidas por el ácido clavulánico y tienen en el sitio activo una serina (37,38).

Las clases moleculares de carbapenemasas más importantes y representativas de cada grupo son: Grupo A (KPC), Grupo B (NDM, VIM, IMP) y Grupo D (OXA) (39).

4.10.1 Carbapenemasas del Grupo A

Las carbapenemasas del grupo A son codificadas en plásmidos o cromosomas. KPC es la más sobresaliente por su gran impacto a nivel mundial ya que esta carbapenemasa se encuentra codificada por el gen *bla_{KPC}* que se localiza en un transposón con la habilidad de ingresar en distintos plásmidos de las bacterias gram negativas. Esta enzima presenta actividad contra un amplio espectro de antimicrobianos B-lactámicos que incluye penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, aztreonam y carbapenémicos; su actividad in vitro es débilmente inhibida por ácido clavulánico y tazobactam, a esto se le suma una elevada inhibición por ácido fenilborónico. La bacteria más prevalente en cuanto a producción de KPC es *K. pneumoniae*, pero cabe recalcar que no es la única ya que se han identificado otras bacterias como: *E. coli*, *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, *P. mirabilis*, *K. oxytoca*, *Salmonella*, *Pseudomonas* o *Acinetobacter* (28,39).

4.10.2 Carbapenemasas del Grupo B

Pertenece a esta clasificación molecular: VIM, IMP y NDM. Las bacterias portadoras de estos genes contienen mecanismos adicionales de resistencia con capacidad de hidrolizar todos los betaláctamicos con excepción del aztreonam. Sus genes se codifican principalmente en plásmidos que son de fácil diseminación (28,39).

bla_{VIM} es el gen de mayor importancia clínica por ser el más frecuente de este grupo siendo descrita en géneros bacterianos como *Enterobacterias*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* y *Acinetobacter spp.* El gen *bla_{IMP}* posee ese nombre en referencia a su resistencia a imipenem, el gen que lo codifica está presente en plásmidos es el caso *P. aeruginosa* y su rápida diseminación. De igual manera, el plásmido portador del gen *bla_{NDM-1}* se asocia con *E. coli*, pero se han analizado varios estudios en los cuales existe su presencia en *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Salmonella* (28,39).

4.10.3 Carbapenemasas del Grupo D

Dentro de este grupo destaca OXA-48, la cual presenta una gran actividad carbapenemasa con una secuencia de aminoácidos menor al 50% de homología respecto a los otros serotipos de OXA. Poseen capacidad para hidrolizar la oxacilina y la penicilina, pocas enzimas tienen actividad carbapenemasa e hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido; pero en general tienen una actividad carbapenemasa débil que no se inhibe por el ácido clavulánico, ácido borónico y agentes quelantes (EDTA). Presentan

resistencia elevada a la temociclina. El gen *bla*_{OXA-48} se identificó por primera vez en una cepa de *K. pneumoniae* en el 2003 en brotes nosocomiales y a partir de esa fecha se han ido expandiendo a lo largo del mundo. En recientes investigaciones se ha observado que OXA-48 prevalece frente a otras carbapenemasas; dentro de esta clase *Acinetobacter* es la principal productora de OXA sin dejar de lado especies como *E. coli* y *K. pneumoniae* (40).

4.11 Métodos de Identificación Bacteriana

El análisis de genes presentes en las bacterias productoras de carbapenemasas se ha convertido en un complejo e interesante estudio. Su identificación tiene la finalidad de conocer la variabilidad genética para lo que se requiere la aplicación de técnicas manuales, semiautomáticas y automáticas (28).

El uso de métodos fenotípicos y genotípicos permite la detección y confirmación mediante pruebas de hidrólisis del carbapenémico, inhibición de su actividad y la diferenciación genética del tipo de carbapenemasa utilizando técnicas moleculares (28).

La hidrólisis para confirmación de carbapenemasas se realiza por medio de pruebas espectrofotométricas que comparan la capacidad de hidrolizar el carbapenem por medio del método de MALDI-TOF. De igual manera, el test de Hogde modificado es un ensayo que tiene la finalidad de inactivar al carbapenémico en presencia de bacterias productoras de carbapenemasas, permitiendo a la cepa control (sensible a los carbapenémicos) crecer cerca del disco y a lo largo de la estría en la EPC. Es un método no recomendado por la EUCAST ya que presenta una baja especificidad (28,41).

Otro método es el test Carba NP, una prueba rápida de tipo colorimétrica que detecta la hidrólisis del imipenem por medio de un viraje de color cuando se detecta un cambio de pH que va desde el rojo al naranja que confirma la presencia de carbapenemasas siendo un test de alta especificidad, pero baja sensibilidad por ejemplo para detectar una carbapenemasa tipo OXA (28).

Para la diferenciación del tipo de carbapenemasa se utilizan métodos que inhiben enzimas específicas para las betalactamasas tipo A, B y C, siendo un test de alta sensibilidad. La inhibición con compuestos específicos como el ácido fenilborónico (APB) indica la presencia de carbapenemasas de tipo A como KPC, mientras que si se inhibe con cloxacilina más ácido fenilborónico es una B-lactamasa tipo AmpC. La

inhibición con EDTA o ácido dipicolínico demuestra la presencia de una metalo-B-lactamasa de clase B (VIM, NDM o IMP). Cuando el test no muestra inhibición señala la presencia de betalactamasas de clase D como OXA (28).

En el año 2018 el CLSI actualizó las pruebas de sensibilidad descartando el test de Hogde e incorporando el eCIM y mCIM como métodos de detección de carbapenemasas ya que demostraron alta sensibilidad y especificidad. Es por ello que se realizan siempre en conjunto: mCIM detecta carbapenemasas en enterobacterias mientras que eCIM permite diferenciar si la carbapenemasa pertenece a la familia de las metalo-B-lactamasas (MBL). En el método Carba NP se recomendó no aplicar en *Acinetobacter spp* (41).

Los estudios fenotípicos brindan resultados variables por la existencia de cepas que no sólo poseen dos tipos de carbapenemasas sino que además una BLEE, brindando falsos negativos en métodos de inhibición siendo necesaria la aplicación de técnicas moleculares como PCR que es el método “gold estándar”. En la actualidad se ha implementado el uso de microarrays y técnicas de PCR en tiempo real y multiplex (28).

El Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, utiliza métodos manuales (Cuenca) y automatizados (Quito) de identificación bacteriana que comprenden pruebas de sensibilidad en las que aplican la técnica de difusión en disco basado en el método de Kirby-Bauer modificado que determina la sensibilidad antibiótica del microorganismo según las normas de interpretación de la CLSI (35).

Para la identificación fenotípica se utilizan métodos de inhibición o sinergia con compuestos como EDTA, APB y cloxacilina, con la finalidad de diferenciar a qué clase de carbapenemasa pertenece según la clasificación de Ambler. Su interpretación se realiza con base en los criterios establecidos por la EUCAST (28).

En el área de biología molecular se utiliza PCR tradicional que es una técnica in vitro que consiste en obtener miles de copias de un ADN específico y delimitado por medio de enzimas como la polimerasa, primers, dNTPs, cloruro de magnesio, buffer y agua, actuando en tres etapas que son: desnaturalización, hibridación y elongación en tiempos y temperaturas estandarizadas en un termociclador para posteriormente ser leídos en geles de agarosa. Esta técnica es considerada gold estándar en identificación y

confirmación por su sensibilidad y especificidad ya que tiene como finalidad amplificar genes específicos como: *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} y *bla*_{NDM} (42).

4.12 Muestras biológicas características de carbapenemasas

4.12.1 Sangre

Las infecciones a nivel de torrente sanguíneo son ocasionadas por bacterias de tipo extravascular que ingresan al sistema circulatorio provenientes de otras lesiones o lugares de infección, dentro de las causas tenemos: el uso prolongado de medicamentos de amplio espectro, técnicas quirúrgicas o invasivas y agentes inmunosupresores, entre otros. La muestra se toma en frascos de hemocultivos mediante campo estéril para el diagnóstico de bacteriemia. Los géneros más frecuentes son: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomona* y *Escherichia coli* (43).

4.12.2 Orina

La muestra de orina para urocultivo es la primera micción de la mañana, recogida del chorro medio en frasco estéril previo al lavado de los genitales externos. En el área de microbiología se procesa el urocultivo ante la sospecha de bacterias uropatógenas ocasionadas por infecciones en el tracto urinario (ITU). La presencia de bacteriuria está relacionada con varios síndromes clínicos como: cistitis, pielonefritis, bacteriuria asintomática y síndrome uretral agudo. Los géneros más frecuentes son: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomona* y *Escherichia coli* (44).

4.12.3 Secreciones purulentas

Las secreciones purulentas son aquellas que presentan pus ocasionado por la inflamación de un tejido; compuesto por leucocitos o células al cual el sistema inmunitario trata de combatirlo. Generalmente encontramos secreciones a nivel de la faringe, oídos, pulmones, abscesos hepáticos, pulmonares, abdominales y cutáneos. Los géneros más frecuentes son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomona*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Legionella*, *Haemophilus*, etc (45).

4.12.4 Líquidos biológicos

Los líquidos biológicos son: Líquido Ceforraquideo (LCR), sinovial, peritoneal, ascítico, pericárdico y pleural, una vez que estos llegan al laboratorio deben ser

inmediatamente procesados para evitar el deterioro de las células. Los líquidos tienen la capacidad de ser portadores de agentes infecciosos que causan diversas enfermedades, es el caso de *Mycobacterium tuberculosis* en líquido pleural o *Neisseria meningitidis* en LCR (46).

4.12.5 Hisopado rectal

El hisopado rectal es una muestra que se somete a un estudio microbiológico para determinar el crecimiento de bacterias entéricas, considerándose óptima cuando se recolecta en el estadio agudo de la patología. Es eficiente en el aislamiento de *Campylobacter spp*, *Shigella spp*, *Salmonella spp*, *C. difficile* y en casos especiales en *Escherichia coli* entero hemorrágica, toxigénica, patógena o invasiva, *Yersinia*, *Vibrio* o *Streptococcus pyogenes* (47).

4.12.6 Catéter

Son de dos tipos: a) catéter vesical del que se extrae la muestra de orina por aspiración y b) catéter intravascular (venoso o arterial) que se obtiene al cortar los 3 cm distales del catéter. Para este tipo de muestra biológica se requiere una desinfección previa muy rigurosa y transporte en medios estériles. Según García et al, las bacteriemias asociadas a catéter son: *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Staphylococcus aureus*, BGN no fermentadoras, *Enterococcus* y *Enterobacterias* (48,49).

4.13 Factores de riesgo en pacientes portadores de carbapenemasas

Los factores de riesgo asociados a la adquisición de resistencias bacterianas son:

- a) La hospitalización por tiempo prolongado (10,50).
- b) Hospitalización en Unidades de cuidados intensivos (10).
- c) Pacientes inmunosuprimidos (10,50).
- d) Procedimientos quirúrgicos invasivos (cirugías) (10).
- e) Terapia antibiótica previa y su mala dosificación. Los antibióticos asociados son: inhibidores-B-lactamasa, cefalosporinas, aminoglucósidos, carbapenémicos y fluoroquinolonas (10,12).
- f) Cohabitar con pacientes infectados con enterobacterias productoras de carbapenemasas (10,12).
- g) Pacientes con ventilación mecánica, utilización de sondas vesicales o uso de vía venosa central (10,50).

4.14 Epidemiología

A inicios del siglo XXI surgió una expansión masiva de *K. pneumoniae* productora de KPC en Estados Unidos. En el año 1996 se descubrió el primer miembro de KPC en una especie bacteriana similar y a partir de ello resultaron nuevas variantes como KPC y KPC-2 en el 2001 y 2004 respectivamente. Las variantes se expandieron a otros estados y países debido al constante viaje de los pacientes portadores, es por ello que llegó a países como Francia, China, Grecia y América Latina (51).

Las metalo-B-lactamasas se hallaron en *Acinetobacter* y *P. aeruginosa*, de éstas los genes más comunes como bla_{VIM} o bla_{IMP} se detectaron a nivel mundial mientras que las otras fueron específicas de zonas europeas (bla_{SPM} , bla_{GIM} o bla_{SIM}). bla_{IMP} se aisló por primera vez en Japón y a partir de ahí se expandió a Corea del Sur, Taiwán, Australia y China, siendo escasa en otros continentes. Por otra parte, bla_{VIM} se aisló en el 2002 tanto en Europa como Norteamérica, esto debido a pacientes provenientes de áreas endémicas. Pero pese a ello sus tasas fueron bajas destacando los serotipos 1 y 4. Finalmente el gen bla_{NDM} fue hallado en la India y sus alrededores, con una diseminación similar a los otros grupos (51).

Turquía fue el país donde se identificó por primera vez bla_{OXA-48} en el 2001, posteriormente se evidenció su hallazgo en África, Marruecos, Ámsterdam y Francia provocando una diseminación clonal que alcanzó sitios como Senegal y Argentina provocando por lo tanto una expansión global (51).

Según información aportada por el programa de vigilancia internacional que monitorea la sensibilidad antimicrobiana, se detalla que países como Brasil y Argentina han incrementado la presencia de bacterias portadoras de KPC a partir del 2006. En Argentina se aisló una KPC-2 en un paciente que no había viajado a zonas endémicas por lo que se estableció un algoritmo para la detección de carbapenemasas tipo A. Este sistema demostró aislamientos repentinos hasta el 2009, fecha en la que existió una diseminación de una variante del gen muy parecido al original. Por otra parte, en Brasil se identificaron en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* de pacientes de UCI (51).

El mecanismo de resistencia a carbapenémicos se constituye endémico en Colombia, la diseminación inició en el 2009 observándose la existencia del gen bla_{KPC} en tres de siete regiones. En el año 2005 se encontraron aislamientos de *K. pneumoniae* que

presentaban la enzima KPC-2, tiempo después se encontraron brotes de KPC-3 en distintas zonas del país. *Pseudomona aeruginosa* reportó por primera vez la presencia del gen *bla_{KPC}* en tres pacientes y a partir de ello el grupo de Microbiología del INS, indicaron que en el período comprendido entre 2012-2013 existió una prevalencia de 4,5% del gen *bla_{KPC}* en *P. aeruginosa* (51).

En el Ecuador *Acinetobacter baumannii* registró una resistencia al meropenem (54%) e imipenem (51%) hasta el 2010 y en concordancia con la Red Whonet de Ecuador, estas cifras se han incrementado a un 62% para los dos carbapenémicos en relación con *A. baumannii* en el 2014. La resistencia a los carbapenémicos es mediada por B-lactamasas del tipo OXA: OXA-23 y OXA-58 que se distribuyen por todo el mundo (14,15).

4.15 Control de Calidad

Es un programa que incluye el total de actividades y sus resultados con la garantía de que la información aportada por el laboratorio clínico es correcta. Comprende una serie de procedimientos que van desde la capacitación del personal técnico, los métodos aplicados, la recolección y transporte de la muestra, el procedimiento y reporte de los resultados (52).

Por esta razón el HVCM se rige bajo la norma ISO 17025 para la acreditación del laboratorio que permite la realización de ensayos y calibraciones, la norma ISO 9001/2008 que evalúa la infraestructura, así como los procedimientos aplicados en cada área. La acreditación bajo la norma ISO 15189 evidencia la calidad y competencia técnica obteniendo también el Qmentum International Gold Oro 2015-2018 en su acreditación. El control de calidad abarca cinco modelos que son:

4.15.1 Control de Calidad – Área Pre analítica

Se considera la fase más importante de todo proceso analítico-biológico, involucra principalmente la toma de muestra; la cual debe ser representativa e idónea para una correcto aislamiento del germen bacteriano. Este proceso incluye desde la solicitud de la prueba, el transporte y almacenamiento de la muestra hasta que ésta se encuentre lista para ser analizada en el laboratorio de microbiología y biología molecular (53).

4.15.2 Control de Calidad – Área Analítica

Esta fase representa un menor porcentaje de error que va desde un 5% a un 15%. Incluye todo el proceso o la ejecución propia de la prueba, es decir la identificación del

microorganismo y sus genes de resistencia. El área analítica involucra los equipos, calibradores/materiales/reactivos/insumos que se emplean, así como el adiestramiento del profesional durante la elaboración del ensayo (54).

4.15.3 Control de Calidad – Área Post-analítica

Incluye el reporte final que considera el germen identificado, la resistencia que presenta y el gen al cual está asociado dicho microorganismo. En este trabajo investigativo, la identificación fenotípica se da por parte del laboratorio de microbiología del HVCM pero la confirmación del género/especie bacteriano así como la presencia del gen de resistencia tiene lugar en el INSPI, donde se elabora un reporte final. Esta fase constituye un 35% de error (55).

4.15.4 Control de Calidad Interno

En este modelo de gestión o control de calidad interno en el área de microbiología se evalúa la calidad de la muestra biológica, la viabilidad de los reactivos, medios de cultivo, el correcto funcionamiento de instrumentos y equipos, las normas de bioseguridad diarias, la validación de los resultados y su correcta interpretación (56).

Para el control de calidad de cepas se utiliza el método de ATCC que son microorganismos certificados, validados y estandarizados por el CLSI para la comprobación de métodos, procedimientos y resultados cuya reacción positiva o negativa se conoce (56,57).

4.15.5 Control de Calidad Externo

Se determina la precisión analítica frente a un organismo externo, estableciendo comparaciones de los resultados de la muestra o control analizado. En el área de microbiología se evalúa la capacidad de obtener un resultado seguro de una muestra que era desconocida por medio de la aplicación de los métodos y técnicas, cuyos resultados pueden ser comprobados a nivel nacional o internacional (58).

CAPÍTULO III

5 OBJETIVOS

5.1 General:

Establecer los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018.

5.2 Específicos:

- Identificar en los reportes de resultados los genes de resistencia en las principales bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso.
- Correlacionar el tipo de muestra biológica, servicio hospitalario, género bacteriano, sexo y edad con los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso.

CAPÍTULO IV

6 DISEÑO METODOLÓGICO

6.1 Tipo de Estudio

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, retrospectivo y de corte transversal a partir de los resultados confirmados de los estudios fenotípicos del laboratorio del HVCM y genotípicos confirmados por el laboratorio de referencia INSPI-RAM-CUENCA en el período 2017-2018.

6.2 Área de Estudio

Se revisaron los datos de los reportes de resultados a partir de cultivos bacterianos de muestras biológicas resistentes al menos a un carbapenémico de todas las áreas de hospitalización previamente analizadas y reportadas por el HVCM y confirmadas por el INSPI-RAM-CUENCA.

6.3 Universo y Muestra

El universo y la muestra fueron todos los reportes de resultados de cultivos bacterianos de muestras biológicas que presentaron resistencia al menos a un carbapenémico, por lo tanto, la muestra fue propositiva.

6.4 Criterios de Inclusión y de Exclusión

Criterios de Inclusión

- Resultados completos de cultivos bacterianos positivos confirmados que presentaron resistencia al menos a un carbapenémico.
- Resultados confirmados por el INSPI-RAM-CUENCA.

Criterios de Exclusión

- Resultados de pacientes con aislamientos bacterianos multisensibles.
- Bacterias que presentaron otros mecanismos de resistencia a carbapenémicos.

6.5 Variables

Dependientes

Gen.

Independientes

Muestra biológica, servicio hospitalario, género bacteriano, sexo y edad.

6.6 Operacionalización de las Variables

En el estudio se analizaron variables cualitativas como son: gen, muestra biológica, servicio hospitalario, género bacteriano, sexo y edad. Operacionalizadas con su definición, indicador y escala. La tabla se presenta en el (ANEXO 1).

6.7 Métodos, Técnicas e Instrumentos

Método

Se revisaron los reportes de resultados de muestras que fueron analizadas y reportadas por el área de Microbiología del HVCM y confirmadas por el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI-RAM-CUENCA), en el período 2017-2018. La información se recolectó en el formulario de datos (ANEXO 2).

Técnicas

En el instrumento (ANEXO 2) se recolectaron datos correspondientes a los genes de resistencia productores de carbapenemasas reportados en el período 2017-2018, posteriormente se subieron a una base digital y analizaron mediante el sistema SPSS versión 22.

Instrumentos

Se utilizó la base de datos del área de microbiología del Hospital Vicente Corral Moscoso, accediendo únicamente a la información necesaria para el trabajo de investigación (criterios de inclusión). El instrumento de recolección de datos se elaboró en base a las variables que se utilizaron en la presente investigación (ANEXO 2).

6.8 Plan de Tabulación y Análisis

Para la tabulación y análisis de los datos recolectados se utilizó el programa SPSS versión 22. Permitiendo a las autoras realizar una base de datos y análisis de variables cualitativas y cuantitativas empleando para ello valores porcentuales (muestra biológica, servicio hospitalario, gen, género bacteriano, sexo) y cuadros de asociación (edad).

6.9 Aspectos Éticos

La información recolectada con base en los reportes de resultados del área de microbiología del HVCM y confirmados por el laboratorio de referencia INSPI-RAM-CUENCA, fueron manejados con total confidencialidad.

Se realizó una recodificación de la información obtenida; en base al año, mes, día y número de caso, sin incluir en el estudio datos personales del paciente (nombres, apellidos, cédula de identidad) y con la aprobación del director del Laboratorio Clínico del HVCM.

De acuerdo al diseño del estudio y variables involucradas se consideró que no existe riesgo mayor para los individuos participantes, además esta investigación cumplió tácticamente con los criterios de principios bioéticos.

CAPÍTULO V

7 RESULTADOS Y TABLAS

Tabla 1: Distribución de genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Gen de Resistencia	Años				Total	%
	2017		2018			
	Nº	%	Nº	%		
<i>bla</i> _{KPC}	49	41,52	57	48,30	106	<u>89,83</u>
<i>bla</i> _{OXA} (23,24,51)	3	2,54	5	4,24	8	<u>6,78</u>
<i>bla</i> _{VIM}	1	0,85	2	1,69	3	<u>2,54</u>
<i>bla</i> _{IMP}	0	0	1	0,85	1	<u>0,85</u>
TOTAL	53	44,92	65	55,08	118	100,00

Nº: Número de genes de resistencia.
%: Porcentaje de genes de resistencia.

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: Del **100,00%** de cepas bacterianas productoras de carbapenemasas, el gen de resistencia *bla*_{KPC} predominó con el **89,83%**, seguido de *bla*_{OXA} con tres serotipos 23, 24 y 51 que reportó **6,78%**; finalmente *bla*_{IMP} se identificó en el **0,85%** de cepas bacterianas.

Tabla 2: Distribución del género/especie bacteriano de cepas aisladas en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Género Bacteriano	Años				Total	%
	2017		2018			
	Nº	%	Nº	%		
<i>K. pneumoniae</i>	39	33,05	45	38,14	84	<u>71,18</u>
<i>A. calcoaceticus baumannii</i>	3	2,54	5	4,24	8	<u>6,78</u>
<i>S. marcescens</i>	5	4,24	3	2,54	8	<u>6,78</u>
<i>E. cloacae</i>	3	2,54	2	1,69	5	<u>4,24</u>
<i>E. coli</i>	0	0	5	4,24	5	<u>4,24</u>
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	3	2,54	3	<u>2,54</u>
<i>C. freundii</i>	1	0,85	1	0,85	2	<u>1,69</u>
<i>K. oxytoca</i>	1	0,85	0	0	1	<u>0,85</u>
<i>P. putida</i>	1	0,85	0	0	1	<u>0,85</u>
<i>E. aerogenes</i>	0	0	1	0,85	1	<u>0,85</u>
Total	53	44,92	65	55,08	118	100,00

Nº: Número de cepas bacterianas – género/especie.
%: Porcentaje de cepas bacterianas – género/especie .

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: *K. pneumoniae* representó el **71,18%** de las cepas bacterianas aisladas, seguida por *A. calcoaceticus baumannii* y *S. marcescens* con **6,78%** en cada género/especie bacteriano. Se reportó *K. oxytoca*, *P. putida* y *E. aerogenes* con el **0,85%** de aislamientos.

Tabla 3: Distribución según la variable sexo en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Sexo	Años				Total	%
	2017		2018			
	N°	%	N°	%		
Masculino	31	26,28	36	30,50	67	<u>56,78</u>
Femenino	22	18,64	29	24,58	51	43,22
Total	53	44,92	65	55,08	118	100,00

N°: Número de pacientes en los que se identificó genes de resistencia.

%: Porcentaje de pacientes en los que se identificó genes de resistencia.

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: De acuerdo al sexo de los pacientes que presentaron cepas bacterianas productoras de carbapenemasas, el **56,78%** fue representado por el sexo masculino.

Tabla 4: Distribución por grupos de edad en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Grupos de edad	Años				Total	%
	2017		2018			
	N°	%	N°	%		
0-9 años	5	4,24	5	4,24	10	8,47
10-19 años	3	2,54	5	4,24	8	6,78
20-29 años	3	2,54	10	8,47	13	11,02
30-39 años	6	5,08	12	10,17	18	15,25
40-49 años	4	3,39	5	4,24	9	7,63
50-59 años	5	4,24	9	7,63	14	11,86
60-69 años	8	6,78	6	5,08	14	11,86
70-79 años	13	11,02	7	5,93	20	<u>16,95</u>
80-89 años	3	2,54	5	4,24	8	6,78
90-99 años	3	2,54	1	0,85	4	<u>3,39</u>
Total	53	44,92	65	55,08	118	100,00

N°: Número de pacientes según el grupo de edad en los que se identificó genes de resistencia.

%: Porcentaje de pacientes según el grupo de edad en los que se identificó genes de resistencia.

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: Del **100,00%** de cepas bacterianas productoras de carbapenemasas aisladas en pacientes, el grupo de edad entre 70-79 años fue predominante con el **16,95%**, mientras que el rango entre los 90-99 años estuvo representado por el **3,39%** de los aislamientos.

Tabla 5: Distribución según muestra biológica obtenida de pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Muestra biológica	Años				Total	%
	2017		2018			
	N°	%	N°	%		
Secreciones Purulentas	18	<u>15,25</u>	35	<u>29,66</u>	53	<u>44,92</u>
Hisopado Rectal	10	8,47	13	11,02	23	19,49
Orina	11	9,32	7	5,93	18	<u>15,25</u>
Líquidos Biológicos	8	6,78	3	2,54	11	9,32
Sangre	4	3,39	4	3,39	8	6,78
Catéter	2	1,69	3	2,54	5	<u>4,24</u>
Total	53	44,92	65	55,08	118	100,00

N°: Número de muestras biológicas en las que se aisló EPC.
 %: Porcentaje de muestras biológicas en las que se aisló EPC.

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: Dentro de las muestras se encontró el mayor porcentaje de aislamientos en secreciones purulentas con **44,92%**, correspondiendo al año 2017 el **15,25%**, incrementándose en el año 2019 al **29,66%**. El **4,24%** se reportó en catéter.

Tabla 6: Distribución por servicio hospitalario en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Servicio hospitalario	Años				Total	%
	2017		2018			
	Nº	%	Nº	%		
Clínica	34	28,81	27	22,88	61	<u>51,70</u>
UCI Adultos	9	7,63	14	11,86	23	19,49
Cirugía	5	4,24	16	13,56	21	17,80
Pediatría	4	3,39	5	4,24	9	7,63
UCI Pediátrico	0	0	2	1,69	2	<u>1,69</u>
Neonatología	1	0,85	1	0,85	2	<u>1,69</u>
Total	53	44,92	65	55,08	118	100,00

Nº: Número de cepas bacterianas aisladas de acuerdo al servicio hospitalario.

%: Porcentaje de cepas bacterianas aisladas de acuerdo al servicio hospitalario.

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: Clínica fue el área de hospitalización que reportó mayor porcentaje de cepas bacterianas con el **51,70%**, mientras que en UCI Pediátrico y Neonatología se aislaron el **1,69%** en cada servicio hospitalario.

Tabla 7: Relación entre grupos de edad y sexo en pacientes que se aislaron cepas productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Grupos de edad	Sexo				Total	%
	Masculino		Femenino			
	N°	%	N°	%		
0-9 años	7	5,93	3	2,54	10	8,47
10-19 años	3	2,54	5	4,24	8	6,78
20-29 años	8	6,78	5	4,24	13	11,02
30-39 años	13	11,02	5	4,24	18	15,25
40-49 años	5	4,24	4	3,39	9	7,63
50-59 años	8	6,78	6	5,08	14	11,86
60-69 años	12	10,17	2	1,69	14	11,86
70-79 años	8	6,78	12	10,17	20	16,95
80-89 años	1	0,85	7	5,93	8	6,78
90-99 años	2	1,69	2	1,69	4	3,39
Total	67	56,78	51	43,22	118	100,00

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: El grupo de edad de 70-79 años reportó el **16,95%** de cepas aisladas predominando el sexo femenino con el **10,17%**. En los paciente entre 90-99 años se aisló el **1,69%** de cultivos bacterianos por cada año de estudio.

Tabla 8: Relación entre la variable sexo y el género/especie bacteriano aislados en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Género Bacteriano	Sexo				Total	%
	Masculino		Femenino			
	N°	%	N°	%		
<i>K. pneumoniae</i>	47	<u>39,83</u>	37	30,35	84	<u>71,18</u>
<i>A. calcoaceticus baumannii</i>	4	3,39	4	3,39	8	6,78
<i>S. marcescens</i>	4	3,39	4	3,39	8	6,78
<i>E. cloacae</i>	4	3,39	1	0,85	5	4,24
<i>E. coli</i>	3	2,54	2	1,69	5	4,24
<i>P. aeruginosa</i>	2	1,69	1	0,85	3	2,54
<i>C. freundii</i>	2	1,69	0	0	2	1,69
<i>K. oxytoca</i>	0	0	1	<u>0,85</u>	1	<u>0,85</u>
<i>P. putida</i>	1	<u>0,85</u>	0	0	1	<u>0,85</u>
<i>E. aerogenes</i>	0	0	1	<u>0,85</u>	1	<u>0,85</u>
Total	67	56,78	51	43,22	118	100,00

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: *K. pneumoniae* es el género/especie bacteriano más aislado con el **71,18%**, predominando en el sexo masculino con **39,83%**. Por su parte; *K. oxytoca*, *P. putida* y *E. aerogenes* reportaron el **0,85%** por cada cepa bacteriana.

Tabla 9: Relación entre el género/especie bacteriano y los genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas aisladas en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Género Bacteriano		Gen de Resistencia				Total
		<i>bla_{KPC}</i>	<i>bla_{VIM}</i>	<i>bla_{IMP}</i>	<i>bla_{OXA}</i> (23,24,51)	
<i>K. pneumoniae</i>	N°	84	0	0	0	84
	F (%)	(71,18)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(71,18)
<i>A. calcoaceticus baumannii</i>	N°	0	0	0	8	8
	F (%)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(6,78)	(6,78)
<i>S. marcescens</i>	N°	8	0	0	0	8
	F (%)	(6,78)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(6,78)
<i>E. cloacae</i>	N°	5	0	0	0	5
	F (%)	(4,24)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(4,24)
<i>E. coli</i>	N°	5	0	0	0	5
	F (%)	(4,24)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(4,24)
<i>P. aeruginosa</i>	N°	0	2	1	0	3
	F (%)	(0,0)	(1,69)	(0,85)	(0,0)	(2,54)
<i>C. freundii</i>	N°	2	0	0	0	2
	F (%)	(1,69)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(1,69)
<i>K. oxytoca</i>	N°	0	1	0	0	1
	F (%)	(0,0)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(0,85)
<i>E. aerogenes</i>	N°	1	0	0	0	1
	F (%)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,85)
<i>P. putida</i>	N°	1	0	0	0	1
	F (%)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,85)
Total	N°	106	3	1	8	118
	% Total	(89,83)	(2,54)	(0,85)	(6,78)	(100,00)

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: La bacteria *K. pneumoniae* reportó el **71,18%** de genes de resistencia tipo *bla_{KPC}* seguido de *A. calcoaceticus baumannii* y su gen *bla_{OXA}* con el **6,78%**; en comparación con otras cepas bacterianas como *K. oxytoca* con *bla_{VIM}* y *E. aerogenes*, *P. putida* con *bla_{KPC}*.

Tabla 10: Relación entre el género/especie bacteriano y la muestra biológica obtenidas en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso. Cuenca, 2017-2018.

Género Bacteriano		Muestra Biológica						Total
		Sangre	Orina	Secreción Purulenta	Líquido Biológico	Hisopado Rectal	Catéter	
<i>K. pneumoniae</i>	N°	5	15	36	5	19	4	84
	F (%)	(4,24)	(12,71)	<u>(30,50)</u>	(4,24)	(16,10)	(3,39)	(71,18)
<i>A. calcoaceticus baumannii</i>	N°	0	0	7	0	1	0	8
	F (%)	(0,0)	(0,0)	<u>(5,93)</u>	(0,0)	(0,85)	(0,0)	(6,78)
<i>S. marcescens</i>	N°	1	1	2	3	0	1	8
	F (%)	(0,85)	(0,85)	(1,69)	(2,54)	(0,0)	(0,85)	(6,78)
<i>E. cloacae</i>	N°	0	2	1	0	2	0	5
	F (%)	(0,0)	(1,69)	(0,85)	(0,0)	(1,69)	(0,0)	(4,24)
<i>E. coli</i>	N°	0	0	3	1	1	0	5
	F (%)	(0,0)	(0,0)	(2,54)	(0,85)	(0,85)	(0,0)	(4,24)
<i>P. aeruginosa</i>	N°	1	0	2	0	0	0	3
	F (%)	(0,85)	(0,0)	(1,69)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(2,54)
<i>C. freundii</i>	N°	0	0	1	1	0	0	2
	F (%)	(0,0)	(0,0)	(0,85)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(1,69)
<i>K. oxytoca</i>	N°	0	0	0	1	0	0	1
	F (%)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(0,85)
<i>P. putida</i>	N°	1	0	0	0	0	0	1
	F (%)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,85)
<i>E. aerogenes</i>	N°	1	0	0	0	0	0	1
	F (%)	(0,85)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,85)
Total	N°	9	18	52	11	23	5	118
	% Total	(7,63)	(15,25)	<u>(44,07)</u>	(9,32)	(19,49)	(4,24)	(100,00)

Fuente: Formulario de Recolección

Elaborado por: Andrea Bonilla, Carolina Buestán

Análisis: Las secreciones purulentas se reportaron en un **44,07%** del total de muestras biológicas con mayor frecuencia en *K. pneumoniae* con **30,50%** en comparación con *A. calcoaceticus baumannii* con **5,93%** de cepas aisladas.

CAPÍTULO VI

8 DISCUSIÓN

Fariña en el año 2016 en su estudio “Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución” menciona el incremento de las resistencias como producto del uso inadecuado de terapias antibióticas, así como una deficiente prevención, control y vigilancia de las IASS; esto ha ocasionado la diseminación de cepas con mecanismos de resistencia que incrementan las tasas de morbilidad y mortalidad (59).

A continuación, se detalla el estudio realizado con base en los reportes de resultados del área de microbiología del HVCM y confirmados por el INSPI-RAM-CUENCA durante los años 2017-2018. Se describe los genes de resistencia identificados en cepas productoras de carbapenemasas: *bla*_{KPC}: 89,83%, *bla*_{OXA} - serotipos 23, 24,51: 6,78%, *bla*_{VIM}: 2,54% y *bla*_{IMP}: 0,85%. Datos que concuerdan con el estudio de Josa et al, en Colombia 2017 quienes encontraron como gen predominante a *bla*_{KPC} en el 100,00% de sus cepas aisladas, con la característica de que una de ellas compartía dos genes *bla*_{IMP} y *bla*_{KPC} simultáneamente. De Moura et al, en Brasil 2014 “Prevalência de carbapenemas em enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em quatro hospitais terciários de Porto Alegre” en sus reportes señalaron que los genes identificados fueron: *bla*_{KPC}: 91,15%, *bla*_{OXA}: 5,36%, *bla*_{NDM}: 3,22% y *bla*_{GES}: 0,27%. Resumiendo lo planteado la OMS y Falco et al, afirman que *bla*_{KPC} es el gen de resistencia diseminado a nivel mundial, ubicado en elementos genéticos móviles (plásmidos/transposones) con capacidad de transmitirse de forma horizontal entre las bacterias (60-63).

El género/especie bacteriano productor de carbapenemasas predominante fue *Klebsiella pneumoniae* con el 71,18% seguido por *Acinetobacter calcoaceticus baumannii* y *Serratia marcescens* con el 6,78% de los aislamientos cada uno, en menor porcentaje se encontraron *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomona putida* y *Enterobacter aerogenes* con 0,85% respectivamente. López et al, en España 2017 en su estudio “Epidemiología de la diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital Comarcal y un hospital de media estancia en Madrid” reportaron a *Klebsiella pneumoniae* con el 87,80% de aislamientos respecto a *Klebsiella oxytoca* que presentó el 0,50%. De igual manera, Josa et al, en Colombia 2017 en su investigación

denominada “Evaluación de tres métodos de tamizaje para detección de Enterobacteriaceae productoras de carbapenemasas en hisopados rectales” identificaron 13 aislamientos (65%) de *Klebsiella pneumoniae* y el 0,50% tanto para *Pseudomona aeruginosa* como para *Enterobacter aerogenes*. Por todo lo expresado anteriormente Montúfar et al, consideran que *Klebsiella pneumoniae* es una bacteria de transmisión geográfica multifarmacorresistente; la conducta endémica que adopta después del brote es difícil de controlar ya que junto con *Acinetobacter calcoaceticus baumannii* son BGN que presentan una elevada resistencia intrínseca causando una alta morbimortalidad sobre todo en pacientes hospitalizados (60,64,65,66)

Según la distribución de los genes de resistencia de acuerdo al sexo, predominó el masculino con 56,78% de los reportes. Los datos son similares a la investigación realizada por Gomes et al, en Brasil 2018 denominado “Bacteremia por enterobactéria resistente a carbapenêmicos: epidemiologia, fatores de risco, tipo de terapia e desfecho clínico em um hospital geral do interior paulista” que indicaron el predominio del sexo masculino con el 59,00% de reportes. Ohno et al, en Japón 2017 en su estudio “Molecular epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a primary care hospital in Japan, 2010-2013” demostraron que el 50,00% de sus reportes lo representaron los hombres. Por lo tanto Montúfar et al, mencionan que los hombres son más vulnerables a enfermedades bacterianas debido a sus características biológicas, fisiológicas, hormonales o genéticas, siendo sus patologías más frecuentes la hipertensión, diabetes, enfermedades cardíacas y pulmonares asociadas a conductas del comportamiento como: tabaquismo, alcoholismo y drogadicción (8,67,68).

En el análisis de los resultados se evidenció una tendencia importante en cuanto al rango de edad entre 70-79 años con el 16,95% de los reportes. De igual forma, en el estudio de Maldonado et al, Colombia 2016 titulado “Resistencia a ertapenem en 2 instituciones hospitalarias de alto nivel de complejidad: microbiología, epidemiología y factores de riesgo” donde observaron que la mediana de edad fue de 69,5 años. Nastro et al, en Argentina 2016 en su estudio denominado “Enterobacterias portadoras de KPC en un hospital universitario”, confirmaron que la edad promedio fue de 65 años comprendidas en un rango entre los 17-99 años. Los resultados anteriores concuerdan con nuestros reportes siendo este grupo etario (tercera edad) de mayor riesgo de morbimortalidad; asociada a un sistema inmunitario débil (inmunosenescencia), carencias nutricionales,

modificaciones fisiológicas y anatómicas producto del envejecimiento. Según Masanés et al, esto facilita los procesos infecciosos producidos por bacilos gram negativos y anaerobios sobre todo en pacientes hospitalizados (12,69,70,71).

La muestra biológica en la que se aislaron mayor cantidad de cepas bacterianas fueron las secreciones purulentas con el 44,92% y la de menor número de aislamientos fue catéter con el 4,24%. Resultados diferentes a la investigación de Velasquez & Lau quienes indicaron que sangre fue la muestra biológica más frecuente con el 37,00% y catéter la menos común con el 6,00%. Así mismo, González et al, en España 2019 en su investigación “Evolution of the incidence of colonized and infected patients by VIM carbapenemase - producing bacteria in a pediatric hospital in Spain” señalaron el predominio de sangre con el 5,20% y de menor relevancia la categorizada como otras con 1,30%. Oteo et al, en España 2015 en su estudio llamado “Prospective multicenter study of carbapenemase - producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem” reportaron 379 aislamientos; de estos el 79,20% hacían referencia a muestras clínicas, sobresaliendo orina con 52,70% y el 20,20% correspondía a muestras de cribado siendo común los hisopados rectales. Los datos difieren con nuestra investigación ya que tomamos como secreción purulenta a un grupo de muestras representativas para nuestro estudio como: esputo, secreción bronquial, traqueal, de úlceras y heridas, por esta razón nuestros resultados no concuerdan ya que los autores expuestos anteriormente analizaron y clasificaron a las muestras de modo diferente. Las secreciones purulentas se producen por una variedad de bacterias que conforman la microbiota de las regiones anatómicas corporales, así como de sus mucosas ingresando al organismo a través de soluciones de continuidad generando focos de infección con fuertes complicaciones (72-75).

De acuerdo al servicio hospitalario en el área de Clínica se reportó el 51,70% de aislamientos bacterianos y en UCI Pediátrico y neonatología el 1,69% por cada servicio. Molin C, en Paraguay 2016 realizó un estudio denominado “Detección de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes que acudieron al Hospital de Clínica San Lorenzo de febrero a julio 2013” obteniendo los siguientes porcentajes: UCI adultos: 38%, clínica: 28%, urgencias: 18%, traumatología: 5%, urología: 5% y consulta externa: 5%. Del mismo modo Brañas et al, en España 2018 en su estudio titulado “Epidemiología molecular de las infecciones/colonizaciones por enterobacterias

productoras de carbapenemasas en un hospital de Madrid” señalaron que sus cepas más frecuentes provenían de pacientes de UCI Adultos con 29,9% y solo el 5,4% pertenecían a UCI Pediátrico. Estos resultados difieren de nuestro análisis, recalcando la importancia de UCI y su asociación con IAAS ya sea por ingreso o como estancia en esta área hospitalaria. El primer autor cita que la cohabitación de bacterias produce contaminación en los distintos servicios hospitalarios, es el caso de clínica, ocasionadas por una incorrecta ejecución de las medidas preventivas (9,10,40).

Con base en los resultados obtenidos en relación al grupo de edad y sexo, el grupo prevalente fue entre los 70-79 años. El sexo femenino es el más frecuente con 10,17% de los reportes que se relacionan con el estudio de Lespada et al, en España 2019 denominado “Bacteremia caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *K. pneumoniae*. A retrospective study of 7 years” encontrando en el primer período 55,00% reportes en mujeres y 45,00% en varones, por su parte durante el segundo período se evidenciaron 38,00% de los reportes en mujeres y 62,00% en varones; la mediana de la edad se mantuvo entre los rangos de 31-68 años. De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestro estudio el 56,78% de reportes del 100,00% fueron provenientes de pacientes del sexo masculino; de estos únicamente el grupo de edad de 70-79 años presentó mayor número de reportes en el sexo femenino. Alarcón & Espinosa concluyen que el sexo masculino y las personas de la tercera edad son los más vulnerables; en el primer caso se debe a variaciones en sus hormonas sexuales ya que las altas concentraciones de testosterona pueden originar la apoptosis de células T limitándolas en número. Por ello se afirma que el sexo masculino posee una respuesta celular y humoral débil que lo hace propenso a múltiples infecciones. Las personas de la tercera edad debido a la presencia de factores extrínsecos e intrínsecos que favorecen su debilitamiento (76-78).

Klebsiella pneumoniae es el bacilo gram negativo más aislado con un total de 71,18% de cepas bacterianas en ambos sexos, prevaleciendo con 39,83% en el sexo masculino. De igual forma, Lespada et al, en su investigación reportaron un total de 54,00% aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en pacientes de sexo masculino. Por todo lo expresando anteriormente Vera et al, citaron en su estudio que el patógeno más reportado en IAAS es *K. pneumoniae* a nivel mundial debido a su capacidad para producir mecanismos de resistencia; enfatizando que los pacientes de sexo masculino

son más susceptibles a patógenos por las condiciones de su sistema inmunológico, a esto se le suman factores de riesgo como: inmunosupresión, ventilación mecánica, catéteres, trasplantes, terapia antibiótica mal dosificada, así como la hospitalización en áreas de cuidados intensivos o por tiempo prolongado (62,76,78).

bla_{KPC} fue el gen de resistencia identificado en *Klebsiella pneumoniae* con el 71,18% de reportes, seguido de *bla_{OXA}* con 6,78% en *Acinetobacter calcoaceticus baumannii*. Resultados similares fueron obtenidos por Melgarejo et al, en Paraguay 2013 en su investigación titulada “Enterobacteria carbapenem-resistant KPC by production, isolated inhospitals and Asunción and Central Department” confirmando alrededor del 87,00% de cepas de *Klebsiella pneumoniae* portadoras de KPC. No obstante, Saavedra et al, en Colombia 2015 en su estudio denominado “Factores de riesgo para infección o colonización por *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos en pacientes adultos hospitalizados en Unidades de Cuidado Intensivo, Bogotá, Colombia” informaron que el gen prevalente fue *bla_{OXA-51}* presente en el 100,00% de los aislamientos de *Acinetobacter baumannii*; de estos, 95,55% fueron positivos para *bla_{OXA-23}*, 0,74% para *bla_{OXA-72}* y 3,70% correspondían únicamente a *bla_{OXA-51}*. En el 2017 la OMS publicó el género y la especie de patógenos que constituían un problema para la salud, entre estos se encontraron *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomona aeruginosa* entre otras. Por lo tanto, se evidencia que los genes de resistencia presentan una diseminación mundial ya sea por transmisión horizontal, entre pacientes o por traslados migratorios. Es decir, los genes de resistencia pueden ser endémicos de ciertos países y reportar pocos aislamientos en otros (79-81).

Klebsiella pneumoniae fue el género/especie bacteriano más reportado en secreciones purulentas con 30,50% aislamientos seguido de *Acinetobacter calcoaceticus baumannii* con 5,93%. Las secreciones purulentas encontradas en nuestro estudio pertenecieron a: esputo, secreción bronquial, traqueal, de úlceras y heridas. Esto se podría relacionar con lo que encontró Villatoro et al, en El Salvador 2018 en su estudio “Identificación de bacterias resistentes a antibióticos carbapenémicos en hospitales de el Salvador”, indicando que el patógeno aislado con mayor frecuencia fue *Acinetobacter baumannii* con 85% y *Klebsiella pneumoniae* con 10% en muestras biológicas como: secreciones purulentas: 77%, líquidos biológicos: 19% y 4% en otro tipo de muestras. Según la OMS el principal agente patógeno productor de IAAS como: infecciones quirúrgicas

(heridas), de tejidos blandos, ITU, neumonía y otros es *Klebsiella pneumoniae* que se aísla principalmente en secreción purulenta; debido a que el patógeno generalmente afecta al tejido cutáneo o mucosas provocando infecciones agudas o crónicas que son un medio de cultivo para la colonización de bacterias y su proliferación (82,83).

A pesar de que los carbapenémicos son antibióticos con un gran espectro en respuesta a una variedad de cepas bacterianas, existen mecanismos de resistencia que bloquean su acción dificultando un tratamiento eficaz y oportuno. Ross et al, mencionan que “En América Latina la resistencia bacteriana se ha convertido en un desafío para la medicina actual”. En virtud de los resultados, el estudio de genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas es un gran reto en nuestro país ya que involucra el uso de métodos moleculares poco aplicados, pero de gran relevancia en el área de la salud, permitiendo en esta investigación conocer los genes de resistencia presentes en nuestro medio (84).

CAPÍTULO VII

9 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Con base en los resultado obtenidos en la investigación titulada “Genes de resistencia presentes en bacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca. 2017-2018”, se plantean las siguientes conclusiones:

- Los genes de resistencia en cepas bacterianas fueron identificados principalmente en pacientes del sexo masculino con el 56,78% de reportes, teniendo como grupo de edad más frecuente de 70-79 años con el 16,95% de reportes.
- La muestra biológica con mayor número de aislamientos fue la secreción purulenta con 44,92%.
- El servicio hospitalario con más reportes de cepas bacterianas fue el área de clínica con 51,70%.
- Los genes de resistencia circulantes en el HVCM fueron: *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA}, *bla*_{VIM} y *bla*_{IMP}.
- *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC fue el género/especie bacteriano más reportado con 71,18%.

RECOMENDACIONES

- Fortalecer el uso de medidas de bioseguridad: equipo de protección personal (guantes, mascarillas, gafas, batas descartables, etc.) y materiales de uso individual (termómetro, estetoscopio, entre otros).
- Dar a conocer los genes de resistencia circulantes al personal médico que labora en el HVCM con la finalidad de mejorar su sistema de vigilancia epidemiológica.
- Desarrollar charlas de concientización que promuevan el uso efectivo (dosis, duración y vía de administración) de los antibióticos por parte del personal médico.
- Elaborar guías con base en las resistencias bacterianas locales y patrones microbiológicos.
- Implementar pruebas de detección molecular que permitan obtener resultados rápidos y sirvan de apoyo en la elección del antibiótico.
- Contribuir con la base de datos al sistema informático WHONET del MSP del Ecuador.

CAPÍTULO VIII

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Rev Haban Cienc Méd.* 2017;16(3):402-419.
2. Rodríguez E. Caracterización genética de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, resistentes a carbapenémicos, remitidos al grupo de resistencia bacteriana de Bogotá GREBO por hospitales del distrito, en un periodo de 3 años. [Tesis de Magister]. Bogotá: Facultad de Ciencias Departamento de Microbiología, Universidad Nacional de Colombia; 2014.
3. Iñiguez D, Zurita J, Alcocer I, Ortega D, Gómez A, Maldonado L. *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC-2 en el Ecuador. *Rev Fac Cien Med.* 2012;37(1-2):39-41.
4. Díaz C, Vásquez K. Resistencias Bacterianas en muestras de pacientes hospitalizados en el Instituto de Seguridad Social José Carrasco Arteaga, Enero – Diciembre 2016. [Tesis de Pre grado]. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Cuenca; 2018.
5. Zeballos L, Espinoza E. Genética Bacteriana. *Rev. Act. Clin. Med.* 2019; v.49.
6. OMS. Asamblea Mundial de la Salud. Informe de un grupo científico de la OMS. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos; 2014. Report No.: ISBN.
7. Oteo J, Calbo E, Rodríguez J, Oliver A, Hornero A, Ruiz P, et al. La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en España: documento de posicionamiento de los grupos de estudio GEIH y GEMARA de la SEIMC. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* 2014;666–70.
8. Ohno Y, Nakamura A, Hashimoto E, Matsutani H, Abe N, Fukuda S, et al. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a primary care hospital in Japan, 2010-2013. *J Infect Chemother.* 2017;23(4):224-229.
9. Brañas P, Gil M, Villa J, Orellana M A, Chaves F. Epidemiología molecular de las infecciones/colonizaciones por enterobacterias productoras de

- carbapenemasas en un hospital de Madrid. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(2):100-103.
10. Ocampos J, Takahasi V. Enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes del Servicio de Clínica Médica del Hospital Nacional de Itauguá. *Rev virtual Soc Parag Med Int.* 2015;2(2):33-42.
 11. Organización Panamericana de la Salud. Alerta epidemiológica: primer hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica, 2011.
 12. Nastro D, De Gregorio S, Rodríguez H, Farina J, Foccoli M, Vay C, et al. Enterobacterias portadoras de KPC en un hospital universitario. *Rev Asc Med Arg.* 2016;129(2):10-12.
 13. Sacaquispe R, Bailón H. Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017. *Rev Perú Med Exp Salud Pública.* 2018;35(2):259-264.
 14. Rojo V, Vásquez P, Reyes S, Puente L, Cervero M. Factores de riesgo y evolución clínica de las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en un hospital universitario de España. Estudio de casos y controles. *Rev Esp Quimioter.* 2018;31(5):247-434.
 15. Robalino E, Vallejo Y. Frecuencia de infecciones y tasa de mortalidad por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca-Ecuador, enero 2016-enero 2017. [Tesis de Pre grado]. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Cuenca; 2018.
 16. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública. Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana-Ecuador, 2019.
 17. OMS. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2019. Report No.: ISBN.
 18. Sotomayor N. Caracterización de la resistencia a los carbapenémicos de *Acinetobacter spp.* a partir de aislados clínicos y ambientales de la ciudad de Quito, Ecuador, 2016. [Tesis de Magister]. Ecuador: Facultad de Bioanálisis, Pontificia Universidad Católica; 2016.

19. Vargas T, Kuno A. Morfología Bacteriana. *Rev. Act. Clin. Med.* 2014; v.49.
20. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos L. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica. *Int. J. Morphol.* 2017;35(4):1214-1223.
21. Pierce, B. *Genética. Un enfoque conceptual.* 5ta edición. Madrid, España: ed. Médica Panamericana; 2014, p. 832.
22. Bado I, Cordeiro N, García V, Robino L, Seija V, Vignoli R. Principales Grupos de Antibióticos. *Rev Clin Infect Dis.* 2015;32(1):9-15.
23. Rodríguez Y, Pantoja C, Beatón O, Zúñiga A, Rodríguez V. Antimicrobians prescription and their relationship with the bacterial resistance in a municipal general hospital. *Rev Med Santiago de Cuba.* 2017;21(5):534-539.
24. Acuña G. Evolución de la terapia antimicrobiana: lo que era, lo que es y lo que será. *Rev Chil. Infectol.* 2014;20(1):7-10.
25. Camacho W. Los antimicrobianos en la práctica médica. *Am J Med.* 2015;105(1):478-483.
26. Del Arco J. Antibióticos Situación Actual. *Rev haban cienc med.* 2014;28(5):5-50.
27. Gómez J, Garcia E, Hernández A. Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter.* 2015;28(1):1-9.
28. Cercenado E. Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Rev Esp Quimioter.* 2015;28(1):8-11.
29. Hoyos M. Quinolonas – Carbapenémicos. *Rev Med Bol.* 2013;24(1):1285-1289.
30. Moreno K. Carbapenémicos: Tipos y Mecanismos de Resistencia Bacterianos. *Rev Med Cost R & Centr.* 2013,LXX (608):599-605.
31. Hernández N. Lectura interpretada del antibiograma. *Rev Cub Med Mil.* 2013;42(4):502-506.
32. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica.* En Universidad de la República. 2da edición corregida. FEFMUR. 2008; p. 663 – 670.
33. Clinical and Laboratory Standars Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* CLSI; 27th ed (Estados Unidos); 2017.

34. Alós J. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2015;33(10):692-9.
35. Vignoli R, Seija V. Mecanismos de resistencia antibiótica. *Temas de Bacteriología y virología médica*. En Universidad de la República. 2da edición corregida. FEFMUR; 2008; p. 649 – 662.
36. Pérez H, Robles A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Rev Med MD*. 2013;4(3):186-191.
37. Universidad Nacional de Colombia. *Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)*. Centro de Bioinformática del Instituto de Biotecnología, 2019.
38. López D, Torres M, Prada C. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Rev Univ Salud*. 2016;18(1):190.
39. De Zaro Alcalá M. *Carbapenemasas: Un mecanismo de Resistencia Bacteriana frente las carbapenemas, antibióticos de último recurso*. [Tesis Pre grado]. Madrid: Universidad Complutense, Facultad de Farmacia; 2016.
40. Molin C. Detection of Carbapenemases in *P. aeruginosa* in patients attending the Hospital de Clinicas in San Lorenzo, from February to July 2013. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2016;14(1):25-31.
41. Rapoport M. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Novedades 2018*. [Internet]. 2018. [citado 20 de mayo de 2020].
42. Ocampo A, Vargas C, Sierra P, Cienfuegos A, Jiménez J. Caracterización molecular de un brote de *Klebsiella Pneumoniae* resistente a carbapenémicos en un hospital de alto nivel de complejidad de Medellín, Colombia. *Rev Med Bioméd*. 2015;35:496-504.
43. Rodríguez Díaz J, Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. SEIMC. 2017.
44. Marín C, Taboada A, Benítez G. Indications and Clinical Evaluation of Urine culture and Stool. *Rev Inst Med Trop*. 2016;10(1):37-47.
45. Cudas M, Silva M, Almada S. Prevalencia de Infecciones intrahospitalarias en el servicio de Clínica Médica del Hospital Regional de Encarnación 2014 - 2015.

- [Tesis Postgrado]. Paraguay: Universidad Nacional de Itapúa, Facultad de Medicina Interna; 2016.
46. Rodríguez F. Toma de muestras de líquidos. Blog de Laboratorio Clínico y Biomédico [Internet]. 2016. [citado 4 de mayo de 2019].
 47. España M, Gallego I, López E, Rodríguez E. Coprocultivo y enfermería. Rev Med Elect Portales Medicos [Internet]. Barcelona, 2016. [citado 20 de mayo de 2020].
 48. García J, Gómez M, Rodríguez F, Torreblanca A. Procedimientos en microbiología clínica. [Internet]. 2020. [citado 20 de mayo de 2020].
 49. García J, Gómez M, Gutierrez A. El microbiólogo y la infección asociada a catéter. Rev Esp Quimioter. 2010;23(2):53-62
 50. Gastelo R, Díaz R, Maguñá C. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. Acta Med Perú. 2016;33(3):183-8.
 51. Kaiser R, Castanheira M, Jones R, Tenover F, Lynfield R. Trends in *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-positive *K. pneumoniae* in US hospitals: report from the 2007–2009. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013;76(1):356-360.
 52. Westgard J. Sistemas de Gestión de la Calidad para el Laboratorio Clínico. Edición Wallace Coulter. Madison. 2014; 268.
 53. Donayre C, Zeballos E, Sánchez J. Reality of the pre-analytic phase in clinical laboratory. Rev Med Hered. 2013;24(4):325-326.
 54. Torres N, Rosquete R, Torres B, Carbajales I. Aseguramiento de la calidad en la etapa analítica en química clínica. AMC. 2017;11(6).
 55. Guzmán A, Sánchez T, De la Barra R, Madrid A, Quiroga T. Implementación de 9 indicadores de calidad en un laboratorio hospitalario. Rev. méd. 2011;139(2):205-214.
 56. Acevedo A, Santana E, Díaz de Arce H, Pérez LJ, Caballero A, Suárez L, et al. Desarrollo de controles positivos para métodos moleculares de detección de virus de influenza aviar. Rev Salud Anim. 2009;31(1): 50-4.
 57. Morales G, Castro G, Mendoza Y, Rubiano L, Pacheco J. Una mirada rápida al control de calidad interno en el que hacer diario del laboratorio de microbiología. Med & Lab. 2017;23:9-10.

58. Orta N, Guna M, Gimeno C, Pérez J. Control de calidad en microbiología molecular-Quality control in molecular microbiology. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2008;26:2-7.
59. Fariña N. Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 2016;14(1)4-5.
60. Josa F, Bustos G, Torres I, Esparza G. Evaluación de tres métodos de tamizaje para detección de Enterobacteriaceae productoras de Carbapenemasas en hisopados rectales. *Rev Chilena Infectol*. 2018;35(3):523-261.
61. De Moura F, Moraes D, Pereira C, Inacio I, Ferreira R, Czekster L, et al. Prevalencia de carbapenemasas en enterobacterias resistentes a carbapenémicos en cuatro hospitales proveedores de atención terciaria en Porto Alegre. *Clin Biomed Res*. 2014;34(1):47-52.
62. Vera A, Barría C, Carrasco S, Lima C, Aguayo A, Domínguez M, et al. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev. chil. Infectol*. 2017;34(5):476-484.
63. Falco A, Barrios Y, Torres L, Sandra L, Takiff. Epidemiología molecular de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasas tipo KPC provenientes de dos hospitales públicos en los estados Carabobo y Zulia, Venezuela. *Invest clín*. 2017;58(1):3-21.
64. López M, Bischofberge C, Sáez D, García L. Epidemiología de la diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital comarcal y un hospital de media estancia en Madrid. *Rev Esp Quimioter*. 2017;30(6):458-463.
65. Santisteban Y, Carmona Y, Pérez Y, Díaz L, García S, Kobayashi N, et al. Infections caused by *Klebsiella* y *Acinetobacter* genuses in Cuban pediatric hospitals and antimicrobial resistance. *Rev Cub Med Trop*. 2014;66(3):400-414.
66. Montúfar F, Mesa M, Aguilar C, Saldarriaga C, Quiroga A, Builes C, et al. Clinical experience with infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care teaching institution in Medellín, Colombia. *Rev Inf Col*. 2016;20(1):17-24.
67. Gomes P, Cruz C, Saraiva I, Ambrosio C, Pechoto R, Kuboyama R, Aparecida N, Rodrigues M. Bacteremia por enterobactéria resistente a carbapenêmicos: epidemiologia, fatores de risco, tipo de terapia e desfecho clínico em um hospital geral do interior paulista. *Braz j infect dis*. 2018;22(1):1-32.

68. Franco E, Mesa M, Aguilar C, Saldarriaga C, Quiroga A, Builes C, et al. Experiencia clínica con infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa, en una institución de enseñanza universitaria en Medellín, Colombia. *Infectio*. 2016;20(1):17-24.
69. Maldonado N, Castro B, Berrio I, Manjarres M, Robledo C, Robledo J. Resistencia a ertapenem en 2 instituciones hospitalarias de alto nivel de complejidad: microbiología, epidemiología y factores de riesgo. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(8):509–513.
70. Masanés F, Sacanella E, López A. Infecciones en el anciano. *Med Integral*. 2002;40(10):476-84.
71. Raschilas F, Blain H, Jeandel C. La infección en el paciente de edad avanzada. *Med Int*. 2006;10(2),1–11.
72. Velásquez T, Lau D. Detección de los genes de carbapenemasas blaKPC y blaNDM en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala. *Rev Cient*. 2017;26(2).
73. González R, Parra D, San Juan I, Ruiz G, Gallego S, Escosa L, Robustillo A. Evolución de la incidencia de pacientes con colonización e infección por bacterias productoras de carbapenemasas VIM en un hospital pediátrico en España. *Rev Esp Quimioter*. 2019;32(1):60-67
74. Oteo J, Ortega A, Bartolomé R, Bou G, Conejo C, Fernández M, et al. Prospective Multicenter Study of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae from 83 Hospitals in Spain Reveals High In Vitro Susceptibility to Colistin and Meropenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(6).
75. Cercenado E, Cantón R, Burillo A, Moreno A, Salas Carlos. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. SEIMC. 2006;3-5.
76. Lespada M, Córdova E, Roca V, Gómez N, Badía M, Rodríguez C. Bacteremia causada por *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase (KPC) productora de *K. Pneumoniae*. Un estudio retrospectivo de 7 años. *Rev Esp Quimioter*. 2018.
77. Lizarbe M, Gamarra P, Parodi J. Factores de riesgo asociados a complicaciones intrahospitalarias, en adultos mayores del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins Lima, 2010. *Horiz Med*. 2015;15(1):38-48.

78. Alarcón B, Espinoza R. El Sistema Inmune y el Sexo. *Rev Cienc Univer Pablo de Olavide*. 2016;28-30
79. Melgarejo N, Martínez M, Franco R, Falcón M. Enterobacteria Carbapenem-resistant KPC by production, isolated inhospitals and Asunción and Central Department. *Rev salud pública Parag*. 2013;3(1)30-35.
80. Saavedra C. Arias G, Gualtero S, Leal A, Saavedra S, Murcia M. Factores de riesgo para infección o colonización por *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos en pacientes adultos hospitalizados en Unidades de Cuidado Intensivo, Bogotá, Colombia. *ACIN*. 2016;238-249.
81. OMS. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, Temas de Salud; 2017. Report No.: ISBN.
82. Villatoro E, Cardoza R, Fuentes Z, Hernández C. Identificación de Bacterias Resistentes a Antibióticos Carbapenémicos en Hospitales de El Salvador. *Rev Alerta*. 2018;1(2):8-15.
83. OMS. Resistencia a los antimicrobianos. Datos y Cifras. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, Epidemiología; 2018. Report No.: ISBN.
84. Ross J, Larco D, Colon O, Coalson J, Gaus D, Taylor K, et al. Evolución de la Resistencia a los antibióticos en una zona rural de Ecuador. *Prac Fam Rur*. 2020;5(1).

11 ANEXOS

11.1 ANEXO 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
Muestra Biológica	Se considera a cualquier materia biológica de origen humano que pueda ser analizada y estudiada para un diagnóstico clínico	Tipos de muestras biológicas que corresponden a la prueba de resistencia específica.	Instrumento de recolección de información	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sangre 2. Orina 3. Secreciones Purulentas 4. Líquidos Biológicos 5. Hisopado Rectal 6. Catéter
Servicio Hospitalario	Servicio de salud especializado en una área médica.	Nominal	Instrumento de recolección de información	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pediatría 2. Neonatología 3. Ginecología 4. Clínica 5. Cirugía 6. UCI Pediátrico 7. UCI Adultos
Gen	Segmento de ADN que contiene la información genética de un organismo	Pruebas genotípicas de laboratorio	Instrumento de recolección de información	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>bla_{KPC}</i> 2. <i>bla_{NDM}</i> 3. <i>bla_{VIM}</i> 4. <i>bla_{IMP}</i> 5. <i>bla_{OXA}</i>
Género / especie bacteriana	Microorganismo que posee ADN circular y se reproduce por medio de división celular o fisión	Tipo de bacteria	Instrumento de recolección de información	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>K. pneumoniae</i> 2. <i>K. oxytoca</i> 3. <i>E. cloacae</i> 4. <i>P. aeruginosa</i> 5. <i>E. coli</i>

	binaria.			6. <i>S. marcescens</i> 7. <i>A. calcoaceticus baumannii</i> 8. <i>C. freundii</i> 9. <i>E. aerogenes</i> 10. <i>P. putida</i>
Sexo	Conjunto de características que distinguen al hombre de la mujer (anatómicas, físicas y biológicas)	Fenotipo.	Instrumento de recolección de información	1. Masculino 2. Femenino
Edad	Período de tiempo transcurrido de una persona desde su nacimiento.	Ciclo de vida	Instrumento de recolección de información	1. 0 - 9 años 2. 10 - 19 años 3. 20 - 29 años 4. 30 - 39 años 5. 40 - 49 años 6. 50 - 59 años 7. 60 - 69 años 8. 70 - 79 años 9. 80 - 89 años 10. 90 - 99 años 11. >100 años

**11.2 ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE TECNOLOGIA MÉDICA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO**

**GENES DE RESISTENCIA PRESENTES EN BACTERIAS PRODUCTORAS
DE CARBAPENEMASAS EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO,
CUENCA. 2017-2018.**

CÓDIGO

SEXO: **Masculino**
 Femenino

EDAD:

**MUESTRA BIOLÓGICA:
HOSPITALARIO:**

Sangre
Orina
Secreciones Purulentas
Líquidos Biológicos
Hisopado Rectal
Catéter

SERVICIO

Cirugía
Clínica
Pediatria
Neonatología
Ginecología
UCI Adultos
UCI Pediátrico

GÉNERO BACTERIANO:


K. pneumoniae
K. oxytoca
E. cloacae
P. aeruginosa
E. coli
S. marcescens
A. calcoaceticus baumannii
C. freundii
E. aerogenes
P. putida

GEN DE RESISTENCIA:

KPC
NDM
VIM
IMP
OXA

11.3 ANEXO 3: AUTORIZACIÓN DEL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO


MINISTERIO DE SALUD
HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO



Oficio No. 0043-GHR-2020
Cuenca, 14 de enero de 2020

Doctora
Lorena Mosquera
PRESIDENTA DE LA COMISIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN
FACULTA DE CIENCIAS MÉDICAS
UNIVERSIDAD DE CUENCA
Presente.

De mi consideración:

Asunto: Carta de interés institucional con protocolo de investigación "GENES DE RESISTENCIA PRESENTES EN BACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASA EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO, CUENCA 2017-2018"

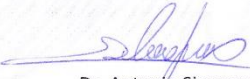
De mi consideración

Yo MARCO ANTONIO SIGUENZA PACHECO con CI 0104049010, en calidad de autoridad del HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO, manifiesto que conozco y estoy de acuerdo con la propuesta del protocolo de investigación "GENES DE RESISTENCIA PRESENTES EN BACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASA EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO, CUENCA 2017-2018". Cuyos investigadores principales son Mónica Carolina Buestán Ortega y Andrea Ivana Bonilla Chacon.


Certifico también que se han establecido acuerdos con el investigador para garantizar la confidencialidad de los datos de los individuos, en relación con los registros médicos fuentes de información a los que se autorice su acceso.

Con sentimiento de distinguida consideración

Atentamente,



Dr. Antonio Siguenza Pacheco,
GERENTE (E) DEL HOSPITAL
VICENTE CORRAL MOSCOSO


Hospital Vicente Corral Moscoso
GERENCIA
MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
Av. 12 de Abril y 133 Arupos - Cuenca - Ecuador

Av. Los Arupos y Av 12 de Abril
Teléfonos: 593 (7) 4096600 / 4096601 / 4096602
Email: dpsazuay@mssp.gob.ec
www.hvcm.gob.ec