

# Patrones fenotípicos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* de muestras clínicas a nivel de Sudamérica

## Resistance phenotypic patterns in *Pseudomonas aeruginosa* clinical samples in South America

Recibido: marzo 17 de 2016 | Revisado: abril 05 de 2016 | Aceptado: mayo 13 de 2016

CARLOS BOLAÑOS<sup>1</sup> JOSÉ IANNAONE<sup>1,2</sup>

### ABSTRACT

*Pseudomonas aeruginosa* Migula 1895 is a Gram negative bacillus, not sporulated, strict aerobic, that presents various mechanisms of resistance, where beta-lactamases are the leading cause of resistance to beta-lactam antibiotics. This bacterium has an intrinsic resistance to various beta-lactams, because it possess an AMPC chromosomal inducible enzyme, but also because it presents an acquired resistance of the lactamase type extended spectrum (ESBL), carbapenemases type *Klebsiella pneumoniae* carbapenmasa (KPC) and metallo (MBL). This paper presents a review of the phenotypic resistance patterns in *P. aeruginosa* with an emphasis on information known for ten countries in South America during the years 2003 through October 2014, which are a global problem in hospitals that lead to therapeutic failures which occur when not promptly reported, generating strains of *P. aeruginosa* resistant to multiple drugs. In South America, Brazil was the country that contributed the most to the analysis with 28.6% of the studies found. Argentina and Colombia were the countries where the four phenotypic resistance patterns were found: AMPC derepressed (AMPCd), ESBL and KPC, MBL carbapenemases. The MBL and ESBL were found the highest prevalence with 21.9% and 18.5% respectively in South America. In the period 2007-2010 the four phenotypic resistance patterns AMPCd, ESBL, KPC, MBL of *P. aeruginosa* were found with a prevalence of 3.4%, 14.1%, 12.6% and 23.1% respectively; also the method most used was the double disc diffusion for the detection of ESBL and MBL. It should be noted that in the countries of Bolivia, Ecuador, Paraguay and Uruguay no records for the analysis of the four phenotypic resistance patterns were found.

**Keywords:** antibiotics, beta-lactamases, carbapenemases, *Pseudomonas aeruginosa*, bacterial resistance, South America

### RESUMEN

*Pseudomonas aeruginosa* Migula 1895 es un bacilo Gram negativo, no esporulado, aeróbico estricto, además presenta diversos mecanismos de resistencia, donde las betalactamasas son la principal causa de resistencia para los antibióticos betalactámicos. Esta bacteria posee una resistencia intrínseca a diversos betalactámicos, debido a que poseen una enzima AMPC cromosómico inducible, pero también presenta una resistencia adquirida del tipo betalactamasa de espectro extendido (BLEE), carbapenemasas del tipo *Klebsiella pneumoniae* carbapenmasa (KPC) y metalobetalactamasas (MBL). En este trabajo se presenta una revisión sobre los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* con énfasis en la información conocida para 10 países de Sudamérica durante los años 2003 hasta octubre del 2014, los cuales son un problema mundial a nivel hospitalario que llevan a fracasos terapéuticos al no ser reportados oportunamente, generándose cepas de *P. aeruginosa* multidrogorresistentes. En Sudamérica, Brasil fue el país que mayor aportó al análisis con 28,6% de los estudios encontrados. Argentina y Colombia fueron los países donde se encontraron los cuatro patrones fenotípicos de resistencia: AMPC desreprimido (AMPCd), BLEE y las carbapenemasas KPC, MBL. Las MBL y BLEE fueron las de mayor prevalencia encontrada con un 21,9% y 18,5% respectivamente en Sudamérica. En el periodo 2007-2010 fue donde se encontró los cuatro patrones fenotípicos de resistencia AMPCd, BLEE, KPC, MBL de *P. aeruginosa* con una prevalencia de 3,4%, 14,1%, 12,6%, 23,1% respectivamente; además el método más usado fue el doble disco difusión para la detección de BLEE y MBL. Se debe resaltar que en los países de Bolivia, Ecuador, Paraguay y Uruguay no se encontraron registros para el análisis de los cuatro patrones fenotípicos de resistencia.

**Palabras claves:** Antibióticos, betalactamasas, carbapenemasas, *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia bacteriana, Sudamérica

1 Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal. Av. Río Chepén s/n. El Agustino, Lima, Perú.

2 Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP).

## INTRODUCCIÓN

La evaluación de los patrones fenotípicos de resistencia permite tener una mejor interpretación de los antibiogramas (Martínez, Mercado & Máttar, 2003). El cual permite elegir el antibiótico más adecuado para el tratamiento de la infección; evitando las fallas terapéuticas que ponen en riesgo la salud de los pacientes, al no evidenciarse oportunamente determinados fenotípicos de resistencia (Navarro Calvo, Cantón, Fernández & Mirelis, 2011). *Pseudomonas aeruginosa* Migula 1895 es el patógeno mejor conocido dentro de los bacilos Gram negativo no fermentadores de glucosa (Vidal, Mensa, Almela, Olona & Martínez, 2003). Puede provocar infecciones graves como: neumonía, infecciones del tracto urinario y bacteriemia (Machain, Suárez, Ferreiro & Ceregido, 2006). Estas infecciones suelen ser difíciles de tratar debido a la resistencia intrínseca que presenta *P. aeruginosa* y a su extraordinaria capacidad de adquirir mecanismos de resistencia. *P. aeruginosa* es resistente, tanto de manera natural como adquirida a un gran número de antibióticos como: cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos (Howard, Scott, Packard & Jones, 2003). Esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad (Restrepo, Robledo, Leiderman & Botero, 2003). Las cepas pueden transmitirse entre ellas el material genético que media la resistencia, incluso a partir de otras bacterias Gram negativas como las enterobacterias (Conejo, García, Martínez, Picabea & Pascual, 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* tiene la capacidad de tornarse resistente en el curso del tratamiento con antibióticos,

por el cual los mismos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia que un aislamiento tiene latentes (Ferrero, Gómez & Reparaz, 2009). La resistencia adquirida contra estos agentes (antibióticos) constituye el mayor desafío para el tratamiento de este microorganismo, especialmente cuando está asociada con resistencia a otra clase de antimicrobianos, tales como aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Lösch, Merino & Alonso, 2004). Por lo tanto *P. aeruginosa* constituye uno de los paradigmas en la resistencia bacteriana, debido que pueden confluir todos los mecanismos de resistencia e incluso potencializarse entre sí (Carmeli, Troillet, Eliopoulos & Samore, 1999).

Las betalactamasas son la principal causa de resistencia a antibióticos betalactámicos, puesto que hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámicos por lo que pueden inactivar penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, carbapenemes o distintas combinaciones de estos antibióticos (Abarca & Herrera, 2001). Los diversos mecanismos pueden contribuir para adquirir resistencia a betalactámicos en *P. aeruginosa*, incluyendo la producción de betalactamasas, la sobreexpresión de sistemas de eflujo y una disminución de la permeabilidad de la membrana externa (García et al., 2009; Livermore, 2002). Con respecto a la producción de betalactamasas, uno de los principales mecanismos de resistencia a cefalosporinas de amplio espectro es la desrepresión mediada por la enzima cromosomal AMPC, que es intrínseca de esta bacteria (Piersigilli et al., 2009). No obstante, la adquisición de elementos genéticos móviles que codifican para betalactamasas de espectro extendido (BLEE), tales como serino  $\mu$ -lactamasas de clase A y D de

Ambler y las metalobetalactamasas (MBL) de clase B de Ambler, son importantes mecanismos involucrados en la resistencia en *P. aeruginosa* (Gómez, Leal, Pérez de Gonzales & Navarrete, 2005).

Se han Identificado 75 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* carbapenems resistentes; aisladas en muestras de orina, sangre, tracto respiratorio en un laboratorio de Egipto. El patrón fenotípico MBL fue detectado en 40% de las cepas carbapenems resistentes, mediante el método de sinergia de doble disco entre imipem (10µg) y 10µl de 0,5 M EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (Nagwa & Sherif, 2007).

En un total de 97 aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* recuperados de un Hospital Universitario de Lagos y el Hospital Nacional Ortopédico Igbobi, Nigeria. Se encontró el 9,3% de cepas productoras BLEE y el 2,1% de cepas productoras MBL. Detectadas por el método disco combinado con amoxicilina/ácido clavulánico (20µg/10µg) y el disco con imipenem/EDTA (10µg/930µg) o meropenem/EDTA (10µg/930µg), respectivamente (Aibinu, Nwanneka & Odugbemi, 2007).

Se han analizado 128 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes quemados en el Hospital Shahid Motahari, Irán. Encontrando cepas de *P. aeruginosa* productoras MBL en 39% del total de las cepas aisladas. La producción de MBL se detectó por el aumento de tamaño en la zona del disco de ceftazidima (30µg) más EDTA (750µg) en comparación sin EDTA (Horieh, Zohreh, Parviz, Mohamma & Seyed, 2008).

Se han aislado 240 cepas de *P.*

*aeruginosa* procedentes de muestras como: secreciones respiratorias, orina, tejido, sangre de los pacientes en unidad de cuidados intensivos, India. Identificaron cepas de *P. aeruginosa* productoras de MBL en 28%, detectadas mediante una aggrandamiento alrededor de la zona del disco de imipenem (10µg) y meropenem (10µg) impregnados con disco 0,5M EDTA (5µg) en comparación sin el disco 0,5M EDTA (5µg) (Varaiya, Kulkarni, Kulkarni, Bhalekar & Dogra, 2008).

Se han aislado 29 cepas de *Pseudomonas* sp. y 66 cepas de *Acinetobacter* sp. recolectadas en el Hospital Roosevelt de Guatemala, provenientes de muestras de aspirado traqueal y secreciones. El estudio reveló que el 65,5% cepas de *Pseudomonas* sp. fueron productoras de MBL y el 33,3% cepas de *Acinetobacter* sp. presentó MBL, determinadas las cepas productoras de MBL mediante el uso de disco de EDTA y carbapenemicos (Espinoza, 2010).

En aislamientos de muestras de líquido pleural, orina, aspirado traqueal, tubo endotraqueal, sangre de pacientes en un hospital de Manipal, India se han identificado 94 cepas de *P. aeruginosa* de las cuales el 74,5% fueron cepas con patrón fenotípico MBL, utilizando discos de meropenem (10µg) y meorpenem/EDTA (10µg/930µg) para su detección (Bareja et al., 2011).

En Lituania se ha realizado una comparación a partir de los aislados clínicos de *P. aeruginosa* productoras de MBL en muestras de aspirado bronquioalveolar, mediante el uso E-test dentro de un periodo de cinco años. En 2003, en el estudio de las 90 cepas de *P. aeruginosa* fueron resistentes a imipenem en 53,3% y productoras de MBL en 15,8%. En 2008, incrementó a

87,8% las cepas resistentes a imipenem y las cepas productoras de MBL aumentó a 61,9% (Vitkauskienė, Skrodenienė, Dambrauskienė, Bakšytė, Macas & Sakalauskas, 2011).

En un total de 90 aislados clínicos de *P. aeruginosa* que fueron identificados en el Laboratorio de Microbiología Médica del Hospital Universitario, Ibadan, Nigeria, se encontró que el 22% resultó productor de BLEE. La detección de BLEE fue por la sinergia de doble disco. Encontrándose en el 40% de muestras de esputo y el 60% de muestras de orina (Olukemi & Alaba, 2012).

En la India se aislaron 67 cepas de *P. aeruginosa*; las cuales fueron tamizadas en busca de producción de MBL, mediante una prueba de disco combinado imipenem/meropenem-EDTA encontrándose que el 70,1% eran productores de MBL (Arunagiri, Sekar, Sangeetha & John, 2012).

Se han aislado 220 cepas de *P. aeruginosa* multidrogorresistente de pacientes con quemaduras en Irán. Resultando el 18% de cepas productoras de BLEE, detectados mediante discos de cefotaxima (30µg) o ceftazidima (30µg) en comparación con la zona de inhibición de discos de cefotaxima/ácido clavulánico (30µg/10µg) o ceftazidima/ácido clavulánico (30µg/10µg). Pero también el 38% de las cepas fueron productoras de MBL, detectadas mediante uso de discos de imipenem (10µg) y imipenem/EDTA (Vahdani, Azimi, Asghari, Bazmi & Rastegar, 2012).

En un total de 92 aislamientos de cepas de *P. aeruginosa* que fueron identificadas en un Hospital Infantil de México, se encontraron el 44,8% de las cepas productoras de MBL. La producción de MBL fue detectada usando los discos de

imipenem y meropenem solos en comparación con discos en los cuales se les agregó EDTA (Ochoa et al., 2013).

Se han encontrado un total de 58 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de muestras de orina, esputo, heridas y pacientes quemados en Egipto. Se identificaron cepas con patrón fenotípico BLEE en 27,5% y cepas con patrón fenotípico MBL en 31%. Se detectaron por método de sinergia de doble disco y el método de discos combinados de imipenem (10µg) o meropenem (10µg) solos con imipenem más EDTA o meropenem más EDTA, respectivamente. Además las muestras aisladas de heridas y quemaduras tuvieron mayor prevalencia en los patrones fenotípicos (Rehab, Nehal & Gamal, 2013).

Se identificaron 50 aislamientos de *P. aeruginosa* en un hospital de Egipto, obtenidos de pacientes hospitalizados y pacientes UCI (unidad de cuidados intensivos), resultando el 82% de las cepas de *P. aeruginosa* con patrón fenotípico MBL, empleando el método de disco combinado entre imipenem (10µg) y el disco imipenem/EDTA (10/292µg) y el método E-test (Diab et al., 2013).

En Sudamérica, el principal problema es que no cuenta con un ordenamiento y sistematización de datos en cuanto a la evaluación de los fenotipos de resistencia en *P. aeruginosa*, debido a que se dispone de un número limitado de datos acerca de la magnitud a este problema. La falta de una adecuada interpretación de los antibiogramas, impide tener una estrecha vigilancia de los perfiles de resistencia de *P. aeruginosa*. El cual ayudaría a orientar el tratamiento con los antibióticos, en relación con el mecanismo de resistencia que presentan. La importancia científica de esta investigación radica en dar a conocer los diversos patrones fenotípi-



cos de resistencia en *P. aeruginosa* que se debe tener en consideración al interpretar los antibiogramas para disminuir el fracaso de la terapia antimicrobiana. En salud pública, en la reducción del aumento de la morbilidad y mortalidad por el uso excesivo de antimicrobianos de amplio espectro. A nivel socioeconómico para poder disminuir los costos de la atención médica y además del empleo de antibióticos menos costosos. En medio ambiente debido a los cuidados que se deben tener con los desechos médicos, aguas servidas los cuales les permite adquisición y diseminación de genes resistentes a los antimicrobianos con mayor intensidad. Por lo tanto, resulta indispensable la contención del problema. La etapa inicial de la contención es conocer la magnitud de la resistencia bacteriana, lo que en Sudamérica ha resultado difícil por carecer de un sistema de registro, unificado y de gran cobertura. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los patrones fenotípicos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* de muestras clínicas a nivel de Sudamérica.

## MÉTODO

### Materiales

La búsqueda se realizó a través de Google académico utilizando de la página 1 hasta el 15, en Scielo Argentina, Scielo Perú, Scielo Chile, Scielo Colombia, Scielo Brasil, Scielo Venezuela, Scielo Bolivia, Scielo Ecuador, Scielo Uruguay, Scielo Paraguay, en Dialnet, EBSCO, DOAJ, Tesis, en revistas electrónicas de REDALYC (Red de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España, y Portugal) se revisó en las páginas del 1 al 20, en revistas especializadas como: enfermedades infecciosas y microbiología clínica (EIMC), Elsevier, Revista PubMed, Revista chilena de infectología, Revista peruana de medicina

experimental y salud pública, Revista Argentina de microbiología, Revista Panamericana de la Salud. El periodo de la búsqueda fue del 2003 hasta octubre del 2014.

### Procedimiento

Se examinó la información principalmente utilizando las siguientes palabras claves en español; *Pseudomonas aeruginosa*, taxonomía, morfología, fisiología, distribución, patogénesis, factores de virulencia, epidemiología, antibióticos beta-lactámicos, betalactamasas, resistencia bacteriana, BLEE, AMPC, Carbapenemasas, detección fenotípica. De igual forma se buscó la información utilizando las siguientes palabras claves en inglés como *Pseudomonas aeruginosa*, taxonomy, morphology, physiology, distribution, pathogenesis virulence factors, epidemiology, beta-lactam antibiotics, beta-lactamases, bacterial resistance, ESBL, AMPC, Carbapenemases, phenotypic detection. Para obtener un mayor conocimiento en cuanto a los diversos patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* se revisó manuales del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), Comité de Elaboración de Manual Estandarizados en Microbiología Clínica (CEMMIC), Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. En el análisis se evaluaron los diferentes patrones fenotípicos de resistencia en Sudamérica por países y periodos de tiempo, además se excluyeron los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* por eflujo y porinas por no ser enzimáticos, además por presentar baja sensibilidad y especificidad para su detección fenotípica.

## RESULTADOS

### *Pseudomonas aeruginosa*

#### Características generales

*Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo Gram negativo, no esporulado, aeróbico estricto, perteneciente al género *Pseudomonas* y a la familia Pseudomonadaceae. Es una bacteria no fermentadora de glucosa, móvil gracias a un flagelo único, oxidasa positiva, produce pigmentos fluorescentes como: la pioverdina, piocianina y piorrubina (Mandell, Gordon, Balbachan & Bennet, 2002). Además emite un olor dulzón en el medio de cultivo y tiene la habilidad característica de crecer a 42°C (Koneman et al., 2008).

*Pseudomonas aeruginosa* tiene una gran cantidad de pigmentos involucrados en mecanismos de competencia con otros microorganismos y virulencia en huéspedes humanos y animales, de los cuales se destacan los siguientes: la piocianina, que es un pigmento no fluorescente de coloración azul verdoso exclusivo de la especie, pero generado únicamente por el 50% de las cepas clínicas, muy soluble en agua y de olor característico a uvas; la pioverdina, cuya fluorescencia puede ser apreciada a 400nm entre blanco y azul verdoso; y la piorubina, que posee una coloración roja pero que no es producida por muchas cepas (Farías, Medina & Chavarría, 2005; Kong et al., 2005).

El desplazamiento de la bacteria es de acuerdo a la viscosidad del medio en el que se encuentra: en medios líquidos, la motilidad se da gracias al flagelo y se denomina “swimming”; para medios sólidos, la movilidad se da por el mecanismo llamado “twitching” en donde las fimbrias o pili tipo IV permiten la adhesión y posterior infección en las células epiteliales del huésped; y para

medios semisólidos, el mecanismo se denomina “swarming” con una cantidad de agua de 0,4 – 0,7 % (P/V), en el cual las células se vuelven alargadas y con más de un flagelo lo cual permite un movimiento concertado de las mismas, esta motilidad es la más compleja (Soberón, 2003).

#### Distribución de *P. aeruginosa*

La bacteria *P. aeruginosa* fue identificada por primera vez en 1882 en heridas cutáneas productoras de pus con coloración azul-verdosa (Farías et al., 2005). En la actualidad se conoce que la distribución de la bacteria es muy amplia, debido a la habilidad intrínseca que posee para asimilar una gran variedad de compuestos orgánicos como fuente de nutrientes, además es capaz de adaptarse a múltiples ambientes y nichos ecológicos (Farías et al., 2005; Soberón, 2003).

Se encuentra ampliamente distribuidos en la naturaleza; usualmente se le detecta en reservorios de agua contaminada de fuentes animales y humanas, por el cual es considerado un indicador complementario a coliformes totales y fecales en aguas; estando más asociado en comparación con los coliformes en residuos fecales humanos más que de animales, en balones de agua destilada y su presencia en reservarlos de agua potable (Rahme et al., 1997). Se ha demostrado que *P. aeruginosa* es capaz de sobrevivir y multiplicarse en aguas tratadas debido a que es capaz de resistir los efectos del cloro residual por lo que su presencia en el agua potable es de alto riesgo para la salud y es indicativo del deterioro de la calidad de la misma (Marchand, 2002).

Al encontrarse presente también en el ambiente intrahospitalario, esta característica la ha convertido en uno de

los principales problemas de salud a nivel mundial, en donde es uno de los agentes causales de infecciones nosocomiales de tipo oportunista de mayor incidencia (Friedrich, Klauss-Dieter & Burke, 2008; Soberón, 2003). Esto ha generado que en la actualidad sea el microorganismo aislado con mayor frecuencia en pacientes que poseen más de una semana de hospitalización (Friedrich et al., 2008). La formación de las biopelículas es una estrategia de sobrevivencia de *P. aeruginosa* en medios hostiles, el cual le confiere resistencia frente a antibióticos y elementos de respuesta inmune, encontrándose principalmente en superficies inertes, como los tubos endotraqueales, o en tejido necrótico, así como también en los pulmones de los pacientes con fibrosis quística (Giwerzman, Jensen, Høiby, Kharazmi & Costerton, 1991; Soberón, 2003).

### Patogénesis de *P. aeruginosa*

La patogénesis de *P. aeruginosa* ocurre en tres etapas: La primera etapa es la adhesión bacteriana y colonización, la segunda etapa es invasión local, y por último la diseminación y enfermedad sistémica. Tras el establecimiento de la infección, *P. aeruginosa* secreta exotoxinas del tipo A y S conjuntamente con enzimas hidrolíticas, compuestos que al entrar en contacto con los tejidos degradan las membranas celulares y las destruyen progresivamente (Friedrich et al., 2008).

**Factores de virulencia de *P. aeruginosa*** (Koneman et al., 2008).

**Alginato:** Polisacárido capsular que permite a las bacterias infectantes adherirse a la superficie de las células y formar biopelículas que, a su vez, protegen a las bacterias de los antibióticos y del sistema inmune del huésped.

**Pili:** Apéndices de la superficie bacteriana que permiten su adherencia a receptores de gangliósido GM-1 localizados en la membrana de las células epiteliales del huésped.

**Neuraminidasa.** Elimina los residuos de ácido siálico de los receptores gangliósido GM-1, lo que facilita la unión de los pilis.

**Lipopolisacárido:** Exotoxina que causa síndrome de sepsis.

**Exotoxina A:** Provoca destrucción tisular, inhibición de la síntesis proteica; interrumpe la actividad celular y la respuesta de los macrófagos.

**Exoenzima S:** Inhibe la síntesis proteica.

**Fosfolipasa C:** Destruye la membrana citoplasmática; desnatura la sustancia tensoactiva pulmonar; inactiva las opsoninas.

**Leucocidina:** Inhibe la función de neutrófilos y linfocitos.

**Piociatinas:** Suprime a otras bacterias e interrumpe la actividad de los cilios respiratorios; produce daño oxidativo de los tejidos.

**Resistencia a los antibióticos:** Favorece la presencia de la bacteria en los hospitales y en los pacientes.

### Importancia clínica de *Pseudomonas aeruginosa*

El género *Pseudomonas* consta de 76 especies, dentro de las cuales *P. aeruginosa* es la más importante con respecto al número y tipo de infecciones generadas en humanos, principalmente en infecciones intrahospitalarias. Sumado a esta capacidad, se encuentra la emergencia de cepas multirresistentes a la mayoría de antibióticos convencionales

(Castillo, Ribas, Carranza & Aparicio, 2006).

### Epidemiología

La bacteria *P. aeruginosa* produce infección en heridas y quemaduras, formando pus color azul verdoso (Farías et al., 2005). Cuando se introduce al sistema nervioso central causa meningitis, cuando la vía de entrada son catéteres, instrumentos o soluciones irritantes ocasiona infección del aparato urinario. La infección del aparato respiratorio, en especial por ventiladores mecánicos contaminados, producen neumonía necrosante (Torres et al., 1990). En recién nacidos o personas inmunocomprometidas, *P. aeruginosa* puede invadir el torrente sanguíneo y causar septicemia. En la mayor parte de las infecciones por *P. aeruginosa* los síntomas y signos son inespecíficos y se relacionan con el órgano afectado (Brooks, Carroll, Butel, Morse & Mietzner, 2005).

Las infecciones nosocomiales causadas por *P. aeruginosa* poseen altos índices de prevalencia y mortalidad especialmente tras la primera semana de hospitalización (Farías et al., 2005, Rotstein et al., 2008). Los índices de mortalidad asociados a infecciones por esta bacteria a nivel mundial alcanzan valores alarmantes que llegan a ser de 45% para neumonías adquiridas durante hospitalización, 60% para casos de bacteriemias y hasta 69,7% para casos de neumonía adquirida por el uso de ventilador mecánico (Farías et al., 2005, Rotstein et al., 2008).

*Pseudomonas aeruginosa* es uno de los patógenos nosocomiales más frecuentes, causante de infecciones severas, particularmente en pacientes con cáncer, quemaduras y fibrosis quística (Bouza et al., 2003). Su tratamiento es complicado debido a que esta bacte-

ria tiene la capacidad de adaptación, mutación y adquisición de genes de resistencia; los cuales le confieren resistencia hacia los betalactámicos anti-pseudomonas, siendo de mayor trascendencia clínica la resistencia hacia los carbapenémicos (Crespo, Woodford, Sinclair, Kaufmann & Turon, 2004).

### Mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa*

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos es uno de los serios problemas en la terapia de las enfermedades infecciosas y en la práctica epidemiológica. Ninguna sustancia antimicrobiana actúa sin el riesgo futuro de que los microorganismos desarrollen resistencia (Stuart & Levy, 1998).

#### Resistencia natural

*Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por expresar una resistencia natural, intrínseca, a diversos antibióticos sin relación estructural, esto se debe principalmente a una escasa permeabilidad de la membrana externa, presencia de una betalactamasa cromosómica inducible tipo AMPC y la expresión constitutiva de diversos sistemas de expulsión activa, la participación conjunta de estos tres factores condiciona resistencia natural a la penicilina, aminopenicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cefotaxima, ceftriaxona, cefalosporinas de tercera generación orales, cloranfenicol, nitrofurantoína, sulfonamidas, trimetopim, tetraciclina, novobiocina y ácido nalidíxico (Gibb et al., 2002; Lauretti et al., 1999).

#### Resistencia adquirida

Diversos mecanismos pueden contribuir para adquirir resistencia a betalactámicos en *P. aeruginosa*, incluyendo la producción de betalactamasas, la so-



bre-regulación de sistemas de eflujo, y una disminución de la permeabilidad de la membrana externa (Livermore, 2002). La adquisición de elementos genéticos móviles que codifican para  $\mu$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), tales como serino  $\mu$ -lactamasas de clase A y D de Ambler y las metalo- $\mu$ -lactamasas (MBL) de clase B de Ambler, son importantes mecanismos involucrados en la resistencia en *P. aeruginosa* (Gómez et al., 2005).

Las cepas de *P. aeruginosa* se aíslan con frecuencia en pacientes sometidos a tratamientos antimicrobianos prolongados, el cual favorece la adaptación al antimicrobiano y el surgimiento de la multirresistencia bacteriana (Asboe et al., 1998).

### Betalactamasas

Las betalactamasas son enzimas con capacidad de hidrolizar el enlace amida del anillo  $\mu$ -lactámico el cual confiere resistencia a la bacteria y esta es capaz de inactivar a diversos antibióticos como: las cefalosporinas, monobactámicos, carbapenémicos, impidiendo su acción antimicrobiana en la inhibición de la síntesis del peptidoglucano (Abarca & Herrera, 2001). Estas enzimas se encuentran codificadas en plásmidos lo que les otorga la capacidad de diseminación entre distintas cepas lo que ha provocado que se hayan difundido a nivel mundial en pocos años (Bush & Jacoby, 2010).

Ambler clasificó las  $\mu$ -lactamasas acorde a su estructura molecular en cuatro tipos (A a la D). La clase A, C y D son las más comunes; la clase B se diferencian por la producción de metalobetalactamasas. Los genes que codifican dicha resistencia son localizados en el cromosoma bacteriano, los cuales son acarreados por transposones o están presentes en algunos integrones. Los genes pueden

ser identificados en todas las Enterobacterias, pero en cepas con resistencia a betalactámicos como *E. coli*, *Klebsiella* sp. y *Proteus* sp. adquieren mayor importancia identificar  $\mu$ -lactamasas de clase A, C y D, y en *Acinetobacter* sp y *Pseudomonas* sp. las betalactamasas de clase B (Jacoby & Muñoz, 2005).

*Pseudomonas aeruginosa* posee  $\mu$ -lactamasas tipo AMPC de origen cromosómico, la misma que al sobreexpresarse gracias a un mecanismo complejo de interacción y mutación de varios genes, otorga a esta bacteria resistencia frente a la mayoría de antibióticos  $\mu$ -lactámicos (Langaee, Gagnon & Huletsky, 2000). Las  $\mu$ -lactamasas tipo BLEE, codificadas por plásmidos se adquieren mediante transporte de ADN extracromosomal y se manifiestan también por resistencia a penicilinas y a cefalosporinas y por último enzimas llamadas carbapenemasas las cuales causan resistencia a carbapenémicos (Gómez et al., 2005).

### Tipos de betalactamasas

#### Betalactamasa AMPC

Son capaces de hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas y en menor medida las de tercera generación, mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación y los carbapenémicos (Langaee et al., 2000).

El espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (AMPC de espectro extendido), pero se desconoce cuál es la prevalencia y la relevancia clínica y epidemiológica de estas variantes de AMPC. La cloxacilina y el aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados (ácido fenilborónico), inhiben a las betalactamasas de tipo AMPC,

mientras que el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores (Basak, Khode, Bose & Mallick, 2009; Black, Moland & Thomson, 2005).

*Pseudomonas aeruginosa* posee AMPC cromosómicas inducibles el cual se produce a bajos niveles de manera natural y aumentan su síntesis en presencia de inductores betalactámicos. Las betalactamasas de tipo AMPC plasmídicas pueden causar fracasos terapéuticos, similares a los descritos en infecciones causadas por aislados hiperproductores de AMPC cromosómica inducible (selección de mutantes con desrepresión estable) en tratamientos con betalactámicos (Thomson, 2010).

Sin embargo, la desrepresión de AMPC en *P. aeruginosa* es un fenómeno más complejo que el que tiene lugar en las especies de enterobacterias que poseen esta enzima y el fenotipo de desrepresión puede ser parcial para evolucionar posteriormente a completo o total (Black et al., 2005). Cuando la producción de AMPC esta aumentada de forma significativa, *P. aeruginosa* expresa resistencia a todos los antibióticos betalactámicos con la excepción de los carbapenémicos (Kong et al. 2005). A diferencia de lo que ocurre con los miembros de la familia Enterobacteriaceae, la desrepresión de AMPC (AMPCd) en *P. aeruginosa* también afecta a cefepime (Langaee et al., 2000).

### **Betalactamasa de espectro extendido (BLEE)**

Las betalactamasas de espectro extendido tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia o sensibilidad disminuida a penicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime)

y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico (Paterson & Bonomo, 2005). Estas betalactamasas pertenecen a la clase molecular A de Ambler y entre ellas se encuentran las de tipo TEM y SHV (derivadas de enzimas con menor espectro de hidrólisis), la familia CTX-M (procedente de betalactamasas cromosómicas del género *Kluyvera*), y otras menos prevalentes como PER, VEB, BES, GES, TLA y SFO (Pagani et al., 2004).

La BLEE tipo GES-1 se identificó por primera vez en una cepa de *K. pneumoniae* en la Guayana Francesa en el año 1998 y, subsecuentemente, en Francia (Castanheira, Troillet, Eliopoulos & Samore, 2004). Los genes *bla*GES se encuentran mayormente como “cassettes” genéticos insertados dentro de integrones clase 16,8. Hasta abril de 2006, cuatro tipos de GES (GES-1, -2, -8 y -9) habían sido detectadas en *P. aeruginosa* y, recientemente, en China se reportó el descubrimiento de GES-5 en un aislado de *P. aeruginosa* CAZ resistente (Wang, Cai, Chang & Zuhuang, 2006). Las enzimas de la familia GES hidrolizan principalmente CAZ y son susceptibles de inhibir por IMI. Su presencia disminuye notablemente las opciones terapéuticas, por ello es indispensable su detección (Aránzazu, Coque & Cantón, 2006).

### **Carbapenemasas**

Son enzimas que tienen la habilidad de hidrolizar carbapenémicos y en su gran mayoría hidrolizan casi todos los betalactámicos de uso clínico. Se clasifican en dos grandes grupos de acuerdo al mecanismo hidrolítico de su sitio activo, el primer grupo

son las carbapenemasas que poseen serina, en este grupo encontramos las carbapenemasas clase A y clase D (Oxacilinasas). El segundo grupo son las carbapenemasas metalobetalactamasas (MBL) las cuales necesitan átomos de zinc; que es utilizado como metal cofactor para su actividad enzimática, también son conocidas como carbapenemasas clase B (Queenan & Bush, 2007).

### Carbapenemasas Clase A

Son inhibidas débilmente por el ácido clavulánico pero no por el EDTA, además son dependientes de serina, incluye las no metalocarbaenemasas (Bush, Jacoby & Medeiros, 1995). Son capaces de hidrolizar los carbapenems, así como las cefalosporinas, penicilinas y aztreonam, adicionalmente son inhibidas por el clavulánico y tazobactam (Pitout & Laupland, 2008). Estas enzimas carbapenemasas han sido identificadas principalmente en *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* y *K. pneumoniae*, aunque también se han detectado en no fermentadores como *P. aeruginosa* (Drawz & Bonomo, 2010).

La enzima SME-1 fue detectada inicialmente en Inglaterra en un aislamiento de *S. marcescens* en 1982. La enzima IMI-1 y NMC fueron detectadas en *E. cloacae*; los genes para estas tres enzimas están localizados en el cromosoma. Sin embargo la enzima IMI-2 ha sido encontrada en plásmidos en especies de *Enterobacter* (Drawz & Bonomo, 2010). Las primeras enzimas tipo KPC fueron encontradas en plásmidos, son predominantes en *K. pneumoniae* en *A. baumannii* y *P. aeruginosa* en este último microorganismo la enzima KPC ha sido detectada tanto en plásmido como en cromosoma (Nordmann, Cuzon & Naas, 2009).

### Carbapenemasas de clase B

Conocidas como metalobetalactamasas (MBL), son el grupo más relevante de carbapenemasas, tanto por diversificación en diferentes variantes aminoacídicas como por su diseminación prácticamente mundial; las cuales se caracterizan por hidrolizar los carbapenems y los inhibidores de  $\mu$ -lactámicos como ácido clavulánico y tazobactam, pero susceptibles a la inhibición por agentes quelantes como EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) ácido mercaptoacético y el MPA (ácido mercaptopropiónico) (Sánchez, Salso, Culebras & Picazo, 2004).

El mecanismo de hidrólisis depende de la interacción de los  $\mu$ -lactámicos con iones de zinc presentes en el sitio activo de la enzima, por lo cual estas enzimas únicamente son inhibidas por quelantes de iones metálicos (Drawz & Bonomo, 2010). De las MBL transmisibles se han reportado enzimas de las familias VIM, IMP, GIM, SIM, SPM y la más reciente es la enzima AIM-1; las familias con más variantes son las familias IMP y VIM, las cuales han sido reportadas en gram negativos tanto fermentadores como no fermentadores (Livermore, 2000).

### Detección de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa*.

La detección rápida de la resistencia a los antimicrobianos así como su caracterización es una prioridad en los laboratorios de microbiología clínica. Su conocimiento ayuda en la elección del antibiótico más adecuado para el tratamiento de la infección y permite instaurar las medidas adecuadas de aislamiento para evitar la dispersión del microorganismo a otros pacientes.

## Detección del patrón fenotípico AMPC

*Método de aproximación de discos:* Es aplicable a betalactamasas AMPC inducibles. La técnica consiste en realizar un antibiograma convencional, para luego colocar un disco de cefoxitina o cualquier otro antimicrobiano inductor (tabla 1) a una distancia de

Tabla 1

27mm centro-centro de un disco de ceftazidima, ceftriaxona o cefotaxima (antimicrobiano sustrato, revelador o testigo). El microorganismo producirá una betalactamasa inducible si se observa un halo de inhibición truncado del antimicrobiano sustrato, testigo o revelador (Sanders & Sanders, 1979).

*Antimicrobianos inductores de la síntesis de betalactamasas (Jacoby 2009)*

Antimicrobianos con acción inductora elevada	Antimicrobianos con acción inductora débil
Benzil y aminopenicilinas	Ureidopenicilinas
Ácido clavulánico	Cefalosporinas de 3 <sup>ra</sup> generación
Cefalosporina de 1 <sup>o</sup> generación	Cefalosporinas de 4 <sup>ta</sup> generación
Cefoxitina	Aztreonam
Imipenem	

## Detección del patrón fenotípico BLEE

En una placa de agar MH inoculada con una suspensión de la cepa en estudio ajustada al 0,50 en la escala McFarland. A) En el método doble disco difusión, se usa el disco de amoxicilina/ácido clavulánico (30µg) en el centro de una placa de Petri, y alrededor de este se colocaron discos de ceftazidima (30µg), ceftriaxona (30µg), cefotaxima (30µg), y aztreonam (30µg) a 20 mm de distancia del disco central. La presencia de BLEE se manifiesta por el efecto sinérgico del inhibidor. B) Método de discos combinados, enfrenta el disco de ceftazidima con ceftazidima clavulánico, un incremento mayor a 5 mm de ceftazidima/ceftazidima clavulánico se le considera positivo (Subcomisión de antimicrobianos de la sociedad argentina, bacteriología, micológica y parasitología clínica [SADEBAC], 2006). Método doble disco difusión para BLEE-*ges*, se debe sospechar BLEE con halos de ceftazidima menor que 18 mm y obser-

var sinergia entre los discos de imipenem-ceftazidima (Pasteran et al., 2004).

## Detección del patrón fenotípico KPC

En una placa de agar MH inoculada con una suspensión de la cepa en estudio ajustada al 0,50 en la escala McFarland. Se debe observar el halo de ceftazidima (30µg) para *P. aeruginosa*, el cual debe ser resistente o intermedio. Luego observar el halo de inhibición de imipenem que debe ser igual a seis mm. Al enfrentar los discos imipenem - EDTA/SMA meropenem no se debe evidenciar sinergia. El halo de inhibición de aztreonam (30µg) debe ser igual a seis mm. El método microbiológico confirmatorio de actividad enzimática MA-SUDA, es con los discos de imipenem (10µg) y meropenem (10µg) deben resultar positivo (Pasteran et al., 2011; SADEBAC, 2006).

## Detección del patrón fenotípico MBL

En una placa de agar MH inoculada con



una suspensión de la cepa en estudio ajustada al 0,50 en la escala McFarland. (A) Método de doble disco, consiste en colocar un disco que contiene un agente quelante (EDTA, SMA, ácido dipicolínico o ácido 2-mercaptopropiónico) rodeado por un disco de imipenem (10µg) y otro de meropenem (10µg). Esta prueba es positiva (presencia de MBL) si se observa un aumento del halo de inhibición o la presencia de una zona de inhibición entre el imipenem y/o el meropenem y el agente quelante (Pasteran et al., 2004). (B) Método de discos combinados, consiste en colocar discos de imipenem y meropenem suplementados con sustancias quelantes y discos de imipenem y meropenem solos, considerándose una prueba positiva si se observa un aumento del halo mayor a 5 mm de inhibición de los discos suple-

mentados en comparación con los halos producidos alrededor de los discos que contienen antibiótico solo (Pérez et al., 2008). (C) Método E-test de imipenem/imipenem+EDTA: consiste en colocar una tira de e-test en una placa de Mueller-Hinton inoculada con una dilución de 0,5 en la escala de McFarland. Incubamos a 37 durante 24 h. Se considera la presencia de metalobeta-lactamasas cuando CIM imipenem/CIM imipenem-EDTA debe ser mayor o igual a 8 (Bustamante & Brevis, 2010).

Luego de la búsqueda realizada en las diversas revistas y tesis de los diferentes países de Sudamérica se encontraron un total de 21 trabajos de investigación para el análisis de los patrones fenotípicos en *P. aeruginosa* siendo estos: AMPCd, BLEE, KPC, MBL (Figura 1).

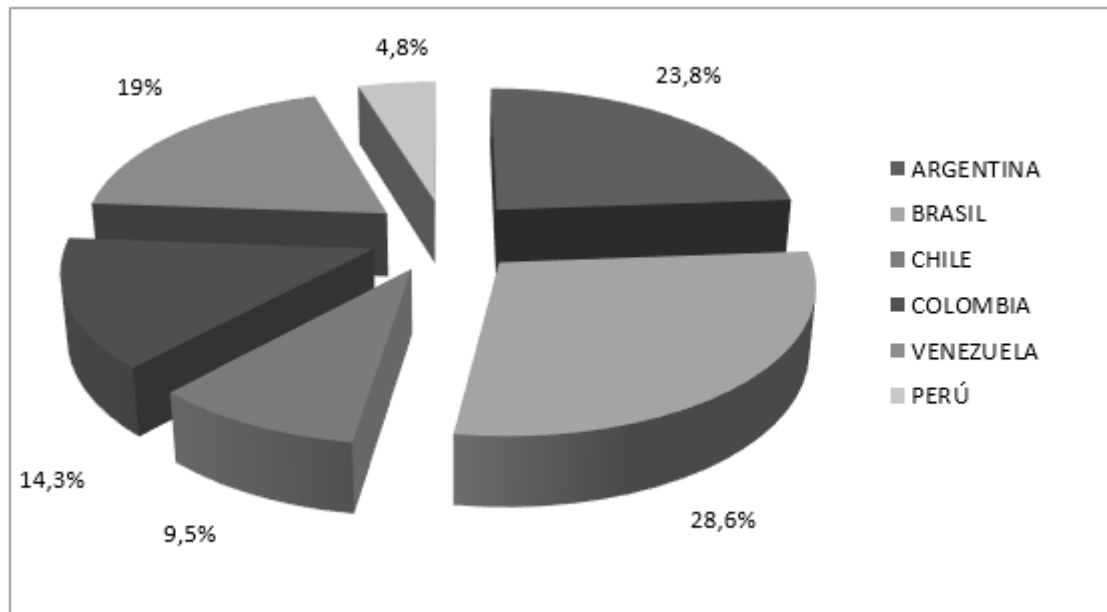


Figura 1. Porcentaje de los estudios encontrados en los diferentes países para *P. aeruginosa* n=21

Tabla 2

*Lista de los principales autores de los diferentes países para la evaluación de los patrones fenotípicos de resistencia en P. aeruginosa*

PATRONES FENOTÍPICOS	ARGENTINA	BRASIL	CHILE	COLOMBIA	VENEZUELA	PERÚ
AMPC d	Ferrero <i>et al.</i> (2009) n=89 P=5,3%			Morales <i>et al.</i> (2008) n=59 P=3,3%		
BLEE	Ferrero <i>et al.</i> (2009) n=89 P=8,9%	Pellegrino <i>et al.</i> (2006) n=25 P=16%	Bustamante & Brevis <i>et al.</i> (2010) n=30 P=16,7%	Martínez <i>et al.</i> (2003) n=58 P=38% Morales <i>et al.</i> (2008) n=59 P=6,8%	Marchan <i>et al.</i> (2012) n=26 P=0% Tovar <i>et al.</i> (2008) n=66 P=25,8%	
KPC	Pasteran <i>et al.</i> (2009) n=514 P=12,6%			Morales <i>et al.</i> (2008) n=59 P=* Saavedra <i>et al.</i> (2014) n=57 P=15,8%		
MBL	Pagniez <i>et al.</i> (2006) n=91 P=11% Cejás <i>et al.</i> (2008) n=129 P=14% Ferrero <i>et al.</i> (2009) n=86 P=17,4%	Marra <i>et al.</i> (2006) n=76 P=30,3% Gaspereto <i>et al.</i> (2007) n=60 P=81,7% Scheffer <i>et al.</i> (2010) n=29 P=20,7% Gómez <i>et al.</i> (2010) n=69 P=76,8% Magalhães <i>et al.</i> (2005) n=48 P=31,2%	Pérez <i>et al.</i> (2008) n=59 P=83,1%	Morales <i>et al.</i> (2008) n=59 P=* Saavedra <i>et al.</i> (2014) n=57 P=57,9%	Marchan <i>et al.</i> (2012) n=26 P=7,7% Tovar <i>et al.</i> (2008) n=66 P=10,6% Nuñez <i>et al.</i> (2009) n=487 P=12,3% Perozo <i>et al.</i> (2012) n=726 P=19%	Díaz (2008) n=186 P=7,6%
n: Numero total de cepas analizadas      p: Prevalencia del patron fenotípico de resistencia      *No se diferenció a las carbapenemasas Ptotal = 3,4%						

En los países de Argentina y Colombia se encontraron los cuatro patrones fenotípicos de resistencia de *P. aeruginosa* AMPC, BLEE, KPC, MBL de los cuales Ferrero *et al.* (2009) y Morales, Baleta, Camargo y Correa (2008) respectivamente para su país, fueron los únicos autores que encontraron y analizaron los cuatro patrones fenotípicos mencionados anteriormente. Para los países de Brasil, Chile y Venezuela se encontraron para el análisis los patrones fe-

notípicos BLEE y MBL. En el Perú las MBL fue el único patrón fenotípico de resistencia encontrado para el análisis (Tabla 2).

En cuanto a la prevalencia de los patrones fenotípicos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* para Sudamérica se encontro el siguiente orden de mayor a menor: MBL(2225), BLEE(330). KPC(630), AMPCd(145), donde n=número total de cepas analizadas (Figura 2).

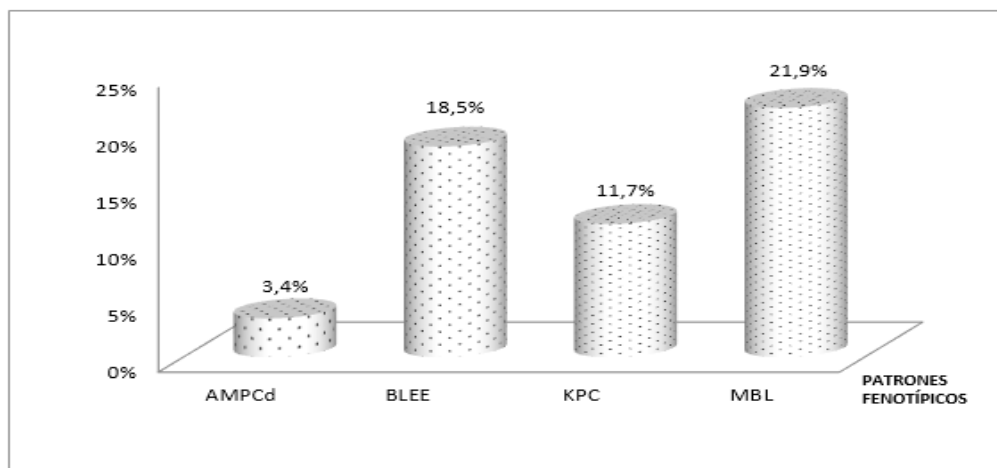


Figura 2. Prevalencia de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* a nivel de Sudamérica

Al dividir el análisis por periodos de tiempo se observó lo siguiente: para el periodo 2003-2006 la prevalencia de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* fueron para BLEE (n=83) mayor que MBL (n=215). En el periodo 2007-2010 la prevalencia de los patrones fenotípicos de *P. aeruginosa* fueron de mayor a menor en el siguiente orden: BLEE (n=247), MBL (n=1171), KPC (n=514) y por ultimo AMPCd (n=145).

Para el periodo 2011-2014 la prevalencia de los patrones fenotípicos de *P. aeruginosa* fueron para MBL (n=809) mayor que KPC (n=57), donde n=número total de cepas analizadas (Figura 3). Además de los 21 trabajos encontrados en el análisis para el primer periodo 2003-2006 le corresponde el 23.8% de trabajos encontrados, en el segundo periodo 2007-2010 se encontró 61.9% y en el último periodo 2011-2014 fue de 14.3%.

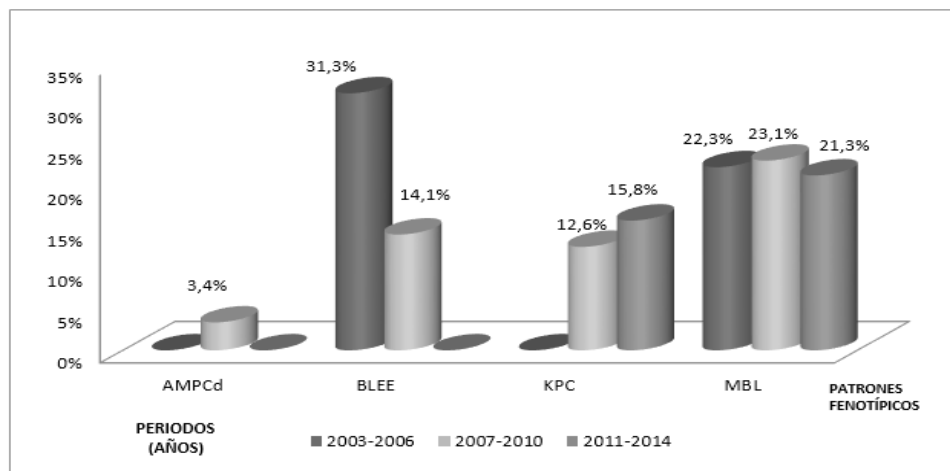


Figura 3. Prevalencia de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* a nivel de Sudamérica a través del tiempo

Tabla 3

Métodos utilizados para la detección de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa*

PATRONES FENOTÍPICOS	ARGENTINA	BRASIL	CHILE	COLOMBIA	VENEZUELA	PERÚ
AMPC d	N.I			N.I		
	MÉTODO DISCOS COMBINADOS CAZ-CAZ/AC					
BLEE	MÉTODO DE DOBLE DISCO IMI-CAZ	MÉTODO DISCOS COMBINADOS CAZ-CAZ/IMI	MÉTODO DE DOBLE DISCO CTX CAZ-AMC-CRO ATM	MÉTODO DISCOS COMBINADOS CAZ-CAZ/AC	MÉTODO DE DOBLE DISCO CAZ-AMC-ATM FEP	
KPC	ALGORITMO KPC IMI-EDTA-MER (NEGATIVO) ATM (RESISTENTE)			ALGORITMO KPC IMI-EDTA-MER (NEGATIVO) ATM (RESISTENTE)		
MBL	MÉTODO DE DOBLE DISCO IMI-EDTA-MER CAZ	MÉTODO DISCOS COMBINADOS IMI-IMI/EDTA MÉTODO DE DOBLE DISCO IMI-EDTA CAZ-MPA	MÉTODO E-TEST	MÉTODO DE DOBLE DISCO IMI-EDTA/SMA-MER	MÉTODO DE DOBLE DISCO IMI-EDTA/SMA-MER IMI-EDTA-MRP E-TEST	MÉTODO DE DOBLE DISCO IMI-EDTA-MER
					MÉTODO DISCOS COMBINADOS IMI-IMI/EDTA MER-MER/EDTA	
CAZ: Cefotaxima CTX: Cefotaxima CRO: Ceftriaxona FEP: Cefepime ATM: Aztreonam IMI: Imipenem MER: Meropenem AMC: Amoxicilina + ácido clavulánico N.I: No se indicó CAZ/AC: Cefotaxima + Ácido clavulánico EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético MPA: Ácido mercaptopropionico EDTA/SAM: Ácido etilendiaminotetraacético + Ácido tioglicólico IMI/EDTA: Imipenem + Ácido etilendiaminotetraacético MER/EDTA: Meropenem + Ácido etilendiaminotetraacético						

En la detección de los patrones fenotípicos de resistencia de *P. aeruginosa* para la detección BLEE se utilizaron el método de discos combinados (CAZ-CAZ/AC), el método sinergia de doble disco (AMC-CAZ-CTR-CTX-ATM) o (IMI-CAZ). Para la detección de KPC se siguió el algoritmo de KPC de *P. aeruginosa*. En la detección de MBL se emplearon el método sinérgico doble disco (principalmente IMI-EDTA-MER, IMI-EDTA/SAM-MER, CAZ-MPA), el método de discos combinados (principalmente IMI-IMI/EDTA) y el método E-test (Tabla 3).

### **Resumen de las investigaciones de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* en seis países de Sudamérica**

**En Argentina:** Encontraron 91 aislamientos de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes internados en distintas salas del Hospital de Clínicas “José de San Martín”, el criterio de selección de los microorganismos fue la resistencia a MER y/o IMI, resultando 11,1% con el patrón fenotípico MBL, utilizando para su detección discos IMI (10µg), MER (10µg), CAZ (30µg) alrededor del disco de EDTA (1µmol). (Pagniez et al., 2006). En otro estudio de 129 aislamientos de *P. aeruginosa* recuperados de pacientes internados en diferentes servicios del Hospital “Eva Perón” de la Provincia de Buenos Aires, el 14% de cepas presentó el patrón fenotipo de resistencia MLB, utilizando los discos de CAZ(30µg) y IMI(10µg) alrededor del disco EDTA de un 1µmol (Cejas et al., 2008).

En 86 cepas aisladas de *P. aeruginosa* intrahospitalarias del Hospital Escuela “José de San Martín” de Corrientes, para el estudio de los patrones fenotípicos usando los criterios de SEDABEC, de obtuvieron 17,4% como productor de

MLB, mientras el 5,8% de las cepas fueron productores de BLEE y el 3,4% de las cepas resultó productor de AMPCd. (Ferrero et al., 2009).

Durante un estudio se recuperaron seis cepas de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes hospitalizados de un centro privado de Córdoba, el 66% fue productor BLEE, detectadas con la sinergia de discos entre CAZ (30µg) e IMI (10µg) (Piersigilli et al., 2009). En un estudio realizado de nueve hospitales de Argentina se recolectaron 514 cepas de *P. aeruginosa* de las cuales el 12% presentó el fenotipo carbapenemasa tipo KPC al presentar resistencia al ATM y no haber sinergia entre los discos carbapenems y el disco de EDTA (Pasteran et al., 2012).

**En Brasil:** Se aislaron 48 cepas de *P. aeruginosa* resistentes a imipenem a partir de muestras de orina, esputo, sangre, aspirado traqueal, aspirado bronquio alveolar, resultando el 31,2 % cepas productoras de MBL, detectados por el método de sinergia de doble disco usando 2-MPA y CAZ (30µg) y el método de discos combinados de IMI (10µg) con y sin EDTA (750µg) (Magalhães, Lins & Magalhães, 2005). En un estudio realizado en 76 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de hemocultivos, la producción de fenotipos MLB fue 30,3%, usando discos IMI (10µg)-EDTA-MER (10µg) para su detección; se utilizó como método alternativo el disco 2-MPA, pero obtuvo baja sensibilidad (Marra et al., 2006). En un análisis realizado en un hospital público en Río de Janeiro de 25 cepas de *P. aeruginosa*, el 16% de cepas presentaba fenotipo BLEE, detectadas con el efecto sinérgico de los discos CAZ (30µg) y CAZ/IMP (30µg/0,1µg) (Pellegrino, Netto-dos Santos, Riley & Moreira, 2006).



En otro estudio posterior identificaron 60 cepas de *P. aeruginosa* procedentes de tres hospitales universitarios de la ciudad de Porto Alegre, donde el 81,7% de las cepas presentó MBL, usando disco 2-MPA para su detección (Gaspareto, Martins, Zavascki & Barth, 2007). Encontraron 29 cepas de *P. aeruginosa* carbapenems resistentes, aisladas a partir del tracto urinario, tracto respiratorio, hemocultivo, entre otros. Los métodos para la detección de cepas MBL fueron: Sinergia de doble disco, usando 2-MPA y CAZ (30µg) resultando 20,7% de cepas productoras de MBL y el método de disco combinado, usando discos de IMI (10µg) con y sin EDTA (930µg) obteniendo 24,1% de cepas productores MBL (Scheffer et al., 2007). En un hospital universitario de Brasil se aislaron 69 cepas de *P. aeruginosa* resistentes a imipenem aisladas de sangre, la detección de cepas con fenotipo MBL realizadas con E-test resultaron positivas en 76,8 % de las cepas de *P. aeruginosa*, confirmadas en 30,4% de las cepas aisladas productoras de MBL por PCR (Gómez et al. 2010).

**En Chile:** El laboratorio de microbiología del Hospital Clínico de la Universidad Católica de Chile, realizó una investigación a 59 cepas de *P. aeruginosa* obtenidas a partir de muestras de aspirados endotraqueales, lavado bronquioloalveolar, hemocultivos, punta de catéter y urocultivos, de las cuales resultaron que el 83,1% de las cepas fueron positivas para MBL por E-test, donde la relación CIM imipenem/CIM imipenem-EDTA fue mayor o igual a ocho veces (Pérez et al., 2008). Investigaron 30 cepas de *P. aeruginosa* del Hospital de Talca y el Hospital Clínico Herminia Martín de Chillán, el 16,7% de las cepas era

productor de BLEE, la sinergia de doble disco se usó para la detección de BLEE (Bustamante & Brevis, 2010).

**En Colombia:** Identificaron 58 cepas de *P. aeruginosa*, en el Hospital San Jerónimo, Montería, donde el 38% de las cepas fue productor de BLEE (Martínez et al., 2003). En otro estudio se encontraron 59 cepas *P. aeruginosa* en un Hospital público de la ciudad de Valledupar, obteniendo un total de 6,8% de cepas con fenotipo BLEE, 3,4% cepas con fenotipo AMPC y cepas productoras de carbapenemasas 3,4% (Morales et al., 2008). De 57 aislamientos sospechosos de ser productores de carbapenemasas, se identificó en el 57,9% de las cepas productoras de MBL y cepas productoras de KPC fue 15,8%; además se encontró una cepa con ambos fenotipos descrito. Para la detección de MBL se utilizó discos EDTA-SMA y el E-test; mientras para la detección de cepas KPC se utilizó el algoritmo KPC para *P. aeruginosa* (Saavedra, Duarte, González & Realpe, 2010).

**En Venezuela:** Se estudiaron un total de 66 cepas de *P. aeruginosa* provenientes del Servicio Autónomo "Hospital Antonio Patricio de Alcalá" y del Laboratorio Clínico Universitario, la presencia de cepas de *P. aeruginosa* con fenotipo BLEE fue 25,8% y para MBL 10,6%. La determinación de BLEE y MBL se realizó mediante el método doble disco difusión teniendo como antibiótico principal a los discos de AMC y el EDTA respectivamente (Tovar, 2008). Analizaron 487 cepas de *P. aeruginosa* en el Centro de Referencia Bacteriológica SAHUM a todas las cepas resistentes a imipenem o meropenem, se detectaron fenotípicamente la producción de MBL en 12,3% de las cepas de *P. aeruginosa*; a través de los diferentes métodos como Hodge modificado, sinergia de discos

con EDTA, disco combinado y E-test (Núñez, 2009).

En otro estudio 26 cepas *P. aeruginosa* aisladas del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” fueron evaluados para la producción de BLEE y MBL determinadas por pruebas de sinergia de doble disco y el método del disco combinado EDTA-imipenem (10µg/10µg) respectivamente. Ninguna de las cepas en estudio expresó la producción de BLEE, mientras que 7,69% cepas mostró fenotípicamente la producción de MBL (Marchán, 2012). En un análisis de 726 cepas de *P. aeruginosa* el 20% fueron resistentes a imipenem y meropenem, resultando el 19% de las cepas productoras de MBL, las cuales fueron detectadas por el método de doble disco entre discos EDTA/SAM (750/300µg) y discos carbapenémicos; además realizaron el método de Hodge modificado (Perozo, Castellano, Ling & Arraiz, 2012).

**En Perú:** En 186 cepas de *P. aeruginosa* identificadas en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, las cuales fueron rehabilitadas al encontrarse en agar soya tripticasa, el 7% de las cepas presentó el patrón fenotípico MBL (Díaz, 2008).

## DISCUSIÓN

En los 10 países de Sudamérica durante el año 2003 hasta octubre del 2014, la mayor cantidad de trabajos encontrados para los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* a nivel de Sudamérica corresponde a los países de Brasil con 28,6%, Argentina con 23,8% y Venezuela con 19% de los estudios analizados. Esto se debe que en estos países se han implementado protocolos en la detección de los diferentes patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* los cuales son AMPCd,

BLEE, KPC, MBL evaluados en el análisis (SADEBAC, 2006). Luego le siguen los países de Colombia con 14,3%, Chile 9,5% y Perú con 4,8%. Esto se podría deber a que en estos países se encuentra en un proceso de capacitación para la detección de los patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* presentando un número limitado de datos el cual se corrobora con los escasos trabajos encontrados para el análisis. Lo que podría explicar por qué en los países de Uruguay, Ecuador, Paraguay y Bolivia no se encontraron estudios para el análisis.

De los cuatro patrones fenotípicos de *P. aeruginosa* encontrados en Sudamérica, los patrones fenotípicos con mayor prevalencia fueron para MBL con 21,9% seguidamente de BLEE con 18,5%. En los diversos estudios a nivel mundial se observa el predominio de las MBL sobre BLEE. En África, se encontró la prevalencia de MBL con 31% y BLEE con 27,5% (Rehab et al., 2013). En Asia, se encontró la prevalencia MBL en 38% y BLEE en 18% (Vahdani et al., 2012). La mayor prevalencia del patrón fenotípico MBL sobre las BLEE se debe al incremento a nivel mundial de la resistencia a los carbapenémicos (Pitout & Laupland, 2008; Rodríguez 2009).

Durante los periodos de años 2003-2006, 2007-2010, 2011-2014 los diversos patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* para Sudamérica se encontró lo siguiente: para AMPCd en el único periodo encontrado fue durante los años 2007-2010 con 3,4%, la poca cantidad de cepas encontradas con este patrón fenotípico se debe que solo fueron AMPC desreprimido, mas no la AMPC cromosómica inducible propia de la bacteria. Para BLEE en el primer periodo durante los años 2003-

2006 se encontró 31,3% superior a lo encontrado en el segundo periodo durante los años 2007-2010 con 14,1%, además fue el patrón fenotípico que alcanzo mayor prevalencia durante los tres periodos. Esto puede ser debido a que en un inicio no se contó con un protocolo estandarizado para la detección de los otros patrones fenotípicos como MBL y KPC (SEDABEC, 2006).

En otras parte de mundo como en Asia, se han reportado BLEE 9,2%, 28%, 13,3% (Kalantar et al., 2012; Moniri & Tavajjohi, 2011; Saeide, Alavi-Naini & Shayan, 2013), respectivamente. África, se encontró BLEE 9,3%, 22%, 27,5% (Aibinu et al., 2007; Olukemi & Abba, 2012; Rehab et al., 2013). Con lo cual se puede decir que la prevalencia de BLEE varía de acuerdo a la localización geográfica y el tiempo (Olukemi & Abba, 2012; Moniri & Tavajjohi, 2011). Para MBL durante los periodos de años 2003-2006; 2007-2010; 2011-2014 se encontraron las prevalencias de 22,3%, 23,1% y 21,3%, respectivamente, además en los dos últimos periodos fue el patrón fenotípico con mayor prevalencia.

En otras partes del mundo como en Asia, se encontró MBL con 28%, 74,5%, 70% (Arunagiri et al., 2012; Bareja et al., 2011; Varaiya et al., 2008, respectivamente). En África encontraron MBL con 40%, 31%, 82% (Diab et al. 2013; Nagwa & Sherif, 2007; Rehab et al., 2013, respectivamente).

Para este patrón fenotípico MBL se observa en Sudamérica una prevalencia casi similar a través del tiempo, pero según los reportes registrados para África y Asia se han reportado un mayor incremento de la prevalencia de MBL a través del tiempo (Vitkauskiene et al.,

2011). Esta diferencia podría deberse por los pocos trabajos realizados y encontrados para Sudamérica en el último periodo 2011-2014. Para el patrón fenotípico KPC se obtiene la mayor prevalencia con el 15,8%, en el último periodo 2011-2014, debido al mayor uso de los carbapenemicos, sin embargo su diseminación y detección aun es escasa para Sudamérica.

Para la detección de los diversos patrones fenotípicos de resistencia en *P. aeruginosa* para Sudamérica se dio lo siguiente: En la detección de BLEE el método más usado fue por doble disco difusión debido a que emplea los mismos materiales y procedimientos que un antibiograma de rutina, y a diferencia del método disco combinado, no emplea varios discos de susceptibilidad adicionales; asimismo, no requiere pruebas de tamizaje, implicando menores costos de procesamiento, además su sensibilidad es entre 98,2%-100% y su especificidad, entre 96,9%-100%, los cuales son mayores frente a otros métodos (Lezameta, Gonzáles-Escalante & Tamariz, 2010). Para la detección de KPC solo se realizó por el algoritmo KPC (SEDABEC, 2006). Para la detección MBL en *P. aeruginosa* el método más usado es doble disco difusión esto puede ser a que se encontraron trabajos donde señalan su alta sensibilidad de 100 % y especificidad que varía entre 96% a 100 % para este método (Khosravi, Tay & Vadivelu, 2010; Pagniez et al., 2006).

## CONCLUSIONES

En Sudamérica de los 21 trabajos encontrados en los seis países de la región, el país con mayor aporte de estudios durante el análisis de los diversos patrones fenotípicos de resistencia AMPCd, BLEE, KPC, MBL

en *P. aeruginosa*, fue Brasil con 28,6%, por lo contrario Perú fue el país que menos estudios aportó al análisis con 4,8%.

Argentina y Colombia fueron los países donde se encontraron los cuatro patrones fenotípicos de resistencia AMPCd, BLEE, KPC, MBL en *P. aeruginosa*.

Los patrones fenotípicos de *P. aeruginosa* MBL y BLEE fueron los de mayor prevalencia en encontradas en el análisis de Sudamérica con un 21.9% y 18.5% respectivamente

De los tres periodos de años, fue en el periodo 2007-2010 donde se encontraron los patrones fenotípicos de resistencia AMPCd, BLEE, KPC, MBL de *P. aeruginosa* a nivel de Sudamérica con una prevalencia de 3,4%, 14,1%, 12,6%, 23,1% respectivamente.

Para la detección del patrón fenotípico de resistencia BLEE y MBL de *P. aeruginosa* el método más usado fue el doble disco difusión.

## REFERENCIAS

- Abarca, G. & Herrera, M. (2001). Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional Niños*, 36, 77-104.
- Aibinu, I., Nwanneka, T. & Odugbemi, T. (2007). Occurrence of ESBL and MBL in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Lagos, Nigeria. *Journal of American Science*, 3, 81-85.
- Aránzazu, M. T., Coque, T. M. & Cantón, R. (agosto, 2006). *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente productora de PER-1 en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 24, 472-473.
- Arunagiri, K., Sekar, B., Sangeetha, G. & John, J. (2012). Detection and characterization of metallo- $\mu$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* by phenotypic and molecular methods from clinical samples in a tertiary care Hospital. *West Indian Medical Journal*, 61, 779-783.
- Asboe, D., Gant, V., Aucken, H. M., Moore, D. A., Umasankar, S., Bingham, J. S., ... Pitt, T. L. (October, 1998). Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* strains in respiratory infection in AIDS patients. *AIDS*, 12, 1771-1775.
- Bareja, R., Grover, P., Singh, V., Shinu, P., Sharma, M., Kumar, A. & Arora, S. (2011). Rapid detection of metallo- $\mu$ -lactamase in carbapenm resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Journal of Advance Researches in Biological Sciences*, 3, 90-93.
- Basak, S., Khode, M., Bose, S & Mallick, S. (2009). Inducible AmpC betalactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated in a rural hospital of central India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 3, 1921-1927.
- Black, A., Moland, E. & Thomson, K. (2005). AmpC disk test for detection of plasmid mediated AmpC beta-lactamases in Enterobacteriaceae lacking chromosomal AmpC beta-lactamases. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 3110-3113.



- Bouza, E., García, F., Cercenado, E., Marín, M., Díaz, M. & Sánchez, F. (2003). Grupo Español para el Estudio de *Pseudomonas aeruginosa*: Estudio multicéntrico en 136 hospitales españoles. *Revista Española Quimioterapia*, 16, 41-52.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A. & Mietzner, T. A. (2005). *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y gram negativos poco frecuentes. En, *Microbiología médica* (18ª ed., pp. 285-291). México: Manual Moderno.
- Bush, K. & Jacoby, G. (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, 969-976.
- Bush, K., Jacoby, G. & Medeiros, A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 1211-1233.
- Bustamante, L. & Brevis, P. (2010). *Pesquisa de betalactamasas de espectro extendido en cepas de Pseudomonas aeruginosa y klebsiella pneumoniae*. Recuperado de <http://dspace.ualca.cl/handle/1950/8343>
- Carmeli, Y., Troillet, N., Eliopoulos, G. & Samore, M. (1999). Emergence of antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Comparison of risk associated with different antipseudomonal agent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, 1379-1382.
- Castanheira, M., Mendes, R., Walsh, T., Gales, A. & Jones, R. (June, 2004). Emergence of the extended-spectrum  $\mu$ -lactamase GES-1 in a *Pseudomonas aeruginosa* strain from Brazil: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 2344-2345.
- Castillo, V., Ribas, A., Carranza, L. & Aparicio, G. (2006). Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen hospitalario multirresistentes a 21 antibióticos. *Bioquímica*, 51, 41-48.
- Cejas, D., Almuzara, M., Santella, G., Tuduri, A., Palombarani, S., Figueroa, S., ... Radice, M. 2008. Caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia a imipenem en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en un Hospital de Buenos Aires. *Revista Argentina de Microbiología*, 40, 238-245.
- Conejo, M., García, I., Martínez, L., Picabea, L. & Pascual, A. (2003). Zinc eluted from siliconized latex urinary catheters decreases Oprd expression, causing carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 7, 2313-2315.
- Crespo, M., Woodford, N., Sincalir, A., Kaufmann, M. & Turon, J. (2004). Outbreak of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo- $\mu$ -lactamase in tertiary care center in Cali, Colombia. *Journal Clinical Microbiology*, 42, 5094-5101.
- Diab, M., Fam, N., El-Said, M., El-Dabaa, E., El-Defrawy, I. & Saber M. (2013). Occurrence of VIM-2 Metallo- $\beta$ -lactamases in imipenem resistant and susceptible

- Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Egypt. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 4465-4472.
- Díaz, J. (2008). *Detección de metalobetalactamasas (MBLs) en Pseudomonas aeruginosa resistentes a los carbapenems en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008* (Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú). Recuperado de [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/243/Diaz\\_tj.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/243/Diaz_tj.pdf?sequence=1)
- Drawz, S. & Bonomo, R. (2010). Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 160-201.
- Espinoza, P. (2010). *Determinación de metaloenzimas como mecanismos de resistencia en aislamientos de Pseudomonas sp. y Acinetobacter sp. multirresistentes referidas al laboratorio nacional de salud* (Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala). Recuperado de noviembre del 2012 desde: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_3018.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3018.pdf).
- Farías, E., Medina, R., & Chavarría, J. (2005). Neumonía nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa*. *Medicina Interna de México*, 21, 368-379.
- Ferrero, S., Gómez, L. & Reparaz, M. (2009). *Resistencia a carbapenems por metalobetalactamasas en Pseudomonas aeruginosa*. Recuperado de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/investigacion/com2009/CM-073.pdf>.
- Friedrich, M., Klauss-Dieter, L. & Burke, C. (2008). *Pseudomonas aeruginosa Infections*. Recuperado de <http://emedicine.medscape.com/article/226748-overview>
- García, J., Rodríguez, E., Carpio, A., Salazar, E., Flores, F. & Araque, Y. (2009). Susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias nosocomiales productoras de betalactamasas de espectro expandido. *Revista Kasmara*, 37, 38-50.
- Gaspareto, P., Martins, A., Zavascki, A. & Barth, A. (2007). Occurrence of *blaspm-1* and *blaimp-1* genes of metallo- $\mu$ -lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from three university hospitals in the city of Porto Alegre, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 108-109.
- Gibb, A. P., Tribuddharat, C., Moore, R., Louie, T., Krulicki, W., Livermore, D. M., ... Woodford, N. (January, 2002). Nosocomial outbreaks of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with a new *bla*<sub>IMP</sub> allele, *bla*<sub>IMP-7</sub>. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 255-258.
- Giwerzman, B., Jensen, E. T., Høiby, N., Kharazmi, A. & Costerton, J. W. (May, 1991). Induction of  $\mu$ -Lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35, 1008-1010.
- Gómez, C. A., Leal, A. L., Pérez de Gonzales, M. J. & Navarrete, M. L. (2005). Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* entendiendo a un peligroso enemigo. *Revista de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Colombia*, 53(1), 29-34.

- Gomes F. M. R., Caiaffa-Filho, H.H., Burattini, M.N. & Rossi, F. (2010). Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a brazilian university hospital. *Clinics (Sao Paulo)*, 65, 825-829.
- Horieh, S., Zohreh, K., Parviz, O., Mohamma, A. & Seyed, M. (2008). Phenotypic detection of Metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burned patients. *Iranian Journal of Pathology*, 3, 20-24.
- Howard, D., Scott, I., Packard, R. & Jones, D. (2003). The global impact of drug resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 36, 4-10.
- Jacoby, A. & Muñoz, P. (2005). The new  $\mu$ -lactamases. *New England Journal of Medicine*, 352, 380-391.
- Jacoby, G. (2009). AmpC  $\mu$ -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22, 161-182.
- Kalantar, E., Taherzadeh, S., Ghadimi, T., Soheili, F., Salimizand, H. & Hedayatnejad, A. H. (2012). *Pseudomonas aeruginosa*, an emerging pathogen among burn patients in Kurdistan province, Iran. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 43, 712-717.
- Khosravi, Y., Tay, S. & Vadivelu, J. (2010). First characterization of blaVIM-11 cassette containing integron in metallo- $\beta$ -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14, 999-1000.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., Winn, W., Procop, G. & Woods, G. (2008). *Diagnóstico microbiológico* (6<sup>a</sup> ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Kong, K. F., Jayawardena, S. R., Indulkar, S. D., Del Puerto, A., Koh, C. L., Høiby, N. & Mathee, K. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* AmpR is a global transcriptional factor that regulates expression of AmpC and PoxB  $\mu$ -lactamases, proteases, quorum sensing, and other virulence factors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, 4567-4575.
- Langae, T. Y., Gagnon, L. & Huletsky, A. (2000). Inactivation of the *ampD* gene in *Pseudomonas aeruginosa* leads to moderate-basal-level and hyperinducible AmpC  $\mu$ -lactamase expression. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 583-589.
- Lauretti, L., Riccio, M. L., Mazzariol, A., Cornaglia, G., Amicosante, G., Fontana, R. & Rossolini, G. M. (1999). Cloning and characterization of blaVim, a new integron-borne metallo-b-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, 1584-1590.
- Lezameta, L., Gonzáles-Escalante, E. & Tamariz, J. H. (2010). Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. *Revista Peruana Medicina Experimental y Salud Pública*, 27, 345-351.
- Livermore, D. (2002). Multiple mechanisms of antimicrobial

- resistance in *P. aeruginosa*: our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases*, 34, 634-640.
- Lösch, L., Merino, L. A. & Alonso, J. M. (2005). *Resistencia antimicrobiana en cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas de fuentes de agua de la provincia del Chaco (Argentina)* [Resumen]. Recuperado de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-014.pdf>
- Machain, M., Suárez, J., Ferreiro, D. & Ceregido E. (2006). *Detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en Pseudomonas aeruginosa (PAE) en un hospital de agudos* [Resumen]. Presentado en el Congreso SADEBAC Asociación Argentina de Microbiología.
- Magalhães, V., Lins, A. & Magalhães, M. (2005). Metallo- $\mu$ -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in hospital in Recife, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, 123-125.
- Mandell, R., Gordon, D., Balbachan, E. & Bennet, J. (2002). *Enfermedades infecciosas: Principios y Prácticas* (5ª ed.) Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
- Marchán, O. (2012). *Transferencia de resistencia a betalactámicos en aislados clínicos de Pseudomonas aeruginosa* (Tesis de licenciatura, Universidad de Oriente Núcleo de Sucre, Venezuela). Recuperado de <http://ri.bib.udo.edu.ve/handle/123456789/2410>
- Marchand, P. (2002). *Microorganismos indicadores de la calidad del agua de Lima metropolitana* (Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú). Recuperado de [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/basic/marchand\\_p\\_e/Marchand\\_P\\_E.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/basic/marchand_p_e/Marchand_P_E.htm)
- Marra, A., Pereira, C., Gales, A., Menezes, L., Cal, R. G., de Souza, J. M., ... Wey, S. B. (2006). Bloodstream Infections with Metallo- $\mu$ -Lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*: Epidemiology, Microbiology, and Clinical Outcomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, 388-390.
- Martínez, P., Mercado, M. & Máttar, S. (2003). Determinación de  $\mu$ -lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería, Colombia. *Colombia Médica*, 34, 196-205.
- Moniri, R. & Tavajjohi, Z. (2011). Detection of ESBLs and MDR in *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary-care teaching hospital. *Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases*, 6, 18-23.
- Morales, G., Baleta, B., Camargo, S. & Correa, M. (2008). Determinación de  $\mu$ -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* en un Hospital público de la ciudad de Valledupar. *Revista Colombiana de Medicina Tropical*, 2, 49-55.
- Nagwa, G. & Sherif, A. (2007). Genetic diversity of metallo-betalactamases produced by carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 16, 691-697.
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R.,



- Fernández, F. & Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. En R. Cantón & E. Cercenado (Eds.), *Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica* (2ª ed.). Recuperado de <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiología/>.
- Nordmann, P., Cuzon, G. & Naas, T. (2009). The real threat of *K. pneumonia* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infectious Disease*, 9, 228-236.
- Núñez, L. 2009. *Epidemiología molecular de Pseudomonas aeruginosa productoras de metalobetalactamasas* (Tesis de maestría, Universidad del Zulia, Venezuela). Recuperado de [http://tesis.luz.edu.ve/tde\\_busca/processaPesquisa.php?pesqExecutada=1&id=2219](http://tesis.luz.edu.ve/tde_busca/processaPesquisa.php?pesqExecutada=1&id=2219)
- Ochoa, S., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L., López-Martínez, B., ... Xicohtencatl-Cortes, J. (2013). Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 70, 136-150.
- Olukemi, A. & Alaba, A. (2012). Occurrence of extended spectrum betalactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains in south-west Nigeria. *Research Journal of Medical Sciences*, 6, 93-96.
- Pagani, L., Mantengoli, E., Migliavacca, R., Nucleo, E., Pollini, S., Spalla, M., ... Rossolini, G. M. (2004). Multifocal detection of multidrug-resistant *P. aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum  $\mu$ -lactamase in Northern Italy. *Journal Clinical of Microbiology*, 42, 2523-2529.
- Pagniez, G., Radice, M., Cuirolo, A., Rodríguez, O., Rodríguez, H., Vay, C., ... Gutkind, G. (2006). Prevalencia de metalo- $\mu$ -lactamasas en *P. aeruginosa* resistentes a carbapenemes en un Hospital Universitario de Buenos Aires. *Revista Argentina de Microbiología*, 38, 33-37.
- Pasteran, F., Faccone, D., Gomez, S., De Bunder, S., Spinelli, F., Rapoport, M., ... Corso, A. (May, 2012). Detection of an international multiresistant clone belonging to sequence type 654 involved in the dissemination of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Argentina. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67, 1291-1293.
- Pasteran, F., Guerreiro, L., Goris, V., Sujemeckis, A., Faccone, D. & Campos, K. (2004).  $\mu$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) GES-1 en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de Argentina: Evaluación de métodos fenotípicos para su detección [Resumen]. Presentado en el XVII Congreso Latinoamericano de Microbiología. X Congreso Argentino de Microbiología. Asociación Argentina de Microbiología.
- Pasteran, F., Veliz, O., Faccone, D., Guerriero, L., Rapoport, M., Mendez, T. & Corso, A. (2011). A simple test for detection of

- KPC and metallo- $\mu$ -lactamase carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid dipicolinic acid and cloxacilin. *Clinical Microbiology Infection*, 17, 1438-1441.
- Paterson, D. L. & Bonomo, R. A. (2005). Extended-Spectrum  $\mu$ -Lactamases: A Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18, 657-686.
- Pellegrino, F., Netto-dos Santos, K., Riley, L. & Moreira, B. (2006). BlaGES carrying *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a public hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 10(4), 251-253.
- Pérez, A., García, P., Poggi, H., Braun, S., Castillo, C., Román, J., ... González, G. (2008). Presencia de metalo- $\beta$ -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem. *Revista Médica de Chile*, 136, 423-432.
- Perozo, A. J., Castellano, M. J., Ling, E. & Arraiz, N. (julio, 2012). Detección fenotípica de metalobetalactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Kásmara*, 40, 113-121.
- Piersigilli, A., Enrico, M., Bongiovanni, M., Bilbao, L., Martínez, G & Ledesma, E. (2009). Aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de  $\mu$ -lactamasas de espectro extendido en un centro privado de Córdoba. *Revista chilena de infectología*, 26, 331-335.
- Pitout, J. & Laupland, K. (2008). Extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae: an emerging public health concern. *Lancet Infectious diseases*, 8, 159-166.
- Queenan, A. & Bush, K. (2007). Carbapenemases: The versatile  $\mu$ -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, 440-458.
- Rahme, L., Lee, S., Wong, R., Tompkins, S., Calderwood, F. & Ausubel, M. (1997). Use of model plant hosts to identify *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 13245-13250.
- Rehab, A., Nehal, H & Gamal, F. (2013). Prevalence of extended spectrum betalactamase, ampc betalactamase and metallo- $\mu$ -lactamase among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Advanced Biotechnology and Bioengineering*, 1, 22-29.
- Restrepo, A., Robledo, J., Leiderman, E. & Botero, D. (2003). *Enfermedades Infecciosas* (6ª ed.). Medellín, Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas.
- Rodríguez, M. J. M., Poirel, L. & Nordmann, P. (2009). Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 4783-4788.
- Rotstein, C., Evans, G., Born, A., Grossman, R., Light, R. B., Magder, S., ... Zhanel, G. (2008). Clinical practice guidelines for hospital - Acquired Pneumonia and ventilator associated

- pneumonia in adults. *Canada Journal of Infectious Disease and Medical Microbiology*, 19, 19-53.
- Saavedra, S., Duarte, C., González, M. & Realpe, M. (2014). Caracterización de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas de siete departamentos de Colombia. *Revista Biomédica*, 34, 217-223.
- Saeide, S., Alavi-Naini, R. & Shayan, S. (2014). Antimicrobial Susceptibility and Distribution of TEM and CTX-M genes among ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* causing urinary tract infections. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16, 1-5.
- Sánchez, A., Salso, S., Culebras, E. & Picazo, J. J. (2004). Resistencia a carbapenemes por metaloenzimas en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista española de quimioterapia*, 17, 336-340.
- Sanders, C. & Sanders, W. (June, 1979). Emergence of resistance to cefamandole: possible role of cefoxitin inducible betalactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 15, 792-797.
- Scheffer, M., Bazzo, M., Steindel, M., Darini, A., Clímaco, E. & Dalla, L. (2010). Intrahospital spread of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. *Revista da Sociedade de Brasileira de Medicina Tropical*, 43, 367-371.
- Soberón, G. (2003). *Pseudomonas aeruginosa*. En Martínez, E. & Martínez, J. C. (Eds.), *Microbios*. Recuperado de <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/index.html>
- Stuart, B. & Levy, M. (1998). Multidrug Resistance-A sing of the times. *New England Journal Medical*, 7, 1376-1377.
- Subcomisión de antimicrobianos de la sociedad argentina, bacteriología, micológica y parasitología clínica (2006). *Caracterización fenotípica de la resistencia a los -lactámicos en Pseudomonas aeruginosa y Acinetobacter sp.* Recuperado de <http://www.aam.org.ar/novedades/Consenso%20BNNF%20Anexo.pdf>.
- Thomson, K. (2010). Extended-spectrum betalactamase, amp, and carbapenemase issues. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, 1019-1025.
- Torres, A., Aznar, R., Gatell, J., Jiménez, P., Gonzáles, J., Ferrer, A., ... Rodríguez-Roisin, R. (1990). Incidence, risk, and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *The American Review of Respiratory Disease*, 142, 532-528.
- Tovar, J. (2008). *Suceptibilidad antimicrobiana y detección de genes de resistencia para la producción de betalactamasas, en cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas d muestras clínicas* (Tesis de licenciatura, Universidad de Oriente Núcleo de Sucre, Venezuela). Recuperado de <http://ri.bib.udo.edu.ve/handle/123456789/4035>

- Vahdani, M., Azimi, L., Asghari, B., Bazmi, F. & Rastegar, L. (2012). Phenotypic screening of extended spectrum  $\beta$ -lactamase and metallo  $\beta$ -lactamase in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 25, 78-81.
- Varaiya, A., Kulkarni, N., Kulkarni, M., Bhalekar, P., & Dogra, J. (2008). Incidence of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in ICU patients. *The Indian Journal Medical Research*, 4, 398-402.
- Vidal, F., Mensa, J., Almela, M., Olona, M. & Martínez, J. (2003). Bacteraemia in adults due to glucose non-fermentative gram negative bacilli other than *Pseudomonas aeruginosa*. *Oxford Journal of Medicine*, 96, 227-234.
- Vitkauskienė, A., Skrodenienė, E., Dambrauskienė, A., Bakšytė, G., Macas, A & Sakalauskas, R. (2011). Characteristics of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia in Intensive Care Units. *Medicina (Kaunas)*, 47, 652-656
- Wang, Ch., Cai, P., Chang, D. & Zuhuang, M. (2006). A *Pseudomonas aeruginosa* isolate producing the GES-5 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Journal Antimicrobial and Chemotherapy*, 57, 1261-1262.