



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA

**“PREVALENCIA DE CEPAS PRODUCTORAS DE METALOBETALACTAMASAS  
EN EL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA  
ESPECIALIDAD DE PEDIATRIA  
PRESENTA

*Dra. Alejandra Genel Espinoza*

HERMOSILLO, SONORA

JULIO 2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA

**“PREVALENCIA DE CEPAS PRODUCTORAS DE METALOBETALACTAMASAS  
EN EL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA”**

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE  
ESPECIALIDAD EN PEDIATRÍA

PRESENTA:

***Dra. Alejandra Genel Espinoza***

**Dra. Elba Vázquez Pizaña**

Jefe del Departamento de Enseñanza  
Investigación y Calidad HIES  
Profesor titular del Curso Universitario de  
Pediatria

**Dr. Luis Antonio González Ramos**

Director General HIES  
Profesor Adjunto del Curso Universitario  
de Pediatría

**Dr. Manuel Alberto Cano Rangel**

Profesor Adjunto al Curso  
Universitario de Pediatría  
Médico Adscrito al Servicio de Infectología  
Director de Tesis

**Dra. María de los Ángeles Durazo Arvizu**

Médico Adscrito al servicio de  
Infectología  
Asesor de Tesis

**Dr. Roberto Dorame Castillo**

Jefe del Servicio de  
Infectología  
Asesor de Tesis

HERMOSILLO, SONORA

JULIO 2015

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres Oscar G. Genel Castillo e Ymelda G. Espinoza Meneses, por haberme dado la oportunidad gracias a sus grandes esfuerzos de cumplir una más de mis metas, porque junto con mis hermanas Daniela y Fernanda y mis cuatro abuelos, pude sentir su confianza, su fe, y sobre todo su amor y apoyo incondicional durante este proceso, motivación para el diario.

A mis maestros por su enseñanza, paciencia, tiempo, modestia, sensibilidad compromiso y devoción, brindándome estas características para con ello poder asegurar una profesionista humana con ética médica, valores y principios que serán implementados día a día en mi práctica clínica.

A mi hospital que fungió como mi segundo hogar, mi biblioteca, mi área de práctica, siendo sus pacientes mis mejores aulas. Lugar donde conocí a personas increíbles, y que gracias a él se convirtió en una etapa inolvidable sin duda alguna, hasta el momento la mejor de mi vida.

A todas aquellas personas que siempre me han apoyado y han creído en mí y en mi capacidad para continuar con mis estudios, gracias.

## INDICE

<b>1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Resumen .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Planteamiento del Problema .....</b>	<b>4</b>
<b>4. Pregunta de Investigación .....</b>	<b>5</b>
<b>5. Antecedentes .....</b>	<b>6</b>
<b>6. Objetivos del Estudio .....</b>	<b>24</b>
<b>7. Hipótesis .....</b>	<b>25</b>
<b>8. Justificación .....</b>	<b>26</b>
<b>9. Material y Métodos .....</b>	<b>27</b>
<b>10. Resultados .....</b>	<b>31</b>
<b>11. Discusión .....</b>	<b>33</b>
<b>12. Conclusiones .....</b>	<b>34</b>
<b>13. Bibliografía .....</b>	<b>35-37</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

La aparición y desarrollo de las betalactamasas comenzó desde el descubrimiento y utilización de los betalactámicos; primero las penicilinas en la década de 1940 y posteriormente las cefalosporinas en 1960. Estas enzimas inactivadoras de betalactámicos fueron ampliando su espectro; penicilinasas, cefalospirinasas, betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y más recientemente las carbapenemasas. Son estas últimas el interés de nuestra revisión, ya que son enzimas capaces de hidrolizar los carbapenémicos (Imipenem, Meropenem, Ertapenem, Doripenem) prácticamente el último escalón de tratamiento frente a bacilos gram negativos multirresistentes. Los primeros reportes de carbapenemasas en la década de 1980 y su posterior diseminación por todo el planeta, en un momento en que no se prevé la aparición de ningún nuevo antimicrobiano frente a microorganismos gramnegativos en los próximos diez años, preocupa al mundo científico.

Las metalobetalactamasas (MBL) constituyen las carbapenemasas adquiridas de mayor relevancia clínica ya que tienen capacidad de hidrolizar a todos los antibióticos betalactámicos, excepto el aztreonam y no ser inhibidas por los inhibidores de betalactamasas.

Tanto las metaloenzimas como las serinoenzimas son detectadas fundamentalmente en enterobacterias y bacilos no fermentadores, creando una complejidad terapéutica, ya que aún no se ha determinado la antibioticoterapia de elección frente a dichas cepas, las cuales generan multirresistencia frente a

piperacilina/tazobactam, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Una preocupación actual es que los genes que codifican estas enzimas se encuentran incluidos en plásmidos conjugativos que les confieren a las bacterias un gran potencial de diseminación a otros patógenos nosocomiales. El uso excesivo de los carbapenémicos es un factor promotor de la aparición de las MBL, por tanto, el uso adecuado de los mismos sería una medida apropiada para preservar esta potente familia de antibióticos.

El *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) estableció guías para la identificación de gérmenes productores de betalactamasas de amplio espectro y de MBL; las mismas requieren pruebas de confirmación con cefotaxima y ceftazidima en forma aislada o en combinación con ácido clavulánico, así como con Imipenem y Meropenem en forma aislada o en combinación con discos de EDTA.

Existen varios procedimientos fenotípicos para el reconocimiento de bacterias productoras de MBL, todos se basan en la capacidad de quelantes o de compuestos tiol de inhibir la actividad de MBL. Además, se dispone de métodos genéticos basados en reacción en cadena de polimerasa (PCR).

En el presente estudio se determinará la prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas en pacientes del Hospital Infantil del Estado de Sonora de Diciembre del 2014 a Mayo del 2015.

## 2. RESUMEN

**INTRODUCCION.** Metalobetalactamasas constituyen carbapenemasas adquiridas de mayor relevancia clínica, tienen capacidad de hidrolizar a antibióticos betalactámicos, excepto Aztreonam.

**OBJETIVO GENERAL.** Detectar prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas en pacientes hospitalizado durante Diciembre de 2014 a Mayo del 2015 en el Hospital Infantil del Estado de Sonora.

**MATERIALES Y METODOS.** Estudio descriptivo, transversal. Tipo de muestreo, estratificado; nivel de confianza 95%, margen de error 5%, distribución de respuesta 30%. Análisis mediante detección fenotípica del cultivo, observándose positividad y estimándose la prevalencia.

**RESULTADOS.** 64 cultivos fueron incluidos, encontrándose una prevalencia del 39.06%, siendo la unidad de cuidados intensivos pediátricos el área de mayor porcentaje 52% y la cepa aislada de mayor prevalencia pseudomonas aeruginosa 92% y el aspirado bronquial con un 44%.

**CONCLUSION.** La prevalencia está creciendo a nivel mundial, en esta unidad fue del 39.06%, siendo compatible con lo reportado a nivel mundial.

Palabras Clave: *Metalobetalactamasas, Aztreonam, EDTA, prevalencia, p. aeruginosa*

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Hoy por hoy las infecciones nosocomiales ocurren en todo el mundo y afectan a los países desarrollados y a los carentes de recursos. Las infecciones contraídas en los establecimientos de atención de salud están entre las principales causas de defunción y de aumento de la morbilidad en pacientes hospitalizados.

Se conoce en la actualidad que el desarrollo de resistencia bacteriana a antibióticos ha ido en incremento lo que conlleva a la aparición de infecciones que son más difíciles de manejar.

Los antibióticos carbapenémicos han sido tratamiento de elección en los pacientes críticos en cuanto a infecciones, sin embargo la aparición de brotes nosocomiales multirresistentes ha generado interés en conocer el fenotipo de resistencia específicamente para carbapenemasas tipo MBL aislado en pacientes.

Se desconoce la prevalencia a nivel nacional así como en nuestra institución por lo que la presente investigación informara acerca de la prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas.

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACION**

¿Cuál es la prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas en el Hospital Infantil del Estado de Sonora?

## 5. ANTECEDENTES

En el 2009 Rodriguez et al, en su estudio realizado en Santander España, durante dos años de estudio, aisló en el laboratorio 163 aislados clínicos de cepas positivas a *P. aeruginosa* no sensibles a IMP o a MPM (CIM para IMP o para MPM superior o igual a 8 mg/l). En 9 de los aislados con CIM de IMP de 32 a 128mg/ml y de MPM de 16 a 64mg/ml, se ha detectado la presencia de una MBL mediante el método fenotípico de microdilución en caldo. Los aislados fueron también resistentes a cefepima y a ceftazidima, y todos éstos menos uno, son sensibles a aztreonam.<sup>1</sup>

En Colombia, Fernandez Colón en el 2009 realizó un estudio donde se analizaron un total de 34 aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* con el fin de determinar la presencia de carbapenemasas y su relación con estructuras genéticas. A todos se les realizó antibiograma mediante la técnica disco-placa para analizar la resistencia a los grupos de antibióticos testados observándose el alto porcentaje de resistencia en la mayoría de aislamientos y destacando que 4 aislamientos eran multirresistentes. Para la detección de metalobetalactamasas se realizaron los test de Hodge con sulfato de zinc y DDST; resultando negativo para este tipo de carbapenemasas.<sup>2</sup>

Berrazeg en el 2013 realizó una revisión en PubMed comprendiendo desde 2009 hasta 2012 en donde se obtienen datos de la bacteria gram negativa carbapenem resistente denominada como New Delhi Metalobetalactamasa 1 (NDM-1) con el propósito de realizar una alerta global respecto a éste problema de salud mundial. Se revisaron 33 ensayos y 136 reportes de casos describiendo 950 aislados

de bacterias productoras de NDM-1. Se reportó en su mayoría *Klebsiella pneumoniae* (n=359) y *Escherichia coli* (n=268). Algunos casos fueron de pacientes que habían viajado recientemente a India y Balkan. Utilizando Google Maps se trazó la ruta de propagación de ésta bacteria para así utilizar ésta información y prever los sitios de propagación de ésta bacteria. <sup>3</sup>

Cortés Rosa y Col. en el 2014, realizaron un estudio en el cual determinaron la presencia de carbapenemasas tipo metalobetalactamasas como mecanismo de resistencia, en aislamientos de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem y/o meropenem recogidos durante 6 meses en las áreas de UCI del Hospital Roosevelt. Se analizaron total de 140 cepas en donde determinó 3 cepas resistentes solo a imipenem, 4 solo a meropenem y 133 a ambos. La presencia de carbapenemasa fue determinada en un 99% de los aislamientos. La presencia del mecanismo de resistencia MBL fue determinado en 127 aislamientos teniendo una frecuencia del 91.4%. <sup>4</sup>

Lavilla y col en el 2005, analizaron durante el 2013 la resistencia a carbapenem en enterobacterias en heces y otras muestras clínicas. Todas las muestras de heces fueron cultivadas e inoculadas en MacConkey agar suplementado con 2 mg/L de imipenem. De las 1043 muestras analizadas se obtuvieron dos clases de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* de dos pacientes los cuales al realizarse resiembra utilizando discos se mostró resistencia a MBL. MIC a imipenem fue 4-6 mg/dL y 0.75 mg/L a *K. Pneumoniae* y *E. Coli* respectivamente. <sup>5</sup>

## **5. 1 MARCO TEÓRICO**

### **Tipos de resistencia bacteriana**

La resistencia antibiótica puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. Por ejemplo, todos los gérmenes gramnegativos son resistentes a la vancomicina, y esta situación no es variable. La resistencia adquirida es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana. Así, existen cepas de neumococo que han adquirido resistencia a la penicilina, cepas de *Escherichia coli* resistentes a la ampicilina, cepas de estafilococos resistentes a la meticilina. Esta resistencia adquirida es la que estudiamos en el laboratorio e informamos al clínico. La resistencia adquirida es la que puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre el germen que produce la infección.

### **Genética de la resistencia bacteriana:**

Las bacterias son capaces de adquirir resistencia en función de su variabilidad genética. Nuevos mecanismos de resistencia pueden ser adquiridos mediante mutación o mediante transferencia de material genético entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extracromosómico (plásmidos).

### **Sistematización**

La gran mayoría de los mecanismos de resistencia pueden agruparse en tres categorías.

- Inactivación enzimática: el principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las betalactamasas y los betalactámicos, pero también pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos.
  
- Modificaciones en el sitio blanco: existen diversas estrategias para alcanzar este objetivo. Destacaremos algunas como ser: modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, como por ejemplo las alteraciones en las PBP de *Streptococcus pneumoniae* que confiere resistencia a penicilina e incluso a ceftriaxona; la adquisición de genes que codifiquen para sustitutos de los blancos originales, como PBP2' en *Staphylococcus* spp. meticilinoresistentes o la dihidrofolato reductasa alternativa en las cepas resistentes a trimetoprim.
  
- Alteraciones de la permeabilidad: se pueden incluir aquí tres tipos.
  1. Alteraciones de las membranas bacterianas: se ve fundamentalmente en gramnegativos, donde la membrana externa de la envoltura celular rica en lípidos es impermeable a las sustancias hidrofílicas. De este modo dichas sustancias quedan confinadas a la penetración a través de proteínas transmembrana con función de porinas. Existen algunas moléculas de antibiótico, como penicilina y vancomicina, que por su tamaño son incapaces de pasar a través de las porinas de bacilos gramnegativos. La disminución de la expresión de dichas

porinas puede disminuir el flujo de llegada del antibiótico al espacio periplásmico. Se considera que en este caso los niveles de resistencia alcanzados no suelen ser suficientes como para conferir resistencia absoluta a un antibiótico. La ocurrencia simultánea de este mecanismo unido a otro, por ejemplo, hidrólisis enzimática (aún en niveles discretos), sí puede conferir altos niveles de resistencia y ocasionar fallos terapéuticos.

2. Alteraciones en la entrada de antibióticos dependiente de energía, como ocurre en la primera etapa de ingreso de los aminoglucósidos.
3. Aumento de la salida de antibióticos: la resistencia por eflujo es un mecanismo inespecífico, que afecta a diferentes grupos de antibióticos como betalactámicos, quinolonas, tetraciclinas y cloranfenicol. En gramnegativos estos sistemas en general se encuentran constituidos por tres proteínas: una de alto peso molecular asociada a la membrana citoplasmática, una con función de fusión de ambas membranas y una porina asociada a la membrana externa. Dentro de los múltiples sistemas de eflujo, los más conocidos son Mex AB-Opr M, Mex CD-Opr J y Mex EF-OprN. Siendo Mex A, Mex C y Mex E proteínas homólogas de aproximadamente 110 kD asociadas a la membrana citoplasmática; Mex B, Mex D y Mex F proteínas de aproximadamente 40 kD, responsables de la fusión de ambas

membranas y por último Opr M, J y N porinas de membrana externa de aproximadamente 50 kD. Estos sistemas así constituídos exportan moléculas desde el citoplasma hacia fuera de la membrana externa. En grampositivos se trata de una proteína transmembrana con función ATPasa que actúa como bomba de eflujo. <sup>6</sup>

### **Mecanismos de resistencia de betalactámicos**

Los tres grandes mecanismos ya descritos pueden ponerse en juego; trastornos en la permeabilidad, alteración del sitio blanco de acción e hidrólisis enzimática.

Los trastornos de permeabilidad se corresponden fundamentalmente con la disminución de la expresión de porinas. Como ya se ha dicho, no es un mecanismo que por sí mismo promueva altos niveles de resistencia, pero puede ser muy importante en conjunción con distintos tipos de betalactamasas.

Modificación del sitio blanco de acción: como ya fue dicho, el sitio blanco de los betalactámicos son las diferentes PBP. La información genética de estas proteínas se encuentra codificada en el genoma bacteriano y no en plásmidos. Sin embargo, elementos que regulan la expresión de esos genes sí puede ser codificada en un plásmido. Pueden distinguirse distintas alternativas para que se produzca una PBP que presente menor afinidad por los antibióticos. La expresión de un gen alternativo,

que codifique una PBP básicamente distinta a la existente, es el caso de *S. aureus* meticilinoresistente, donde la expresión del gen *mecA* resulta en una PBP alterada, PBP2a, que es menos afín a la totalidad de los betalactámicos. Con esto se quiere decir que la expresión del gen *mecA* genera la resistencia a la totalidad de los betalactámicos, independientemente de los resultados in vitro. Este sería el típico caso donde la regulación es mediada por plásmidos.

Formación de genes mosaico, por incorporación de fragmentos de material genético de otro microorganismo: este proceso generado por transformación y recombinación homóloga, genera genes en parches, cuya secuencia queda constituida en parte por la información preexistente, y en parte por la recientemente adquirida. Ejemplos de esto son algunas de las PBP de *S. pneumoniae* resistente a penicilina y las PBP modificadas de *Neisseria gonorrhoeae*, donde se han detectado fragmentos con secuencias de alta homología con las PBP de *N. lactamica*.

Hidrólisis enzimática: este mecanismo implica la inactivación de los betalactámicos como consecuencia de la acción de enzimas que reciben el nombre de betalactamasas, y es el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos. Estas enzimas son un claro ejemplo de la plasticidad de la genética bacteriana. Probablemente originadas de un reducido grupo de enzimas cromosómicas, constituyen hoy una familia de proteínas de gran disimilitud, que ha requerido numerosas clasificaciones con el intento de poderlas agrupar. Las evidencias disponibles tienden a asignarle en un comienzo, alguna función particular en la síntesis de pared, sobre todo en bacterias gram negativas. Estas hipótesis surgen de experimentos realizados en *Salmonella*, la cual no codifica en su cromosoma

betalactamasas de clase C. Cuando se introduce en una *Salmonella* un plásmido que codifica una betalactamasa de clase C (típicamente cromosómica), se observan en el microorganismo alteraciones morfológicas, retardo en la velocidad de crecimiento y disminución de su virulencia. Estas enzimas destruyen por hidrólisis, penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes. La mayoría de estas enzimas actúan a través de la formación de un complejo acilpenicilina (merced a la presencia de una serina en la posición 70) que se hidroliza rápidamente, regenerando la enzima. Estas enzimas forman parte de un amplio grupo de proteínas denominadas serinproteasas. <sup>7</sup>

### **Clasificación de las betalactamasas**

Basándose en datos de secuencia parcial del ADN de las betalactamasas, Ambler en 1980 propone clasificarlas en cuatro clases: A, B, C y D. Las enzimas de clase A, cuyo prototipo es la enzima TEM-1, (actualmente presente en más del 50% de los aislamientos de enterobacterias en general), están codificadas en plásmidos y su peso molecular oscila entre 25 y 30 kD, al igual que las de clase B y D.

Las enzimas de clase C, están generalmente codificadas en el cromosoma bacteriano y son típicamente inducibles por betalactámicos. Se trata de proteínas que presentan unos 100 aminoácidos más que la de los otros grupos, por lo que su peso molecular suele rondar los 40 kD o más. En algunas especies, la región reguladora del gen ha desaparecido, y en consecuencia la enzima se expresa constitutivamente.

Las enzimas de clase B requieren zinc para su actividad y son consideradas por ello me- talo betalactamasas. En general son plasmídicas, inhibibles por EDTA, incluyéndose aquí las enzimas que confieren resistencia a los carbapenemes.

Las enzimas de clase D constituyen un grupo reducido de enzimas plasmídicas, con actividad incrementada sobre oxacilina (OXA-1), inhibibles por iones cloruros y de forma variable por inhibidores del tipo ácido clavulánico o sulbactam. Estas enzimas, al igual que lo observado en las enzimas de clase A, han ampliado su espectro de acción mediado por mutaciones puntuales a partir de enzimas con actividad reducida a penicilinas como es el caso de las OXA derivadas. En 1995 Bush, Jacob y Medeiros proponen una clasificación funcional para las betalactamasas. Esta se basa en el peso molecular de la enzima, su punto isoeléctrico (pI), el perfil de sustrato y la propiedad de ser inhibidas por la presencia de ácido clavulánico o EDTA. En base a este esquema surgen cuatro grupos funcionales que se correlacionan bien con la clasificación de Ambler, denominándose: 1, 2, 3 y 4.

Las del grupo 1 corresponden a enzimas con acción cefalosporinasa, no inhibibles ni por ácido clavulánico ni por EDTA, y que se correlacionan con las enzimas cromosómicas de bacilos gramnegativos de tipo AmpC.

Las del grupo 2 están constituídas por penicilinasas y cefalosporinasas inhibibles por ácido clavulánico, y coinciden mayoritariamente con el tipo A de Ambler.

Las del grupo 3 son inhibibles por EDTA pero no por ácido clavulánico, se corresponden con las metaloenzimas de tipo B.

Por último, un grupo poco importante no descrito por Ambler, las del grupo 4, que incluye penicilinasas no inhibibles por ácido clavulánico encontradas en *Pseudomonas cepacia*.

Las betalactamasas son proteínas globulares que presentan una masa 100 veces superior a su sustrato. En este contexto, una vez que el antibiótico ingresa al sitio activo, son muchas las interacciones químicas que se producen entre ambas moléculas. Así, en las serin betalactamasas, el oxígeno con carga negativa del grupo carbonilo de los betalactámicos es atacado por los grupos amino (de carga positiva) de la serina 70 y una alanina que se encuentra próxima. Se forma así mediante un enlace covalente irreversible, un complejo acilpenicilina (acilación). Estas interacciones generan un efecto de “tensión” sobre el grupo carbonilo, que facilita romper el grupo amida del anillo betalactámico. La íntima proximidad que se genera entre el grupo hidroxilo de la serina 70 y el grupo amida del anillo culmina la acción, generando la hidrólisis del betalactámico. La presencia de una molécula de agua en el sitio activo de estas enzimas produce la liberación del antibiótico (deacilación), devolviendo la actividad enzimática.<sup>8</sup>

### **Metalobetalactamasas (De Clase B)**

Se trata de una familia de enzimas de gran diversidad genética, con porcentajes de identidad de secuencia de entre el 20% y 40%. Sin embargo, se encuentra un motivo conservado dado por cuatro residuos de histidina (H), una asparagina (D) y una cisteína (C), que se ubican según una secuencia consenso HXHXD(X)<sub>55-74</sub>H(X)<sub>18-24</sub>C(X)<sub>37-41</sub>H, lo cual se corresponde a los ligandos con dos átomos de Zinc  $Zn^{++}$ . El mecanismo de acción de estas enzimas difiere de las serin proteasas, ya que en este caso no se producen uniones covalentes entre la enzima y el sustrato. Aquí cada átomo de  $Zn^{++}$  actúa polarizando distintas estructuras del anillo betalactámico. Así el  $Zn^{++}(1)$  actúa polarizando el grupo carbonil de dicho anillo,

produciendo un hueco oxianiónico que favorece la hidrólisis. El  $Zn^{++(2)}$  queda dispuesto próximo al N del anillo, lo que sugiere que interactuaría con el grupo amida de modo de estabilizar el sustrato durante el ataque nucleofílico y favorecer luego el recambio de sustrato de la enzima.

Desde el punto de vista médico, existen dos aspectos importantes para clasificar las betalactamasas; ellos son la ubicación de los genes (cromosómicos o plasmídicos) y el espectro de acción. En base a esta información se pueden realizar ciertas generalizaciones.

Al referirnos a betalactamasas plasmídicas nos referiremos fundamentalmente a las de clase A, que son las serin enzimas que clásicamente se encuentran en plásmidos, mientras que las cromosómicas serán las de clase C. De todas maneras, debe saberse que desde hace unos años atrás no es infrecuente la detección de betalactamasas de clase C en plásmidos.<sup>9</sup>

#### **Breve cronología de las metalobetalactamasas:**

- La primera de estas enzimas fue identificada en 1966 por Kuwbara y Abraham en aislamientos de *Bacillus cereus*. Esta enzima cromosómica expresaba actividad cefalosporinasa pero era inhibida por EDTA.
- En la década de los 80' y 90' se describieron nuevas MβL en *Bacteroides fragilis*, *Aeromonas spp*, *Chryseobacterium spp* y *S. maltophilia*. Afortunadamente a excepción de *S. maltophilia* dichos microorganismos no son frecuentemente asociados con infecciones hospitalarias, son en general autógenos o oportunistas y los genes codificantes de las MβL se encuentran en

genes cromosómicos que no son fácilmente transmisibles.

- Las primeras resistencias transferibles a imipenem fueron detectadas en Japón, inicialmente en un aislamiento de *P. aeruginosa* en 1991 y luego en un aislamiento de *Serratia marcescens* en 1994. Denominadas IMP (por “Imi enemasas o ac i a sobre imi enem”). Hasta la realización de esta revisión han sido identificadas 38 variantes de IMP designadas IMP-1 a IMP- 38; estas variantes alélicas descritas pueden ser divergentes hasta en 22% de su estructura primaria.
- En 1997, en un aislamiento de *P. aeruginosa* en Italia se detectó la presencia de un integron que codifica la MβL localizada en un integrón. El clon génico fue denominado VIM-1 o “Verona integrón-codified metallo-β-lactamase”.
- Posteriormente, en Francia fue identificada la enzima VIM-2 también asociada a un integrón. Existen distintas variantes alélicas de VIM descritas y pueden ser diferentes entre sí hasta en 27% a nivel de su estructura primaria. Estas enzimas comprenden treinta y cuatro tipos designados VIM-1 a VIM-34.
- En 2002 se reporta el primer gen originario de Sudamérica como parte del estudio SENTRY, el mismo fue detectado en Brasil en un aislamiento de *P. aeruginosa* y el clon génico se llama a SPM (o “Sao Paulo metallo-β-lactamase”), el gen *bla<sub>SPM</sub>* integrones y representa una nueva subfamilia que hidroliza preferentemente cefalosporinas. Al parecer, es exclusivo de *P. aeruginosa* ya que no ha sido detectado en otro microorganismo. La mayoría de infecciones por *P. aeruginosa* productoras de SPM- 1 son causadas por un único clon, ocasionando múltiples brotes intrahospitalarios.

- GIM-1 ( or “German imi enemase”), fue aislada en Alemania en 2002, en un aislamiento de *P. aeruginosa*. Posteriormente fue descrita en Korea, en 2005, la enzima SIM-1 ( or “Seo I imi enemase”), en un aislamiento de *A. baumannii*.
- En 2007 se publica en la MBL, IM ( or “Sralia me allo-β-lactamase), aislada a partir de una *P. aeruginosa*.
- En 2008 en Japón, se detecta la enzima KHM-1 ( or “Kyorin Hachioji me allo-β-lactamase”) en un aislamiento de *Citrobacter freundii*.
- En la India a inicios de 2009, se detectó NDM-1 ( or “N e a Deli me allo-β-lactamase), en un aislamiento de *Klebsiella pneumoniae*.
- En Holanda, también en 2009, se detectó la enzima DIM-1 ( or “D ch imi enemase”), en un aislamiento de *Pseudomonas stutzeri*.
- Finalmente, en 2009, se descubrió en Libia la enzima TMB ( or “Tri oli me alo-b-lactamasa”).<sup>10</sup>

### **Genética de las Metalobetalactamasas Adquiridas**

La eficiencia con la cual la resistencia a los antimicrobianos se disemina entre las bacterias de la misma especie y/o entre especies y géneros distintos está relacionada a dos mecanismos de transferencia de genes de resistencia, uno vertical y el otro horizontal. En el primer caso, la transmisión acontece entre células madres para con células hijas, como resultado de la división celular. La transferencia horizontal a su vez, requiere otros elementos génicos, tales como bacteriófagos, plásmidos y transposones.<sup>11</sup>

Los plásmidos constituyen moléculas extracromosomales de ADN de doble cadena que presentan capacidad autónoma de replicación y pueden ser encontrados en prácticamente todos los tipos de bacterias. Estos elementos desempeñan papeles fundamentales para la adaptación y evolución bacteriana. En síntesis, durante este evento una bacteria donadora proyecta un pili que conecta a una bacteria receptora, luego el plásmido a ser transferido es replicado y transferido por el canal formado entre las dos bacterias. Algunos plásmidos son incapaces de iniciar la conjugación, pero pueden ser transmitidos a otras bacterias si se asocian a plásmidos conjugativos.<sup>11,12,13</sup>

## **Integrones**

Los integrones fueron descritos por primera vez en 1980, aunque fueron definidos posteriormente por Hall y Collis como elementos que contienen determinantes genéticos del sistema de recombinación lugar-específico, el cual reconoce y captura *cassetes* génicos móviles. El origen de estas estructuras es confuso y aunque existen varias hipótesis, los investigadores no han llegado todavía a un acuerdo.

Los integrones son unidades genéticas capaces de capturar y movilizar genes denominados *cassetes* génicos, sin embargo, no presentan autonomía de movimiento, y se encuentran frecuentemente como parte de transposones, que pueden localizarse tanto en el cromosoma como en plásmidos conjugativos que les sirven como vehículos para su transmisión intra e interespecífica. Estas estructuras son responsables de la diseminación horizontal de la resistencia bacteriana porque

acumulan determinantes de resistencia a diversas clases de antimicrobianos.<sup>12</sup>

Existen diversas clases de integrones según la secuencia de la integrasa (*int*), aunque los más implicados en la diseminación de la resistencia a los antibióticos y por ende los más estudiados, son los de clase 1, 2 y 3; sin embargo este sistema de clases se ha ido dejando de lado, debido a la gran divergencia de integrasas descritas en los más diversos microorganismos, lo que ha llevado a una clasificación práctica basada en una variedad de criterios en dos grandes grupos: I- el de los llamados integrones de resistencia a antibióticos (a veces denominados “integrones móviles”), y II- el de los integrones presentes en el cromosoma bacteriano (también referidos como “serin integrones”) sólo es únicamente asociados a determinantes de resistencia.<sup>13</sup>

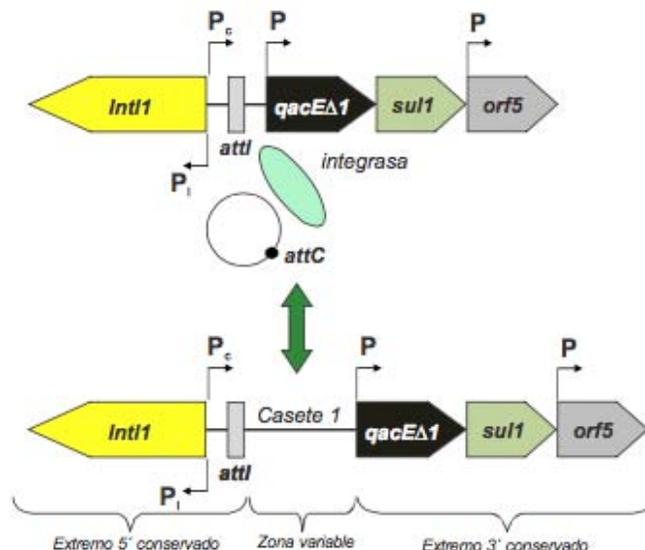
Los integrones poseen dos segmentos conservados, el 5'-CS (5' *conserved segment*) y el 3'-CS (3' *conserved segment*), separados por una región variable que incluye los cassettes génicos, los cuales son pautas de lectura abiertas que codifican diversas funciones.<sup>5</sup>

La región 5'-CS codifica el gen de la integrasa (*int*) y además presenta tres promotores: P, que permite la expresión de esta enzima; P1 (también llamado P<sub>ANT</sub>) que permite la expresión de los *cassettes* génicos insertados que normalmente carecen de promotor y P2, que frecuentemente es inactivo. A continuación del gen de la integrasa encontramos una secuencia de reconocimiento de la integrasa para la integración de los cassettes denominada *attI* (*attachment site*). El *attI* 1 requiere presentar como mínimo 40pb y como máximo 70pb para ser totalmente activo y posee

una región conservada de siete pares de bases en el lugar de la recombinación, la cual tiene la secuencia GTTRRRY, donde R puede ser cualquier purina e Y cualquier pirimidina, aunque las bases que se encuentran con más frecuencia son GTTAGGC. Esta secuencia la comparte con una región llamada *core* situada en el *attC* de los *cassettes* génicos.<sup>12,13</sup>

El extremo 3'-CS, en los integrones de las clases I, presenta tres pautas de lectura abiertas. La primera, *qacE1*, es un derivado truncado del gen *qacE* que confiere resistencia a amonios cuaternarios. La segunda pauta de lectura corresponde al gen *sul1* que confiere resistencia a las sulfonamidas. La tercera pauta, *orf5*, no codifica ninguna función conocida hasta el momento.

FIGURA 1. Esquema de la estructura básica de un integrón y de la adquisición de *cassettes* genéticos de resistencia.<sup>14</sup>



## Detección

En la actualidad, no existe estandarización sobre las técnicas más eficaces de detección y caracterización preliminar de carbapenemasas potencialmente presentes en las diferentes especies, siendo la detección de la presencia de los genes codificantes el método confirmatorio.

Las MBL catalizan la ruptura del anillo  $\beta$ -lactámico usando uno o dos cationes divalentes ( $Zn^{2+}$ ), por lo que su actividad se inhibe en presencia de agentes quelantes de iones, como el Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), Ácido Mercaptopropionico, Mercaptoetanol o Mercapto Acetato de sodio. La aproximación del disco conteniendo un agente quelante a un disco conteniendo un carbapenem podría resultar una herramienta útil para la detección de MBL. El efecto sinérgico entre los carbapenemes [imipenem (IPM) y/o meropenem (MEN)] y el agente quelante sería indicativo de la presencia de MBL. <sup>15</sup>

Dado que las MBL son capaces de hidrolizar todos los antibióticos betalactámicos excepto monobactams (Aztreonam), la sensibilidad a este antimicrobiano podría ser un buen predictor de la presencia de estas enzimas en microorganismos resistentes a todos los betalactámicos, incluyendo IPM y MEN. Por el contrario, la resistencia a Aztreonam (AZT) en microorganismos resistentes a carbapenemes no descarta la presencia de MBL.

Basados en la característica del EDTA de quelar los metales, se ha desarrollado la prueba de Etest, la cual adiciona imipenem a uno de los extremos y en el otro extremo imipenem mas EDTA. Esta metodología es simple y practica; y puede

ser utilizada en la búsqueda de aislamientos productores de MBL. Por esta metodología se considera la prueba positiva a la producción de MBL a aquella que presente una concentración mínima inhibitoria (CIM) de imipenem asociado a EDTA tres diluciones menores al de imipenem solo.<sup>16</sup>

El único método que confirma la presencia de estas enzimas es la detección del gen codificante de la enzima. Para ello se puede emplear la amplificación del gen codificante por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).<sup>17</sup>

Un ensayo de detección por PCR fue publicado en 1996 la detección de bacterias gram-negativas productoras IMP-1, y de un sistema para la detección de integrones asociados a MBL fue descrito en 2003. Además de la PCR convencional se podría utilizar PCR Multiplex, que identifica las cinco familias de MBL adquiridas de importancia médica: IMP, VIM, SPM, GIM y SIM.<sup>17</sup>

## **6. OBJETIVO GENERAL**

Detectar la prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas en pacientes hospitalizado durante el periodo de Diciembre de 2014 a Mayo del 2015 en el Hospital Infantil del Estado de Sonora (HIES).

## **7. HIPÓTESIS**

Existe una prevalencia mayor al 30% de cepas productoras de metalobetalactamasas en el Hospital Infantil del Estado de Sonora.

## 8. JUSTIFICACIÓN

Ante la diseminación de microorganismos con mecanismos de resistencia tipo productor de metalobetalactamasas tanto en distintas especies bacterianas como a nivel geográfico, la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud denota la importancia de reforzar vigilancia y establecer estrategias de control para prevenir la diseminación de este mecanismo de resistencia, causante de brotes y relacionado con un incremento en la morbilidad y la mortalidad nosocomiales.

La primera línea de contención de estos patógenos multirresistentes son los laboratorios, con la adecuada detección de este mecanismo, investigación de la prevalencia e información, con el fin de obtener resultados tempranos para una atención adecuada.

Se conoce en la actualidad poco con respecto cepas productoras de metalobetalactamasas y estrategias de tratamiento a las mismas, es por esto la importancia de realizar estudios en búsqueda de éstas para así poder tratar con efectividad este tipo de infecciones nosocomiales.

En el Hospital Infantil del Estado de Sonora, no se cuenta con un estudio que nos demuestre la prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas, por tal motivo es la relevancia de esta investigación.

## **9. MATERIAL Y METODOS**

### **9.1 TIPO DE ESTUDIO**

Descriptivo, transversal

### **9.2 UNIVERSO DE ESTUDIO**

Todos aquellos cultivos (hemocultivo central y periférico, urocultivo, cultivo de líquido cefalorraquídeo, secreción bronquial y de catéter) encontrados en la base de datos del laboratorio de bacteriología encontrado en el Hospital Infantil del Estado de Sonora, con resultado positivo a acinetobacter spp, pseudomonas spp, klebsiella spp, e.coli, y cepas productoras de betalactamasas en el periodo de Diciembre 2014 a Mayo 2015, posteriormente se realizó el análisis de la bacteria productora de metalobetalactamasas mediante el método de difusión con discos de EDTA, observando su evolución.

### **9.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE POBLACIÓN**

#### **9.3.1 Criterios de inclusión**

- Pacientes hospitalizados en el HIES en el periodo de Diciembre 2014 a Mayo 2015 de edad de recién nacido hasta 18 años con hemocultivo central o

periférico, urocultivo, cultivo de líquido cefalorraquídeo, cultivo de secreción bronquial o cultivo de catéter positivo a MBL.

## **9.4 MUESTRA**

### **9.4.1 Tamaño de la muestra**

Para el presente estudio resultaron 65 cultivos positivos a acinetobacter spp, pseudomonas spp, klebsiella spp, e.coli, y cepas productoras de betalactamasas, de los cuales se excluyó uno por no pertenecer al Hospital Infantil del Estado de Sonora, ya que este laboratorio también procesa muestras del Hospital Integral de la Mujer del Estado de Sonora; teniendo como total 64 cultivos positivos.

### **9.4.2 Tipo de muestreo**

Estratificado, ya que se manejó por tipo de cultivo y presencia o no de cepa productora de MBL; nivel de confianza 95%, margen de error 5%, distribución de la respuesta 30%.

### **9.4.3 Técnica de muestreo**

La técnica de muestro utilizada ha sido la de muestreo a conveniencia

## **9.5 VARIABLE DE ESTUDIO**

### **Categóricas.**

Independiente: Prevalencia de cepas productoras de MBL

Dependiente: Servicio, Bacteria, tipo de cultivo.

## **9.6 RECOLECCIÓN DE DATOS**

La información fue recolectada de los informes de los resultados de los diferentes especímenes positivos que cumplían los criterios de inclusión planteados, fueron ingresados en una base de datos, para lo cual se utilizó Microsoft Excel XP 2014.

## **9.7 MICROBIOLOGIA**

Las muestras fueron inoculadas y procesadas en un sistema automatico VITEK 2- compact. Para la identificación y los test de susceptibilidad se utilizaron medios convencionales. Se realizó una suspensión de la bacteria ajustando la turbidez al estándar 0.5 de McFarland. Inoculándose sobre una placa de agar Mueller-Hinton, se colocan dos discos de imipenem y meropenem de 10mcg cada uno y adicionan 10.0mcl de EDTA 0.1M sobre uno de los discos de imipenem y de meropenem. Con

un periodo de incubación de 16-20hrs. Interpretándose como positivo a la presencia de una zona sinérgica de inhibición o agrandamiento de diámetro en el halo de inhibición del disco del antibiótico hacia el disco con EDTA es considerado cepa productora de MBL.

## **9.9 CONSIDERACIONES ETICAS**

Se utilizó una carta invitación donde se dio a conocer el procedimiento y el objetivo del estudio, dando a conocer que la participación a la investigación es voluntaria y que la información obtenida se utilizara con confidencialidad en el análisis, difusión y publicación de los hallazgos.

El estudio realizado cumple con las normas éticas del reglamento de la ley general de salud en materia de investigación y con la declaración de Helsinki de 1975 enmendado en 1987 y código y normas internacionales vigentes de las buenas prácticas de investigación clínica.

## **CONFLICTO DE INTERES**

No hubo conflicto de interés en este estudio.

## 10. RESULTADOS

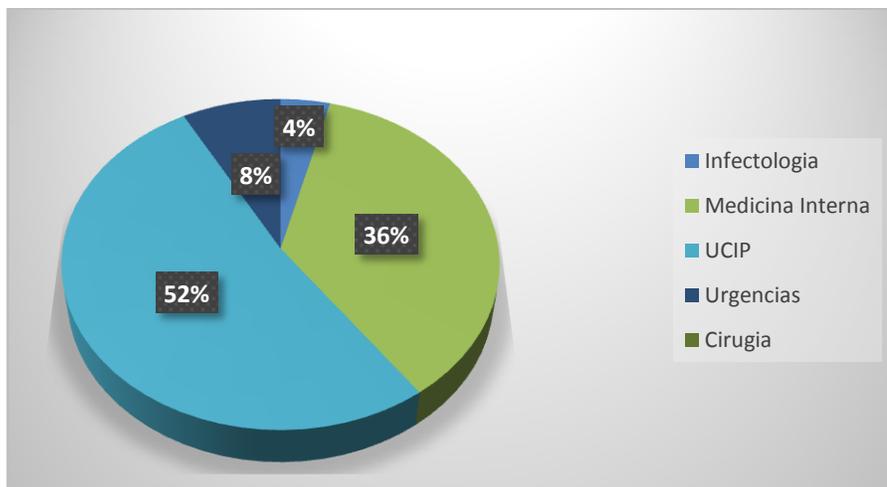
Las muestras biológicas fueron obtenidas de los diferentes servicios del Hospital Infantil del Estado de Sonora, obteniéndose en el periodo estudiado 65 cultivos positivos cepas productoras de betalactamasa de espectro extendido, klebsiella spp, pseudomonas spp, acynetobacter spp, e. coli, excluyéndose uno de ellos por no cumplir criterios de inclusión; de los cuales fueron positivos (n=25) a metalobetalactamasas, siendo un porcentaje del 39.06%.

Los principales sitios de aislamiento de dichas cepas productoras, fueron en cultivo de aspirado bronquial y hemocultivo.

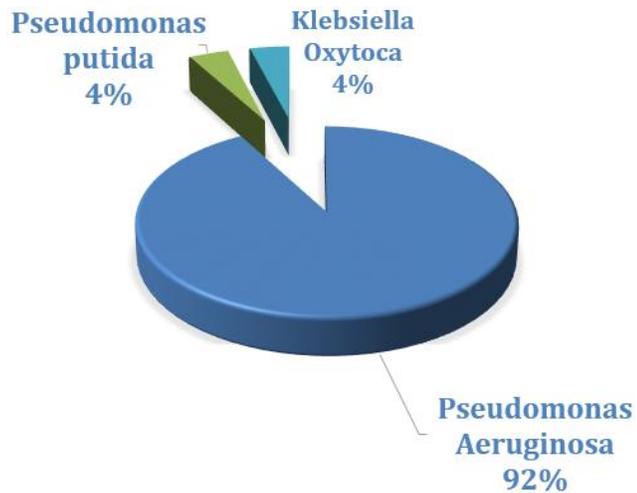
Tabla1. Características por cultivo de los sujetos de estudio.

Tipo de cultivo	no.	%
Cultivo de Aspirado Bronquial	11	44
Hemocultivo	5	20
Cultivo secreción herida	3	12
Cultivo canula traqueal	2	8
Cultivo sonda urinaria	2	8
Cateter Central	1	4
Cultivo Liquido Pleural	1	4
	25	100

La distribución de cultivos positivos en los campos clínicos para cepas productoras de MBL se obtuvo un mayor porcentaje en la unidad de cuidados intensivos pediátricos seguido de medicina interna pediátrica.



Se observó que la cepa productora de mayor prevalencia fue *Pseudomonas Aeruginosa*, seguida por *p. putida* y *k. oxytoca* con el mismo porcentaje.



## 11. DISCUSIÓN

La prevalencia observada en este estudio es del 39.06%, encontrándose dicho porcentaje dentro de lo establecido en la literatura mundial (12.4% hasta 57%) [Gomes,2010, Vahdani,2012, Serife,2013], la diferencia con esta investigación fue el periodo de estudio ya que este fue durante un periodo comprendido de seis meses y el resto de mínimo un año, y sus recursos permitían caracterizar genéticamente los aislamientos mediante otras técnicas identificación, lo que podía llevar a un diagnóstico más certero así como menos falsos positivos.

La fuente predominante de cepas productoras de MBL fue de secreción de aspirado bronquial, 11(44%), en comparación con la literatura (12.1%), donde reportan a el tracto urinario (27.3%) en comparación con un 8% que obtuvimos en este estudio, teniendo que hacer una observación en las técnicas de secuencia de intubación en los diferentes servicio y aspiración secreciones a través de cánula endotraqueal.

Nuestro trabajo detecto que la cepa productora con mayor prevalencia, 94%, al igual que en otras instituciones fue *p. aeruginosa*, (46,6%) [Deeba Bashir, 2011], observándose una diferencia muy grande en su prevalencia con respecto a otros trabajos, lo cual nos habla de falta de recursos a nivel institucional para aislamiento mediante otras técnicas para diferentes cepas, falsos positivos siendo esta información importante para el manejo de los pacientes y tener en cuenta dicha cepa para poder realizar cambios terapéuticos en tiempo y forma.

## 12. CONCLUSIÓN

La prevalencia de cepas productoras de metalobetalactamasas está creciendo a nivel mundial, en el Hospital Infantil del Estado de Sonora es del 39.06%, siendo esta cifra compatible con lo reportado en la literatura. El servicio con mayor porcentaje fue la unidad de cuidados intensivos pediátricos y *pseudomonas aeruginosa* la cepa más aislada en este nosocomio, Los aislados clínicos de *p. aeruginosa* y *p. putida* suponen un grave problema terapéutico que es necesario controlar, tanto para reducir su expansión a nuevos pacientes como para prevenir la diseminación de la resistencia a otros microorganismos capaces de causar infecciones nosocomiales y se tienen que tomar las medidas necesarias para que en los diferentes servicios se evite el uso indiscriminado de antibióticos y con ello disminuir la resistencia bacteriana, ya que a pesar de que este rápido crecimiento ha brindado a la comunidad científica más información acerca de la epidemiología molecular y la carga genética de las MBL, aún no se dispone de datos suficientes sobre cómo abordar este problema en la práctica clínica. Se necesita de la realización de más estudios para tener una vigilancia epidemiológica continua que permita su detección con pruebas más sofisticada con el objetivo de detectar su presencia a tiempo y prevenir su diseminación.

## 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez MC, Belén BR, Rodríguez-Mirones C, Romo M, Monteagudo I, Martínez-Martínez L. Caracterización molecular de aislados clínicos de *Pseudomonas Aeruginosa* productora de metalobetalactamasa VIM-2 en Cantabria, España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(2):99–103
2. Colón EF, Bustamante Z, Zamora J, Zabalga S, Pinto J, Funes F, et al. Determinación de carbapenemasas y su relación con estructuras genéticas en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* de hospitales de la ciudad de Cochabamba. *BIOFARBO* 2009; 17(1): 30-38
3. Berrazeg M, Diene SM, Medjahed L, Parola P, Drissi M, Raoult D, Rolain JM. New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: An eReview using Google Maps. *Euro Surveill*. 2014;19(20):pii=20809. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20809>
4. Cortés R, Juárez J, Gordillo M. Detección De Carbapenemasas Tipo Metalobetalactamasa En La Población De *Acinetobacter Baumannii* Complej Resistente A Imipenem Y/O Meropenem Aislados En Las Unidades De Cuidados Intensivos Del Hospital Roosevelt. *Rev Med Int Gt*, 2014; 17 (2): 60-68
5. Lavilla S., Tórtola M, González JJ, Larrosa N., Miró G, Prats G. Metallo-beta-lactamases and resistance to carbapenems. *Clin Micr and Inf*, 2005; 11 (2):99
6. Díaz T. Detección de metalobetalactamasas (MBLs) en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenemas en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008. Perú 2008

7. Vignoli R, Sija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. *Tem Bact Vir*, 2001, 18: 649-662
8. González E. Metallo- $\beta$ -lactamasas: ¿el fin e los  $\beta$ -lactámicos?. *REV PERU EPIDEMIOL* 2012;16(3): 1-8
9. Nicolau CJ, Oliver A. Carbapenemasas en especies del género *Pseudomonas*. *Enf Infecc Biol Clin*, 2010; 28 (1): 19-28
10. Chaudharti M, Javadekar T, Ninama G, Pandya N, Damor J. A Study Of Metallo-Beta-Lactamase Producing *Pseudomonas Aeruginosa* In Clinical Samples Of S.S.G. Hospital. *Nat Jour Med Res*, 2011; 1 (2): 60-63
11. Alerta epidemiológica: Primer hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica. 22 de noviembre 2011
12. Perozo A, Castellano M, Chávez T, Ling E, Arraiz E, Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de metalobetalactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Kasmera*, 2013; 41 (2): 115-126
13. Doosti M, Ramanazi A, Garshasbi M. Identification and Characterization of Metallo- $\beta$ -Lactamases Producing *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates in University Hospital from Zanzan Province, Iran. *Iran. Biomed. J*, 2013; 17(3): 129-133
14. Bashir D, Thokar A, Fomda B, Bashir G, Zahoor D, Ahmad S. Detection of metallo-beta-lactamase (MBL) producing *Pseudomonas aeruginosa* at a tertiary care hospital in Kashmir. *Afr Jour Microb Res*, 2011; 5(2): 164-172
15. Franco MG, etallo-b-lactamses among *Pseudomonas aeruginosa*, *CLINICS* 2010;65(9):825-829

16. Rasheed JK, Zhu W, Anderson F, Nancye C, Ferraro MJ, Savard P, et al. New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriaceae, United States. *Emerg Infe Dis*, 2013, 19 (6): 870-878
17. Sr elens MJ, Monne DL, Magiorakos P, Santos O'Connor F, Giesecke J, the European NDM-1 Survey Participants. New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae: emergence and response in Europe. *Euro Surveill.* 2010;15(46):pii=19716. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19716>
18. Chaudharti M, Javadekar T, Ninama G, Pandya N, Damor J. A Study Of Metallo-Beta-Lactatamase Producing Pseudomonas Aeruginosa In Clinical Samples Of S.S.G. Hospital. *Nat Jour Med Res*, 2011; 1 (2): 60-63

1. Datos del Alumno	
Autor	Dra. Alejandra Genel Espinoza
Teléfono	664 306 31 27
Universidad	Universidad Autónoma de Baja California
Facultad	Medicina y Psicología: Medico
Número de Cuenta	513211029
2. Datos del Director	Dr. Manuel Alberto Cano Rangel Profesor Adjunto al curso universitario de Pediatría Hospital Infantil del Estado de Sonora
3. Datos de la Tesis	
Título	Prevalencia de Cepas Productoras de Metalobetalactamasas en el Hospital Infantil del Estado de Sonora
Número de Páginas	41 páginas