

## ***Pseudomonas aeruginosa* PRODUCTORA DE BETALACTAMASA CLÁSICA Y DE ESPECTRO EXTENDIDO EN RESERVORIOS DE UN SERVICIO DE NEONATOLOGÍA**

Marco Rivera-Jacinto<sup>1,a</sup>, Claudia Rodríguez-Ulloa<sup>1,a</sup>, Gladys Huayán-Dávila<sup>3,a</sup>

### RESUMEN

Para determinar la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de betalactamasa clásica (BLC) y de espectro extendido (BLEE) en reservorios del servicio de neonatología del Hospital Regional de Cajamarca, entre noviembre del 2005 y febrero del 2006, se obtuvieron muestras mediante hisopados a partir de lavatorios, grifería, incubadoras, cunas, etc. que se encontraban en el servicio. Se empleó el medio agar cetrímide, coloración Gram y las pruebas de oxidasa y del citrato para el aislamiento e identificación de *P. aeruginosa*. Se utilizaron los métodos yodométrico para la determinación de BLC y de sinergia con doble disco para detectar BLEE. De 97 muestras se obtuvieron 20 aislamientos de *P. aeruginosa* (21%); de éstos 45% (9/20) fueron productoras de BLC, halladas en reservorios de uso común como lavatorios y grifos, sólo el 10% (2/20) fueron productoras de BLEE. Existe el riesgo de infecciones por *P. aeruginosa* productoras de BLC y BLEE en el servicio de neonatología evaluado.

**Palabras clave:** *Pseudomonas aeruginosa*; beta-Lactamasas; Fomites; Salas cuna en hospital (fuente: DeCS BIREME).

## ***Pseudomonas aeruginosa* PRODUCING CLASSIC AND EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASES IN NEONATOLOGY RESERVOIRS**

### ABSTRACT

To determine frequency of *Pseudomonas aeruginosa* producing classic and extended spectrum beta-lactamases in neonatology service reservoirs at Regional Hospital of Cajamarca, between november 2005 and february 2006, samples were obtained using cotton buds from sinks, water taps, incubators, cradles, etc. that were in the service. Cetrímide agar, Gram coloration, oxidase and citrate tests were used for isolation and identification of *P. aeruginosa*. Yodometric method was used for determination of classic beta-lactamases and synergy with double disk to detect extended spectrum beta-lactamases. From 97 samples 20 *P. aeruginosa* isolations were obtained (21%); of these 45% (9/20) were producing of classic beta-lactamases, that were found in reservoirs of common use as sinks and water taps, only 10% (2/20) were producers of extended spectrum beta-lactamases. In valued neonatology service there is risk of infections for *P. aeruginosa* producing classic and extended spectrum beta-lactamases.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*; beta-Lactamases; Fomites; Nurseries, hospital (source: MeSH NLM).

### INTRODUCCIÓN

El aumento de la resistencia bacteriana en los hospitales es un problema de salud pública mundial. La *National Nosocomial Infections Surveillance* (NNIS) de los Estados Unidos, sustenta mediante estudios de incidencia, que neonatología es una de las áreas hospitalarias con mayor índice de infección y consumo de antibióticos, por tanto es fuente importante en la generación de resistencia debido a que aquí se concentran pacientes con exposición y uso intensivo de antibióticos<sup>(1)</sup>; además, es una de las áreas más críticas dentro de los hospitales, porque alberga niños con muchos factores de riesgo para adquirir infecciones, tales como bajo peso al nacer, inmunosupresión y exposición a procedimientos invasivos<sup>(2)</sup>.

La *Pseudomonas aeruginosa* constituye el paradigma de la multiresistencia por su resistencia natural a la mayoría de betalactámicos, tetraciclinas, cloranfenicol, etc. Además de desarrollar resistencias adquiridas con gran facilidad, es uno de los patógenos nosocomiales más importantes en los

servicios de neonatología, ocupando los primeros lugares de frecuencia en los aislamientos durante brotes de infecciones intrahospitalarias. En las unidades de cuidados intensivos neonatales es frecuente en casos de bacteriemias, diarreas y neumonías<sup>(3)</sup>, infecciones que se han asociado con contaminación por fuentes comunes como grifos de agua, lavatorios, detergentes y antisépticos, equipos y procedimientos. Aquí es importante resaltar la extraordinaria capacidad de las *Pseudomonas* para permanecer por tiempos prolongados en reservorios húmedos, líquidos y superficies; en contraste, es excepcional encontrarla como parte de la microflora normal de los individuos sanos<sup>(4)</sup>.

Se han descrito como posibles reservorios de *P. aeruginosa* a incubadoras contaminadas, equipos de terapia respiratoria y lavatorios<sup>(3,5)</sup>, cunas en unidades de cuidados intensivos neonatales<sup>(6)</sup> y sumideros de bañeras<sup>(7)</sup> donde además se las clasifica como multidrogresistente. Las betalactamasas

1 Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú.

2 Laboratorio Central, Hospital Regional de Cajamarca. Cajamarca, Perú.

<sup>a</sup> Biólogo microbiólogo

de espectro extendido (BLEE) son enzimas que confieren resistencia bacteriana para penicilinas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación y aztreonam por hidrólisis<sup>(8)</sup>.

En Perú, hay pocos estudios sobre la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), tanto en muestras clínicas como ambientales<sup>(9-11)</sup>. En Lima se notifica la presencia de BLEE en 2,9% y 44,4% de los aislamientos clínicos de *E. coli* y *K. pneumoniae*<sup>(9)</sup>; en reservorios de gineco-obstetricia y cirugía del Hospital Regional de Trujillo se encontró frecuencias entre 70 a 81% *S. aureus* productor de betalactamasa clásica (BLC) y 3,6% de *E. coli* productor de BLEE<sup>(10)</sup>, en Cajamarca se encontró que 57% de *P. aeruginosa* aislada en reservorios de un hospital eran productores de BLC<sup>(11)</sup>.

En función de lo expuesto, se planteó la detección de *P. aeruginosa* productoras de BLC y BLEE en reservorios del servicio de neonatología del Hospital Regional de Cajamarca.

## EL ESTUDIO

Entre noviembre de 2005 y febrero de 2006 se tomaron 97 muestras de posibles reservorios de *P. aeruginosa* mediante hisopados del mobiliario, lavatorios, cunas, incubadoras y elementos de limpieza que se encontraban en el servicio de neonatología del Hospital Regional de Cajamarca.

Para el aislamiento de *P. aeruginosa* las muestras fueron sembradas en agar selectivo cetrimide e incubadas a 35 °C por 18 a 24 horas. En el proceso de identificación se evaluó con coloración Gram (-), producción de pigmentos ferrocianicos (+), crecimiento a 42 °C en caldo peptonado (+), prueba de oxidasa (+) y citrato (+).

Para la detección de aislamientos productores de betalactamasa clásica se empleó el método yodométrico cualitativo de acuerdo al esquema seguido por Livermore & Brown<sup>(12)</sup>. Para la detección de betalactamasa de espectro extendido se empleó el método de doble difusión con discos para bacterias gramnegativas de acuerdo al esquema seguido por Weldhagen *et al.*<sup>(13)</sup>.

Los datos obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SPSS v.12, se utilizó estadística descriptiva con distribución de frecuencias y porcentajes, para evaluar la asociación entre la

positividad de los aislamientos a *P. aeruginosa* y el origen de las muestras se usó la prueba de  $\chi^2$ .

## HALLAZGOS

Se obtuvo 21% (20/97) de cultivos positivos a *P. aeruginosa*, de ellos 45% (9/20) fueron productores de la enzima betalactamasa clásica (BLC) y 10% (2/20) productores de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) (Tabla 1).

El mayor porcentaje de aislamientos se encontraron en el lavatorio/grifo (65%) que fue superior al hallado en las incubadoras ( $p < 0,05$ ). Sólo se encontraron dos aislamientos de BLEE, los cuales fueron muestreados en el lavatorio/grifo (Tabla 1).

## DISCUSIÓN

Se ha demostrado que el material contaminado puede ser fuente de inóculos causantes de infecciones a través de la transmisión cruzada de bacterias por las manos del personal de salud<sup>(4)</sup>. Sin embargo, la posibilidad de transmisión vía aérea, directa o indirecta ha sido subestimada, aun cuando el ambiente hospitalario brinda muchos nichos a los bacilos gramnegativos donde pueden sobrevivir por varios meses. En general, sobreviven por más tiempo sobre superficies inanimadas que en la piel humana y las *Pseudomonas* pueden hacerlo hasta por seis meses por lo que el ambiente inanimado en los hospitales puede ser un importante reservorio para estos organismos<sup>(14)</sup>. En este caso 21% de los reservorios dieron positivo a la presencia de *P. aeruginosa* (Tabla 1).

Otros estudios en reservorios reportan 47% de aislamientos de *Pseudomonas*<sup>(15)</sup>, la variabilidad en estos resultados depende del tipo de reservorio muestreado, ya que es mayor en fuentes húmedas como duchas, grifos, lavatorios, tinas y recodos de equipos de asistencia<sup>(3,4,7)</sup>, resultados que son congruentes con nuestros hallazgos. Foca *et al.* refieren que los lavatorios son reservorios comunes de esta bacteria cuya ubicuidad y capacidad para crecer en cualquier superficie deja la posibilidad que a partir de aquí contamine equipos u otros reservorios secos y los transforme en fuente de infección<sup>(3)</sup> como ha podido demostrarse en diversos estudios<sup>(16,17)</sup>. Por otro lado, se ha evidenciado la relación entre reservorios húmedos y la infección directa por *Pseudomonas* en neonatos<sup>(5)</sup>. Tomando

**Tabla 1.** Aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en reservorios de un servicio de neonatología.

Reservorios	Muestras		Cultivo (+)		BLC (+)		BLEE (+)	
	n	(%)	n	(%) <sup>†</sup>	n	(%) <sup>†</sup>	n	(%) <sup>†</sup>
Lavatorio / grifo	35	(36)	13	(65)	4	(31)	2	(15)
Elementos de limpieza	17	(18)	3	(15)	3	(100)	0	-
Tina	4	(4)	2	(10)	1	(50)	0	-
Incubadora	39	(40)	1	(5)	1	(100)	0	-
Cuna	2	(2)	1	(5)	0	-	0	-
Total	97	(100)	20	(21)	9	(45)	2	(10)

<sup>†</sup> Cepas productoras de la enzima sobre el total de muestras positivas de cada reservorio.  
BLC: Cepa productora de betalactamasa clásica; BLEE: Cepa productora de betalactamasa de espectro extendido.

en cuenta el potencial patógeno de esta bacteria, su presencia en estos reservorios representa un riesgo para la salud de los neonatos.

La *P. aeruginosa* es también un importante patógeno nosocomial por su resistencia a los antimicrobianos. De los cultivos obtenidos, un elevado porcentaje (45%) fue BLC positiva resultado similar al obtenido por Llontop en el 2003<sup>(11)</sup>. Aunque la frecuencia es relativamente baja (2/20) epidemiológicamente es importante la presencia de *P. aeruginosa* productora de BLEE, estos hallazgos concuerdan con los encontrados por Llontop (18,2%) en diferentes áreas hospitalarias<sup>(11)</sup>, pero difieren de los obtenidos por Anhuamán (2000) quien no encontró cultivos de *Pseudomonas* productores de BLEE<sup>(10)</sup>.

Algunos investigadores indican que la prueba empleada puede no ser útil para *P. aeruginosa* debido a varios factores que pueden dar falsos negativos, como la sobreexpresión de betalactamasa cromosómica del tipo AmpC, la presencia simultánea de metalobetalactamasa e hidrólisis de carbapenem, la relativa resistencia a inhibición por el clavulanato y la combinación de mecanismos de resistencia con impermeabilidad<sup>(13)</sup>. Esto implica que a la detección de BLEE debería sumarse la tipificación de la enzima, dado que la mayoría son mutantes de las clásicas TEM y SHV<sup>(12)</sup>.

El significado epidemiológico de la presencia de reservorios en las unidades neonatales no debería ser desestimado, por el contrario resulta necesario controlar las fuentes de contaminación en el ambiente, animado e inanimado, constituido por el propio entorno hospitalario, equipos e instrumental médico, materiales de cura y soluciones desinfectantes, etc, además del personal asistencial<sup>(18)</sup>.

El progreso en la investigación de estas enzimas puede contribuir no sólo al buen aprovechamiento de los betalactámicos en el tratamiento de infecciones, sino también en limitar el fenómeno de la resistencia mediada por ellas<sup>(6)</sup>. Considerando los resultados hallados, es necesario se realicen estudios que permitan elaborar cuadros de evolución de las enzimas bacterianas toda vez que los patrones de resistencia han venido cambiando con mucha celeridad, sobre todo en servicios hospitalarios críticos donde los pacientes están más expuestos a los antibióticos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **National Nosocomial Infections Surveillance System.** National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control.* 2004; 32(8): 470-85.
2. **Molina-Cabrillana J, Santana/Reyes C, Hernández J, López I, Dorta E.** Incidencia de infecciones en una unidad de cuidados intensivos neonatales: estudio de vigilancia de 6 años. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006; 24(5): 307-12.
3. **Foca M, Jakob K, Whittier S, Della-Latta P, Factor S, Rubenstein D, Saiman L.** Endemic *Pseudomonas aeruginosa* infection in a neonatal intensive care unit. *N Engl J Med.* 2000; 343(10): 695-700.
4. **Corona-Nakamura AL, Miranda-Navales MG, Leños-Miranda B, Portillo-Gómez L, Hernández-Chávez A, Anthon-Rendón J, et al.** Epidemiologic study of *Pseudomonas aeruginosa* in critical patients and reservoirs. *Arch Med Res.* 2001; 32(3): 238-42.
5. **Zabel L, Heeg P, Goelz R.** Surveillance of *Pseudomonas aeruginosa*-isolates in a neonatal intensive care unit over a one year-period. *Int J Hyg Environ Health.* 2004; 207(3): 259-66.
6. **Davies MW, Mehr S, Garland ST, Morley CJ.** Bacterial colonization of toys in neonatal intensive care cots. *Pediatrics.* 2000; 106(2): e18.
7. **Berrouane Y, McNutt L, Buschelman B, Rhomberg P, Sanford M, Hollis R, Pfaller M, Herwaldt L.** Outbreak of severe *Pseudomonas aeruginosa* infections caused by a contaminated drain in a whirlpool bathtub. *Clin Infect Dis.* 2000; 31(6): 1331-37.
8. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18(4): 657-86.
9. **Morales JL, Reyes K, Monteghirfo M, Roque M, Irey J.** Presencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú. *An Fac Med (Lima).* 2005; 66(1): 24-32.
10. **Anhuamán R.** Bacterias productoras de betalactamasa clásica y de espectro ampliado aisladas de infecciones intrahospitalarias y de ambiente de gineco-obstetricia y cirugía del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú. [Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2000.
11. **Llontop V.** Detección de betalactamasas clásicas y de espectro ampliado en bacterias aisladas en ambientes hospitalarios. Hospital II-EsSalud Cajamarca-Perú 2003. [Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2003.
12. **Livermore DM, Brown DF.** Detection of  $\beta$ -lactamase-mediated resistance. *J Antimicrobial Chemother.* 2001; 48(Suppl 1): 59-64.
13. **Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P.** Ambler class A extended-spectrum-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(8): 2385-92.
14. **Neely AN.** A survey of gram-negative bacteria survival on hospital fabrics and plastics. *J Burn Care and Rehabil.* 2000; 21(6): 523-27.
15. **Gamboa MM, Rodríguez E, Rojas M.** Bacterias de importancia clínica en respiradores y aires acondicionados de hospitales de San José, Costa Rica. *Rev Biomed.* 2003; 14(3):143-51.
16. **Rogues AM, Boulestreau H, Lashéras A, Boyer A, Gruson D, Merle C, et al.** Contribution of tap water to patient colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in a medical intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2007; 67(1): 72-78.
17. **Trautmann M, Michalsky T, Wiedeck H, Radosavljevic V, Ruhnke M.** Tap water colonization With *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *Pseudomonas* infections of ICU patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2001; 22(1): 49-52.
18. **Foca MD.** *Pseudomonas aeruginosa* infections in the neonatal intensive care unit. *Semin Perinatol.* 2002; 26(5): 332-39.

---

**Correspondencia.** MSc. Marco Rivera Jacinto. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca.  
Dirección: Avenida Atahualpa N° 1050. Ciudad Universitaria. Edificio 1D.  
Teléfono: (51-076) 363263 - anexo 193.  
Correo electrónico: marco\_riverajacinto@yahoo.es