



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

INTEGRONES DE LA CLASE 1 EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS  
AISLADAS DE PACIENTES CON INFECCIÓN NOSOCOMIAL  
(Modalidad: Investigación)

Eliosmar José Rodríguez Ortega

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

Cumaná, mayo de 2008

INTEGRONES DE LA CLASE 1 EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS  
AISLADAS DE PACIENTES CON INFECCIÓN NOSOCOMIAL.

APROBADO POR:

---

Profa. Militza Guzmán  
Asesora Académica

---

---

## INDICE

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
LISTA DE TABLAS .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	vii
RESUMEN .....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	6
Cepas .....	6
Reactivación de las cepas .....	6
Confirmación bacteriológica .....	6
Susceptibilidad antimicrobiana .....	8
Detección de integrones de la clase 1.....	8
Extracción de ADN.....	8
Electroforesis .....	9
Control de calidad .....	10
Análisis de los datos .....	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
CONCLUSIONES .....	18
RECOMENDACIONES .....	18
BIBLIOGRAFÍA .....	20

## **DEDICATORIA**

A:

    Mi madre y mejor amiga por estar cada vez que la necesito, a ella le dedico mi esfuerzo que también es suyo, TE AMO.

    Mi padre, por siempre estar pendiente de mí y de mi trabajo.

    Mis hermanas Anniely Virginia por servirme de ejemplo y mi hermanita Elianny Emperatriz, espero ser yo su ejemplo a seguir.

    Mis amigos, que en cierta forma son parte de mi familia, los quiero.

    A todos aquellos que de una u otra forma, con sus enseñanzas, hicieron posible la realización de este sueño.

## **AGRADECIMIENTO**

A:

La Virgen del Valle, por darme salud, paciencia y fortaleza para seguir adelante en los momentos difíciles.

Mi profesora Militza Guzmán Lista por su incondicional ayuda, comprensión dedicación y confianza brindada, Gracias a mi madre académica.

Y a todas aquellas personas, que de alguna u otra forma contribuyeron a la elaboración de este trabajo.

*A todos mil gracias*

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características de las cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con infección nosocomial en diferentes áreas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. .....	7
Tabla 2. Porcentajes de cepas multirresistentes aisladas en las diferentes áreas de atención del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. .....	12
Tabla 3. Perfiles de resistencia presentes en las cepas de enterobacterias, aisladas de pacientes con infección nosocomial atendidos en las diferentes áreas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá“.....	14
Tabla 4. Características de las cepas en estudio que presentaron integrones de la clase 1.....	16

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica de un integrón Clase 1 (Tomado Hall y Stokes, 1993, con modificaciones).....	3
Figura 2. Frecuencia de resistencia de las cepas de enterobacterias ante los diferentes antimicrobianos ensayados.....	11
Figura 3. Productos de amplificación obtenidos entre las regiones conservadas 5 CS y 3 CS de un integrón de la clase 1, en cepas nosocomiales de enterobacterias.....	15

## RESUMEN

Se determinó la presencia de integrones de la clase 1 en 27 cepas de enterobacterias provenientes de pacientes con infección nosocomial, atendidos en diferentes servicios del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Estado Sucre. La susceptibilidad antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión en disco, y la presencia de integrones, a través de la reacción en cadena de la polimerasa, utilizando iniciadores que hibridan en la región conservada de un integrón de la clase 1. Los mayores porcentajes de resistencia se presentaron para el grupo de los  $\beta$ -lactámicos; el 100% de las cepas fue resistente a ceftazidima y 96,29% a cefotaxima. De igual forma se observó resistencia para tobramicina (44,44%), gentamicina (40,74%) y amikacina (25,92%), ciprofloxacina (22,22%), levofloxacina (14,81%), trimetoprim-sulfametoxazol (44,44%), tetraciclina (51,85%) y cloranfenicol (70,37%). El 11,11% de las cepas presentó integrones de la clase 1 con tamaños entre 750 y 1 200 pb; 2 cepas contenían un integrón y una cepa presentó tres elementos. La presencia de integrones de la clase 1, puede jugar un papel importante en la diseminación de un determinante de resistencia en el centro hospitalario.

## INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad que tiene una bacteria de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. La resistencia bacteriana, conjuntamente con las infecciones nosocomiales, representan un importante problema de salud pública, que trae como consecuencia un aumento en la morbilidad y mortalidad de los pacientes hospitalizados (Bruin, 1994; Bush *et al.*, 1995).

La resistencia a los agentes antimicrobianos está siendo observada en una amplia variedad de microorganismos patógenos, generando un reto para los clínicos, debido a que éstos, han tenido que modificar los regímenes de tratamiento empírico y enfrentar un aumento en las tasas de morbimortalidad en los pacientes hospitalizados (Tenover, 2001).

Desde el punto de vista molecular y bioquímico, se han descrito, al menos, siete mecanismos diferentes de resistencia a los agentes antimicrobianos en las bacterias, siendo la inactivación enzimática, el más común en las enterobacterias. Entre las enzimas más frecuentes que generan resistencia a los antimicrobianos se encuentran las  $\beta$ -lactamasas, las cuales hidrolizan a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, la enzima cloranfenicol-acetiltransferasa, que confiere resistencia al cloranfenicol, y las enzimas modificadoras de aminoglucósidos como la acetiltransferasa, fosfatidiltransferasa y adeniltransferasa (Goodman *et al.*, 1991).

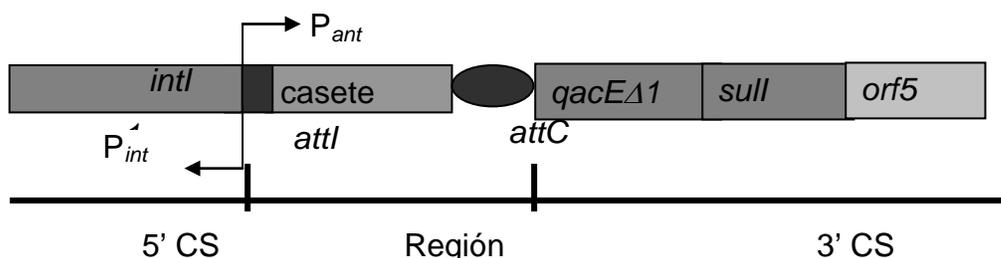
La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública creciente en el mundo, que involucra cada día nuevas especies bacterianas y nuevos mecanismos de resistencia, complicándose cuando el microorganismo puede presentar más de un mecanismo y cuando este tiene la facultad de transmitirlo (Martínez, 1997).

La resistencia antimicrobiana, se origina como consecuencia de mutaciones puntuales en el cromosoma bacteriano o por la adquisición de genes de resistencia presentes en elementos genéticos como plásmidos, transposones e integrones (Alonso *et al.*, 2005).

Un integrón es un elemento genético dinámico presente en diversos microorganismos que codifica un mecanismo de recombinación sitio específico y acumula combinación de genes estructurales organizados como un operón. Estos elementos genéticos son considerados vectores de clonamiento natural, debido a que son capaces de integrar y expresar genes que codifican resistencia para algunos agentes antimicrobianos (Hall y Stokes, 1993; Collis y Hall, 1995).

Los integrones están conformados por dos regiones de ADN conservadas, situadas en los extremos, que se denominan 5' CS y 3' CS (figura 1). El extremo 5' CS tiene una longitud de 1,36 kb y contiene el gen *intI1*, que codifica para una integrasa (una proteína de 337 aminoácidos y masa molecular relativa de 38 000 daltons), encargada de catalizar una recombinación genética sitio específico (Stokes y Hall, 1989; Collis y Hall, 1992). Adyacente a *intI1* se encuentra el sitio de recombinación específico *attI*, en el que se integran los casetes genéticos de resistencia (Gravel *et al.*, 1998).

Entre *intI1* y *attI* se encuentran dos promotores divergentes, el  $P_{Int}$  que promueve la expresión de *intI1* y el  $P_{ant}$ , responsable de dirigir la expresión de los casetes genéticos insertados en la región variable. La enzima *intI* permite la interacción y unión entre *attI* y el sitio *attC* o elemento de 59 pb, situado en los extremos de los casetes genéticos, además, promueve la integración o escisión de los casetes de resistencia en la zona variable del integrón (Hall y Stokes., 1993; Gravel *et al.*, 1998). Con esta arquitectura, los integrones son capaces de incorporar y expresar genes que, codifican para resistencia a antimicrobianos.



(*intI1*): gen de la integrasa,  $P_{ant}$  y  $P_{int}$  promotores que transcriben la integrasa (flechas divergentes). *attI* sitio de reconocimiento de la integrasa. *qacEΔ1*: gen truncado que confiere resistencia a aminas cuaternarias, *Sull*: gen que confiere resistencia a sulfanamidas, *orf5*: marco abierto de lectura de función desconocida.

Figura 1. Estructura básica de un integrón Clase 1 (Tomado Hall y Stokes, 1993, con modificaciones).

El extremo 3' CS tiene una longitud aproximada de 2 kb, en este segmento se encuentran genes que confieren a las bacterias resistencia a distintos compuestos como, antisépticos, desinfectantes, compuestos de amonio cuaternario y sulfonamidas (Stokes y Hall, 1989; Collis y Hall, 1992). Entre los extremos conservados 5' CS y 3' CS se encuentra la región variable en la que se insertan los genes estructurales del integrón, en un número entre uno y cuatro, aunque se han reportado integrones sin casetes genéticos (Recchia y Hall, 1995).

Los integrones contribuyen a la adición de genes de resistencia en las bacterias hospitalarias y en base a la secuencia aminoacídica de la integrasa, se han clasificado en diferentes grupos (1, 2, 3 y 4), siendo los integrones de clase 1, los más caracterizados en bacilos Gram negativos causantes de infecciones nosocomiales (Martínez *et al.*, 1999).

Los integrones no pueden realizar autotransposición, pero se asocian frecuentemente a secuencias de inserción o bien, a transposones y plásmidos conjugativos, que les sirven como vehículos para su transmisión inter e intra especie. Se han encontrado integrones de las clases 1 y 2 en plásmidos y transposones conjugativos, mientras que los integrones de la clase 3, sólo han sido identificados en plásmidos. Por último, los integrones de clase 4 o "superintegrones" se han identificado principalmente en el cromosoma de *Vibrio cholerae* (Manning *et al.*, 1999; González *et al.*, 2004).

En los integrones de la clase 1 se han reportado, mediante secuenciación, más de 60 casetes génicos diferentes, que confieren resistencia a los agentes antimicrobianos comúnmente utilizados en los centros hospitalarios para el tratamiento de las infecciones nosocomiales (Daikos *et al.*, 2007).

La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido estudiar la amplia distribución de los integrones clase 1 en aislados clínicos. La síntesis de oligonucleótidos específicos para las secuencias conservadas del integrón, ha permitido

identificarlos y caracterizarlos en varias familias y géneros bacterianos, principalmente, en aquellos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (Levesqué *et al.*, 1995).

Los estudios bacterianos han estado dirigidos con especial atención a investigar los distintos elementos genéticos relacionados con la codificación de determinantes de resistencia, donde los integrones juegan un rol importante. González *et al.* (2004), estudiaron la presencia de integrones clase 1 en cepas de enterobacterias aisladas de diferentes hospitales chilenos y encontraron que *Klebsiella pneumoniae* fue la especie que presentó la mayor frecuencia (68,4%) de integrones seguido de *Escherichia coli* (36,5%).

Zhang *et al.* (2004), en China, caracterizaron integrones clase 1 en cepas de *Salmonella* spp, aisladas de individuos portadores y reportaron que, 4 de las 23 cepas estudiadas presentaron integrones clase 1. Moreno *et al.* (2005), en Tortosa (España), detectaron la presencia de integrones clase 1 en un 50,0% (49/100) de aislados de *Salmonella enterica* productoras de  $\beta$ -lactamasas tipo TEM-1, PSE-1 y OXA. De las 49 cepas que contenían integrones el 51,0% presentaban un integrón y el 49,0% de estas presentaban dos elementos.

Daikos *et al.* (2007), en Grecia, investigaron la presencia de integrones de la clase 1 en 250 cepas aisladas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de septicemia e infecciones adquiridas en la comunidad. En el estudio, se encontraron 81 cepas que portaban integrones de la clase 1. La frecuencia de integrones fue mayor en las cepas nocomiales.

Malaver (2003), detectó la presencia de integrones clase 1 en 41 cepas aisladas en el Hospital Clínico Universitario de Caracas, Venezuela, recolectadas durante los años 1997-1998 y 2001. En las cepas aisladas entre 1997-1998, reportó una frecuencia de integrones clase 1 de 36,0% y en las cepas aisladas en el 2001 de 75,0%.

Torres *et al.* (2005), detectaron integrones de la clase 1 en 51 cepas de enterobacterias provenientes de diferentes centros hospitalarios de Caracas, Venezuela, y obtuvieron que

27,5% de las cepas estudiadas, amplificaron con iniciadores específicos para el gen que codifica la integrasa presente en integrones de la clase 1. La especie donde se reportó la mayor frecuencia de integrones clase 1, fue *K. pneumoniae* (13,7%).

Guzmán (2006), utilizando oligonucleótidos que hibridan en las regiones conservadas de un integrón de la clase 1, reportó una frecuencia de 34,4% en cepas nosocomiales de *K. pneumoniae* aisladas de pacientes internados en diferentes áreas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” Cumaná, estado Sucre.

La resistencia antimicrobiana está codificada en genes localizados en distintos elementos genéticos, los cuales pueden diseminarse en las poblaciones bacterianas existentes en un ambiente determinando. En el país, poco han sido los estudios enfocados a identificar y caracterizar molecularmente a los elementos genéticos responsables de conferir resistencia a los antimicrobianos; por tal motivo, el presente trabajo tuvo como finalidad detectar la presencia de integrones de la clase 1, en cepas aisladas de pacientes con diagnóstico de infección nosocomial.

## **METODOLOGÍA**

### **Cepas**

El presente estudio se realizó en 27 cepas bacterianas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (tabla 1), aisladas de diferentes áreas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, durante el periodo comprendido entre septiembre y noviembre de 2005. Las muestras fueron recolectadas de pacientes hospitalizados con diagnóstico clínico de infección nosocomial, atendidos en el centro de salud y en su selección se mantuvo el criterio de seleccionar una cepa por paciente y que cumpliera con los criterios de Garner *et al.* (1988) para considerarlas nosocomiales.

### **Reactivación de las cepas**

A partir del medio de conservación, se procedió a inocular las cepas en 2 ml de caldo Luria-Bertani (LB) a 35°C, durante 18 horas en aerobiosis, posteriormente se sembraron en agar MacConkey (AMC) con la finalidad de verificar su pureza y observar las características macroscópicas de las colonias, así como los cambios producidos en el medio AMC, que refleja la fermentación o no de la lactosa por parte de algunos géneros de la familia *Enterobacteriaceae*.

### **Confirmación bacteriológica**

El género y la especie se confirmó mediante el protocolo de identificación convencional para enterobacterias (Koneman *et al.*, 1999), incluyendo las siguientes pruebas bioquímicas: fermentación de azúcares (medio Kligler), utilización de citrato (medio citrato Simmons), producción de la enzima ureasa (agua peptonada), vía de fermentación de la glucosa (caldo rojo metilo-Voges Proskauer), motilidad, producción de indol, descarboxilación de la ornitina (medio MIO) y descarboxilación de la lisina (caldo lisina).

Tabla 1. Características de las cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con infección nosocomial en diferentes áreas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”.

<b>Cepas</b>	<b>Estadía (días)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Terapia previa</b>	<b>Servicio</b>
Kp 01	24	Sangre	CAZ	Retén
Kp 02	14	Secreción	CIP	Medicina B
Esp 03	14	Orina	CIP,OXA	Medicina A
Kp 04	5	Sangre	AMS,GEN	Retén
Kp 05	8	Secreción	CAZ,AMK	Retén
Esp 06	7	Catéter	CAZ,OXA	UCI
Kp 07	7	Catéter	CAZ,OXA	UCI
Kp 08	9	Secreción	CAZ,OXA	Medicina A
Kp 09	9	Secreción	CAZ,OXA	Medicina A
Esp 12	13	Secreción	VAN,IPM	Medicina C
Esp 13	30	Secreción	MER	Pediatría A
Ko 14	30	Catéter	MER	Pediatría A
Ec 15	30	Catéter	VAN	UCI
Esp 16	9	Secreción	VAN,CAZ	UCI
Ec 17	24	Secreción	CIP,AM	Medicina B
Esp 19	8	Catéter	CIP,AM	Medicina C
Kp 20	8	Catéter	CIP,AM	Medicina C
Kp 22	5	Secreción	CTX,VAN	UCI
Kp 24	9	Secreción	VAN,AMK	UCI
Ec 26	6	Heces	AMS,GEN	Retén
Kp 27	6	LCR	GEN	Retén
Esp 28	7	Secreción	CAZ	UCI
Esp 29	7	Secreción	CAZ	UCI
Ec 32	12	Sangre	GEN	Retén
Kp 33	5	Heces	GEN	Retén
Kp 34	9	Secreción	AMK,AZT	UCI
Esp 61	7	Catéter	CAZ,OXA	UCI

LCR: líquido cefalorraquídeo, Kp: *K. pneumoniae*, Ec: *E. coli*, Ko: *K. oxytoca*, Esp: *Enterobacter* sp, CAZ: ceftazidima, CTX: ceftriazone, CIP: ciprofloxacina, OXA: oxacilina, AMS: amoxicilina sulbactam, GEN: gentamicina, AMK: amikacina, VAN: vancomicina, IPM: imipenen, MER: meropenen, AM: amoxicilina, AMP: ampicilina, AZT: aztreonan, UCI: unidad de cuidados intensivos

## **Susceptibilidad antimicrobiana**

La susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en disco, propuesto por Bauer *et al.* (1966), siguiendo los lineamientos para enterobacterias propuestos por el instituto de estándares clínicos y de laboratorios, del ingles “Clinical and Laboratory Standard Institute” (CLSI, 2007). Para ello se preparó una suspensión bacteriana de la cepa en 4,5ml de solución salina fisiológica estéril al 0,85%, a partir de un crecimiento de 18 horas sembrado en agar tripticasa de soya (ATS), ajustado al patrón de 0,5 en la escala de MacFarland correspondiente a  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro. Una vez que se obtuvo la turbidez respectiva, se impregnó un hisopo estéril en la suspensión y se diseminó uniformemente sobre la superficie del agar Mueller Hinton (Himedia) contenido en placas de Petri, se dejó secar por 5 minutos y se procedió a colocar los discos de los siguientes agentes antimicrobianos: cefotaxima (30µg), cefazidima (30µg), amoxicilina-ácido clavulánico (30µg), amikacina (30µg), netilmicina (30µg), gentamicina (30µg), tobramicina (30µg), levofloxacina (5µg), ciprofloxacina (5µg) trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75µg), cloranfenicol (30µg), tetraciclina (30µg) (todos marca OXOID). Las placas se incubaron a 35°C durante 18 horas en ambiente de aerobiosis y posteriormente, se realizó la lectura de los halos de inhibición empleando una regla milimetrada.

El halo de inhibición observado para cada antimicrobiano, se interpretó siguiendo los valores de referencia señalados en la tabla del CLSI (2007) como sensible, resistente intermedio y resistente. Las cepas que fueron resistentes a más de dos familias de antimicrobianos, se consideraron multirresistentes.

## **Detección de integrones de la clase 1**

Extracción de ADN

La extracción de ADN total se realizó por el método de hervido propuesto por Levesqué *et al.* (1995). Se tomaron 200µl de un cultivo bacteriano, el cual fue crecido por 18 horas en caldo Luria Bertani a 37°C y se colocó en un tubo Eppendorf con 800µl de agua estéril, la suspensión se dejó hervir durante 10 minutos y luego, se centrifugó a 12 000g durante 3 minutos. El sobrenadante con el contenido de ADN total se guardó a -20°C hasta su uso.

Los integrones de la clase 1 se determinaron utilizando la técnica de la PCR. Para la amplificación, se emplearon los oligonucleótidos: 5' CS: 5'- GGC ATC CAA GCA GCA A - 3' y 3' CS: 5'- AAG CAG ACT TGA CCT GA - 3', los cuales son segmentos de ADN que hibridan en las regiones 5'CS y 3'CS de un integrón clase 1 (Levesqué *et al.*, 1995). Para cada amplificación se prepararon 25µl de la mezcla de reacción, compuesta por 12,5µl de la polimerasa LPU (2X) de la casa comercial FUNDAIM, 2,5µl de cada oligonucleótido para una concentración final de 0,4µmol l<sup>-1</sup> y 2,5µl del ADN bacteriano, completando el volumen final con 5µl de agua destilada estéril.

Las condiciones de reacción utilizadas fueron las siguientes: desnaturalización 94°C por 1 minuto, hibridación, 60°C por 1 minuto y extensión 72°C por 1 minuto. Durante un tiempo total de 30 ciclos. Con una extensión final de 72°C por 10 minutos (Alonso *et al.*, 2005).

## Electroforesis

Los productos amplificados mediante la PCR se analizaron mediante una corrida electroforética. Para esto se preparó un gel de agarosa al 1,0% con buffer TBE 1X (stock 10X: tris base 0,89mol l<sup>-1</sup>, ácido bórico 0,89µmol l<sup>-1</sup>, EDTA 0,02mol l<sup>-1</sup>). Este buffer, además, se utilizó para realizar las migraciones electroforéticas (60 voltios durante una hora, aproximadamente) de los productos amplificados.

Para estimar el tamaño del fragmento de ADN amplificado, se utilizó el marcador

ADN Ladder (GeneRuler™) de masa molecular de 10 000 pb de longitud, el cual se colocó en el gel junto a las muestras y los controles de la PCR.

Los geles fueron coloreados con solución de bromuro de etidio  $0,5\mu\text{g ml}^{-1}$ , durante 5 minutos y el exceso se eliminó manteniendo el gel en agua durante 5 minutos. Los productos amplificados se detectaron en el gel mediante la observación a través de un transiluminador de luz ultravioleta (UVP) para finalmente ser fotografiados con una cámara digital Samsung.

### **Control de calidad**

Para el control de calidad de la PCR se empleó una cepa de *K. pneumoniae* (CVCM N° 682), la cual presenta un integrón de 750 pb, y una cepa de *E. coli* J62-2 (CVCN N° 131), la cual no presenta integrón de la clase 1.

El control de calidad de los discos de antimicrobianos utilizados en el antibiograma, se realizó empleando las cepas *E. coli* ATTC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853.

### **Análisis de los datos**

Los datos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva, expresados a través de tablas y figuras (Dawsen y Robert, 1997).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La resistencia bacteriana obtenida en los 27 aislamientos muestra que el mayor porcentaje lo presentaron los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, ceftazidima (100%) cefotaxima con (96,29%). La resistencia al cloranfenicol en el estudio fue de 70,37% y para trimetoprin-sulfametoxazol y tetraciclina, 44,44% y 51,85%, respectivamente. También se encontró resistencia a gentamicina (40,74%), tobramicina (44,44%), amikacina (25,92%) y netilmicina (7,40%). Con respecto a los porcentajes de resistencia para las quinolonas, el

22,22% de las cepas presentó resistencia a ciprofloxacina y 14,81% a levofloxacina (figura 2).

CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima, AMC\*: amoxicilina-ácido clavulánico (solo reportado para *K. pneumoniae* y *E. coli*), CIP: ciprofloxacina, LEV: levofloxacina, TE: tetraciclina, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprin-sulfametoxazol, GEN: gentamicina, TOB: tobramicina, AKN: amikacina, NET: netilmicina.

Figura 2. Frecuencia de resistencia de las cepas de enterobacterias ante los diferentes antimicrobianos ensayados.

Las infecciones originadas por enterobacterias resistentes constituyen un problema de carácter mundial en las diferentes áreas de hospitalización. En el presente estudio se detectaron elevados porcentajes de cepas resistentes a los antimicrobianos de uso frecuente en el tratamiento de las infecciones causadas por enterobacterias. El estudio de la evaluación de la actividad antimicrobiana reveló que todas las cepas presentaron determinantes de resistencia a, por lo menos, tres agentes antimicrobianos, lo cual hace concluir que la mayoría de las cepas son multirresistentes; hecho que genera un problema a nivel clínico, ya que complica la designación de una terapia antimicrobiana adecuada.

Según los resultados del estudio de susceptibilidad antimicrobiana, se encontró elevados porcentajes de cepas resistentes, tanto para cefotaxima y ceftazidima, así como también para los aminoglucósidos. Al respecto, Machado *et al.* (2005) señalan que la resistencia ante los aminoglucósidos está ligada a la de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, esto es debido a que las enzimas modificadoras de aminoglucósidos suelen estar codificadas en plásmidos que portan genes codificadores de  $\beta$ -lactamasas. En este mismo orden de ideas,

Dubois *et al.* (2002) reportaron genes codificadores de  $\beta$ -lactamasas y enzimas modificadoras de aminoglucósidos en casetes genéticos presentes en la región variable de integrones de la clase 1 en cepas de *P. aeruginosa*.

La resistencia bacteriana es un factor que está relacionado con el aumento de los casos de infecciones nosocomiales, y es por esta razón que, en los programas de control de infecciones nosocomiales, la vigilancia de la sensibilidad y resistencia antimicrobiana es esencial.

De acuerdo a los datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes incluidos en el estudio (tabla 1), todos éstos se encontraban recibiendo terapia antimicrobiana. El uso inadecuado y prolongado de los antimicrobianos en el ambiente hospitalario, especialmente en UCI, trae como consecuencia la aparición de cepas multirresistentes, debido a que la presión selectiva ejercida por los antimicrobianos promueve la adquisición, acumulación y transferencia de genes de resistencia entre las diferentes especies bacterianas (Narváez *et al.*, 2005).

El porcentaje de las cepas resistentes aisladas en cada área, se muestra en la tabla 2. La unidad de cuidados intensivos fue el servicio medico donde se encontró la mayor cantidad de aislados (37,04%), seguido del servicio de retén con 25,92%. Con respecto a la frecuencia de cepas multirresistentes, el 92,59% de las mismas presentó esta condición.

Tabla 2. Porcentajes de cepas multirresistentes aisladas en las diferentes áreas de atención del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”.

<b>Área de Aislamiento</b>	<b>Nº aislados (%)</b>	<b>Nº cepas multirresistentes (%)</b>
Unidad de cuidados intensivos	10 (37,04%)	9 (90,00%)
Retén	7 (25,92%)	7 (100%)
Medicina A	3 (11,11%)	3 (100%)
Medicina B	2 (7,41%)	1 (50,00%)
Medicina C	3 (11,11%)	3 (100%)
Pediatría A	2 (7,41%)	2 (100%)
<b>TOTAL</b>	<b>27 (100%)</b>	<b>25 (92,59%)</b>

En la unidad de cuidados intensivos se presentan una serie de factores que justifican

la presencia de aislados multirresistentes, entre estos se pueden mencionar, la edad avanzada de los pacientes, aplicación del tratamiento empírico inadecuado, el excesivo bombardeo con antimicrobianos de amplio espectro y la larga estadía de los pacientes que permanecen intubados conectados a respiradores mecánicos e invadidos con numerosos catéteres (Lucet *et al.*, 1996; Sanders *et al.*, 1996).

Diversos autores han reportado la presencia de bacterias multirresistentes aisladas de pacientes internados en la unidad de cuidados intensivos. Al Naiemi *et al.* (2005), en Ámsterdam, reportaron la presencia de genes codificadores de enzimas  $\beta$ -lactamasas y enzimas inactivadoras de aminoglucósidos en cepas multirresistentes de *Enterobacter cloacae* y *Acinetobacter baumannii*. En el estado Sucre, Guzmán (2006) reportó una frecuencia de 63,0% de aislamientos de cepas multirresistentes de *K. pneumoniae* en la UCI del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”.

La evaluación de la actividad antimicrobiana permitió detectar una variedad de fenotipos de resistencia. Se encontraron 19 fenotipos diferentes (tabla 3), la diferencia en algunos casos estuvo demarcada por variaciones de uno o dos antibióticos entre los perfiles. El 96,30% de las cepas fue resistente a tres o más antibióticos. En los resultados se excluyó el reporte de la amoxicilina-ácido clavulánico para *Enterobacter* sp. y *K. oxytoca*, por presentar mecanismos de resistencia natural a éste.

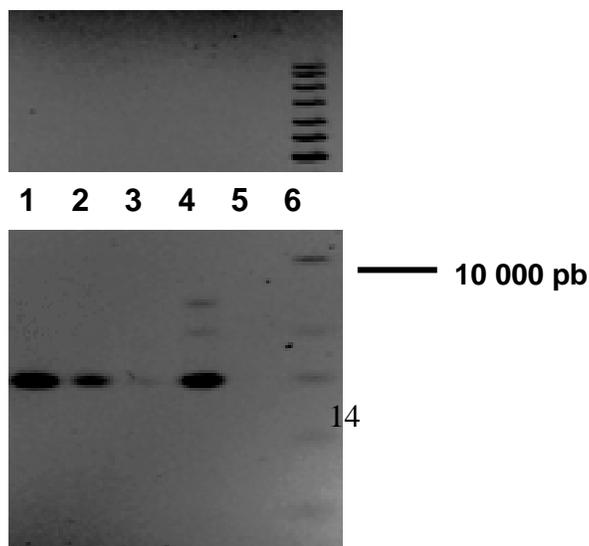
Los fenotipos que se presentaron con mayor frecuencia fueron el III, IV, VIII, XI, XIII, XVI XVIII, los cuales se encontraron en dos cepas cada uno, a excepción del fenotipo III, el cual se presentó en tres cepas. Los fenotipos se observaron en cepas pertenecientes a diferentes especies de un mismo género, así como, en género diferentes.

Tabla 3. Perfiles de resistencia presentes en las cepas de enterobacterias, aisladas de pacientes con infección nosocomial atendidos en las diferentes áreas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”.

<b>Cepas</b>	<b>Perfil de resistencia</b>	<b>Fenotipo</b>
Kp 24	CTX,CAZ	I
Kp 02	CTX,CAZ,CIP	II
Esp 06, Kp 20, Kp 27	CTX,CAZ,CL	III
Esp 03, Esp 19	CTX,CAZ,TE,CL	IV
Kp 09	CTX,CAZ,TOB,GEN	V
Kp 01	CTX,CAZ,AKN,TE,CL	VI
Kp 07	CTX,CAZ,AMC,TE,CL	VII
Ko 14, Kp 34	CTX,CAZ,TE,CL,SXT	VIII
Ec 32	CTX,LEV,CIP,TE,SXT	IX
Kp 04	CTX,CAZ,TOB,GEN,CL,SXT	X
Kp 05, Kp 33	CTX,CAZ,TOB,TE,CL,SXT	XI
Esp 61	CTX,CAZ,CIP,TE,CL,SXT	XII
Esp 16, Esp 28	CTX,CAZ,AKN,TOB,GEN,CL	XIII
Ec 26	CTX,CAZ,LEV,CIP,TE,SXT	XIV
Esp 29	CTX,CAZ,AKN,TOB,GEN,TE	XV
Esp 12,Esp13	CTX,CAZ,AKN,TOB,GEN,TE,CL	XVI
Kp 08	CTX,CAZ,LEV,CIP,GEN,CL,SXT	XVII
Ec 15, Ec 17	CTX,CAZ,AMC,TOB,GEN,SXT	XVIII
Kp 22	CTX,CAZ,AMC,LEV,CIP,AKN,TOB,GEN, CL,SXT	XIX

Kp: *K. pneumoniae*, Ec: *E. coli*, Ko: *K. oxytoca*, Esp: *Enterobacter* sp, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima, CIP: ciprofloxacina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico GEN: gentamicina, AMK: amikacina, TOB: tobramicina, NET; netilmicina, CL: cloranfenicol, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprin sulfametoxazol, LEV: levofloxacina.

El 11,11% (3/27) de las cepas presentaron integrones de la clase 1, dos cepas (*K. pneumoniae* 01 y *K. pneumoniae* 08) presentaron un integrón y una cepa (*E. coli* 15) presentó tres elementos (figura 3).





Carril 1: *K. pneumoniae* (CVCM N° 682) control positivo 750 pb, carril 2: Kp 01 (750 pb), carril 3: Kp 08 (aprox 750 pb), carril 4: Ec 15 (750 pb, 1 000 pb, 1 200 pb), carril 5: *E. coli* J62-2 (CVCM N° 131) control negativo, carril 6: marcador 10 000 pb ADN Ladder (GeneRuler™).

Figura 3. Productos de amplificación obtenidos entre las regiones conservadas 5 CS y 3 CS de un integrón de la clase 1, en cepas nosocomiales de enterobacterias.

Los integrones son elementos genéticos identificados en las enterobacterias y otros microorganismos Gram negativos. La frecuencia de integrones Clase 1 en bacilos Gram negativos causantes de infecciones hospitalarias, varía de acuerdo al hospital, así como también, al período en que son analizados los aislamientos (Levesqué *et al.*, 1995; Maguire *et al.*, 2001; Peter *et al.*, 2001; White *et al.*, 2001). La ausencia de integrones en algunas cepas bacterianas puede estar relacionada con algún tipo de barrera biológica a estos elementos, o a las moléculas plasmídicas que pueden alojarlos.

El tamaño de los integrones encontrados en las cepas bacterianas varía de 750 pb a 1 200 pb, encontrándose en las 3 cepas (Kp01, Kp08, Ec15) un integrón de 750 pb, y en la cepa Ec15 adicionalmente al integrón de 750 pb dos integrones, uno de 1 000 y 1 200 pb, respectivamente. En este trabajo, la presencia de tamaños distintos en los productos amplificados obtenidos entre las regiones variables sugiere que los insertos detectados pudieran tener diversos orígenes (Zhang *et al.*, 2004).

Los tamaños encontrados en la presente investigación han sido reportados por diversos autores, y sus análisis de secuencia se relacionan en su mayoría con genes codificadores de enzimas modificadoras de aminoglucósidos y/o resistencia al trimetoprim,

al respecto, Alonso *et al.* (2005), utilizando iniciadores que amplifican la región variable de un integrón de la clase 1, obtuvieron integrones de tamaños aproximados de 750 pb, en aislados clínicos provenientes del hospital universitario de Caracas, durante el periodo de 1997-1998, así mismo, para el año 2001, 12 de 16 muestras provenientes del mismo centro hospitalario, presentaban integrones de tamaño similar, además de algunos casos que presentaron amplificadores superiores a 1000 pb; al ser secuenciada la región variable de 5 de estos integrones reveló que en su mayoría contenían casetes génicos responsables para la resistencia a aminoglucósidos.

Navia *et al.* (2003) reportaron en cepas de *Shigella flexneri*, provenientes de niños de Kenia, la presencia de un integrón con un tamaño correspondiente a 750 pb, que al ser secuenciado reveló la presencia del gen *dfrA7* responsable de la resistencia a trimetoprim en las cepas.

Al analizar la presencia de integrones con el perfil fenotípico presentado por las cepas, se observó que las tres cepas presentaban diferentes fenotipos (tabla 4), no obstante, las cepas tenían en común determinantes de resistencia para las cefalosporinas de tercera generación; esto no permite afirmar que los determinantes que confieren resistencia a los  $\beta$ -lactámicos estén codificados en la región variable de los integrones identificados, ya que existen otros elementos genéticos como los plásmidos y transposones que portan genes de resistencia, y tampoco permite descartar que algunos determinantes de resistencia estén asociados a otras clases de integrones, como los integrones Clase 2, 3 ó 4.

Tabla 4. Características de las cepas en estudio que presentaron integrones de la clase 1.

<b>Cepa</b>	<b>Área</b>	<b>Muestra</b>	<b>Fenotipo</b>	<b>Tamaño pb</b>	<b>Especie</b>
01	Retén	Sangre	CTX,CAZ,AKN,TE,CL	750	<i>K. pneumoniae</i>
08	Med. A	Secreción	CTX,CAZ,LEV,CIP,GEN,CL,SXT	750	<i>K. pneumoniae</i>
15	UCI	Catéter	CTX,CAZ,AMC,TOB,GEN,SXT	750 1 000 1 200	<i>E. coli</i>

UCI: unidad de cuidados intensivos, Med: medicina, CAZ: ceftazidima, CTX:

cefotaxima, CIP: ciprofloxacina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico GEN: gentamicina, AMK: amikacina, TOB: tobramicina, NET; netilmicina, CL: cloranfenicol, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprin sulfametoxazol, LEV: levofloxacina.

Diversos autores señalan que la mayoría de los determinantes de resistencia encontrados en la región variable de los integrones codifican para la resistencia a aminoglucósidos, sin embargo, se ha demostrado la presencia de marcos abiertos de lectura presentes en integrones de la clase 1 con función desconocida (Martínez *et al.*, 1999; Guerra *et al.*, 2000; Torres *et al.*, 2005).

Al analizar el tamaño de los amplificadores de la región variable de los integrones en las tres cepas, se encontró un elemento común de 750 pb. Estos resultados pueden sugerir que los amplificadores correspondan a un integrón específico, que se disemina entre los aislados de la familia *Enterobacteriaceae* y lo más probable, también a otras familias o un determinante de resistencia a diferentes antimicrobianos pero con el mismo tamaño. Para conocer el determinante específico presente en las cepas se necesitará de análisis de secuenciación.

Los resultados del presente estudio indican que en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, existen diferentes cepas que portan una amplia variedad de genes de resistencia, además, de integrones; los cuales son considerados conjuntamente con los plásmidos los principales factores de riesgo para la diseminación de la resistencia a antibióticos en un ambiente.

## **CONCLUSIONES**

Las cepas incluidas en este estudio presentan, al menos, un determinante de resistencia para cada grupo de antimicrobiano.

Las cepas presentaron diferentes perfiles de resistencia, con variaciones de uno o dos antimicrobianos entre ellos.

El mayor número de cepas multirresistentes se aisló de la unidad de cuidados intensivos.

Tres cepas albergan integrones de la clase 1. Dos presentaban un único elemento y una cepa tres elementos.

## **RECOMENDACIONES**

Mantener la vigilancia epidemiológica de las infecciones noscomiales, así como

también de elementos genéticos como plásmidos e integrones, debido a que estos están relacionados con la diseminación de genes de resistencia a los antimicrobianos, y así evitar el aumento de cepas multirresistentes en los centros hospitalarios.

Realizar estudios de secuenciación de genes para determinar cuales son los genes que se encuentran circulando en el ambiente hospitalario.

## BIBLIOGRAFÍA

Alonso, G.; Malaver, E.; Guzmán, M. y Rodríguez Leimoine, V. 2005. Caracterización de plásmidos e integrones presentes en bacterias multirresistentes aisladas en diferentes ambientes de Venezuela. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*, 4: 81-84.

Al Naiemi, N.; Duim, B.; Savelkoul, P.; Spanjard, L.; Longe, L.; Bart, Aldert.; Vandebrouck, C. y Jong, M. 2005. Widespread transfer of resistance Gen between bacterial species in an intensive care unit: Implications for hospital epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(9): 4962-4864.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.

Bush, K.; Jacoby, G. y Medeiros, A. 1995. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 1211-1233.

Bruin, B. 1994. Les infections dans les hopitaux. *La Recherche*, 266: 706-707.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. *Performance standards for Antimicrobial Susceptibility testing*. Fifteenth Informational Supplement M100-S15. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards. USA.

Collis, C. y Hall, R. 1992. Site-specific deletion and rearrangement of insert genes catalyzed by the DNA integrase. *Journal of Bacteriology*, 174(5): 1574-1585.

Collis, C. y Hall, R. 1995. Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 39(3): 155-162.

Daikos, G.; Kosmidis, C.; Tassios, P.; Petrikos, G.; Vasilakopoulou, A.; Psychogiou, M.; Stefanou, I.; Avlami, A y Katsilambros. N. 2007. Enterobacteriaceae bloodstream

infecciones: presence of integrons risk factors, and outcome. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 51(7): 2366-2372.

Dawson, S. y Robert, G. 1997. *Bioestadística médica*. Editorial el Manual Moderno S.A. México.

Dubois, V.; Poirel, L.; Maire, C.; Arpin, C.; Nordmann, P. y Quentin, C. 2002. Molecular caracterizatiob of a novel class 1 integron containing *bla*<sub>Ges-1</sub> and a fused product of *aac(3)-Ib/aac(6')-Ib'* gene cassettes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(3): 638-645.

Fernandez, M.; Sousa, T.; Fernandez, E.; Melendez, C. y Piñeiro, L. 2003. Asociación de integrones de la clase 1 con resistencia a múltiples antimicrobianos y plasmidos conjugativos en *Enterobacteriaceae*. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4): 394-397.

Garner, J.; Jarvis, W.; Emori, T.; Horau, T. y Hughes, J. 1988. CDC. Definitions for nosocomial infections. *American Journal of Infection Control*, 16:128-140.

Guerra, B.; Soto, S.; Santiago, C. y Mendoza, C.2000. Antimicrobial resistance and spread of Class 1 Integrons among *Salmonella* Serotypes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(8): 2166-2169.

Goodman, A. Rall, T. Nies, A. y Taylor, P. 1991. *Las bases farmacológicas de la terapéutica en agentes antimicrobianos, penicilina, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos*. Octava edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

González, G.; Mella, S.; Zemelman, Z.; Bello, H. y Domínguez, M. 2004. Integrones y cassettes genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antimicrobianos. *Revista Medica Chilena*, 132: 619-626.

Gravel, A.; Fournier, B. y Roy, P. 1998. DNA complexes obtained with the integron

integrate IntI1 at the *attI1* site. *Nucleic Acid Research*, 26: 4347-4355.

Guzmán, M. 2006. Caracterización de los determinantes que codifican  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en cepas nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae* en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Tesis doctoral. Universidad Central de Venezuela.

Hall, R. y Stokes, H. 1993. Integrons novel DNA elements which capture genes by site-specific recombination. *Genetic*, 90: 105-132.

Koneman, E. Allen, S. Dowell, V. Jonda, W. Sommers, H. y Winn, W. 1999 *Diagnóstico microbiológico*. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. México.

Levesqué, C.; Piche, L.; Larose, C. y Roy, P. 1995. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 39(1): 185-191.

Lucet, J.; Cheuret, S. y Decre, D. 1996. Outbreak of multiply resistant Enterobacteriaceae in an intensive care unit. Epidemiology and risk factors for acquisition. *Clinical Infectious Diseases*, 22: 430-436.

Machado, E.; Canton, R.; Baquero, F.; Galán, J.; Rollan, A.; Peixe, L. y Coque, M. 2005. Integron content of extended-spectrum-  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains over 12 years in a single hospital in Madrid España. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(5):1823-1829.

Maguire, A.; Brown, D.; Gray, J. y Desselberger, V. 2001. Rapid screening technique for class 1 integrons in Enterobacteriaceae and non-fermentative Gram-negative bacteria and its use in molecular epidemiology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45:1022-1029.

Malaver, E. 2003. Estudio de incidencia y caracterización de integrones clase 1 en aislados venezolanos. Trabajo especial de Grado. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Manning, P.; Clark, C. y Focareta, T. 1999. Gene capture in *Vibrio cholerae*. *Trends Microbiology*, 7: 93-95.

Martinez, P. 1997. Integrones: Nueva causa de resistencia a antibióticos. *Revista Española de Quimioterapia*, 10(3): 191-194.

Martínez, P.; Fuit, A.; Schmitz, F.; Verchoef, J. y Jones, M. 1999. Many class 1 integrons comprise distinct stable structures occurring in different species of Enterobacteriaceae isolated from widespread geographic regions in Europe. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 43: 686-689.

Moreno, M.; Pont, M.; Moreno, M.; Baiges, A.; Lombarte, M.; Ganduxe, X. y López, J. 2005. Integrones clase 1 en aislados de *Salmonella enterica* productores de diferentes tipos de betalactamasas recogidos en la región sanitaria de Tortosa. *Infections Microbiology Clinical*, 23: 259-265.

Narvaez, P.; Pedroza, R.; Alonso, G. y Rodriguez Lemoine, V. 2005. Caracterización de plasmidos de resistencia a antibióticos en aislados nosocomiales del hospital universitario de Caracas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1): 29-34.

Navia, M.; Ruíz, J. y Vila, J. 2003. Dispersión intercontinental de una cepa de *Shigella flexneri* resistente a trimetoprima. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21: 401-403.

Peters, E.; Leverstein-Van, H. Box, A.; Verhoef, B. y Fluit, A. 2001. Novel gene cassettes and integrons. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45: 2961-2964.

Recchia, G. y Hall, R. 1995. Gene cassettes: A new class of mobile element. *Microbiology*, 141: 3015-3027.

Sanders, E.; Tenney, J. y Kessler, R. 1996. Efficacy of cefepime in the treatment of infections due to multiply resistant *Enterobacter species*. *Clinical Infectious Diseases*, 23: 545-561.

Stokes, H. y Hall, R. 1989. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site specific gene integration functions: integrons. *Molecular Microbiology*, 3: 1669-1683.

Tenover, F. 2001. Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Clinical Infectology Disease*, 33(3): 108-115.

Torres, L.; Benítez, M.; Domínguez, M.; Torres, O.; Gagliota, V.; Calvo, A.; Rodríguez, N.; Ardils, J. y Pedroza, R. 2005. Detección de integrones clase 1 en cepas de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido tipo SHV y CTX-M grupo 2. "VITAE" <<http://www.caibco.ucv.ve>> (01/01/07).

White, P.; Melder, C. y Rawlinson, W. 2001. Integrones and gene cassette in Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45: 2658-2661.

Zhang, H.; Shi, Li.; Lin, L.; Go, S.; Zhang, X.; Yamasaki, S.; Miyoshi, S. y Shimmed, S. 2004. Identification and characterization of class 1 integron resistance gene cassettes among *Salmonella* strains isolates from healthy humans in China. *Microbiology Immunology*, 48(9): 639-645.

# **Hoja de Metadatos**

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

<b>Título</b>	Integrones de la clase 1 en cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con infección nosocomial.
<b>Subtítulo</b>	

## Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Rodríguez O., Eliosmar J.</b>	<b>CVLAC</b>	<b>16 827 845</b>
	<b>e-mail</b>	<b>eliosmar_o@yahoo.com</b>
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

## Palabras o frases claves:

<b>Integrones</b>
<b>Infección Nosocomial</b>
<b>Resistencia Bacteriana</b>
<b>Enterobacterias</b>

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

## Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

## Resumen (abstract):

Se determinó la presencia de integrones de la clase 1 en 27 cepas de enterobacterias provenientes de pacientes con infección nosocomial, atendidos en diferentes servicios del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Estado Sucre. La susceptibilidad antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión en disco, y la presencia de integrones, a través de la reacción en cadena de la polimerasa, utilizando iniciadores que hibridan en la región conservada de un integrón de la clase 1. Los mayores porcentajes de resistencia se presentaron para el grupo de los  $\beta$ -lactámicos; el 100% de las cepas fue resistente a ceftazidima y 96,29% a cefotaxima. De igual forma se observó resistencia para tobramicina (44,44%), gentamicina (40,74%) y amikacina (25,92%), ciprofloxacina (22,22%), levofloxacina (14,81%), trimetoprim-sulfametoxazol (44,44%), tetraciclina (51,85%) y cloranfenicol (70,37%). El 11,11% de las cepas presentó integrones de la clase 1 con tamaños entre 750 y 1 200 pb; 2 cepas contenían un integrón y una cepa presentó tres elementos. La presencia de integrones de la clase 1, puede jugar un papel importante en la diseminación de un determinante de resistencia en el centro hospitalario.

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Guzmán, Militza	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8 954 225
	e-mail	miltzaguz@cantv.net
	e-mail	
Salazar, Elsa	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	10 460 717
	e-mail	elsazul2006@hotmail.com
	e-mail	
De Donato, Marcos	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	7 259 865
	e-mail	dedonatomarcos@yahoo.com
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	05	23

Lenguaje: spa

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

## Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS-EJRO	Application.doc

## Alcance:

Espacial: Universal (Opcional)

Temporal: Intemporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:  
Universidad de Oriente

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

## Derechos:

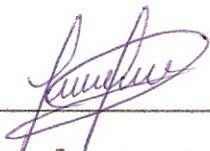
El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.



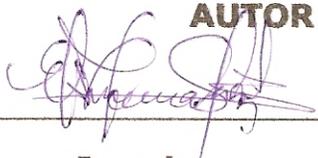
**Eliosmar Rodriguez**

**AUTOR 2**

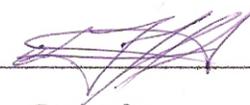
**AUTOR 3**



**Asesora:  
Militza Guzmán**



**AUTOR 4  
Jurado  
Profa. Elsa Salazar**



**Jurado  
Prof. Marcos De Donato**

**POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:**

