

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE SEGUNDA ESPECIALIDAD**



**TRABAJO ACADÉMICO
REALIZADO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA
DEL HOSPITAL REGIONAL PUCALLPA
EN EL PERÍODO DEL 2017 AL 2019**

Presentado por:

MONICA ROCIO HUAMAN ITURRIZAGA

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

AREQUIPA - PERÚ

2021

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	7
MARCO LEGAL	8
CAPITULO I: MARCO TEÓRICO	9
1.1. Definición de Resistencia Bacteriana	9
1.2. Mecanismos de Resistencia Bacteriana	10
1.3. Tipos de Resistencia Específica	11
1.4. Métodos de Detección de Resistencia en el Laboratorio	14
CAPITULO II: METODOLOGÍA	17
2.1. Ámbito geográfico	17
2.2. Población	18
2.3. Tipo de Estudio	18
2.4. Técnicas de Aislamiento e Identificación Bacteriana	18
2.5. Técnicas de Sensibilidad Antimicrobiana	20
CAPITULO III: RESULTADOS	21
CAPITULO IV: DISCUSIÓN	27
CAPITULO V: CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA	30

RESUMEN

Introducción. Es uno de los problemas de salud pública que amenaza en convertirse en la primera causa de muerte en el mundo, el Organismo Mundial de la Salud solicitó a los países miembros elaborar un Plan Mundial para contrarrestar la Resistencia Antimicrobiana, para lo cual el Perú necesita información en cada establecimiento de salud.

Objetivo: Determinar qué mecanismos de resistencia bacteriana se encuentran en los cultivos aislados en consultorios externos y áreas de hospitalización en el Hospital Regional de Pucallpa (HRP) durante los años 2017 al 2019.

Materiales y Métodos: El presente es un estudio descriptivo observacional de corte transversal retrospectivo. Durante un período de 3 años se analizaron un total de 2726 cultivos, el 59.80% pertenece a la consulta externa y 40.20% al área de hospitalización. Los niveles de sensibilidad se evaluaron mediante disco-difusión en agar e interpretados con la guía CLSI 2019.

Resultados: El 26.51% fue AmpC y 16.20% Blee ambos más frecuentes en consultorios externos y 6.98% carbapenemasas en mayor frecuencia en hospitalización. Además 42.95% resistencia a meticilina y 4.81% resistencia a vancomicina en *Enterococcus*.

Conclusión: Los mecanismos de resistencia aparecen con mayor frecuencia en pacientes externos, donde prevalece AmpC. Esto debe tenerse en cuenta para los tratamientos empíricos.

INTRODUCCIÓN

En 1913, Paul Ehrlich gracias a los trabajos realizados en microorganismos parásitos describió los mecanismos básicos de acción de las drogas en microbios elaborando "El principio de fijación en la quimioterapia " (1). Cuando Fleming, en 1928, descubre el primer antibiótico en el mundo, la penicilina, y es aplicado en Estados Unidos en el accidente de Chicago con un éxito escandaloso, se creyó que este descubrimiento traería como consecuencia la eliminación de las infecciones en el hombre; sin embargo a partir de la década del 40, más que de uso, de abuso de la penicilina, los científicos se dieron cuenta que las cosas no se presentaban como se había pensado de inicio y que todas las infecciones no eran resueltas por la penicilina. Se da inicio a la carrera de los científicos y de la industria farmacéutica de la búsqueda de nuevos fármacos y surge la estreptomocina, tetraciclina, cloranfenicol y muchos otros agentes y con esto también el desarrollo de la resistencia a dichos fármacos. (2)

Hoy en día, la resistencia a los antimicrobianos (RAM) ha sido identificada como una amenaza para la salud pública mundial, los efectos dañinos de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) ya están manifestándose en todo el mundo. Por ejemplo, en Europa y EE. UU. se cobran al menos 50.000 vidas cada año, con muchos cientos de miles más muriendo en otras áreas del mundo; también la presencia en 15 países europeos de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina (MRSA) en el 10% de las infecciones del torrente sanguíneo y varios de estos países con tasas de resistencia cercanas al 50%; la detección de pacientes en unidades de cuidados intensivos, unidades de hematología y unidades de trasplante que tienen infecciones pan resistentes, lo que significa que no hay un tratamiento eficaz disponible. La RAM es un problema que debería preocupar a todos país independientemente de su nivel de ingresos (3) (4).

La amenaza de infecciones cada vez más resistentes a los medicamentos no es menos grave en países como Perú donde se observa una prevalencia del 73% de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Klebsiella* aisladas de infecciones del torrente sanguíneo en 8 hospitales de Lima; la presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina hallada en granjas porcinas tecnificadas fue de 17%; o el aislamiento de 95 cepas de *Salmonella* sp a partir de muestras de órganos de aves resistentes a Ác. Nalidixico (96.5%), Sulfametoxazol/Trimetroprim (93.1%), Ampicilina (79.3%), Furazolidona 68.97%. (5) (6) (7)

Varios son los factores que contribuyen con la resistencia, el uso excesivo e inadecuado de antimicrobianos se facilita en muchos lugares por su disponibilidad sin receta, las prácticas de prescripción varían enormemente entre (y a menudo dentro de) países, la velocidad y el volumen de los viajes intercontinentales hoy crea nuevas oportunidades para que los patógenos resistentes a los antimicrobianos se difundan a nivel mundial, la falta de un sistema de vigilancia y la falta de estandarización de la información.

La escasez de información es una barrera clave para el desarrollo y la implementación satisfactoria de programas de administración de antimicrobianos, programas de vigilancia y guías locales para el uso de los antimicrobianos. Dicho conocimiento es básico por lo que el presente trabajo académico contribuye con la generación de dicha información, al describir los mecanismos de resistencia bacteriana en el Hospital Regional de Pucallpa entre el 2017 al 2019.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Determinar los mecanismos de resistencia bacteriana presentes en el Hospital Regional de Pucallpa en los años 2017 al 2019

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir los microorganismos por áreas hospitalarias y cultivo
- Definir los microorganismos por cultivo
- Determinar los mecanismos de resistencia bacteriana en gram negativos
- Establecer los mecanismos de resistencia bacteriana en gram positivos

MARCO LEGAL

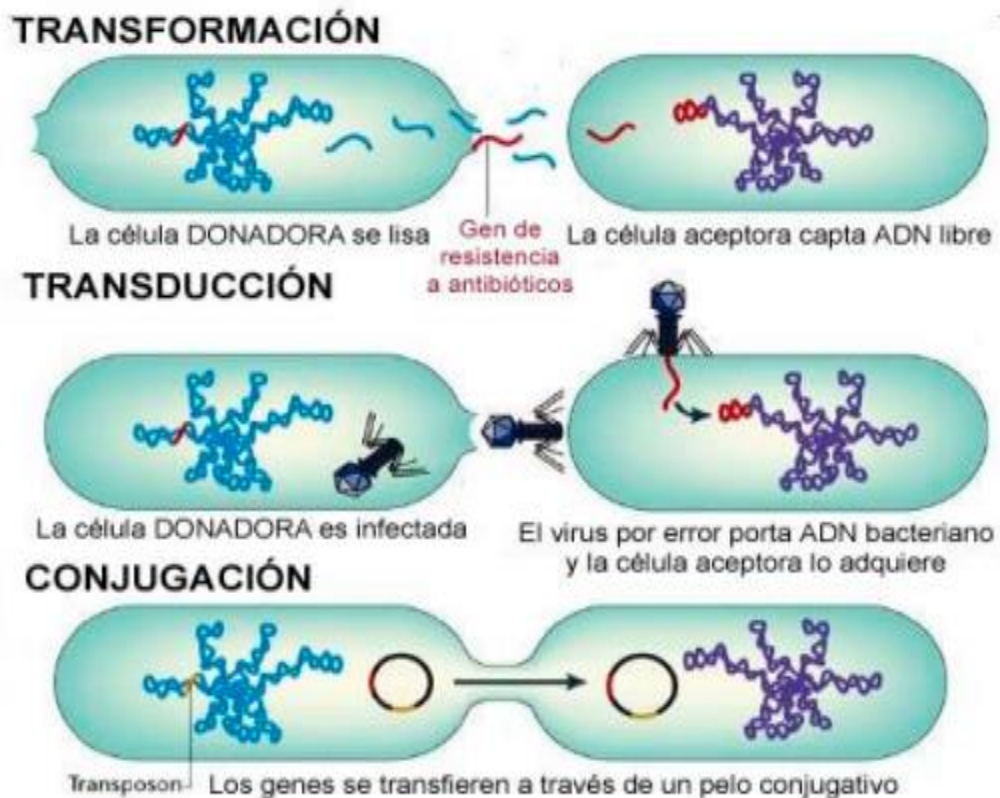
1. Ley general de salud Ley N° 26842.
2. Norma Técnica de Salud NTS N° 072 MINSA
3. Resolución Ministerial N° 163-2020-MINSA
4. Manual de procedimientos de obtención de muestras para el diagnóstico Bacteriológico en infecciones intrahospitalarias. MINSA, INS, 2002.
5. Manual de bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. MINSA, Instituto Nacional de Salud, 2005
6. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método Disco Difusión. MINSA, Instituto Nacional de Salud, 2002.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI. Estándares de desempeño para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos 2019
8. Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos 2019-2021.

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Definición de Resistencia Bacteriana

La resistencia de las bacterias a la acción de antimicrobianos consiste en la interrupción o alteración de uno o más pasos esenciales para una acción antimicrobiana eficaz. La resistencia puede ser natural o intrínseca en las bacterias si carecen de diana para un antibiótico; o puede ser adquirida, debida a la modificación de los genes bacterianos que puede aparecer por mutación en el cromosoma o por transferencia de genes, ésta última la más importante, mediada por plásmidos, transposones o integrones, puede pasar de una bacteria a otra. (Fig. 1) Tales mecanismos también generan resistencia a otros antimicrobianos de la misma clase y, a veces, a muchos compuestos de diferentes clases. Si bien este fenómeno varía de una zona geográfica a otra y también a lo largo del tiempo, lo cierto es que tarde o temprano todo antimicrobiano genera resistencia. (8).

Figura N°1: Transferencia de Genes en la Resistencia Adquirida



1.2. Mecanismos de Resistencia Bacteriana

Los fenómenos de resistencia antimicrobiana son variados, destacando entre ellos cuatro mecanismos principales

1) Enzimas hidrolíticas

Las bacterias sintetizan enzimas que hidrolizan al antimicrobiano, destruyendo su acción antibacteriana, sin tener posibilidad de actuar sobre el microorganismo. De éstas las más frecuentes son las β -lactamasas, que hidrolizan la unión peptídica endocíclica del anillo β -lactámico (9), (10).

2) Modificación del sitio activo

La modificación de un aminoácido genera un blanco diferente y así disminuye la afinidad de unión por el antimicrobiano así tenemos algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, de éstos el más común es la modificación de PBP (penicillin-binding-protein) complejo enzimático que permite la síntesis del peptidoglicano, si se produce mutación del sitio de unión al antimicrobiano, éstos no pueden actuar y se genera resistencia a ellos.

3) Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antimicrobiano

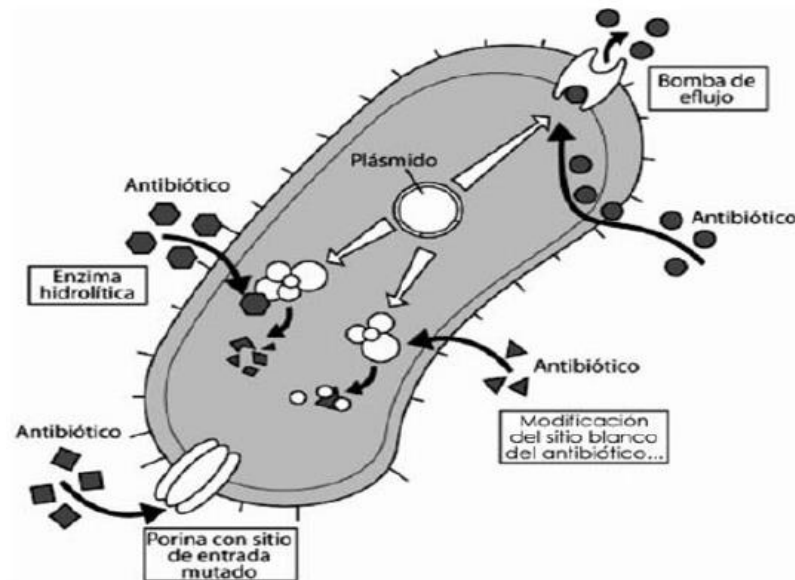
Cambios en el diámetro y/o número de porinas pueden bloquear el ingreso del antimicrobiano a la bacteria. La internalización de compuestos hidrófilicos se lleva a cabo por canales denominados porinas, que se encuentran en la membrana interna, estos canales están llenos de agua por lo que la penetración de los antibacterianos en este caso dependerá del tamaño de la molécula, hidrofobicidad y carga eléctrica.

4) Bombas de eflujo

Transporta al antimicrobiano hacia el exterior de la célula sin modificaciones, pero sin acción antimicrobiana, éstas se encuentran en la membrana celular. Una amplia variedad de bombas de eflujo proveen resistencia antimicrobiana tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas transmembranales. En el caso de las bacterias Gram negativas involucra también componentes en la membrana externa y citoplasma. Estas proteínas forman

canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra (11). Fig. 2

Figura 2: Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana



1.3. Tipos de Resistencia Específica

1.3.1. Cocos Gram Positivas

Estafilococo

- Resistencia a la meticilina. Esta resistencia se debe a la adquisición del gen *mecA* que codifica la proteína fijadora de penicilina (PBP) PBP2a, que posee baja afinidad por los betalactámicos.
- Resistencia a los macrólidos. La presencia de genes *erm* es el mecanismo más frecuente y confiere un fenotipo de resistencia denominado MLS_B (resistencia a los macrólidos, las lincosamidas y las estreptograminas del grupo B).
- Susceptibilidad intermedia a la vancomicina. La sigla VISA o GISA describe las cepas de *S. aureus* con sensibilidad intermedia a la vancomicina u otros glicopéptidos.
- La resistencia a la vancomicina (CIM > 32 µg/ml) o VRSA es en extremo rara, particularmente para *S. aureus*. (12) (13)

Enterococo

- Resistencia a la vancomicina (VRE) Esta resistencia se debe a la síntesis de precursores de la pared celular modificados (codificados por genes van) con baja afinidad por los glucopéptidos, es de origen plasmídico y está mediada por transposones, lo que permite su transmisión a otras especies. Se han descrito varios fenotipos de VRE algunos con carácter intrínseco (vanC), y otros con carácter adquirido (vanA, vanB, vanD, vanE, vanG, vanL, vanM y vanN, los cuales presentan diferentes perfiles de resistencia.
- La resistencia de alta carga a los aminoglucósidos. Los enterococos presentan un mecanismo de resistencia intrínseco de bajo nivel a los aminoglucósidos debido al transporte deficiente de estos antimicrobianos al interior de la bacteria. Sin embargo, cuando se asocia un aminoglucósido con otro antimicrobiano que actúa a nivel de la pared celular (betalactámicos o glucopéptidos) se produce un efecto sinérgico. Los enterococos adquieren determinantes genéticos asociados a la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, lo que conlleva la expresión de altos niveles de resistencia (RAN) a dichos compuestos y la pérdida del efecto sinérgico anteriormente indicado. (13) (14)

1.3.2. Bacilos Gram Negativos

Betalactámicos

Se puede producir por varios mecanismos, pero el más importante por su frecuencia y eficacia es la producción de betalactamasas. La continua descripción de nuevas betalactamasas ha creado problemas en su clasificación y nomenclatura. Actualmente se conocen más de 890 enzimas. Bush en el año 1989 propuso una clasificación basada en la actividad enzimática o afinidad de las enzimas por diferentes sustratos y su sensibilidad a la acción inhibidora por el ácido clavulánico. Esta clasificación fue revisada en 1995, 2010 y 2018 por Bush, Jacoby y Medeiros. Por otro lado Ambler en 1980 propuso una clasificación en función de los mecanismos de interacción enzima-sustrato y la secuencia de aminoácidos de las betalactamasas en la que distinguen cuatro clases de enzimas designados como A, B, C y D.

- Betalactamasas de espectro extendido: (Blee) enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico causando resistencia a penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni a carbapenémicos, siendo inhibidas por el ácido clavulánico. Los genes que las

codifican se encuentran en elementos móviles que facilitan su diseminación y con frecuencia presentan coresistencia a otros antibacterianos como aminoglucósidos, cotrimoxazol y quinolonas. (12)

- Las AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas (cefotaxima y cefotetán) y, en menor medida, las de tercera generación, mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación y los carbapenémicos. Este espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (AmpC de espectro extendido), La cloxacilina y el aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados (ácido fenilborónico), inhiben a las betalactamasas de tipo AmpC. La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, cuando se expresa de forma constitutiva (ausencia de genes reguladores del tipo ampD o ampR) puede hacerlo a niveles basales bajos, confiriendo un fenotipo de resistencia natural o salvaje característico de la especie bacteriana, o puede hacerlo a unos niveles muy superiores al basal produciendo cantidades elevadas de AmpC (hiperproducción de AmpC). En especies bacterianas como *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*, etc. el gen se expresa de forma inducible. En los aislados que tienen un gen inducible, su expresión puede estar desreprimida establemente de forma parcial o total dando lugar a la producción estable de grandes cantidades de AmpC (hiperproducción parcial o total de AmpC). Independientemente del mecanismo que conduce a una hiperproducción de AmpC, los aislados hiperproductores de AmpC presentan un fenotipo de resistencia a las penicilinas, las asociaciones de betalactámicos con inhibidores de β -lactamasas, cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas, así como a las de tercera generación, pero en grado variable, dependiendo del nivel de hiperproducción.
- Carbapenemasas, betalactamasas capaces de hidrolizar este grupo de antimicrobianos y que se han asociado a elementos genéticos transferibles. Estas enzimas se denominan genéricamente carbapenemasas y se agrupan en las diferentes clases moleculares de Ambler que se corresponden con diferentes grupos funcionales de la clasificación de Bush y Jacoby del año 2010. (13)

Quinolonas

El principal mecanismo de resistencia a quinolonas es consecuencia de mutaciones en los genes de la ADN girasa y la topoisomerasa IV. En los últimos años se describen con mayor frecuencia resistencias plasmídicas (*plasmid mediated quinolone resistance*, PMQR) como la mediada por los genes *qnr*, el

gen *aac (6')-Ib-cr*, que codifica la enzima que inactiva aminoglucósidos que acetila también las quinolonas y los genes *oqxAB* y *qepA* que codifican bombas de expulsión activa. Todos estos genes plasmídicos determinan incrementos relativamente pequeños en las CMI de las quinolonas.

Aminoglucósidos

El principal mecanismo de resistencia a aminoglucósidos es la inactivación enzimática y la interpretación de los diferentes patrones observados suele ser muy compleja y difícil de realizar. (13)

1.4. Métodos de Detección de los Mecanismos de Resistencia en el Laboratorio

Estafilococos

- La resistencia a la penicilina se puede deducir de acuerdo con la CIM: si es $> 0,25 \mu\text{g/ml}$, se puede inferir la presencia de β -lactamasas, los aislados con CIM $< 0,03 \mu\text{g/ml}$ son considerados no productores y susceptibles. Se determina con disco difusión utilizando un disco de penicilina de 10 unidades, la lectura debe ser $\geq 29 \text{ mm}$.
- La detección de MRSA se puede detectar en el laboratorio mediante la técnica de difusión con discos de oxacilina ($1 \mu\text{g}$) y/o cefoxitina ($30 \mu\text{g}$) o por dilución en caldo o en agar. La cefoxitina es un marcador alternativo de la presencia de *mecA* ya que es un inductor más potente del sistema regulatorio de *mecA*.
- Si el resultado es resistente o presenta halos intermedios o crecimiento de colonias en el halo de inhibición, debe realizarse la prueba confirmatoria mediante el suplemento del Mueller-Hinton con NaCl 4% y la incubación a $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Esto se hace para favorecer el crecimiento de las multirresistentes y determinar si no se trata de una cepa BORSA (borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*), las cuales presentan diámetros muy cercanos a los resistentes y, sin embargo, pueden ser tratados con inhibidores de β lactamasas y β lactámicos; las cepas BORSA no tienen el gen *mecA* responsable de la resistencia a la metilicina. (15)
- Resistencia a los macrólidos. La resistencia puede determinarse mediante la prueba D que consiste en colocar un disco de clindamicina de $2 \mu\text{g}$ a una distancia de 15 a 26 mm de uno de $15 \mu\text{g}$ de eritromicina. Esta prueba se utiliza cuando en el reporte la eritromicina es resistente pero la clindamicina es sensible. Si al cabo de la incubación

se observa una zona de inhibición en D, esto indica que puede inducirse la resistencia a la clindamicina; por lo tanto, debe informarse en el reporte.

- Resistencia a la vancomicina. Cuando en el laboratorio se aísla una cepa de estafilococo resistente a la vancomicina, se debe realizar una verificación de la identificación bacteriana y de la pureza del cultivo con el fin de evidenciar que no se trate de una contaminación. La identificación de una cepa resistente no es fácil, ya que algunos de los métodos más utilizados para realizar antibiogramas no los detectan (difusión en disco o microdilución), se recomienda, particularmente, calcular una CIM a la vancomicina en todas las cepas de MRSA y en todos los *S. aureus* de pacientes en tratamiento con vancomicina que no evolucionan bien, a pesar de ser susceptibles in vitro. (13) (15) (16)

Enterococo

- El método de referencia para detectar la resistencia a la vancomicina recomendado por el CLSI es el de dilución en agar pero pocos laboratorios pueden utilizar este método en su rutina diaria. Cuando se utiliza la técnica de difusión con disco, se consideran cepas de VRE aquéllas cuyo halo de inhibición es < 14 mm; son enterococos sensibles a la vancomicina aquéllos cuyo halo es >17 mm. Los halos entre 15 y 16 mm se consideran intermedios. Para la teicoplanina, se considera que una cepa es resistente si el halo es < 10 mm y es sensible si el halo es > 14 mm. En cuanto a los métodos comerciales de microdilución en caldo (Vitek, MicroScan), no son confiables, por lo que inicialmente no se aconseja su uso como prueba única; todos resultados inesperados para los enterococos, ya sea *E. faecalis* o *E. faecium*, por estos métodos, deben ser confirmados.
- Difusión con discos de alta carga (gentamicina, 120 µg; estreptomina, 300 µg) en agar Mueller Hinton, con un inóculo equivalente al 0,5 de la escala de McFarland e incubación a 35°C durante 16-18 h (recomendaciones del CLSI). En función del halo de inhibición se establece si la cepa presenta RAN a los aminoglucósidos estudiados y con ello si es factible la sinergia de dichos compuestos con antimicrobianos que actúan a nivel de la pared celular. Si el halo de inhibición es ≤6 mm (tanto para gentamicina como para estreptomina) se considera que hay RAN y que por tanto no existirá sinergismo entre aminoglucósidos y betalactámicos o glucopéptidos. (13) (15)

Enterobacterias

- B-Lactamasa de Espectro Extendido: se consideran sospechosas cuando presentan una CIM mayor o igual a 2 µg/ml y si presentan los siguientes halos de inhibición, por lo menos, con uno de los siguientes antibióticos: Cefpodoxima: < 22 mm Ceftazidima: < 22 mm Aztreonam: < 27 mm Cefotaxima: < 27 mm Ceftriaxona: < 25 mm. Se debe realizar una prueba confirmatoria con dos métodos el americano, también llamado de doble disco, con discos que contengan simultáneamente ceftazidima o cefotaxima y amoxicilinaclavulanato 30/10 µg y se compara el diámetro obtenido usando sólo ceftazidima o cefotaxima 30 µg; un aumento de 5 mm en el halo del disco de doble concentración es considerado positivo para BLEE. El otro método es el francés también conocido como sinergia o aproximación de disco; en un antibiograma convencional se colocan los discos de ceftazidima (30µg), amoxicilinaclavulanato (30/10µg/dl) y cefotaxima (30µg), a una distancia aproximada de 25mm (centro-centro); para aumentar la sensibilidad de la prueba, ésta puede realizarse con varios discos incluyendo otras cefalosporinas de tercera y cuarta generación, o aztreonam, o ambos. En cualquiera de los casos, debe observarse un aumento del halo de inhibición de la cefalosporina potenciado por amoxicilinaclavulanato. Prueba tridimensional. Se realiza de manera similar, sólo que al lado del sensidisco de ceftazidima se hace un pozo donde se coloca un inóculo adicional de la bacteria. Si este inóculo crece en el halo quiere decir que existe un efecto de inóculo y que, a mayor concentración de la bacteria, ésta producirá la enzima suficiente para inactivar el antibiótico. E test. Consiste en una tira que posee en uno de sus extremos concentraciones progresivas de ceftazidima (cefotaxima) y, en el otro extremo, concentraciones progresivas de amoxicilina-clavulanato más ceftazidima (cefotaxima). Debe observarse una diferencia equivalente a un cociente Cla-CAZ(CTX)/ CAZ(CTX) de 8 para que la prueba sea positiva. Sistemas automatizados, como el Vitek, las nuevas generaciones de Microscan y los paneles BD Phoenix poseen pozos con la doble concentración de antibiótico para realizar la detección. (13) (15) (16)

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

2.1. **Ámbito Geográfico**

La Región Ucayali, se encuentra ubicada en el Centro Oriente del territorio peruano, en la Región Amazónica y forma parte de la Selva Baja. La constituyen 4 provincias: Coronel Portillo, Padre Abad, Atalaya y Purús. En Coronel Portillo se encuentra Pucallpa, capital de la región; aquí se ubica el Hospital Regional de Pucallpa que pertenece a la Dirección de Salud de Ucayali junto con 01 Hospital de Apoyo Amazónico, 14 Centros de Salud y 283 Puestos. El HRP categorizado en el Nivel II – 2 inicia su funcionamiento en forma oficial el 27 de Abril de 1,968 bajo el nombre de: “Hospital Centro De Salud Pucallpa” siendo Presidente de la Republica Fernando Belaunde Terry y Ministro de Salud el Dr. Javier Arias Stella. Construido y equipado por el Fondo Nacional de Salud, con capacidad de 156 camas y un total de 220 trabajadores, entre médicos enfermeras y personal técnico, bajo la Dirección del Dr. Raúl Loayza Alegre. El Hospital se encuentra ubicado en la ciudad de Pucallpa, exactamente en la Manzana 125-A, contando con un área total de 43,061.45 m² siendo el primer Hospital de la región Ucayali. Actualmente se está construyendo una nueva infraestructura que contará con nuevos equipos bio-médicos y más profesionales especialistas. Se encuentra dentro del marco de los lineamientos de Política del Sector Salud, habiendo establecido sus propios lineamientos Regionales, cuyo objetivo principal es liderar un proceso de gerencia basada en el uso adecuado de los recursos a través del análisis de información confiable y oportuna para lograr una acertada respuesta sanitaria a los problemas de la región.

El Hospital Regional de Pucallpa cuenta con 164 camas hospitalarias distribuidas en

➤ **Servicios básicos**

Medicina (Med) 42 camas, Cirugía (Ciru) 38 camas, Pediatría (Ped) 29 camas, Ginecología-Obstetricia (Gine) 5 camas

➤ **Unidades**

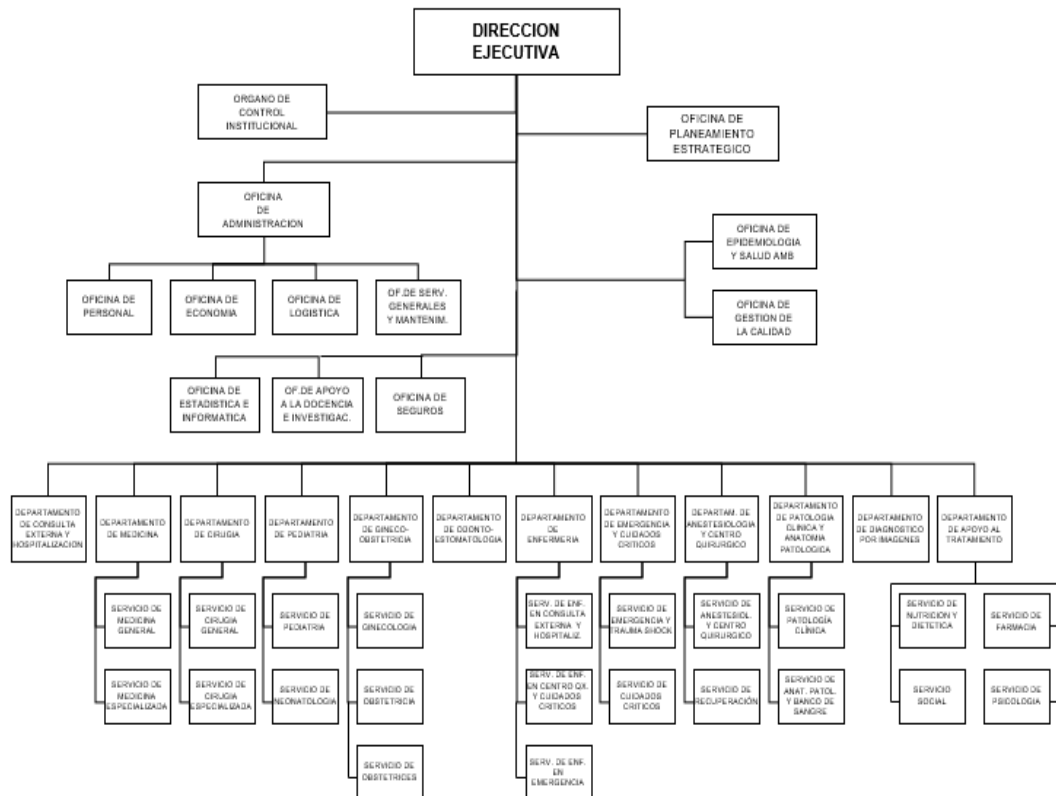
Neonatología (Neo) 4 cunas, Quemados (Quem) 4 camas, Unidad de Tratamiento Intensivo (UTI) 7 camas, Unidad de Cuidados Intermedios (UCIM) 4 camas

➤ **También cuenta con especialidades**

Oftalmología, Traumatología, Cabeza y Cuello, Cardiología, Anatomopatología, Infectología, Dermatología, Neurología, Gastroenterología, y Radiología.

El HRP cuenta con 12 departamentos que dependen directamente de la Dirección, dentro de estos se encuentra el Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica (17) (18) (Fig. 3)

Figura N°3: Organigrama del Hospital Regional de Pucallpa



2.2. Población

Está constituida por todos los cultivos positivos de orina, sangre, secreciones y líquidos corporales que ingresaron al área de Microbiología desde enero del 2017 a diciembre del 2019.

2.3. Tipo de Estudio

Este es un estudio descriptivo, observacional de corte transversal retrospectivo.

2.4. Técnicas de aislamiento e identificación Bacteriana

Las muestras de orina, sangre, secreciones y líquidos corporales se reciben junto con la solicitud del médico. De acuerdo al Manual de Procedimientos Bacteriológicos del Instituto Nacional de Salud (19) las muestras se siembran en los medios que corresponda según el tipo de muestra. Los medios utilizados generalmente son Agar

Mac Conkey, Agar sangre, Agar azida de sodio, Agar manitol salado; agar Sabouraud, y agar chocolate; en ocasiones especiales el Hospital adquiere medios cromogénicos. Cada muestra es sembrada en mitad de placa, se incuba a 35°C por 24hrs, de no haber crecimiento se dejan 24 horas más; si continua sin crecimiento se dan por negativos los cultivos. Para identificar el microorganismo, se utilizan pruebas bioquímicas manuales: oxidasa, catalasa, coagulasa, agar triple sugar iron (TSI), agar lisina descarboxilasa (LIA), agar citrato de simons, agar sulfuro de hidrogeno indol movilidad (SIM), agar bilis esculina, agar urea, agar movilidad ornitina (MIO), agar cetrimide. El tiempo de incubación es 18 a 24hr a 35°C

2.4.1 Urocultivos

Las muestras de orina en condiciones de esterilidad se siembran en placas con Agar sangre y agar Mac Conkey, para lo cual se toma la muestra de orina con el asa de siembra estéril de 10 µl y se introduce en el frasco en forma vertical. Las placas son incubadas por 24hrs a 35 °C, si no hay crecimiento se vuelven a incubar por 24 hrs más. La evaluación consiste en 3 pasos, primero el recuento de colonias que se multiplica por el factor de dilución para obtener las UFC por ml. Luego el examen directo trasvasando 10 ml a un tubo para centrifugarla a 5000 rpm, por 5 min. para obtener el sedimento; por último una coloración gram a la muestra total. El cultivo es positivo si el recuento es mayor igual a 100,000 UFC/ml, sedimento patológico y se observan gérmenes en el gram. Es negativo si el recuento es menor o igual a 10,000 UFC/ml. Se considera contaminado cuando se aíslan tres o más especies bacterianas.

2.4.2 Hemocultivos

Los frascos de hemocultivos comerciales Bact Allert se incuban a 35°C por 5 días en el equipo automatizado. El crecimiento en los frascos se visualiza en la pantalla del equipo y se procede al subcultivo. Para lo cual, previa desinfección de la tapa del frasco con alcohol al 70% y con una jeringa estéril, se extrae la muestra de sangre. Una gota de la muestra del hemocultivo se coloca en un extremo de la superficie de las placas de agar sangre, agar MacConkey, manitol salado, agar chocolate, agar sabouraud y sobre una lámina portaobjetos para hacer un frotis y coloración Gram. La siembra es por estriado y agotamiento para obtener colonias aisladas. Las placas se incuban a 35°C por 24 horas. Si no hay crecimiento a las 24 horas seguir incubando hasta por 48 horas. Si al sexto día el equipo lo reporta Negativo se informará como Hemocultivo Negativo.

2.4.3 Heridas

Las muestras de herida operatoria se siembran en placas de agar sangre, MacConkey, Sabouraud. Si la muestra fue tomada con hispo este se rota sobre la superficie de los medios de cultivo tratando que toda su superficie haga contacto con el agar, empezando con el agar sangre, MacConkey y los demás medios. Se incuban las placas de agar sangre y agar MacConkey en condiciones aeróbicas por 24 horas. Si no se observa crecimiento seguir incubando hasta las 48 horas.

2.4.4 Secreción tracto respiratorio

Las muestras del tracto respiratorio inferior se consideran las muestras de secreción traqueal, aspirado transtraqueal, lavado y cepillado bronco alveolar. Se selecciona la porción de la muestra más purulenta o que contenga sangre y se siembra en la superficie de las placas con los medios de cultivo de agar sangre, MacConkey, sabouraud. Las placas se incuban a 35°C por 24 horas. Si no hay crecimiento a las 24 horas seguir incubando hasta por 48 horas.

2.5. Técnicas de Sensibilidad Antimicrobiana

La prueba de sensibilidad a los antibióticos de las cepas aisladas se realizó por el método de Disco difusión, Kirby-Bauer según el INS (20). La lectura e interpretación de los halos de inhibición están basados en los puntos de cortes establecidos por el CLSI (15).

Se procede en dos tiempos, en el primero colocamos los discos indicadores, que permiten la sospecha de los mecanismos de resistencia: para gram negativos 3 discos: cefoxitina, cefotaxima y un carbapenem (imipenem o meropenem) y para gram positivos vancomicina, penicilina, cefoxitina. El segundo día colocamos los discos de sensibilidad de tal forma que buscamos la sinergia entre antibióticos para confirmar la presencia de resistencia bacteriana. Para confirmar la resistencia a la vancomicina en *Staphylococcus* utilizamos las tiras de Épsilon Test.

Todos estos datos son reportados en los cuadernos de trabajo. Posteriormente se envía a la secretaría del laboratorio para la transcripción de los resultados y la entrega.

CAPITULO III: RESULTADOS

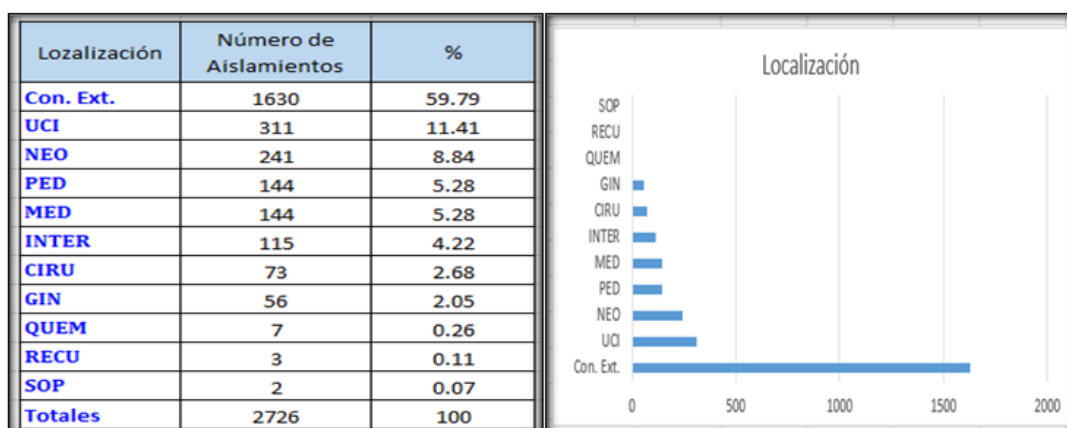
En el Hospital Regional de Pucallpa, entre los años 2017 y 2019 se han obtenido 2726 cultivos positivos, los microorganismos gram negativos se presentaron en 70.43%, los gram positivos en 23.66% y las levaduras en 5.91%. En el 2018 el número de positivos fue mayor 35.76%. Tabla N°1

Tabla N°1: Distribución de microorganismos por año según coloración Gram

Microorganismos según Gram	2017		2018		2019		Totales	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Bacilos Gram Negativos	536	67.42	701	71.90	683	71.44	1920	70.43
Cocos Gram Positivos	215	27.04	229	23.49	201	21.03	645	23.66
Levaduras	44	5.53	45	4.62	72	7.53	161	5.91
TOTALES	795	100	975	100	956	100	2726	100.00

La distribución de aislamientos por servicio en el Hospital Regional de Pucallpa en los años de estudio 2017 al 2019 se encuentra en la Tabla N°2 y Fig. N°4

Tabla N°2 y Figura N°4: Número de Aislamientos por Servicio



Según la procedencia de la muestra, los cultivos de consultorio externo/emergencia fueron 59.79% (1630) y del área de hospitalización 40.20% (1096). Se observa que las bacterias gram negativas predominan en pacientes de consultorio externo 67.60% respecto a los hospitalizados 32.40%; destacan en pacientes externos *Escherichia coli* 75.65% y *Enterobacter spp* 5.8% y en pacientes hospitalizados *Escherichia coli* 51.12%

seguida por *Pseudomonas aeruginosa* 15.91% y *Citrobacter* spp 8.36%. Lo contrario ocurre en gram positivos, predominan en pacientes hospitalizados, 57.06%, respecto a los pacientes de consultorio externo, 42.94%; destacan en consultorio externo bacterias como *Staphylococcus* spp Coagulasa Negativa (SCN) 44.40%, y *Staphylococcus aureus* 35.74%; en pacientes hospitalizados SCN 35.34% y *Staphylococcus aureus* 17.51%. En cuanto a levaduras, en hospitalizados se presentan en 65% y en consultorio externo 34.16%; tanto en pacientes de consultorio externo como hospitalizados destacan *Candida albicans* con 85.45% y 59.62% respectivamente. Tabla N°3

Tabla N°3: Distribución de Microorganismos por Área Hospitalaria

Microorganismos	Cons. Ext.	Área Hospitalaria										Totales
		PED	UCI	GIN	NEO	CIRU	INTER	MED	QUEM	SOP	RECU	
<i>Escherichia coli</i>	982	58	72	27	42	30	26	55	3	2	3	1300
<i>Enterobacter</i> sp	76	3	9	3	5	0	3	8	0	0	0	107
<i>Klebsiella</i> sp.	33	1	10	0	4	2	1	5	0	0	0	56
<i>Citrobacter</i> sp.	69	9	15	1	6	7	6	7	1	0	0	121
<i>Alkaligenes faecalis</i>	28	4	8	3	8	2	4	2	1	0	0	60
<i>Proteus</i> sp.	73	3	5	3	1	2	4	7	0	0	0	98
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	1	46	1	4	10	16	20	1	0	0	128
<i>Acinetobacter</i> spp	6	0	24	0	1	4	10	1	0	0	0	46
<i>Neisseria</i> sp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Shigella</i> sp	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Yersinia</i> sp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Serratia</i> sp.	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Totales	1298	79	189	39	71	57	71	105	6	2	3	1920
<i>Enterococcus faecalis</i>	41	3	7	4	0	2	2	2	0	0	0	61
<i>Streptococcus</i> α hemolitico	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6
<i>Streptococcus</i> no hemolitico	9	1	2	0	1	0	1	1	0	0	0	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	99	19	20	6	43	2	11	12	0	0	0	212
<i>Staphylococcus coagulasa negat</i>	123	32	44	4	125	6	14	3	0	0	0	351
Totales	277	55	73	14	170	10	28	18	0	0	0	645
<i>Candida albicans</i>	47	8	46	3	0	4	14	20	1	0	0	143
<i>Candida no albicans</i>	8	2	3	0	0	2	2	1	0	0	0	18
Totales	55	10	49	3	0	6	16	21	1	0	0	161

Las muestras procesadas fueron orina, secreciones (respiratorias, oculares, vaginales, espermáticas, heridas, catéter) líquido estériles (Pleural, sinovial y cefalorraquídeos) y sangre. Los cultivos más frecuentes fueron las muestras de orina 67.42% donde destacan *Escherichia coli* 62.78%, seguida de SCN 7.78% y *Candida albicans* 4.67%. Los hemocultivos representan el 17.24%, los microorganismos más frecuentes son SCN 71.70% y *Escherichia coli* 11.91%. Las secreciones representan el 15.3% del total de cultivos, los microorganismos que destacan son *Escherichia coli* 21.53%, SCN 19.85% y *Pseudomonas aeruginosa* 15.31%. Tabla N° 4

Tabla N°4 Distribución de Microorganismos según tipo de cultivo

	UROCULTIVOS			SECRECIONES Y LÍQUIDOS			HEMOCULTIVOS			Totales
	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019	
<i>Escherichia coli</i>	347	459	348	22	27	41	20	15	21	1300
<i>Enterobacter sp.</i>	19	36	31	2	3	8	1	4	3	107
<i>Klebsiella sp.</i>	7	9	26	0	2	10	0	0	2	56
<i>Citrobacter sp.</i>	23	33	26	3	5	19	3	6	3	121
<i>Alkaligenes faecalis</i>	16	14	3	2	0	1	19	4	1	60
<i>Proteus sp.</i>	18	34	33	1	2	8	0	0	2	98
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	15	18	8	22	34	1	2	5	128
<i>Acinetobacter sp.</i>	0	0	7	0	3	26	0	3	7	46
<i>Serratia spp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Shigella sp.</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Yersinia sp.</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	454	602	492	38	65	147	44	34	44	1920
<i>Enterococcus faecalis</i>	17	16	19	2	3	4	0	0	0	61
<i>Streptococcus α hemolitico</i>	0	0	0	1	0	4	0	0	1	6
<i>Streptococcus no hemolitico</i>	0	0	0	3	4	0	3	3	2	15
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	45	61	37	22	30	31	122	112	103	563
	62	77	56	28	37	39	125	115	106	645
<i>Candida albicans</i>	21	27	38	11	14	31	1	0	1	144
<i>Candida no albicans</i>	5	2	2	6	2	0	0	0	0	17
	26	29	40	17	16	31	1	0	1	161
Totales	542	708	588	83	118	217	170	149	151	2726

Respecto a los mecanismos de resistencia en las 1920 bacterias Gram negativas aisladas en los 3 años de estudios se encontró que 954 (49.68%) presentaron algún mecanismo de resistencia, de los cuales se evidencia AmpC 26.51%, Blee 16.20% y carbapenemasas 6.98%. La RAM es mayor en consultorio externo 56.49% que en hospitalización 43.50%. Tabla N°5.

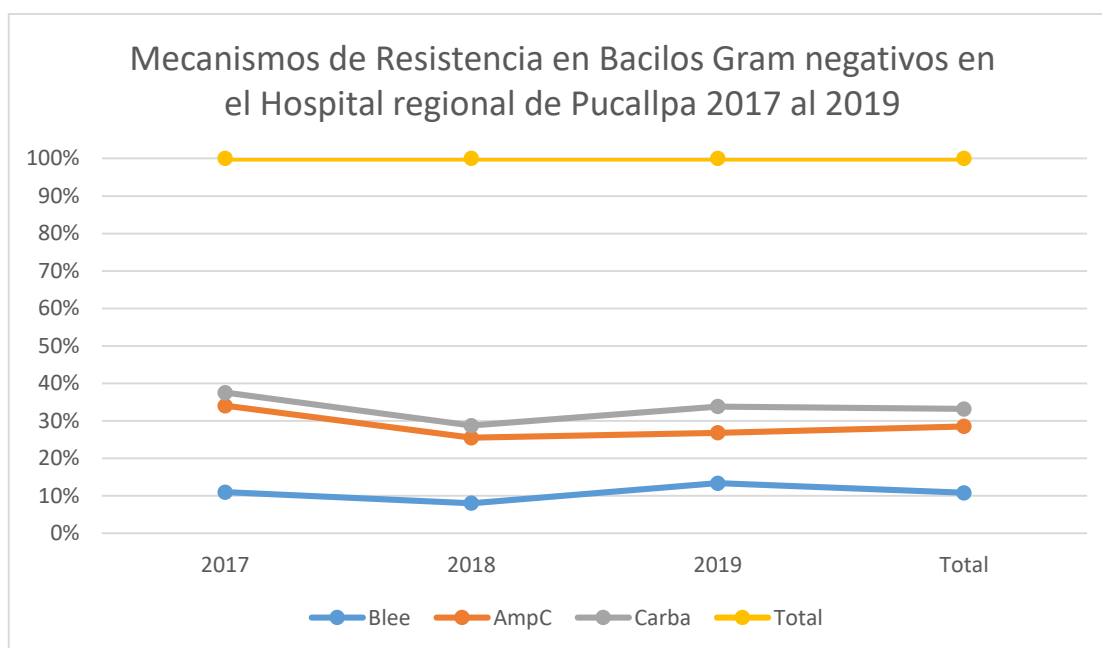
Tabla N°5: Mecanismos de Resistencia en Gram Negativas en el Hospital Regional de Pucallpa durante 2017 al 2019

Mecanismos de Resistencia	2017		2018		2019		Total de Resistencia	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Blee	94	4.90	79	4.11	138	7.19	311	16.20
AmpC	198	10.31	172	8.96	139	7.24	509	26.51
Carba	30	1.56	32	1.67	72	3.75	134	6.98
Total de Cultivos Por año	536	27.92	701	36.51	683	35.57	1920	100.00

Tanto en consultorio externo como en hospitalización predominan las betalactamasas tipo AmpC 60.11% y 44.51% respectivamente; seguidas de Blee 35.62% y 28.69% respectivamente. Lo contrario se presenta en las carbapenemasas en consultorio externo representa el 4.26% y en hospitalización el 26.74%.

Los servicios de que presentaron mayor cantidad de bacterias resistentes fueron UCI con Carbapenemasas en un 44.02%; AmpC en un 11.39% y Blee en 10.93%, seguido por el Servicio de Medicina carbapenemasas en 14.17%, Blee en 6.75% y AmpC en 6.28%. Cabe mencionar que el Servicio de Neonatología presentó mayor número de Blee 5.78%, seguido de AmpC 5.50% y apenas 3 carbapenemasas en el periodo de estudio. Fig N°5

Figura N°1 Tendencias de la Resistencia de Gram negativos por año



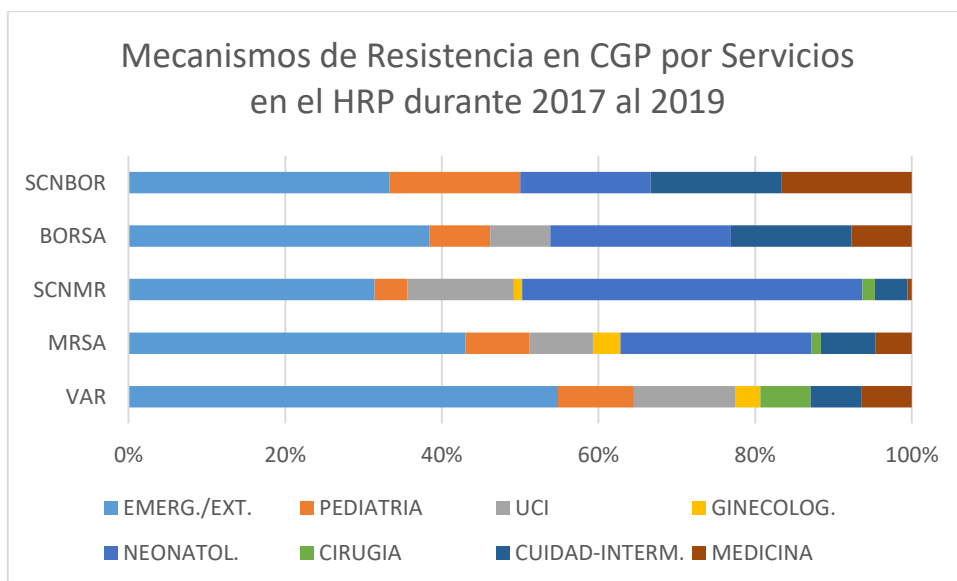
Respecto a las resistencias antimicrobianas (RAM) en cocos gram positivos en las 645 bacterias Gram positivas aisladas en los 3 años de estudios se encontró que 327 (49.68%) presentaron algún mecanismo de resistencia distribuidos en Enterococcus resistente a la vancomicina (VAR) 4.81%, Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (MRSA) 13.33%, Staphylococcus spp Coagulasa Negativos resistentes a la meticilina (SCNMR) 29.61%, Staphylococcus aureus con suceptibilidad border line (BORSA) 2.02% y Staphylococcus spp Coagulasa Negativos con suceptibilidad border line (BORSCN) 0.93%. Tabla N°6. Se observa que la resistencia es más frecuente en hospitalizados 62.99% que en consultorio externo 37%, lo contrario de los gram negativos.

TablaN°6: Mecanismos de Resistencia en Gram Positivos en el HRP 2017-2019

Mecanismos de Resistencia en Cocos Gram Positivos	2017		2018		2019		Total de Resistencia	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Enterococcus faecalis (VAR)	10	1.55	9	1.40	12	1.86	31	4.81
St. aureus (Borsa)	0	0.00	5	0.78	8	1.24	13	2.02
St. aureus (Mrsa)	29	4.50	31	4.81	26	4.03	86	13.33
Staphylococcus sp. (Mrs)	71	11.01	75	11.63	45	6.98	191	29.61
Staphylococcus sp. (Bors)	1	0.16	1	0.16	4	0.62	6	0.93
Total de Cultivos	215	33.33	229	35.50	201	31.16	645	100.00

La resistencia a la meticilina es el mecanismo más frecuente en este grupo bacteriano tanto en Staphylococcus aureus 23.78% como en SCN 63.59%; siendo el Servicio de Neonatología el más afectado. Figura N°6

Figura N°6 Mecanismos de Resistencia en Cocos Gram Positivos



DISCUSIÓN

Los cultivos positivos durante el 2017 al 2019 en el Hospital Regional de Pucallpa fueron 2726 distribuidos por año en 795, 975 y 956 aislamientos respectivamente, esto concuerda con los resultados del Hospital Regional Docente Médico Quirúrgico Daniel Alcides Carrión de Huancayo que en 7 meses obtuvo 457 aislamientos, sin embargo difiere de los resultados obtenidos por Pinchi en el Hospital II EsSalud de Pucallpa quien reporta 1162 aislamientos solo en muestras de orina en un año. En los hospitales de Lima el número de aislamientos es mayor por año como lo demuestra el Mapa Microbiológico de Hospital Nacional Hipólito Unanue. Estos autores coinciden con que los gram negativos son los responsables de más del 70% de las infecciones, un ejemplo de la distribución de los microorganismos es el reportado por el Hospital Nacional Hipólito Unanue que reportan los gram negativos en 58 %, gram positivos en 34% y agentes fúngicos en 8%; situación que también encontramos en el presente trabajo (21), (22), (23).

Teniendo en cuenta que las bacterias gram negativas tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y que la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica, es importante conocer los mecanismos de resistencia más prevalentes. En el presente trabajo los mecanismos de resistencia de bacterias gram negativas encontrados fueron β -Lactamasas tipo AmpC 26.51% y las Blee 16.20% dentro de las más frecuentes, lo cual no concuerda con los estudios realizados por Cruz de Dios (24) que reporta AmpC en 2.16% y Blee en 14.39% en un Hospital Universitario en la ciudad de Piura, Galván reporta 16.3% en Blee en pacientes ambulatorios de Lima y García halló 73.3% de Blee en cepas de Klebsiella en 8 hospitales generales de Lima (5). Otros mecanismos utilizados por gram negativas son las carbapenemasas, se encontró 6.98% porcentaje que coincide con lo hallado en el Hospital Nacional Hipólito Unanue (23). Según datos del estudio SMART sobre infecciones intraabdominales, la prevalencia de *Escherichia coli* productor de BLEE en Europa es del 11%, mientras que en otras regiones como el sudeste Asiático superan el 30%, en cepas de *E. coli* productor de BLEE se sitúa alrededor del 20%, siendo inferior a los porcentajes descritos en otros países como EE.UU. o Canadá (50%) (25) (26).

La resistencia en organismos gram positivos alcanzó el 42.95% de resistencia a meticilina y 2.02% de resistencia borderline a oxacilina en *Staphylococcus* además de 4.81% de resistencia a vancomicina en *Enterococcus*, lo que guarda relación con lo hallado en el Hospital Hipólito Unanue de Lima que reporta una resistencia mayor al 70% a meticilina en *Staphylococcus* y 30% de resistencia a vancomicina en *Enterococcus*, no reportan resistencia borderline a oxacilina (23). En el octavo estudio multicéntrico, en España en el 2014 la prevalencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes alcanzó el 27,6%, en los coagulasa negativos la prevalencia fue mayor y la resistencia a vancomicina en *Enterococcus* inferior al 5%. (27)

Al margen que cada hospital o centro de salud presente su propia epidemiología bacteriana es importante analizar la data de cada cual, esto con la finalidad de conocer los mecanismos que se presentan, tomar medidas tanto locales como nacionales y establecer las políticas de salud nacionales e internacionales. Por lo dicho es necesario que para ser comparables los datos debemos estandarizar las metodologías de aislamiento, de identificación, de búsqueda del mecanismo de resistencia, del reporte de resultados y de análisis de la data.

Para lo cual sería importante seguir las recomendaciones, opiniones, criterios aparecidas en la literatura, destacando las del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), *Comité de l'Antibiogramme* de la Sociedad Francesa de Microbiología (CASFM), *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), del grupo GEMARA (Grupo de Estudio de los Mecanismos de Acción y Resistencia a los Antimicrobianos) y antiguas recomendaciones de MENSURA (Mesa Española de Normalización de las Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos).

CONCLUSIÓN

1. Se encontró 2726 cultivos positivos; 59.79% en consultorio externo/emergencia y 40.20% en hospitalización.
2. En las áreas de consultorio externo prevalecen *Escherichia coli* (75.65%), *Enterobacter* spp (5.8%), SCN (44.40%), *Staphylococcus aureus* (35.74%), *Candida albicans* (85.45%); en el área de pacientes hospitalizados destacan *Escherichia coli* (51.12%), *Pseudomonas aeruginosa* (15.91%), *Citrobacter* spp (8.36%), SCN (35.34%), *Staphylococcus aureus* (17.51%) y *Candida albicans* (59.62%).
3. El cultivos más frecuentes fue el urocultivo (67.42%) donde destacan *Escherichia coli* (62.78%), SCN (7.78%) y *Candida albicans* (4.67%).
4. En gram negativos se halló 26.51% de AmpC, 16.20% de Blee y 6.98% carbapenemasas.
5. En gram positivos se encontró 42.95% resistencia a meticilina y 4.81% resistencia a vancomicina en *Enterococcus*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wax R, Lewis K, Salyers A, Taber H. Bacterial Resistance to Antimicrobials. 2nd ed. Florida: Taylor & Francis Group; 2008.
2. Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo J. Microbiología y Parasitología. 1st ed. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2001.
3. Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC). Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Reporte Anual de Resistencia. Estocolmo: Unión Europea; 2014.
4. O'Neill J. The Review on Antimicrobial Resistance. Review. Reino Unido: Departamento de Salud del Reino Unido; 2014.
5. García C, Astocondor L, Rojo-Bezares B, Jacobs J, Yolanda S. Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producer *Klebsiella pneumoniae* Isolates Causing Neonatal Sepsis in Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016; 94(2).
6. Uchuya Doanyre H. Presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en crianza porcina de traspatio del departamento de Tumbes. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. Tumbes: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
7. Cruz Marrufo C. Sensibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella* sp. de importancia en salud pública. Tesis para optar Título de Médico Veterinario. Lima: Universidad Ricardo Palma; 2017.
8. Organización Mundial de la Salud. Estrategia mundial. Revisión. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2009.
9. Viswanatha T, Marrone L, Goodfellow V, Dmitrienko GI. Assays for beta-lactamase activity and Inhibition. *Methods Mol Med.* 2008; 142: p. 239-260.
10. Man-Wah Tsang. Engineered Amp C β -Lactamase as a Fluorescent Screening Tool for Class C β -Lactamase Inhibitors. *Anal Chem.* 2011 Marzo; 83(6).
11. Moreno C, González R, Beltrán C. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello.* 2009; 69.

12. National Committee Clinical Laboratory Standards. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. National Committee Clinical Laboratory Standards. 2009 Enero: P. 188.
13. Crespo MdP. La resistencia bacteriana: ¿estamos preparados para detectarla? Asociación Colombiana de Infectología. 2005; 9(1): p. 15.
14. Armindo P, Maribel C, María G, Gresleida R. Resistencia a Vancomicina en Cepas de Enterococcus faecium Aisladas en un Hospital Universitario. Kasma. 2011; 39(1).
15. CLSI C&LSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. Consenso. Pensilvania: Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI; 2019.
16. Ellmer K, Stephen A. Diagnóstico Microbiológico. Sexta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008.
17. Atencio Espinoza T. Análisis De Situación De Salud. Instrumento De Gestión. Ucayali: Hospital Regional De Pucallpa, Departamento De Epidemiología; 2005.
18. Atencio Espinoza T. Analisis De Situacion De Salud Hospital Regional De Pucallpa. Instrumento De Gestión. Ucayali: Hospital Regional De Pucallpa, Epidemiología; 2014.
19. Sacsquispe Contreras R, Ventura Egúsqiza G. Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones Intrahospitalarias. Serie de Normas Técnicas. Lima: Instituto Nacional de Salud, Laboratorio de Infecciones Intrahospitalarias; 2001. Report No.: ISBN 9972–857–11–5 (N° 28).
20. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Serie de Normas técnicas. Lima: Instituto Nacional de Salud, Laboratorio de Infecciones Intrahospitalarias; 2002. Report No.: ISBN 9972 - 857 - 18 - 2 (N°30).
21. Microbiología Cfld. Mapa Microbiológico. Instrumento De Gestión. Huancayo: Hospital Regional Docente Médico Quirúrgico Daniel Alcides Carrión; 2015.
22. Pinchi Ramírez B. "Infecciones Urinarias. Ocasionadas Por Bacterias Productoras Y No Productoras De Beta-Lactamasa De Espectro Extendido Y Sus Diferencias Epidemiológico-clínicas Y De Comorbilidades En Adultos Del Hospital Ii Essalud De Pucallpa- 201. Tesis Para Título. Ucayali: Universidad Nacional De Ucayali ; 2015.
23. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Mapa Microbiológico. Instrumento de Gestión. Lima: Hospital Nacional Hipólito Unanue, Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica; 2018.

24. Cruz De Dios A. Enterobacterias Productoras De Betalactamasas Ampc Y De Espectro Extendido Aisladas En El Hospital Universitario De La Universidad Nacional De Piura, Perú. Tesis Pregrado. Piura: Universidad Nacional De Piura, Escuela Profesional De Ciencias Biológicas; 2018.
25. Hawser S, BS, Hoban D, Badal R, Cantón R, Fernando B. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Julio; 54(7).
26. Ruiz P, Canton R. Epidemiología de los bacilos gramnegativos multirresistentes. Rev Esp Quimioter. 2016; 29.
27. Cercenado E. Epidemiología de la infección por grampositivos resistentes. Revista Española de Quimioterapia. 2016 Septiembre; 29 (suppl 1).