

Frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasas de espectro ampliado aislada de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Victor Lazarte Echegaray de Trujillo -2015

Frequency of *Pseudomonas aeruginosa* producing extended-spectrum betalactamases isolated from the neonatal unit of the EsSALUD Victor Lazarte Echegaray hospital of Trujillo-2015

Mirna Yaniva Rodriguez-Barrantes¹

Recibido: 13 de marzo de 2018

Aceptado: 15 de marzo de 2018

RESUMEN

Investigaciones previas indican un incremento de *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasas de espectro ampliado en los hospitales. Por ello, el presente estudio tuvo como finalidad aislar, determinar la distribución y su frecuencia en los ambientes de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Victor Lazarte Echegaray de Trujillo durante el periodo de abril a diciembre del 2015. Se analizó treinta y nueve muestras de superficies, equipos e instrumentos, las cuales se inocularon e incubaron en tubos que contenían caldo tioglicolato, luego fueron sembrados por estría en placas de agar Mac Conckey y agar Cetrimide. Se identificaron las colonias características y se sometieron a la coloración Gram, evaluación de producción de pigmentos ferrocianicos y crecimiento a 42 °C en caldo peptonado. La producción de betalactamasas de espectro ampliado se efectuó mediante la difusión en doble disco. Los resultados mostraron que de las 39 muestras evaluadas, se obtuvo cuatro aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, las cuales se presentaron distribuidas en todos los ambientes de la unidad de neonatología. No se encontró frecuencia a *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasa de espectro ampliado partir de los cultivos analizados, pero considerando los resultados hallados es necesario que se realicen nuevos estudios que permitan elaborar cuadros de evolución de resistencia bacteriana, pues los patrones de resistencia han venido cambiando con mucha celeridad.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, betalactamasas, espectro ampliado, frecuencia.

ABSTRACT

Previous research indicates an increase of *Pseudomonas aeruginosa* producing broad spectrum beta-lactamases in hospitals; therefore, the present study aimed to isolate, determine the distribution and its frequency in the environments of the neonatal unit of the ESSALUD Hospital Victor Lazarte Echegaray of Trujillo during the period from April to December 2015. Thirty-nine samples of Surfaces, equipment and instruments, which were inoculated and incubated in tubes containing thioglycollate broth, then streaked on Mac Conckey agar plates and Cetrimide agar. Characteristic colonies were identified and subjected to Gram staining, evaluation of ferrocyanic pigment production and growth at 42 °C in peptone broth. The production of extended spectrum betalactamases was effected by double disc diffusion. The results showed that of the 39 samples evaluated, four isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were obtained, which were distributed in all the environments of the neonatology unit. We did not find frequency of *Pseudomonas aeruginosa*, producer of extended spectrum betalactamasas from the cultures analyzed, but considering the results found, it is necessary to carry out new studies that allow to develop tables of evolution of bacterial resistance as the resistance patterns have been changing very quickly.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, betalactamasas, extended spectrum, frequency.

1 Maestro en ciencias con mención en microbiología clínica - Universidad Privada Antenor Orrego

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo móvil, flagelado, aerobio, Gram negativo perteneciente a la familia Pseudomonadaceae. Tiene forma de bastón con un tamaño de 1.5-3 µm. Produce pigmentos fluorescentes difusibles que incluyen pioverdina y un pigmento fenazínico soluble denominado piocianina; el último, producido por más del 50% de los aislamientos clínicos, aparece azul o verde a pH neutro o alcalino y es el origen del nombre aeruginosa. Algunas cepas producen también pigmento rojo oscuro o negro, producen un olor dulzón semejante a jugo de uva o de maíz y es nutricionalmente versátil. No requiere factores de crecimiento orgánicos y puede utilizar más de 30 compuestos orgánicos para su desarrollo. Es un aerobio obligado, excepto en presencia de nitrato¹.

Pseudomonas aeruginosa se presenta en ocasiones como parte de la flora microbiana normal de los seres humanos. La prevalencia de colonización en personas sanas fuera de los hospitales o luego del ingreso a ellos, es relativamente baja².

La facilidad que muestra *Pseudomonas aeruginosa* para crecer tanto en la naturaleza como a nivel nosocomial le permite ser una de las principales causas de infecciones hospitalarias graves^{3,4}. En el ambiente hospitalario la *Pseudomonas aeruginosa* puede colonizar superficies húmedas de los pacientes como oídos, axilas, periné y también se aísla en entornos húmedos inanimados que incluyen agua de lavados, sumideros, duchas, entre otros. El equipo hospitalario que entra en contacto con agua, ropas, soluciones de limpieza también puede ser fuente de *Pseudomonas aeruginosa*⁵.

Dentro de los bacilos gramnegativo no fermentadores de glucosa, *Pseudomonas aeruginosa* es el patógeno mejor conocido¹. Puede provocar infecciones graves como: neumonía, infecciones del tracto urinario y bacteriemia. Estas infecciones suelen ser difíciles de tratar debido a la resistencia intrínseca que presenta *Pseudomonas aeruginosa* y a su extraordinaria capacidad de adquirir mecanismos de resistencia⁶.

Las infecciones nosocomiales por *Pseudomonas W* se atribuyen principalmente a la adquisición del microorganismo especialmente en pacientes sometidos a ventilación mecánica, tratamiento antibiótico, quimioterapia o cirugía. Sin embargo, existe una pequeña proporción de individuos que albergan la *Pseudomonas*

aeruginosa desde la comunidad y pueden servir como fuente de infección grave¹. Hasta un 7% de individuos sanos pueden ser portadores de *Pseudomonas aeruginosa* en la garganta, mucosa nasal, piel y hasta un 24% en las heces⁵.

Pseudomonas aeruginosa es uno de los patógenos nosocomiales más frecuente, causante de infecciones severas, particularmente en pacientes con cáncer, quemaduras y fibrosis quística. Su tratamiento es complicado debido a que esta bacteria tiene la capacidad de adaptación, mutación y adquisición de genes de resistencia².

El aumento de la resistencia bacteriana en los hospitales es un problema de salud pública mundial. La National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) de los Estados Unidos sustenta mediante estudios de incidencia, que neonatología es una de las áreas hospitalarias con mayor índice de infección y consumo de antibióticos, por tanto es fuente importante en la generación de resistencia debido a que aquí se concentran pacientes con exposición y uso intensivo de antibióticos²; además, es una de las áreas más críticas dentro de los hospitales, porque alberga niños con muchos factores de riesgo para adquirir infecciones, tales como bajo peso al nacer, inmunosupresión y exposición a procedimientos invasivos^{2,5}. Debido a que la *Pseudomonas aeruginosa* es uno de los principales patógenos hospitalarios, se puede estimar su prevalencia a partir de los datos de vigilancia anual recolectados por el Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (NNIS) del CDC. Según estos datos, la incidencia de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* en EUA declinó de 4.8/1000 egresos hospitalarios en 1985 a 3.4/1000 en 1991, con una tasa global de infecciones durante ese periodo de 4 por 1000 egresos, ocupando el cuarto lugar de los patógenos más frecuentes y constituyó el 10% de todas las infecciones hospitalarias⁶. En 1991, en USA fue la principal causa de neumonía hospitalaria, la tercera causa de infecciones hospitalarias en vías urinarias, el quinto en infecciones en heridas quirúrgicas y la octava en torrente sanguíneo. También es el patógeno asociado con mayor frecuencia con infecciones en la unidad de cuidados intensivos. Las tasas de mortalidad atribuidas a infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* es de aproximadamente el 34%⁶.

La *Pseudomonas aeruginosa* constituye el paradigma de la multiresistencia por su resistencia natural a la mayoría de betalactámicos, tetraciclinas, cloranfenicol, etc. Además de desarrollar resistencias adquiridas con gran

facilidad, es uno de los patógenos nosocomiales más importantes en los servicios de neonatología, ocupando los primeros lugares de frecuencia en los aislamientos durante brotes de infecciones intrahospitalarias. En las unidades de cuidados intensivos es frecuente en casos de bacteriemias, diarreas y neumonías⁷, infecciones que se han asociado con contaminación por fuentes comunes como grifos de agua, lavatorios, detergentes y antisépticos, equipos y procedimientos⁸. Aquí es importante resaltar la extraordinaria capacidad de *Pseudomonas aeruginosa* para permanecer por tiempos prolongados en reservorios húmedos, líquidos y superficies; en contraste, es excepcional encontrarla como parte de la microflora normal de los individuos sanos⁹.

Se han descrito como posibles reservorios de *Pseudomonas aeruginosa* a incubadoras contaminadas, equipos de terapia respiratoria y lavatorios, cunas en unidades de cuidados intensivos neonatales y sumideros de bañeras^{9,10,11} donde además se clasifica de acuerdo a su resistencia.

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que confieren resistencia bacteriana para penicilinas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación y aztreonam por hidrólisis^{5,6,7,12}. En Perú hay pocos estudios sobre la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), tanto en muestras clínicas como ambientales⁵. En la ciudad de Lima se notifica la presencia de betalactamasas de espectro extendido en 2,9% y 44,4% de los aislamientos clínicos de *E. coli* y *K. pneumoniae*. En reservorios de gineco-obstetricia y cirugía del Hospital Regional De Trujillo se encontró frecuencias entre 70 A 81% de *S. aureus* productor de betalactamasa clásica (BLC) y 3,6% de *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)¹⁵. En Cajamarca se encontró que 57% de *Pseudomonas aeruginosa* aislada en reservorios de un hospital eran productores de BLC¹⁶.

Actualmente no existen reportes de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasas de espectro ampliado en los nosocomios de nuestra región y dada la importancia de las infecciones que ocasiona esta bacteria, se requiere obtener esta información para iniciar un seguimiento y controlar las infecciones intrahospitalarias.

Por lo antes expuesto, esta investigación tiene como objetivos aislar *Pseudomonas aeruginosa* de muestras obtenidas de las superficies de incubadoras, balanza, computadora, canasto de

ropa limpia, contenedor de biberones, refrigeradora, pisos, muebles, escritorio, lavadero, estante, sonda, puerta, cunas, caños, tallmetro y balanza que pertenecían a de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Víctor Lazarte Echegaray de Trujillo y determinar la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasas de espectro ampliado.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. MATERIAL

1.1. Material biológico

El objeto de estudio del presente trabajo fueron los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de betalactamasas de espectro ampliado a partir de 39 superficies de instrumentos y equipos de trabajo de la unidad de neonatología del Hospital Víctor Lazarte Echegaray-ESSALUD de Trujillo, periodo de abril a diciembre del 2015.

Las muestras de las superficies de estudio fueron tomadas a partir de incubadoras, balanza, computadora, canasto de ropa limpia, contenedor de biberones, refrigeradora, pisos, muebles, escritorio, lavadero, estante, sonda, puerta, cunas, caños, tallmetro y balanza que pertenecían a de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Víctor Lazarte Echegaray de Trujillo. Estas muestras se procesaron para su identificación en el laboratorio de microbiología del Hospital de Essalud Víctor Lazarte Echegaray y en el laboratorio de fisiología y genética bacteriana de la Universidad Nacional de Trujillo.

2. MÉTODO

2.1. Toma de muestra

Se utilizó hisopos estériles humedecidos en solución salina fisiológico estéril, rotándolos sobre la superficie de incubadoras, balanza, computadora, canasto de ropa limpia, contenedor de biberones, refrigeradora, pisos, muebles, escritorio, estante, sonda, puerta, cunas, caños, tallmetro²¹.

Tomada la muestra los hisopos se colocaron en tubos de transporte conteniendo caldo tioglicolato (ver anexo 05).

2.2. Aislamiento

Para el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*

Ambiente	Superficie/Frecuencia	Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>		Total
		presencia(+)	presencia (-)	
Lactario	canasto de ropa	1		1
	refrigeradora	1		1
	computadora,	1	1	2
	Pisos		2	2
	Muebles		2	2
	escritorio		1	1
	Estante		1	1
Sala de recién nacidos	Balanza	1	1	2
	contenedor de biberones	1		1
	Pisos		2	2
	Mesa de preparación de fórmula	1		1
	incubadoras		2	2
	Cuna		7	7
	Puerta		1	1
	caños,		3	3
	Pared		1	1
	tallimetro		1	1
Sala de incubadoras	Pisos		1	1
	incubadoras	1	6	7
	Total	7	32	39
Frecuencia		17.95%	82.05%	100%

Tabla 1. Distribución de *Pseudomonas aeruginosa* y frecuencia de producción de betalactamasas de espectro ampliado, aislados de superficies de los ambientes de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Víctor Lazarte Echegaray de Trujillo, en el periodo de abril a diciembre del 2015.

las muestras fueron sembradas en agar Cetriptide y agar Mac Conckey e incubadas a 35°C por 20 horas^{17,18,21}(ver anexo 06).

2.3. Identificación

En el proceso de identificación se evaluó la coloración Gram, producción de pigmentos ferrocianicos y crecimiento a 42 °C en caldo peptonado^{17,18,21}.

2.4. Producción de betalactamasas de espectro ampliado

Método de Jarlier (Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología) o técnica de difusión de doble disco.

En una placa Petri se colocaron en los extremos un disco de ceftriazona (CRO), cefepime (FEP), ceftazidima (CAZ) y aztreonam (AZM) a 20-30 mm aproximadamente de estos; en el centro se ubicó un disco de amoxicilina más ácido clavulánico (20 y 10 µg respectivamente). Un incremento en la zona de inhibición entre el disco del centro y uno de los discos periféricos fue interpretado como evidencia presuntiva de la presencia de betalactamasa de espectro extendido^{17,18,19,20}.

Interpretación de método del doble disco para la detección de betalactamasas de espectro extendido.

Se observó el efecto sinérgico (tapón de corcho o distorsión de los halos de inhibición) que se produce entre los discos de ceftriazona (CRO), cefepime (FEP), ceftazidima (CAZ) y aztreonam (AZM) con el disco central de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC). Confirmación de la presencia de BLEE 21. Si los resultados de las pruebas confirmatorias son positivos, el reporte debe mencionar claramente que el aislamiento es productor de betalactamasas de espectro extendido. En una prueba negativa, los discos con ácido clavulánico no muestran actividad aumentada comparada con los discos con solo cefotaxima o ceftazidima (ver anexo 07 y 08)^{17,18,19,20,21}.

Si la prueba confirmatoria de betalactamasas de espectro extendido es negativa, los resultados de todas las pruebas son reportados de manera individual sin modificación. Se sugiere escribir un comentario final que indique "la cepa NO es una productora de beta-lactamasa de espectro ampliado (BLEE). Resultados definitivos. Prueba completada"^{17,18,19}.

2.5. Análisis estadístico

Como criterio en la toma de muestra se empleó la estadística descriptiva de bloques completamente al azar.

Los datos que se obtuvieron como resultado de la investigación fueron procesados empleando estadística descriptiva con distribución de frecuencias y porcentajes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestra el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* y la frecuencia de producción de betalactamasas de espectro ampliado, aislada de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Victor Lazarte Echegaray de Trujillo - periodo abril - diciembre del 2015.

Según los resultados obtenidos en el presente estudio, se pudo aislar 4 cultivos *Pseudomonas aeruginosa* de las 39 muestras analizadas provenientes de superficies, equipos e instrumentos de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Victor Lazarte Echegaray de Trujillo, periodo de abril a diciembre del 2015 (tabla 1), lo cual guarda relación con investigaciones previas en las que se ha demostrado la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* al interior de los nosocomios⁵, en los que además se han demostrado que el material contaminado en áreas nosocomiales son responsables de infecciones a través de la transmisión horizontal de bacterias por las manos del personal de salud^{5,19}. Sin embargo, la posibilidad de transmisión vía aérea, directa o indirecta ha sido subestimada, aun cuando el ambiente hospitalario brinda muchos nichos a los bacilos gramnegativos donde pueden sobrevivir por varios meses. En general, sobreviven por más tiempo sobre superficies inanimadas que en la piel humana y las *Pseudomonas* pueden hacerlo hasta por seis meses, por lo que el ambiente inanimado en los hospitales puede ser un importante reservorio para estos organismos⁵. *Pseudomonas aeruginosa* es el modelo bacteriano en el que se han realizado la mayoría de los estudios de formación de biofilms y regulación mediante quorum sensing, en ellos se identificó gran cantidad de sustancias poliméricas extracelulares, lo que le permite unirse a superficies de materiales inorgánicos como el acero inoxidable²⁰. En este caso, en los reservorios estudiados no hubo presencia de *Pseudomonas aeruginosa* productor de betalactamasas de espectro ampliado (Tabla 1). La variabilidad en estos resultados con respecto a

otros estudios realizados corresponde al tipo de reservorio muestreado, ya que por las condiciones, se esperaba un mayor aislamiento en fuentes húmedas como duchas, grifos, lavatorios, tinas y recodos de equipos de asistencia⁵. Esos resultados son relativamente cercanos a los hallazgos en el presente trabajo respecto al aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*. Investigaciones refieren que los lavatorios son reservorios comunes de esta bacteria, cuya capacidad para crecer en cualquier superficie permite que contamine equipos u otros reservorios secos y los transforme en fuente de infección como ha podido demostrarse en diversos estudios^{5,24}. Por otro lado, se ha evidenciado la relación entre reservorios húmedos y la colonización por parte de este microorganismo²⁰.

Pseudomonas aeruginosa es de importancia nosocomial debido a su resistencia a los antimicrobianos. De los cultivos obtenidos, no se aislaron muestras positivas para *Pseudomonas aeruginosa* productoras de betalactamasas de espectro extendido, lo cual es congruente con investigaciones previas realizadas en pacientes y personal de salud que demostraron que son reservorios de este microorganismo y que la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de betalactamasas de espectro ampliado fue muy baja en incluso nula,^{5,14,15} tal como ocurrió en esta investigación en la que de igual manera no hubo producción de betalactamasas.

Las investigaciones venideras que se realicen conforme a los avances de la ciencia permitirán un mejor aprovechamiento de los betalactámicos en el tratamiento de infecciones y menguar la resistencia frente a estos¹⁴.

CONCLUSIONES

- La frecuencia en el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*, aislada de la unidad de neonatología del Hospital de ESSALUD Víctor Lazarte Echegaray de Trujillo, en el periodo de abril a diciembre del 2015 fue del 10.26%.
- En esta investigación no se detectó *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasas de espectro ampliado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas Larios F. Identificación de genes responsables de resistencia a carbapenémicos en cepas nosocomiales de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en algunos hospitales de México. [Tesis Doctoral]. Unidad Biomédicas de la Universidad de Colima-México. 2009.
2. Molina-Cabrillana J, Santana/Reyes C, Hernández J, López L, Dorta E. Incidencia de infecciones en una unidad de cuidados intensivos neonatales: estudio de vigilancia de 6 años. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006; 24(5): 307-12.
3. Fauci A, Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson I, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine. Pseudomonas aeruginosa*. 17th ed. McGraw-Hill Medical; 2008. 202-08.
4. Mandell G., Bennett J., Dolin R. *Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica*. 7° Ed. Elsevier 2010.
5. Marco Rivera-Jacinto^{1,a}, Claudia Rodríguez-Ulloa^{1,a}, Gladys Huayán-Dávila^{3,a} *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasa clásica y de espectro ampliado en reservorios de un servicio de neonatología *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2008; 25(2):250-52
6. Gomez, R. 1995. Relación antibiótico - bacteria-huesped. *Mad Infection*. 2(2):7274
7. Guevara, J., E. Valencia, M Silva, E Celiz, R Zerpa, S Palomino Y J Guevara. 1995. Bacteriemias intra-hospitalarias: vigilancia de la susceptibilidad in vitro. *Mad Infection*. 4:22-24
8. Andrea L. Piersigilli, M. Cecilia Enrico, M. Eugenia Bongiovanni, Liliana E. Bilbao, Gustavo Martínez y Elizabeth M. Ledesma. Aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de β -lactamasa de espectro extendido en un centro privado de Córdoba *Rev Chil Infect* 2009; 26 (4): 331-35

9. Poirel L, Weldhagen G, Naas T, De Champs C, Dove M G, Nordmann P. GES-2, a class A β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45 (9): 2598-603
10. Wendt C, Herwaldt L. Epidemics: Identification and management. En: Wenzel R, ed. *Prevention and control of nosocomial infections*. 3a ed. Baltimore (MD): Williams and Wilkins;1997. p. 177-213.
11. Berthelot P, Grattard F, Mahul P, et al. Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med*, 2001;27(3):503-12.
12. Corona A, Miranda M, Leaños B, Portillo L, Hernández A, Antro J, et al. Epidemiologic study of *Pseudomonas aeruginosa* in critical patients and reservoirs. *Arch Med Res*.2001;32:238-42.
13. Garau J, Gómez L. *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Curr Opin Infect Dis*, 16:135-143.
14. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(4): 657-86.
15. Anhuamán R. Bacterias productoras de betalactamasa clásica y de espectro ampliado aisladas de infecciones intrahospitalarias y de ambiente de gineco-obstetricia y cirugía del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú. [Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2000.
16. Llontop V. Detección de betalactamasas clásicas y de espectro ampliado en bacterias aisladas en ambientes hospitalarios. Hospital -EsSalud Cajamarca-Perú 2003. [Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2003.
17. Famiglietti A, Quinteros M, Vázquez M, Marín M, Nicola F, Radice M y col. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en *Enterobacteriaceae*. *Rev Arg Microb*. 2005;37(1):57-66.
18. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10(4):867-78.
19. Sacsquispe R Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión disco.: Instituto Nacional de Salud. Lima 2002.30:25-27
20. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extendedspectrum-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47(8): 2385-92.
21. Lizet Lezameta, Edgar Gonzales Escalante, Jesus H. Tamariz. Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de *Betalactamasas de Espectro Extendido*.*Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2010;27(83):345-51
22. Corona-Nakamura AL, Miranda-Novales MG, Leaños-Miranda B, Portillo-Gómez L, Hernández-Chávez A, Anthon-Rendón J, et al. Epidemiologic study of *Pseudomonas aeruginosa* in critical patients and reservoirs. *Arch Med Res*. 2001; 32(3): 238-42.
23. Chmielewsky R.A.N., Frank, J.F. *Biofilm Formation And Control In Food Processing Facilities Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2003. 2: 22- 32.
24. Foca M, Jakob K, Whittier S, Della-Latta P, Factor S, Rubenstein D, Saiman L. Endemic *Pseudomonas aeruginosa* infection in neonatal intensive care unit. *N Engl J Med*. 2000; 343(10): 695-700
25. Zabel L, Heeg P, Goetz R. Surveillance of *Pseudomonas aeruginosa*-isolates in a neonatal intensive care unit over a one year-period. *Int J Hyg Environ Health* 2004; 207(3): 259-66

ANEXOS

ANEXO 01. Composición de caldo tioglicolato por litro.

Tripteína.....	17.0g
Peptona de soya.....	3.0g
Glucosa.....	6.0g
Cloruro de sodio.....	2.5g
Tioglicolato de sodio.....	0.5g
Agar.....	0.7g
L-cistina.....	0.25g
Sulfito de sodio.....	0.1g
pH final: 7.0 ± 0.2	

ANEXO 02. Composición de agar Mac Conkey por litro.

Peptona.....	17.0g
Pluripeptona.....	3.0g
Lactosa.....	10.0g
Mezcla de sales biliares.....	1.5g
Cloruro de sodio.....	5.0g
Agar.....	13.5g
Rojo neutro.....	0.03g
Cristal violeta.....	0.001g
pH final: 7.1 ± 0.2	

ANEXO 03. Composición de Agar Cetrimide por litro.

Peptona de gelatina.....	20.0g
Cloruro de magnesio.....	1.4g
Sulfato de potasio.....	10.0g
Agar	13.6g
Cetrimida.....	0.3g
pH final: 7.2 ± 0.2	

ANEXO 04. Composición de Agar Cetrimide por litro.

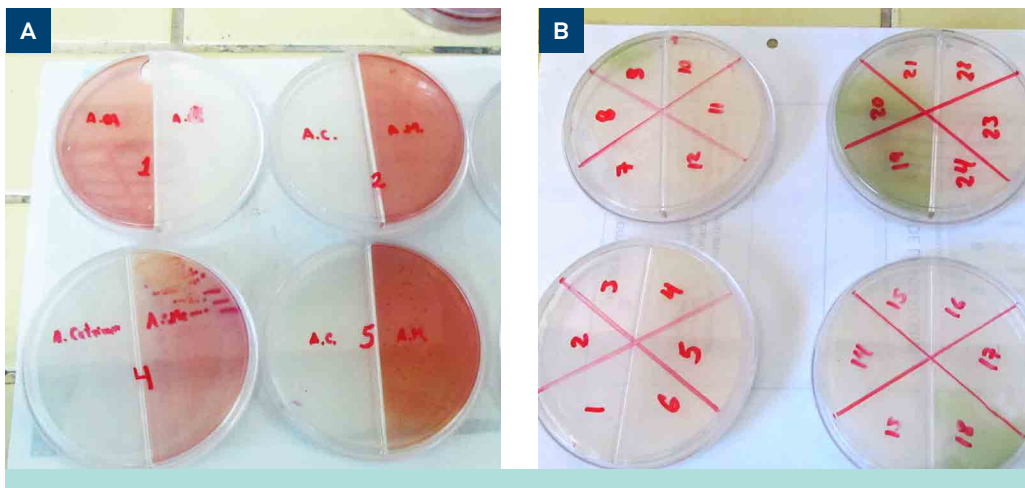
Infusión de carne.....	300.0g
Peptona ácida de caseína.....	17.5g
Almidón.....	1.5 g
Agar.....	15.0g
Agua purificada.....	1000mL

pH final: 7.3 ± 0.1

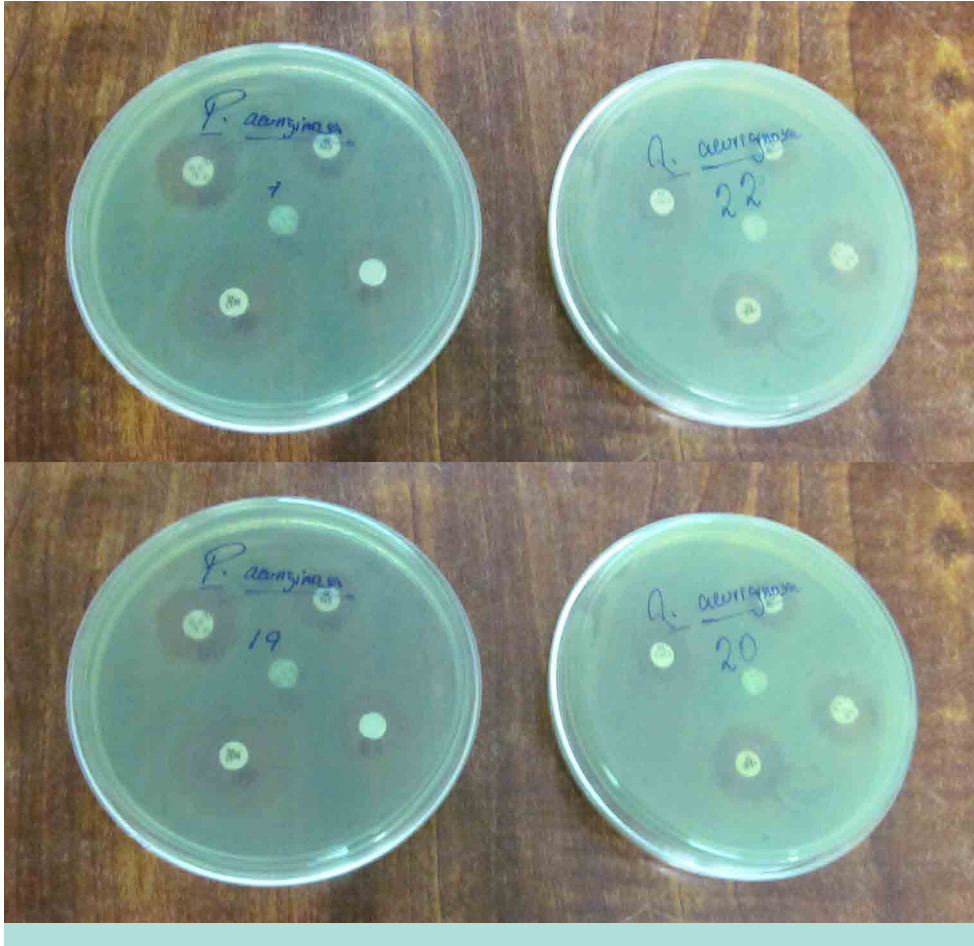
ANEXO 05. Muestras recolectadas en tubos que contienen caldo tioglicolato.



ANEXO 06. Muestras sembradas por estría en Agar Mac Conkey y Agar Cetrimide(a) y crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Selectivo Cetrimide (b)



ANEXO 07. Método de doble disco para evaluar la producción de betalactamasas de espectro ampliado de *Pseudomonas aeruginosa*, usando discos de ceftriazona (CRO), cefepime (FEP), ceftazidima (CAZ) y aztreonam (AZM) con el disco central de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC).



ANEXO 08. Medidas de halos en prueba de sensibilidad en disco de doble difusión para detección de *Pseudomonas aeruginosa* productor de BLEE y observación de sinergia.

Ambiente	Discos de antibiótico/ Superficie	CAZ (halos)	CFX (halos)	AC. CLA. (halos)	AZM (halos)	CRO (halos)	Obs. sinergia
sala de incubadoras	Panel de incubadora	10mm	10mm	7mm	20mm	7mm	No
sala de recién nacidos	Panel de balanza	14mm	11mm	7mm	15mm	11mm	No
	computadora	9mm	9mm	7mm	18mm	8mm	No
lactario	Canasto de ropa limpia	13mm	11mm	8mm	15mm	10mm	No