

## Una década en la evolución de la resistencia a $\beta$ -Lactámicos de bacilos Gramnegativos en hospitales de Venezuela

*G Martín<sup>1</sup>, O Carmona<sup>1</sup> y M Guzmán<sup>2</sup>.*

1. Cátedra de Farmacología y Cátedra de Microbiología Escuela de Medicina J.M. Vargas UCV.
2. Unidad de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Hospital Vargas, Caracas.

### Resumen

La resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos es debida fundamentalmente a la producción de  $\beta$ -lactamasas por parte de los bacilos gramnegativos. Han sido identificadas más de 200  $\beta$ -lactamasas, de esta manera hemos tenido un aumento en la resistencia a  $\beta$ -lactámicos efectivos contra los bacilos gramnegativos, los cuales han estado en uso desde 1963. Para combatir el aumento de la resistencia bacteriana a antibióticos, se requiere de un adecuado seguimiento de ésta localmente. La información debe provenir del análisis detallado de los resultados de los test de susceptibilidad que son hechos rutinariamente para guiar el tratamiento de infecciones en cada paciente. De esto se desprende la importancia de la vigilancia de la resistencia bacteriana a antibióticos. **Materiales y Métodos:** Desde 1988, el Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana (GVRB), desde 25 instituciones de salud y perteneciente a siete estados, están a cargo de realizar, analizar y publicar los resultados de la resistencia a antibióticos, proveniente de gérmenes aislados de pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad y en los hospitales. Se usó el método de difusión de discos de acuerdo al NCCI; el programa WHONET de la Organización Mundial de la Salud; El análisis estadístico se realizó por  $\chi^2$ . **Resultados y Conclusiones:** A) El aumento de resistencia ante  
1) cefotaxima  
es: *E.coli* 34%, *E.aerógenes* 13%, *E.cloacae* 10%, *K.pneumoniae* 57%, 2)  
ceftazidima: *E.coli* 16%, *K.pneumoniae* 30%, *P.aeruginosa* 20%; 3)  
ceftriaxona: *E.coli* 17%, *E.aerógenes* 5%, *K.pneumoniae* 43%. 4) cefoperazona-  
sulbactam: no es significativo el aumento. B.-La resistencia ante: 5)  
cefepime: *P.aeruginosa* 10-14%, *Acinetobacter sp.* 35 %, otros alrededor de 5 %. 6)  
piperacilina-tazobactam: la resistencia es de 5 to 10 %, excepto para el *Acinetobacter sp.*  
(40 %); 7) La resistencia de los bacilos gramnegativos aeróbicos ante los carbapenemos  
imipenem y meropenem es baja, excepto para *P.aeruginosa* (10-15 %) y *Acinetobacter sp.*  
(25-35%). Durante la década hubo un aumento de la resistencia de los bacilos gramnegativos ante la mayoría de los  $\beta$ -lactámicos estudiados. Es importante implementar medidas especiales en el uso de los antibióticos y continuar los programas de vigilancia de la resistencia bacteriana ante los antibióticos. La segunda mitad del siglo XX ha sido la edad de oro para los antibióticos, sin embargo el futuro parece incierto.

**Palabras Claves:** Vigilancia de resistencia bacteriana, Bacilos gramnegativos,  $\beta$ -lactámicos,  $\beta$ -lactamasas.

## Abstract

Resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics is mainly due to production of  $\beta$ -lactamases by gramnegative bacilli. Over 200  $\beta$ -lactamases have been identified to date, therefore we have had increased resistance to  $\beta$ -lactams effective against gramnegative bacilli, which have been in use since 1963. Combating the surge in antibiotic-resistant (AR) bacteria requires tracking of local resistance. The information must come from ongoing detailed analysis of the results of antimicrobial susceptibility tests that are done routinely to guide the treatment of infections in individual patients. This is the importance of AR surveillance. **Materials and Methods:** Since 1988 Venezuelan group of Bacterial Resistance (GVRB), in 25-health institutions from seven states are in charge of analysing and publishing AR data of bacterial isolates, proceeding from patients with infection acquired in the community and hospitals. Methods of disc diffusion according to NCCI; WHONET software program (World Health Organisation NET); statistical analysis by  $\chi^2$ . **Results and Conclusions:** A.-The increase of resistance during the decade to: 1) cefotaxime is: *E.coli* 34%, *E.aerogenes* 13%, *E.cloacae* 10%, *K.pneumoniae* 57%, 2) ceftazidime: *E.coli* 16%, *K.pneumoniae* 30%, *P.aeruginosa* 20%; 3) ceftriaxona: *E.coli* 17%, *E.aerógenes* 5%, *K.pneumoniae* 43%. 4) cefoperazone-sulbactam: no significance in the increase. B.-Resistance to: 5) cefepime: *P.aeruginosa* 10-14%, *Acinetobacter sp.* 35 %, others around 5 %. 6) piperaciline-tazobactam: resistance is 5 to 10 %, except *Acinetobacter sp.* (40 %); 7) the results of GVRB to imipenem and meropenem is low except *P.aeruginosa* (10-15 %) and *Acinetobacter sp.* (25-35%).

During the decade there was an increase in GVRB to most  $\beta$ -lactams. The second half of the 20<sup>th</sup> century has been a golden age of antibiotics but the outlook is uncertain.

**Key Words:** Bacterial Resistance, Surveillance program, Gram-bacilli, Betalactamics, Betalactamases.

## INTRODUCCION

Hace más de 60 años, comenzó la era antibiótica, con el desarrollo de la penicilina y su uso en pacientes, hecho acaecido en Inglaterra y dirigido por Florey<sup>(1)</sup>. A los pocos años de su introducción cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina debido a la producción de  $\beta$ -lactamasa, comenzaron a proliferar en los hospitales y a producir infecciones nosocomiales graves<sup>(2)</sup>. Esto condujo a la síntesis de penicilinas resistentes a penicilinasas (metecilina y posteriormente las isoxazolil-penicilinas).

En 1960, en Europa y en EE.UU<sup>(2)</sup>, poco después de la síntesis de penicilinas penicilinasas-resistentes, aparecieron cepas resistentes de *S aureus* a las mismas.

Los *S aureus* metecilino-resistentes (MRSA) sufrieron cambios estructurales de la PBP 2-a<sup>(3)</sup>. Desde entonces hay una relación muy estrecha entre la aparición de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos y el desarrollo de nuevos antimicrobianos.

Los  $\beta$ -lactámicos continúan siendo el grupo más frecuentemente usado debido a su espectro, gran eficacia, pocos efectos colaterales y escasa toxicidad<sup>(4)</sup>; esto a pesar de la

aparición frecuente de resistencia ante ellos y del desarrollo de nuevos antibacterianos no  $\beta$ -lactámicos, poco tiempo después, fueron introducidas las penicilinas semisintéticas con actividad contra gérmenes gramnegativos: la ampicilina (1963), la carbenicilina (1970) y también la primera cefalosporina (1964). Posteriormente aparecieron otras cefalosporinas y penicilinas de espectro expandido. Estos antimicrobianos se constituyeron en fármacos de primera línea por más de una década hasta el momento de la aparición de bacilos gramnegativos resistentes debido a la producción de  $\beta$ -lactamasas. La primera  $\beta$ -lactamasa descrita en gramnegativos fue la TEM-1 producida por una cepa de *E coli* [1963]<sup>(5)</sup>. En poco tiempo predominaron las infecciones nosocomiales debido a gramnegativos. Fue necesaria la síntesis de nuevas clases de antibióticos  $\beta$ -lactámicos resistentes a estas nuevas  $\beta$ -lactamasas. Estos gérmenes gramnegativos productores de dichas  $\beta$ -lactamasas eran responsables de epidemias en todo el mundo<sup>(6)</sup>. A partir de 1978, se introdujeron nuevas clases de  $\beta$ -lactámicos como las penicilinas anti-pseudomonas y las cefalosporinas de segunda y tercera generación (1981), los inhibidores de  $\beta$ -lactamasa (1984), los monolactámicos y los carbapenemos (1985).

Las cefalosporinas de tercera generación y los carbapenemos surgieron como una necesidad ante la presencia de bacilos gramnegativos productores de  $\beta$ -lactamasas tanto cromosomales como plasmídicas<sup>(6)</sup>, capaces de inactivar esos nuevos antimicrobianos.

Las  $\beta$ -lactamasas aparecieron gradualmente, pero luego aumentaron en forma alarmante<sup>(7,8,9)</sup>. Actualmente se describen unas doscientas  $\beta$ -lactamasas entre las cuales se encuentra un gran número de espectro expandido<sup>(10)</sup>, capaces de inactivar los nuevos grupos de  $\beta$ -lactámicos. Las últimas descritas son las metalo- $\beta$ -lactamasas<sup>(11)</sup> producidas por un gran número de bacterias y activas contra los carbapenemos.

También fueron desarrollados los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, los cuales evaden la presencia de dichas enzimas y representan, el mecanismo más específico desarrollado para evadir la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos. Esto constituyó un importante logro, pues con estos fármacos se recupera la actividad de los  $\beta$ -lactámicos clásicos como ampicilina, amoxicilina, piperacilina y ticarcilina, entre otros. Lamentablemente su eficacia clínica es limitada pues sólo son capaces de inactivar algunas  $\beta$ -lactamasas [clase mol. A, grupo 2 de Bush]<sup>(12)</sup>. Posteriormente, se inicia un periodo caracterizado por una disminución importante de la síntesis e introducción de nuevos agentes antimicrobianos, esto acompañado de un aumento alarmante de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos existentes, lo que condujo a considerar a la resistencia bacteriana como un problema en la salud pública mundial.

Los mecanismos de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos por parte de los bacilos gramnegativos son diversos; también lo son sus mecanismos de transmisión<sup>(13)</sup>. Estos gérmenes han aumentado su resistencia a otros antimicrobianos no  $\beta$ -lactámicos como los aminoglicósidos y las quinolonas<sup>(13)</sup>; las cepas multirresistentes son cada vez más frecuentes<sup>(14)</sup>. Además, de la resistencia de los bacilos gramnegativos, existen serios problemas de resistencia por parte de otras bacterias de importancia clínica como *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria gonorrhoeae* frente a la penicilina, *Staphylococcus sp.* resistentes a meticilina, *Enterococcus sp.* resistentes a la vancomicina y *Mycobacterium sp.* multirresistentes, entre otros<sup>(15)</sup>.

Todas las cepas involucradas en la resistencia bacteriana son responsables de epidemias nosocomiales o comunitarias y diseminadas a través de todo el mundo<sup>(13)</sup>, lo que ha llevado a una serie de expertos de diferentes especialidades a dar la voz de alarma ya que estamos entrando en la "era post-antibiótica"<sup>(16)</sup>. La rápida aparición y diseminación de microorganismos resistentes a los antimicrobianos constituye un grave problema de salud pública. Esto conduce a prolongar el tiempo de hospitalización y el aumento de costos para el paciente y las instituciones de salud<sup>(17,18)</sup>, además de aumentar la morbilidad y mortalidad debido a que la resistencia bacteriana incrementa el riesgo de selección inadecuada de antimicrobianos. En la actualidad, la responsabilidad de los bacilos gramnegativos productores de infecciones nosocomiales es alta, tanto en EEUU como en el resto del mundo<sup>(19)</sup>.

Esta alarmante situación ha llevado a elaborar programas de vigilancia de la resistencia bacteriana, regionales y locales, en países de la Comunidad Europea<sup>(20)</sup> y en América<sup>(18,19,21)</sup>, donde desde hace algunos años existen programas con este propósito. Uno de ellos involucra a la Organización Mundial de la Salud, llamado Programa de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana y conocido como "WHONET"<sup>(22)</sup>. En Venezuela, existe un programa nacional de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana (GVRB) desde 1988.

En el presente trabajo se describen las tendencias de la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos por parte de los bacilos gramnegativos que hemos abordado anteriormente<sup>(23)</sup>. Se incluye la resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, carbapenemos, penicilinas e inhibidores de  $\beta$ -lactamasa por parte de los bacilos gramnegativos aeróbicos identificados en hospitales de Venezuela, usando el programa WHONET. Se da a conocer la evolución de la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos en Venezuela y a la vez se compara con la resistencia de otros países. Se discuten los posibles mecanismos implicados.

## **MATERIALES Y METODOS**

En Venezuela, en 1988, se creó el Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana (GVRB), integrado por 26 investigadores de 24 instituciones de salud o centros de enseñanza universitaria. De esta forma se registra, organiza, analiza y publica información sobre bacterias aisladas de muestras clínicas procedentes de pacientes con infecciones tanto comunitarias como adquiridas en los hospitales<sup>(24)</sup>.

Esta información se adapta al programa WHONET<sup>(24)</sup>, lo que ha permitido la incorporación de Venezuela a la red internacional coordinada por la OMS. Todos los centros hospitalarios públicos o privados (desde clínicas pequeñas, privadas hasta hospitales universitarios de más de 500 camas) registran los datos según formato ad-hoc. En estos se registra la información sobre cada una de las cepas bacterianas identificadas: datos del paciente, origen de la muestra, nombre de la bacteria, procedencia dentro del hospital y número de milímetros de los halos de inhibición. Esta información es transcrita a computadoras IBM ubicadas actualmente en la Unidad de Microbiología e Infectología del Hospital Vargas de Caracas.

**CEPAS BACTERIANAS:** Fueron analizados los resultados de la resistencia de los siguientes bacilos gramnegativos aeróbicos: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. marcescens* y *Acinetobacter sp.*

Los porcentajes de resistencia que aparecen en este trabajo se basan en un número igual o superior a 50 cepas del microorganismo considerado. Los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos analizados fueron: cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefoperazona-sulbactam y tazobactam-piperacilina, cefepime, imipenem y meropenem.

WHONET (red de la Organización Mundial de la Salud) es un programa "software", el cual acepta y analiza los resultados de las pruebas de sensibilidad in vitro a los antimicrobianos. La información es almacenada en un archivo que acepta los resultados de diferentes regiones para ser comparados de acuerdo con las recomendaciones de la OMS. También acepta resultados para ser analizados epidemiológicamente. Este programa integra los resultados de los laboratorios participantes a través de todo el mundo<sup>(22)</sup>.

La vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos es esencial para identificar organismos resistentes, y así lograr el éxito en la terapia de infecciones severas y mejorar los estándares de las pruebas de sensibilidad<sup>(22)</sup>.

En este estudio, se hace una descripción del problema en los hospitales venezolanos desde 1988 a 1998 y se comparan estos resultados con algunos obtenidos en otros países de Europa y América. Simultáneamente, se analizan en cada caso los mecanismos reportados frecuentemente como responsables de la resistencia ante los diferentes antimicrobianos estudiados. En todos los laboratorios participantes, se empleó el método de difusión en agar, usando discos de reconocida calidad (Difco, BBL, Oxoid), siguiendo las normas originales de Bauer y Kirby<sup>(25)</sup>. Se siguieron las normas de eficacia publicadas por la NCCLS [Comité Nacional de estándares para laboratorios clínicos]<sup>(26)</sup>.

Esta investigación se clasificó como epidemiológica de campo, descriptiva comparativa, prospectiva, longitudinal y "expostfacto". Los resultados obtenidos fueron presentados como porcentajes de todos los valores individuales (un mínimo de 50 cepas). Para comparar los porcentajes de resistencia se aplicó la prueba de  $\chi^2$ . El criterio de significación estadística fue de 5% ( $p < 0,05$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

### **A.- Resistencia a Cefalosporinas de Tercera Generación**

Las cefalosporinas de tercera generación son estables a la mayoría de las  $\beta$ -lactamasas del grupo 2 de Bush, muy frecuente en bacilos gramnegativos de importancia en la práctica médica.

#### **1. Resistencia a Cefotaxima ([Figura 1](#))**

La cefotaxima fue introducida en 1981; para la mayoría de los bacilos gramnegativos estudiados se observa un incremento progresivo en los porcentajes de resistencia a este antibiótico, con excepción de *P. mirabilis* y *P. vulgaris*, cuyas resistencias se mantuvieron en la década estudiada en las cercanías del 5%. No hubo incrementos significativos por lo que la cefotaxima continúa siendo un antibiótico de elección en infecciones por este género bacteriano. Las especies *Proteus* no son productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido y cuando se ha descrito, su actividad es baja<sup>(27)</sup>. Para el *E. Coli*, la resistencia a cefotaxima siguió un incremento importante y significativo desde el 2% en 1988 al 21 % en el año 1996 y llegó al 36 % en el año 1998; ello constituye un incremento significativo ( $p < 0,001$ ) del 34 % durante la década. Aunque recientes estudios de infecciones nosocomiales en hospitales de Europa<sup>(28)</sup> no reportan la resistencia frente a cefotaxima, desde comienzos de los 80 se han descrito  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido (bLEE) que hidrolizan a la cefotaxima<sup>(29)</sup>. *E. coli* produce bLEE derivadas de mutaciones de TEM y SHV<sup>(10)</sup>.

La relativamente baja resistencia a la cefotaxima antes de aparecer otras oximinocefalosporinas, parece debida a que ella estimula la producción de TEM-12, la cual es una débil bLEE que además confiere resistencia de bajo nivel<sup>(6)</sup>. Para *E. aerogenes* y *E. cloacae*, se evidencia un aumento progresivo de resistencia en la década estudiada; para *E. Aerogenes*, el aumento fue de 13% (10% en 1988 a 23% en 1998). Para *E. cloacae* (del 24% en 1988 al 33% en 1998), el aumento fue de aproximadamente 10% en la década. En reportes de infecciones nosocomiales por *Enterobacter sp.* se muestra desde comienzos de la década de los 90, un incremento de resistencia del 30% ante las cefalosporinas de tercera generación<sup>(10)</sup>. La cefotaxima es hidrolizada muy lentamente por  $\beta$ -lactamasas clase C del grupo 1 producida por *Enterobacter sp.* pero hidroliza más rápidamente a la cefoperazona<sup>(6)</sup>. En este estudio, *K. pneumoniae* incrementó su resistencia en forma gradual y progresiva hasta 32% en el año 1996, seguido por un aumento brusco que alcanzó el 60% en 1998. El aumento durante la década fue significativo ( $p < 0,001$ ) y alcanzó el 57 %. En el año 1983, dos años después de introducida de cefotaxima, fue descrita por primera vez una bLEE en Europa<sup>(29)</sup>, la cual era producida por cepas de *K. pneumoniae* y *S. marcescens*. Después de ese reporte, se han identificado cepas con esas características en diferentes países de Europa. *Klebsiella sp.* es proclive a acumular plásmidos y por ello son los organismos donde se ha reportado más frecuentemente bLEE<sup>(30)</sup>. En 1989, en Argentina, se reporta *K. pneumoniae* productora de bLEE SHV-5. En 1987 durante una epidemia causada por una cepa de *K. pneumoniae* resistente a cefotaxima, se confirmó la presencia de SHV-2 y SHV-5<sup>(31)</sup>; también se confirmó la presencia de esta última en Chile<sup>(31)</sup>. En el presente estudio para *Acinetobacter sp.*, el aumento de resistencia en la década fue del 15 %. En 1988, el 50% de las cepas mostró resistencia y en 1998 alcanzó el 65 %. Hay que recordar que este germen presenta alta resistencia intrínseca, al igual que otras bacterias gramnegativas no fermentadoras<sup>(32)</sup>.

**Tabla 1: Resistencia a Cefotaxima de Bacilos Gram-negativos Aeróbicos**

	1988	1990	1992	1994	1996	1998	88-98	96-98
<i>E. coli</i>	2	3	4	5	21	36	p < 0,001	p < 0,05
<i>P. mirabilis</i>	3	4	7	7	5	1	p =	p <

							NS	0,05
<i>P. vulgaris</i>	6	6	3	8	7	6	p = NS	p = NS
<i>E. aerogenes</i>	10	11	18	28	17	23	p < 0,05	p = NS
<i>E. cloacae</i>	24	23	28	35	42	33	p < 0,05	p = NS
<i>K. pneumoniae</i>	3	7	10	14	32	60	p < 0,001	p < 0,05
<i>Acinetobacter sp</i>	0	50	50	45	67	65	NA	p = NS

## 2. Resistencia a Ceftazidima (Figura 2)

La ceftazidima está en uso desde 1985. En el trabajo europeo<sup>(30)</sup>, la resistencia a ceftazidima osciló entre el 14 % y el 56 % para las enterobacterias. En este estudio, la resistencia de *E.coli* siguió un aumento gradual y moderado, pero significativo (p<0,001) del 16% entre los años 1988 y 1998; llegando en 1998 a ser mayor de 16%. En Europa y EE UU, se ha reportado resistencia de *E.coli* productora de bLEE. El primer estudio publicado en EE UU corresponde a cepas de *E.coli* y *K. pneumoniae* en el área de Chicago en el periodo 1990 –1992<sup>(33)</sup>. La transmisión parece haber sido a través de plásmidos codificadores de multiresistencia, pero las cepas seguían siendo sensibles a piperacilina-tazobactam y amikacina. En un estudio recientemente publicado<sup>(28)</sup> de países de la Comunidad Europea, reportan un aumento de resistencia a ceftazidima en un rango de 1 a 4 %, entre 1994 y 1995. En este estudio, la resistencia de *P. mirabilis* se mantuvo baja (por debajo de 5%) hasta el año 1998. Para *P. vulgaris* también se mantuvo baja (alrededor de 10 %). El género *Proteus* no es gran productor de bLEE<sup>(27)</sup>. Sin embargo, los *Proteus* indol positivo están relacionados con la producción de β-lactamasas (cefalosporinasa, grupo I de Bush). En este trabajo, *E. aerogenes* muestra una resistencia a la ceftazidima entre 20% y 30%. Para *E. Cloacae*, se mantuvo desde comienzos del estudio en el año 1988, en las cercanías del 30%. En el estudio europeo<sup>(28)</sup>, la resistencia de *Enterobacter sp* a ceftazidima mostró valores que va de 31 al 48 %. En un estudio de vigilancia de infecciones nosocomiales en EE UU<sup>(34)</sup>, se reporta resistencia a ceftazidima por parte de *Enterobacter sp.* de 38.6 % entre los años 1987 y 1991. *E.cloacae* produce cefalosporinasas que son β-lactamasas clase C, cromosomales, resistentes a inhibidores, y activas contra las cefalosporinas de tercera generación. En este trabajo, *K.pneumoniae* muestra un aumento gradual, sostenido y significativo (p<0,001) de la resistencia a ceftazidima, el cual es del 30 % durante la década (5 % en 1988 y 34 % 1998). En el estudio europeo<sup>(28)</sup>, se muestran cifras variables de resistencia a ceftazidima, desde un 3% en Suecia a un 34% en Portugal. Sabemos que en Europa fue descrita por primera vez una bLEE que hidroliza cefalosporinas de tercera generación. En EE UU, la primera epidemia de *K. pneumoniae* resistente a ceftazidima<sup>(33)</sup> ocurrió entre 1990 y 1992. La resistencia fue transmitida por plásmidos y mediada por la producción de bLEE TEM-10, proveniente de mutación de TEM-1. Posterior a esta epidemia, se reportaron muchas otras en las que puntos de mutación genética se tradujeron en cambios en el centro activo de la β-

lactamasa, cerca de la serina, confiriendo nuevas y diferentes afinidades entre los antimicrobianos a las nuevas  $\beta$ -lactamasas así producida<sup>(2)</sup>. En Venezuela, Carmona y colaboradores reportaron esta situación en 1992<sup>(24)</sup>.

Existe una gran cantidad de reportes donde *K. pneumoniae* aparece como responsable de epidemias debidas a cepas resistentes a los nuevos  $\beta$ -lactámicos; esto se explica por su frecuente participación en infecciones nosocomiales y su gran capacidad de acumular plásmidos<sup>(30)</sup>.

Para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa*, la ceftazidima ha sido una de las cefalosporinas de mayor utilidad desde su introducción en el año 1985. En la década estudiada, la resistencia aumentó en forma gradual hasta el año 1996, cuando alcanzó 26%, disminuyendo al 10% en el año 1998; el aumento para la década fue aproximadamente del 10 %. En el estudio europeo<sup>(28)</sup> entre 1994 y 1995, se muestran cifras variables de resistencia, desde 2% en Suecia hasta 16 % en Portugal y España. Un reciente estudio de *Pseudomonas sp.* en 136 hospitales españoles<sup>(35)</sup> reporta resistencia del 15% para la ceftazidima, mostrando mayor resistencia que para los aminoglicósidos (8-9 %). En otro estudio realizado en EE UU, donde participaron 396 Unidades de Cuidados Intensivos (UCIs), la resistencia de *P. aeruginosa* a ceftazidima alcanzó el 14 %<sup>(34)</sup>. En Venezuela (estado Nueva Esparta), con cepas aisladas de *P. aeruginosa* (1995 y 1996), la resistencia a ceftazidima alcanzó el 13.8 % y la resistencia a amikacina fue de 20.2 %<sup>(36)</sup>. *P.aeruginosa* produce cefalosporinasa del grupo 1, clase C de Bush, identificada como cromosomal pero recientemente han sido identificados plásmidos codificadores de esta  $\beta$ -lactamasa<sup>(6)</sup>. Para 1991, fueron aisladas dos  $\beta$ -lactamasa clase D: OXA-10 y PSE-2; éstas pertenecen al grupo 2-d de Bush y muestran alta resistencia a ceftazidima; estas cepas de *P. aeruginosa* provenían de Ankara y París<sup>(6)</sup>. *P.aeruginosa*, al igual que *Acinetobacter sp* posee alta resistencia intrínseca<sup>(32)</sup>. En este estudio la resistencia de *Acinetobacter sp.* se mantuvo durante la década entre el 30 % y el 40%. En el estudio europeo<sup>(28)</sup>, la resistencia a la ceftazidima fue entre 0% en Suecia a 81% en Portugal. En el estudio de las UCIs de EE UU<sup>(34)</sup>, la resistencia reportada a ceftazidima fue de 0 % entre 1990 y 1993.

**Tabla 2: Resistencia a Ceftazidima de Bacilos Gram-negativos Aeróbicos**

	1988	1990	1992	1994	1996	1998	88-98	96-98
<i>E. coli</i>	1	3	6	9	12	17	p < 0,001	p = NS
<i>P. mirabilis</i>	3	6	6	8	4	2	p = NS	p = NS
<i>P. vulgaris</i>	24	11	2	9	2	0	NA	NA
<i>E. aerogenes</i>	22	14	29	35	57	12	p < 0,05	p < 0,001
<i>E. cloacae</i>	34	27	31	41	30	28	p = NS	p = NS
<i>K. pneumoniae</i>	5	11	22	25	32	34	p < 0,001	p = NS
<i>P. aeruginosa</i>	7	15	15	22	26	15	p <	p <

							0,001	0,05
<i>Acinetobacter sp</i>	33	39	18	35	35	26	p < 0,05	p = NS

### 3. Resistencia a Ceftriaxona: (Figura 3)

La ceftriaxona mantiene sus niveles de actividad ante la mayoría de los bacilos gramnegativos estudiados, a pesar de ser una de las cefalosporinas de tercera generación más usadas desde su introducción en 1984<sup>(6)</sup>. En este estudio, *E. coli* mantuvo su resistencia por debajo del 5% hasta 1996, aumentó al 22 % en 1998, mostrando un aumento significativo ( $p < 0,001$ ) en el curso de toda la década de 17%. Se ha identificado una bLEE plasmídica que causa resistencia a ceftriaxona, ceftazidima y cefotaxima y es producida por *E.coli* y *Klebsiella sp.*<sup>(6)</sup>; también se describió una  $\beta$ -lactamasa en *K. oxytoca*, perteneciente a la clase A, cromosómica, la cual produce un aumento de la CIM para la ceftriaxona, ceftazidima y aztreonam<sup>(6)</sup>. Se describe resistencia a la ceftazidima y a la ceftriaxona en enterobacterias debido a la producción de una  $\beta$ -lactamasa derivada de oxacilinas pero no es frecuente<sup>(6)</sup>. En el estudio europeo<sup>(28)</sup> la resistencia a la ceftriaxona en todos los países participantes fue entre 1% y 2%. En el estudio de 396 UCIs, se reportó un 2% de resistencia<sup>(34)</sup>. En este estudio, la resistencia de las especies de *Proteus*, se mantiene en los alrededores o por debajo del 5%. *E. aerogenes* mostró un aumento gradual de la resistencia a la ceftriaxona, comenzando en 1988 con 15% y alcanzando en 1994 el 40%; para 1998 disminuyó al 20 %; ésto evidencia un aumento de la resistencia para la década de un 5 %. *E. cloacae* mantiene una resistencia entre 20 % y 30%, con un pico en 1994 del 40%. En el estudio europeo<sup>(28)</sup> la resistencia para el género *Enterobacter* va desde 26% en Suecia al 42% en Portugal. El estudio de UCIs<sup>(34)</sup> mostró una resistencia de 32%. *K. pneumoniae* en este trabajo, muestra un aumento gradual desde menos del 5% en 1988 hasta 15% en 1996, seguido de un brusco aumento, significativo ( $p < 0,001$ ) en 1998, cuando su resistencia alcanzó el 48% (43% de aumento de la resistencia durante la década). En Europa<sup>(28)</sup>, la resistencia a la ceftriaxona fue del 4% en España al 16% en Francia. En el estudio de hospitales de EE UU, se reporta 3% de resistencia de la *K.pneumoniae* a la ceftriaxona<sup>(34)</sup>.

**Tabla 3: Resistencia Ceftriaxona de Bacilos Gram-negativos Aeróbicos**

	1988	1990	1992	1994	1996	1998	88-98	96-98
<i>E. coli</i>	2	2	2	3	5	22	p < 0,001	p < 0,001
<i>P. mirabilis</i>	3	7	3	4	5	1	p = NS	p < 0,05
<i>P. vulgaris</i>	6	6	2	5	6	2	p = NS	p < 0,05
<i>E. aerogenes</i>	16	12	25	40	28	18	p = NS	p = NS
<i>E. cloacae</i>	29	22	30	40	20	28	p = NS	p < 0,05
<i>K. pneumoniae</i>	3	9	14	21	15	52	p < 0,001	p < 0,001

<i>Acinetobacter sp</i>	0	50	58	43	0	67	NA	NA
-------------------------	---	----	----	----	---	----	----	----

#### 4. Resistencia a Cefoperazona-Sulbactam (Figura 4)

Esta es una cefalosporina de tercera generación introducida en 1982. Se ha usado con mayor frecuencia en Latino-América, donde existen reportes de su uso y resistencia<sup>(36,37)</sup>. Al añadirle el sulbactam (introducido en 1986), aumenta su actividad, pues además de inhibir la  $\beta$ -lactamasa clase 1-b, se une a las PBP-1a, aumentando su actividad contra *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *Acinetobacter sp.* y *Serratia sp.* En el gráfico 4, se puede observar porcentajes de resistencia menores del 10% para *E. coli*, *P. mirabilis* y *P. vulgaris*. En un estudio colombiano<sup>(37)</sup>, se reporta del 20% al 46% de resistencia de *E. coli* ante cefoperazona. En este estudio, el *E. aerogenes* alcanzó un 15% de resistencia. También se muestra que *K. pneumoniae* y *E. cloacae* tuvieron picos de resistencia de cerca del 20% en el año 1994, observándose luego una disminución para ambos microorganismos (resistencia menor de 10%). La resistencia del género *Enterobacter* ante la cefoperazona osciló entre 26% y 44% en los diferentes hospitales colombianos<sup>(37)</sup>. Para *K. pneumoniae* fue del 33% al 42% en dicho estudio. En nuestro estudio, *P. aeruginosa* llega a un máximo de resistencia de 23% en 1990 y bajó a 8% en 1998 (probablemente debido a disminución en su uso). El estudio colombiano<sup>(37)</sup> reporta cifras entre 24% y 37% de resistencia. En el estudio del estado Nueva Esparta<sup>(36)</sup>, la resistencia ante cefoperazona-sulbactam no alcanzó el 5%. La diferencia con la cefoperazona sola, en dicho estudio, fue de 20%; en este caso, se evidencia la eficacia del sulbactam como inhibidor de  $\beta$ -lactamasas. Anteriormente, se han reportado trabajos sobre el efecto de inhibidores de  $\beta$ -lactamasa en la evolución de la resistencia a  $\beta$ -lactámicos en bacilos gramnegativos aeróbicos<sup>(38,39)</sup>.

En nuestro estudio, la resistencia de *Acinetobacter sp.* se mantuvo, en los años estudiados, por debajo del 10%. En el estudio colombiano<sup>(37)</sup> la resistencia de *Acinetobactersp.* frente a la cefoperazona osciló entre 75% y el 94%.

**Tabla 4: Resistencia a Cefoperazona-sulbactan de Bacilos Gram-negativos Aeróbicos**

	1988	1990	1992	1994	1996	1998	88-98	96-98
<i>E. coli</i>	2	4	2	3	1	1	p = NS	p = NS
<i>P. mirabilis</i>	3	6	1	3	2	1	p = NS	p = NS
<i>P. vulgaris</i>	4	9	0	5	0	1	p = NS	NA
<i>E. aerogenes</i>	0	8	3	16	0	3	NA	NA
<i>E. cloacae</i>	8	14	20	15	3	8	p = NS	p = NS
<i>K. pneumoniae</i>	1	9	6	3	24	3	p = NS	p < 0,001
<i>P. aeruginosa</i>	8	23	5	7	22	8	p = NS	p < 0,001
<i>Acinetobacter</i>	0	0	0	8	1	9	NA	p < 0,05

**Tabla 4B: Resistencia a Cefoperazona de Bacilos Gram-negativos Aeróbicos**

	1988	1990	1992	1994	1996	1998	88-98	96-98
<i>E. coli</i>	7	11	8	12	14	7	p = NS	p < 0,05
<i>P. mirabilis</i>	4	4	7	6	4	3	p = NS	p = NS
<i>P. vulgaris</i>	4	8	0	3	3	0	p = NS	NA
<i>E. aerogenes</i>	16	18	29	38	26	15	p < 0,05	p < 0,05
<i>E. cloacae</i>	33	26	31	41	18	28	p < 0,05	p < 0,001
<i>K. pneumoniae</i>	16	29	23	26	24	30	p < 0,05	p < 0,05
<i>P. aeruginosa</i>	13	16	14	20	24	15	p = NS	p < 0,05
<i>Acinetobacter</i>	50	64	65	32	43	47	p = NS	p = NS

## B.- CEFALOSPORINAS DE CUARTA GENERACIÓN

### Resistencia a Cefepime ([Figura 5](#))

El cefepime es resistente a las  $\beta$ -lactamasas cromosomales del grupo 1 de Bush, clase molecular C que hidrolizan las cefalosporinas de tercera generación<sup>(6)</sup>. En el presente estudio, para todos los bacilos gramnegativos estudiados, la resistencia fue menor del 10% entre 1996 y 1998, con excepción de *P.aeruginosa* cuya resistencia se mantuvo entre 1% y 14%. En el estudio español sobre *Pseudomonas*<sup>(35)</sup> se reporta una resistencia del 17 % para el cefepime. En este estudio la resistencia de *Acinetobacter sp.* osciló entre 30% y 40%, mientras que la resistencia de *S. marcescens* fue menor del 5%. En un estudio donde se incluyeron cepas de once países resistentes a cefalosporinas de tercera generación, el cefepime fue activo en el 84%<sup>(40)</sup>. Es importante mencionar la presencia de bombas de eflujo, descritas en *P.aeruginosa*, y activa para el cefepime<sup>(41)</sup>, mecanismo que aumenta la capacidad del germen para resistir a este antibiótico.

## C. PENICILINAS

### UREIDOPENICILINAS

#### Resistencia a piperacilina–tazobactam ([Figura 6](#))

La piperacilina fue introducida en 1981 mientras que la piperacilina-tazobactam lo fue en 1993; desde entonces ambas han jugado un papel relevante en el tratamiento de las infecciones producidas por gérmenes gramnegativos. El tazobactam tiene características farmacocinéticas y farmacodinámicas que lo hacen más activo como inhibidor de  $\beta$ -lactamasas que sus predecesores<sup>(12,40)</sup>. El tazobactam es también inhibidor de  $\beta$ -lactamasas pertenecientes al grupo 1 de Bush. En este estudio, la resistencia de *E. coli* a la piperacilina aumentó gradualmente desde 25% en 1988 hasta sobrepasar el 40 % en los años 1996 y 1998 (15% de aumento en la década). Para la piperacilina-tazobactam, en los años 1997 y 1998, se mantuvo la resistencia por debajo del 5%. Esto significa una diferencia del 40% en la resistencia de *E. coli* entre piperacilina y piperacilina-tazobactam. En el estudio europeo<sup>(28)</sup> para piperacilina, la resistencia del *E. coli* osciló

entre el 17% en Suecia a 50% en España. Para piperacilina–tazobactam la resistencia varió desde 3% en Francia a 15% en Bélgica. En EE UU<sup>(34)</sup>, la resistencia de *E. coli* reportada a la piperacilina en un gran número de UCIs fue de 28%. En este estudio, la resistencia de *P. mirabilis* y *P. vulgaris* fue menor del 10% a la piperacilina durante la década estudiada. Para piperacilina-tazobactam en los años 1997 y 1998, la resistencia fue menor del 5 %, lo que representa una diferencia de 5% a favor de la combinación. En este estudio *Enterobacter sp* y *K. pneumoniae* muestran resistencia a la piperacilina entre 30% y 40% en el lapso comprendido entre 1988 y 1998.

La resistencia de *Enterobacter sp.* en EE UU<sup>(34)</sup> fue de 37%; en el estudio europeo<sup>(28)</sup>, la resistencia osciló entre 26% y 37%. Para *K. pneumoniae*, en EE UU<sup>(34)</sup>, se reportó 56% de resistencia. En Europa<sup>(28)</sup>, fue desde el 21% hasta 54% .En nuestro estudio, ante piperacilina-tazobactam, la resistencia de *E. aerogenes* se mantuvo cerca del 20%; para *E. cloacae* y *K. pneumoniae* no alcanzó el 20%. Esto evidencia una diferencia en la resistencia entre piperacilina y piperacilina-tazobactam de 10% y 20% a favor de la combinación. La resistencia en el estudio Europeo para el género *Enterobacter* varió entre 26% y 51% y para *K. pneumoniae* osciló entre 3% y 28%. En este estudio la resistencia de *P.aeruginosa* ante piperacilina, entre 1988 y 1996, se mantuvo cerca de 10%, aumentando en 1998 a 20%. Para la piperacilina-tazobactam se encuentra, entre 1996 y 1998 algo por encima del 10%. Esto indica una diferencia de 10% a favor de la combinación para el año 1998. En este caso el estudio europeo<sup>(28)</sup> reportó valores de resistencia a la piperacilina entre 5% y 26%, siendo el reporte de EE UU<sup>(34)</sup> de 10% en las UCIs.

Para la especie *Acinetobacter*, la resistencia a la piperacilina estuvo entre 1996 y 1998 en 60%. Al comparar la piperacilina con la piperacilina–tazobactam se evidencia una diferencia de 20% entre ambas, pues la resistencia de *Acinetobacter* ante la combinación fue de 40%. En Europa<sup>(28)</sup>, la resistencia de *Acinetobacter sp.* a la piperacilina fue entre 42% y 87% y ante piperacilina-tazobactam, entre 25% y 64%; este estudio muestra una diferencia similar (20%) a la reportada en este estudio, a favor de la combinación piperacilina-tazobactam.

**Tabla 5: Resistencia a Piperacilina-tazobactam de Bacilos Gram-negativos Aeróbicos**

Germen	Piperacilina-Tazobactam		
	1987	1998	Contraste
<i>E. coli</i>	4	3	p = NS
<i>P. mirabilis</i>	1	5	p < 0.05
<i>P. vulgaris</i>	5	0,1	NA
<i>E. aerogenes</i>	0,3	15	p < 0,001
<i>E. cloacae</i>	15	16	p < 0,05
<i>K. pneumoniae</i>	21	8	p < 0,05
<i>P. aeruginosa</i>	12	11	p = NS

<i>Acinetobacter sp</i>	40	29	p < 0,05
<i>Serratia m</i>	21	6	p < 0,001

## D. CARBAPENEMOS

Los carbapenemos se caracterizan por evadir a las  $\beta$ -lactamasas de los grupos 1 y 2 de Bush (Clases moleculares C y A).

### 1. Resistencia a Imipenem ([Figura 7](#))

Introducido en 1985, para el año 1996 ofrecía una resistencia menor de 5% para todos los gérmenes estudiados (figura 7), excepto *P. aeruginosa* cuya resistencia alcanzó el 10% en 1998. En el estudio español<sup>(35)</sup> la resistencia fue de 14% y en el estudio europeo<sup>(28)</sup> la resistencia estuvo entre 16% y 24% en los países participantes. En UCIs de EE UU se reportó 13% de resistencia<sup>(34)</sup>. En Japón, donde se ha extendido el uso de imipenem, la resistencia reportada es de 18,4%, siendo mediada por metalo- $\beta$ -lactamasas que pertenecen al grupo 3 de Bush [clase B]<sup>(11)</sup>. También se reporta una  $\beta$ -lactamasa cromosomal (carbapenemasa), clase molecular A<sup>(6)</sup>. Sin embargo, el mecanismo de resistencia más importante por parte de las enterobacterias sigue siendo el resultado de la combinación de los mecanismos mencionados con la pérdida de la proteína OMP, porina D<sub>2</sub>, la cual disminuye en forma importante la permeabilidad bacteriana al imipenem<sup>(10)</sup>. Para las especies de *Enterobacter*, se reporta en EE UU una resistencia de 3%, debida a una cefalosporinasa cromosomal que también hidroliza al imipenem. En este caso también se encontró disminución de la permeabilidad<sup>(10)</sup>.

*Acinetobacter sp.* y *P. aeruginosa* desarrollaron una resistencia mayor del 5%; se evidenció un aumento significativo (p < 0.001) desde 20% en 1997 a 35% en 1998 para *Acinetobacter*. En el estudio europeo<sup>(28)</sup>, se reporta del 5% al 19% y en el estudio estadounidense<sup>(32)</sup> la resistencia osciló entre 0 al 20%.

En Europa<sup>(28)</sup> la resistencia se mantiene baja para *K. pneumoniae*; se reporta un aumento de resistencia entre 0 y 1% y en EE UU esta resistencia en UCIs es de 2%<sup>(32)</sup>. En este trabajo, *S. marcescens* muestra una resistencia menor del 5%, mientras que en Europa es de 1 a 3%<sup>(28)</sup>. Otro estudio muestra 4% de resistencia<sup>(42)</sup>, siendo responsable de la misma una metalo- $\beta$ -lactamasa mediada por plásmidos.

### 2. Resistencia a Meropenem ([Figura 8](#))

Es el más nuevo de los antimicrobianos evaluados en este estudio.

Se observa baja resistencia en todos los gérmenes estudiados (figura 8), manteniéndose por debajo del 5%. Con excepción, *P. aeruginosa* que alcanza 15% de resistencia en 1998 y *Acinetobacter sp.*, cuyo aumento fue significativo (p < 0.001), del 20% en 1997 a más de 30% en 1998. Para esta última se reporta en Alemania 0% de resistencia. Para *P. aeruginosa*, en España se reporta 8% de resistencia<sup>(35)</sup>, mientras que en EE UU<sup>(34)</sup> es del 4%. En otro estudio proveniente de EE UU<sup>(43)</sup>, con cepas de *P. aeruginosa*, se demuestra porcentajes de resistencia de 4.2% para meropenem y de

12.5% para imipenem. El estudio japonés encuentra una carbapenemasa plasmídica<sup>(42)</sup> activa contra el meropenem<sup>(10)</sup>. Tanto las carbapenemasas del grupo 2 de Bush como las metalo- $\beta$ -lactamasas pertenecientes al grupo 3 de Bush, son más activas al hidrolizar al imipenem que a los nuevos carbapenemos [meropenem y biapenem]<sup>(44)</sup>. Sin embargo, se describe una excepción en los grupos 3-a y 3-b<sup>(44)</sup> los cuales son más activos hidrolizando al meropenem y al biapenem.

## CONCLUSIONES

La información epidemiológica de resistencia antimicrobiana puede provenir de diferentes orígenes. Los datos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos obtenidos a través de un programa de vigilancia, tienen limitaciones. Esta información ayuda a identificar las tendencias en la frecuencia de resistencia; sin embargo, es limitada en lo que se refiere a dar respuestas a factores asociados con la aparición, persistencia y transmisión de esa resistencia por las bacterias.

En este estudio, se muestra la evolución y frecuencia de la resistencia de bacilos gramnegativos aislados en hospitales de Venezuela y se compara con resultados obtenidos de otros países. En este trabajo, nos limitamos a hacer un diagnóstico del problema.

Una de las conclusiones importantes, es el hecho de que no hay patrones predecibles en la evolución de la resistencia a los antimicrobianos. Por ejemplo, en el caso de *K. pneumoniae*, hubo coincidencia entre lo reportado en este trabajo y la evolución de la resistencia en países europeos y norte-americanos, pero no fue así con los porcentajes de resistencia.

Existen diferencias importantes entre los países de la Comunidad Europea; los resultados de este estudio tienen algunas similitudes con los de países como España, Portugal y Francia pero difieren en forma importante con los resultados de Suecia. Existe una relación entre optimización sanitaria, higiene, nutrición, nivel y calidad de vida y la resistencia bacteriana; además de las diferencias en cuanto a problemas y prácticas de cada país<sup>(15,16, 21,45,46)</sup>.

Por otra parte es alarmante el aumento de la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, ya que son fármacos de primera elección en el tratamiento de infecciones frecuentes. Los aumentos de resistencia durante la década (1988-1998), reducen la utilidad de esos antimicrobianos, hasta ahora usados como fármacos de primera línea. Es de hacer notar el hecho de que los bacilos gramnegativos han desarrollado todos los mecanismos descritos para los  $\beta$ -lactámicos, ante los carbapenemos, último grupo introducido; así tenemos desde la más sofisticada bomba de eflujo, cambios en las porinas, cambios en las PBP y la producción de diferentes grupos de  $\beta$ -lactamasas (carbapenemasas y metalo- $\beta$ -lactamasas), incluyendo cromosomales y plasmídicas.

Se requiere del esfuerzo de todos los profesionales de la salud involucrados para controlar este importante problema de salud pública<sup>(45)</sup>.

Teniendo en consideración que los últimos elementos del problema son los genes de resistencia y sus productos, discutimos los posibles mecanismos de resistencia de los diferentes gérmenes estudiados, implicados en su producción y transmisión; la aparición

de cada gen inicia cada problema y su diseminación determina su magnitud<sup>(46)</sup>. En este sentido, debemos aumentar el conocimiento de su presencia y evolución en nuestras instituciones hospitalarias.

La resistencia antimicrobiana necesita monitoreo y manejo global porque los genes de resistencia y las cepas viajan entre diferentes países, y también necesitan monitoreo y manejo en cada país, porque cada país puede diferir grandemente en sus prácticas, políticas y problemas. El monitoreo más importante es el que se hace en cada centro médico. La vigilancia de la resistencia bacteriana a antimicrobianos depende enteramente del monitoreo local. También es en cada centro médico donde el equipo de salud debe implementar medidas para prevenir la resistencia. La segunda mitad del siglo XX ha sido la edad de oro de los antibióticos, pero el futuro es incierto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Florey H W; The use of micro organisms for therapeutic purposes. Yale J. Biol. Med 1946; 19: 101-118.
2. Ayliffe GAJ; The Progressive Intercontinental Spread of Methicillin-Resistant. Clin Infect Dis 1997;24:s74-79.
3. Williamsom P, Bornet JM, Gutmann L. Presence of an additional penicillin-binding in methicillin-resistant Staphylococcus with a low affinity for methicillin, cephalotin and cephamandol. Antimicro Agents Chemother 1989; 34:1691-4.
4. Moellering R; Anti-Infective Therapy; In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Ed, Mandell, Bennett, Dolin. edition 1999; 1: 199-212.
5. Datta N and Kontomicha LU, Penicillinase Synthesis Controlled by Infectious R factors in enterobacteriaceae. Nature 1965; 208: 239-241.
6. Medeiros A, Recent increases in Resistance: mechanisms and organisms: Evolution and Dissemination of  $\beta$ -lactamases Accelerated by Generations of  $\beta$ -lactaman Antibiotics Clin Infec Dis 1997; 24: S19-45.
7. Bush K, Classification of  $\beta$ -lactamases: group 2c, 2d, 2e, 3, and 4. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 271-276.
8. Bush K, Classification of  $\beta$ -lactamases: groups 1, 2a, 2b, 2e, and 2b $\phi$ . Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 264-270.
9. Bush K, Jacoby GA., Medeiros A. A Functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1211-1233.
10. Nordmann P, Trends in  $\beta$ -Lactam Resistance Among Enterobacteriaceae. Clinic Infect Dis 1998; 27: S100-106.

11. Bush K, Metallo- $\beta$ -lactamases: A Class Apart. *Clinic Infec Dis* 1998; 27: S48-53.
12. Bush K, Macalinstal C; Kinetic Interations of Tazobactam with  $\beta$ -lactamases from all majors structural classes. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 851-8.
13. Davies J. Inactivation of Antibiotics and the Dissemination of Resistance Genes. *Science* 1994; 264: 375-382.
14. Carmona O, Silva H, Mecanismos de Resistencia a los Antibióticos; *Archiv Venez Farmac y Terap* 1994; 13: 6-18.
15. Moellering R, Antibiotic Resistance: Lessons for the Future. *Clin Infec Dis* 1998;27:S135-140
16. Cohen ML, Epidemiology of Drug Resistance: Implications for a Post-Antimicrobial Era. *Science* 1992; 257: 1050-1055.
17. Holbert SD, Solomon SL, Blake P.A Health and economic impacts of antimicrobial resistance *Rev. Infect. Dis* 1987; 9:1065 –1078.
18. Archibald LK and Gaynes RP, Hospital-Acquired Infections in the United States: The Importance of Inter-hospital Comparisons. *Infect. Dis. Clin Med North Am* 1997; 11:245-255.
19. Fridkin S, Welbel S, Weinstein RA, Magnitude and Prevention of Nosocomial Infections in the Intensive Care Unit. *Infect. Dis. Clin of North Ame* 1997; 11: 479-496.
20. Vincent JL, Bilmari DJ, Suter PM, The Prevalence of Nosocomial Infection in Intensive Care Unit in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. *JAMA* 1995; 274: 639-644.
21. Hughes JM and Tenover F, Approaches to Limiting Emergence of Antimicrobial Resistance in Bacteria in Human Populations. *Clin. Infect. Dis* 1997; 24: 131-135.
22. Stelling JG and O'Brien TF, Surveillance of Antimicrobial Resistance: The WHO Net Program. *Clin. Infect. Dis* 1997; 24: S157-S168.
23. Carmona O, Martín G, Resistencia Bacteriana a los  $\beta$ -lactámicos en Venezuela *Antib. e Inf* 1994; 1 2 (4): 39-50.
24. Carmona O, Guzmán M, Silva H, Pulido S y GVRB; Vigilancia de la Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos en Venezuela. Cuarto Informe. *Bol. Soc. Ven de Microbiol* 1992 ;12:11-22.
25. Bauer A, Kirby W, Sherris JC and Turk M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *Am. J. Clin. Pathol* 1966; 45: 493-496.

26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standard for Antimicrobial Disk, Susceptibility Test. Approved Standard M2-A4. Villanova, PA.
27. Mariotte S, Nordman M, Nicolas M. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Proteus mirabilis*. *J. Antimicrob. Chemother* 1994; 33: 925-935.
28. Hanberger H, Garcia J, Gobernado M, Antibiotic Among Aerobic Gram-negative Bacilli in intensive Care Units in 5 European Countries. *JAMA* 1999; 281: 67-71.
29. Knothe H, Shah P, Kizmery V, Mitsuhatschi S, Transferable Resistance to Cefotaxime, cefamandol, cefoxitin in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315-317.
30. Drusano George L. Infection in the Intensive Care Unit:  $\beta$ - Lactamase-Mediated Resistance Among Enterobacteriaceae and Optimal Antimicrobial Dosing, *Clin Infec Dis* 1998; 27: S111-116.
31. Guzman B, Casellas JM and Silva HS; Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents in Latin America. *Infect Dis. Clinics of North Amer* 2000; 14: 67-81.
32. Hancock R E W, Resistance Mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and Other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria. *Clin. Infect. Dis* 1998; 27: S93-99.
33. Winer J, Quinn PJ, Bradford A; Multiple Antibiotic-Resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in Nursing Homes. *JAMA*, 1999; 281: 517-523.
34. Itokazu G S, Quinn P. Bell-Dixon. Antimicrobial Resistance Rates Among Aerobic Gram-Negative Bacilli Recovered from Patients in Intensive Care Units: Evaluation of a National Post-marketing Surveillance Program. *Clin Infect. Dis* 1996;23:779-84.
35. Bouza E, Garcia F-Garrote, Cercenado E, Marin M, and Diaz MS, *Pseudomonas aeruginosa*: a Survey of Resistance in 136 Hospitals in Spain, *Antimicrob Agents and Chemothe* 1999; 43:981-982.
36. Sarabia MA, Carreño A, Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos. *Antib e Inf* 1996; 4:27-30.
37. Robledo C, Robledo J. Panorama de la Resistencia a los antibióticos en Colombia *Rev. Panam Infectol* 1999; 3 : S26-S32.
38. Martin G, Carmona O; Actividad de cefalosporinas de tercera generación y otros blactámicos frente a bacilos Gram.-negativos en hospitales de Venezuela(1988-1996). *Bol. Asoc. Colomb Farmacol* 1997,5:114.

39. Martin G, Carmona O, Guzmán M; Influencia de Inhibidores de  $\beta$  lactamasa en la evolución de la resistencia de bacilos Gram-negativos ante  $\beta$  lactámicos en Venezuela (1988-1996). Βολ. Ινφεχτ 1997; 7:54.
40. Ροναλδ Θ Ν. Ιμπαχτ οφ Χηανγινγ Πατηογενσ ανδ Αντιμικροβιαλ Συσχεπιβιλιτυ Παττερνσ ιν τηε Τρεατμεντ οφ Σεριουσ Ινφεχτιονσ ιν Ηοσπιταλ ιζεδ Πατιεντσ Τηε Αμερ Θ Μεδ 1996; 100:125–9
41. Νικαιδο Ηιροσηι, Αντιβιοτιχ Ρεσιστανχε Χαυσεδ βψ Γραμ–Νεγατιβε Μυλ–τιδρυγ Εφφλυξ Πυμψ. Χλιν Ινφεχτ Δισ 1998; 27: Σ32– 41.
42. Ιτο Η, Αρακαωα ΙΗ, Οσηυκα Σ, Ωαχηαροταψανκυν Ρ, Κατο Ν, Οητα Μ; Πλασμιδ μεδιατεδ δισσεμινατιον οφ μεταλλο– $\beta$  lactamase gene bla-imp among clinical isolated strains of *Serratia marcescens*. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:824-829.
43. Iaconis J, Pitkin D, Sheikh W, Nadler H. Comparison of antibacterial activities of Meropenem and six other antimicrobial against *P. aeruginosa* isolates from North American studies and clinical trials. Clin Infect Dis 1997; 24:191-196. 44.-Rasmussen B A, Bush K ; Carbapenem-Hydrolyzing  $\beta$ -lactamase. Antimicrob Agent Chemother 1997; 41:223-232. 45.-Greenwood D, Resistance to antimicrobial agents: a personal view. J. Med. Microbiol 1998; 47: 751-755.
46. O' Brian TF; The Global Epidemic Nature of Antimicrobial Resistance and the need to Monitor and Manage it locally. Clin. Infect. Dis 1997; 24: 2-8.