

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación de resistencia a Imipenem y Meropenem en
Enterobacterias aisladas del Río Villalobos, en Guatemala

Trabajo de investigación presentado por

Ana Gabriela Cabrera Jérez

para optar al grado académico de

Licenciada en Química Farmacéutica

Guatemala

2022

Evaluación de resistencia a Imipenem y Meropenem en
Enterobacterias aisladas del Río Villalobos, en Guatemala

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación de resistencia a Imipenem y Meropenem en
Enterobacterias aisladas del Río Villalobos, en Guatemala

Trabajo de investigación presentado por

Ana Gabriela Cabrera Jérez

para optar al grado académico de

Licenciada en Química Farmacéutica

Guatemala

2022

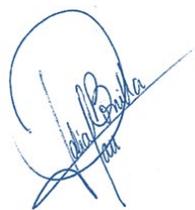
Vo. Bo. :



(f)

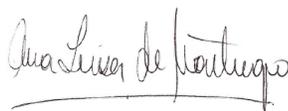
Dalia Lau-Bonilla, Ph.D.
Asesora

Tribunal Examinador:



(f)

Dalia Lau-Bonilla, Ph.D.
Asesora



(f)

Licenciada Ana Luisa Mendizábal Solé



(f)

Prof. Dr. Élfego Rolando López García.

Fecha de aprobación: Guatemala, 21 de junio de 2022

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	I
ÍNDICE DE CUADROS.....	II
RESUMEN.....	III
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO CONCEPTUAL.....	3
A. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	3
B. JUSTIFICACIÓN	5
C. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
D. ALCANCE Y LIMITANTES DEL PROBLEMA	8
1. Alcance:.....	8
2. Limitantes:.....	9
III. MARCO TEÓRICO.....	10
A. ANTIBIÓTICOS.....	10
1. Generalidades.....	10
2. Uso de antibióticos en humanos.....	10
3. Betalactámicos	17
4. Usos de antibióticos en industria agropecuaria.....	23
5. Abuso y uso incorrecto de los antibióticos	24
B. ENTEROBACTERIAS	27
1. Clasificación.....	30
C. RESISTENCIA BACTERIANA.....	31
1. Problemática global	31
2. Resistencia antibiótica en enterobacterias	33
3. Mecanismos de resistencia de enterobacterias.....	34
4. Resistencia a carbapenémicos	39
D. CEPAS MULTIRRESISTENTES	41
E. ANÁLISIS DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA	42
1. Cuerpos de agua en Guatemala	43
F. TÉCNICAS DE DETECCIÓN BACTERIANA.....	44
1. Pruebas bioquímicas	44
2. Métodos moleculares.....	45
3. Pruebas de susceptibilidad.....	47
4. Técnicas de detección de carbapenemasas.....	48
IV. MARCO METODOLÓGICO	50
A. OBJETIVOS	50
1. Objetivos generales:.....	50
2. Objetivos específicos	50
B. HIPÓTESIS	50
C. VARIABLES	51
D. POBLACIÓN Y MUESTRA	52
1. Sitio de estudio	52
2. Diseño de investigación.....	52
3. Sujetos de estudio	52

4.	<i>Tipo y tamaño de muestra</i>	52
E.	PROCEDIMIENTO E INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN.....	53
1.	<i>Metodología</i>	53
V.	MARCO OPERATIVO	56
A.	RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LOS DATOS	56
1.	<i>Correlación entre frecuencia de enterobacteria aislada y el punto de muestreo del Río Villalobos</i> 56	
2.	<i>Correlación entre frecuencia enterobacteria resistente a ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem</i>	57
B.	RECURSOS.....	58
1.	<i>Recursos humanos</i>	58
2.	<i>Recursos materiales</i>	58
VI.	RESULTADOS	60
VII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	72
VIII.	CONCLUSIONES	78
IX.	RECOMENDACIONES	80
X.	BIBLIOGRAFÍA	82
XI.	ANEXOS	91
	ANEXO 1. MAPA DE UBICACIÓN DE RÍO VILLALOBOS Y SU DESEMBOCADURA EN EL LAGO DE AMATITLÁN	91
	ANEXO 2. FIGURAS Y MAPAS DE UBICACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO EN EL RÍO VILLALOBOS	92
	ANEXO 3. FIGURAS DE OBTENCIÓN DE BACTERIAS A PARTIR DE MUESTRAS DE AGUA DE DE PUNTOS DE MUESTREO EN EL RÍO VILLALOBOS	96
	ANEXO 4. IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS EN CULTIVOS CROMOCULT CON IMPENEM Y MEROPENEM OBTENIDAS DE LAS CUENCAS DEL RÍO VILLALOBOS	99
	99
XII.	GLOSARIO DE TÉRMINOS	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1. Estructura química de la penicilina, mostrando el anillo β -lactámico	17
Figura No. 2. Pared celular de Gram-negativo y Gram-positivo	18
Figura No. 3. Mecanismo de acción de los betalactámicos	19
Figura No. 4. Estructura química de Imipenem	21
Figura No. 5. Ilustración esquemática de posibles vínculos entre el uso de antibióticos en la agricultura y las enfermedades humanas	23
Figura No. 6. Tinción de Gram de <i>Escherichia coli</i> . \times 1000. B: Estructura antigénica de Enterobacteriaceae.	28
Figura No. 7. Estructura típica de una bacteria Gram-negativa	29
Figura No. 8. Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos. 1. Enzimas modificadoras. 2. Bombas de salida. 3. Cierre de porinas. 4. Proteínas unidoras de penicilina.	34
Figura No. 9. características de las principales carbapemenasas adquiridas en Enterobacteriaceae	40
Figura No. 10. Principales enfermedades bacterianas transmitidas por el agua potable	43
Figura No. 11. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca alta del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y control negativo (sin antibiótico)	61
Figura No. 12. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca alta del Río Villalobos en placas con Meropenem y control negativo (sin antibiótico)	62
Figura No. 13. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca alta del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y Meropenem	63
Figura No. 14. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca media del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y Meropenem	64

Figura No. 15. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca baja del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y control negativo (sin antibiótico)	65
Figura No. 16. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca baja del Río Villalobos en placas con Meropenem y control negativo (sin antibiótico)	66
Figura No. 17. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca baja del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y Meropenem	67
Figura No. 18. Comparación de conteo de colonias resistentes a Imipenem Cilastatina provenientes de la Cuenca alta, media y baja del Río Villalobos	68
Figura No. 19. Mapa de ubicación del Río Villalobos, otros ríos alternos y desembocadura en el Lago de Amatitlán	91
Figura No. 20. Mapa hidrográfico de la cuenca del Lago de Amatitlán con los puntos de muestreo del Río Villalobos	92
Figura No. 21. Punto de muestreo en la cuenca baja del Río Villalobos, San Villacanales.	92
Figura No. 22. Mapa de ubicación de la cuenca baja del Río Villalobos	93
Figura No. 23. Punto de muestreo en la cuenca media del Río Villalobos, San Miguel Petapa.	93
Figura No. 24. Mapa de ubicación de la cuenca media del Río Villalobos, Intersección del Río Pinula	94
Figura No. 25. Punto de intersección del Río Pinula con en la cuenca media del Río Villalobos, San Miguel Petapa.	94
Figura No. 26. Punto de muestreo en la cuenca alta del Río Villalobos, Ciudad de Guatemala.	95
Figura No. 27. Mapa de ubicación de la cuenca alta del Río Villalobos	95
Figura No. 28. Muestra de parte baja en Imipenem	96
Figura No. 29. Muestra de parte media en Imipenem	96
Figura No. 30. Muestra de parte baja en Meropenem	96

Figura No. 31. Muestra de parte media en Meropenem	96
Figura No. 32. Muestra de parte baja en Imipenem	97
Figura No. 33. Muestra de parte media en Imipenem	97
Figura No. 34. Muestra de parte baja en Imipenem	97
Figura No. 35. Muestra de parte media en Meropenem	97
Figura No. 36. Muestra de parte baja en Meropenem	97
Figura No. 37. Muestra de parte alta en agar chromocult sin antibiótico	97
Figura No. 38. Muestra de parte baja en agar chromocult sin antibiótico	98
Figura No. 39. Muestra de parte baja en agar chromocult sin antibiótico	98
Figura No. 40. Muestra de parte baja en agar chromocult sin antibiótico	98
Figura No. 41. Muestra de parte alta en agar chromocult sin antibiótico	98
Figura No. 42. <i>Proteus mirabilis</i> aislada de la cuenca baja del Río Villalobos en Imipenem	99
Figura No. 43. <i>Stenotrophomas maltophila</i> aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Meropenem	99
Figura No. 44. <i>Proteus mirabilis</i> aislada de la cuenca baja del Río Villalobos en Imipenem	99
Figura No. 45. <i>Chromobacterium violaceum</i> aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Imipenem	99
Figura No. 46. <i>Chromobacterium violaceums</i> aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Meropenem	100
Figura No. 47. <i>Stenotrophomas maltophila</i> aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Meropenem	100
Figura No. 48. <i>Pantoea dispersa</i> aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Meropenem	100
Figura No. 49. <i>Klebsiella pneumoniae</i> aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Meropenem	100
Figura No. 50. <i>Klebsiella pneumoniae</i> aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Imipenem	100
Figura No. 51. <i>Yersenia frederiksenii</i> aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Imipenem	100

Figura No. 52. <i>Klebsiella pneumoniae</i> aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Meropenem	101
Figura No. 53. <i>Acinobacter Iwoffii</i> aislada de la cuenca baja del Río Villalobos en Meropenem	101
Figura No. 54. <i>Pantoea spp</i> aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Imipenem	101

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1. Variables identificadas	51
Cuadro No. 2. Parámetros de medición climáticos en las tres cuencas del Río Villalobos	60
Cuadro No. 3. Promedio de Colonias UFC en las cuencas del Río Villalobos en placas con Imipenem, Meropenem y sin antibiótico	60
Cuadro No. 4. Identificación de bacterias resistentes a Imipenem y/o Meropenem aisladas de las cuencas alta, media y baja del Río Villalobos	69

RESUMEN

Las enterobacterias son una de las causas principales de infecciones intrahospitalarias y en la comunidad. Se han revisado un gran número de casos de resistencia a los carbapenémicos por parte de estos patógenos, provocando un ambiente alarmante. Actualmente, no hay suficiente evidencia acerca de resistencia por parte de enterobacterias a estos antibióticos que sean aisladas de cuerpos de aguas en Guatemala, lo cual es importante de estudiar ya que los ríos y lagos son fuentes importantes de recursos para la población, además se sabe que son un conducto de transferencia de bacterias patógenas, lo cual genera enfermedades infecciosas para los habitantes. Por lo tanto, en este estudio se evaluó la presencia de resistencia bacteriana de enterobacterias a Imipenem y Meropenem aisladas en las tres cuencas del Río Villalobos en Guatemala así como generar información de utilidad para atender y vigilar la resistencia de enterobacterias a carbapenémicos y así poder tener un mejor uso de antibióticos.

Se aisló e identificaron bacterias aisladas en los tres puntos de muestreo del Río Villalobos en donde la enterobacteria que se encontró con mayor frecuencia en todos los puntos fue *Klebsiella pneumoniae* con el 31.57%, presentando resistencia a ambos antibióticos, pero con mayor índice a Imipenem. El punto de muestreo con mayor aislamiento de bacterias resistente fue la cuenca baja del Río Villalobos, obteniendo un mayor número de bacterias aisladas e identificadas. Asimismo, La cuenca alta fue el punto que obtuvo menos aislamientos de bacterias resistentes; sin embargo, ningún punto de muestreo tuvo diferencias estadísticas significativas, por lo que los tres puntos tienen bacterias resistentes a los carbapenémicos No existe diferencia significativa entre el crecimiento bacteriano en las placas de Imipenem y Meropenem en ninguna de las cuencas del Río de donde se obtuvieron las muestras. Esto indica que la resistencia por parte de las coliformes y enterobacterias es para ambos antibióticos estudiados. No se lograron aislar enterobacterias esperadas como como *E. coli*, *Enterobacter* u otras

especies las cuales se creían muy probables de encontrar en el río por falta de aislamiento e identificación.

Considerando lo mencionado anteriormente, teniendo en cuenta las especies aisladas del río, la prevalencia de cepas de enterobacterias y de bacterias fermentadoras productoras de carbapenemasas es alta en el medio ambiente, se manifiesta que las aguas del Río Villalobos son una fuente de propagación de resistencia. Sin embargo, se recomienda seguir el trabajo de investigación con la caracterización de los genes de resistencia de estas bacterias, identificándolos y así poder tener un mejor detalle de la resistencia que se presenta en el Río Villalobos. Asimismo, también es importante identificar si estas bacterias son clasificadas como multirresistentes tal y como lo mencionan en la literatura. Por lo que se recomienda demostrar su resistencia a otras clases de antimicrobianos para así tener un mínimo de tres clases.

I. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la penicilina y su uso generalizado en humanos a partir de la década de los 40 fue revolucionario en la industria de la salud, haciendo posible el tratamiento de infecciones bacterianas. A partir de esto, se fueron creando más familias de antibióticos, sin embargo, conforme iba creciendo su uso, las bacterias mostraban respuestas de mecanismos de resistencia. La resistencia de las bacterias se ha vuelto muy común y esto tiene consecuencias que desafían la salud pública a nivel mundial, causando altas tasas de morbilidad, y mortalidad.

El aislamiento de bacterias multirresistentes a antibióticos ha ido incrementando y esto ha preocupado a muchos países ya que conforme va avanzando su aumento, es más difícil tratar infecciones comunes con antibióticos. Asimismo, el fallo terapéutico provoca que este tipo de bacterias puedan diseminarse en la comunidad y no solo en ambientes hospitalarios.

El incremento en la resistencia bacteriana a antibióticos es consecuencia de una serie de acontecimientos que incluyen: la baja disponibilidad de antibióticos efectivos, la ineficiencia de medidas de prevención o alternativas de tratamientos de antibióticos, mal uso de antibióticos y falta de adherencia en los tratamientos.

Los carbapenémicos pertenecen al grupo de antibióticos más utilizados para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias multirresistentes. Son unos de los β -lactámicos más potentes, que tienen eficacia, seguridad y amplio espectro, por lo que son usados para infecciones y patologías avanzadas.

Debido a que la resistencia hacia otros antibióticos convencionales ha ido aumentando, el uso clínico de los carbapenémicos también ha incrementado, llevando a detectarse, cada vez más frecuentemente, bacterias con resistencia a los mismos, lo cual ha causado preocupación hacia el tratamiento de infecciones principalmente causadas por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, y enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Cabe mencionar que en menos de veinte años estas bacterias manifestaban que eran susceptibles a los carbapenémicos (Shaikh, 2014). Uno de los mecanismos de resistencia principales de las bacterias a los carbapenémicos son las enzimas carbapenemasas: tipo A (KPC), tipo B (Metallo- β -lactamasas) y D (Oxacilinasas) (Rodríguez, 2013). La detección de los productores de estas enzimas es un compromiso importante para la salud pública ya que se ha presentado un gran incremento de diseminación, provocando que los carbapenémicos se vuelvan menos útiles.

En 2011, se emitió una alerta epidemiológica de cepas de *Klebsiella pneumoniae* en Guatemala, ya que se había aislado la cepa multirresistente tipo Nueva Delhi (NDM). El Laboratorio Nacional de Salud indicó que existían dos cepas NDM obtenidas de dos hospitales nacionales.

Ante el suceso de las cepas encontradas de *Klebsiella pneumoniae* tipo NDM, la OPS destaca la importancia de la vigilancia y detección de los microorganismos patógenos así como el mecanismo de resistencia que tienen (PAHO, 2011).

La industrialización y las actividades humanas han convertido el medio ambiente en colectores de materiales de desecho. Como resultado, muchos recursos hídricos se han vuelto dañinos y peligrosos para el hombre y otros sistemas vivos. La aparición de los organismos resistentes pueden ser resultado de la producción de antibióticos por la práctica veterinaria, médica, de agricultura y en animales de cultivo, lo cual es peligroso ya que los reservorios de genes de resistencia pueden proporcionar una fuente de genes transferibles para patógenos emergentes. Los cuerpos de agua al recibir todos los desechos mencionados, se vuelven este tipo de reservorios (Belachew, et al., 2018). No se ha efectuado estudios de dichos genes de resistencia a carbapenémicos en cuerpos de agua en Guatemala. Este estudio se llevará a cabo en la cuenca del río Villalobos ya que es un río tipo urbano que cuenta con alta densidad poblacional provocando cambios de uso del suelo afectando el comportamiento hidrológico del río. Existen catorce municipios que desembocan en la cuenca, permitiendo descargas de aguas urbanas, industriales y otros tipos de desechos, ocasionando deterioro de la calidad del río, y a la vez, causando daños a la salud de los habitantes (Alfaro, M. F. C).

II. MARCO CONCEPTUAL

A. Antecedentes del problema

La FDA en 2011, comunicó que se usó el 80.5% del total de antibióticos consumidos en los Estados Unidos en animales de granja. Se sabe que los antibióticos son usados como tratamiento de enfermedades, pero también como componente alimenticio para los animales, así servir como promotores del crecimiento del animal y poder mejorar el tamaño para obtener más carne y producir más leche en el caso de los bovinos (Landers, Cohen, Wittum, & Larson, 2012).

A finales del 2015 e inicios del 2016, en Guatemala, Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos y Agua, (ETAs) se presentaron en zonas de alerta, dando un factor de riesgo al consumir alimentos fuera del hogar. Cabe mencionar que niños y niñas de 1-4 años, fueron el grupo de edad que se vio más afectado por la contaminación de los alimentos, seguidos por el grupo de bebés menores de un año (Aldana, 2017).

En Guatemala, hasta julio de 2019, se podían adquirir los antibióticos sin receta médica, y por consecuencia de esto, la aparición y propagación de la farmacorresistencia empeoró. Si no se toman acciones, muchas infecciones comunes y lesiones podrán llegar a ser muy peligrosas que hasta podría llevar a la muerte (Aldana, 2017).

El sistema Mundial de Vigilancia antimicrobiana de la OMS (GLASS) ha mostrado la difusión de la resistencia a los medicamentos, antibióticos, en medio millón de personas supuestas a infecciones por bacterias. Esto se efectuó en 22 países, incluyendo Guatemala. Las bacterias resistentes notificadas con una mayor prevalencia fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*.

Los datos obtenidos para Guatemala por la OMS se muestran según la bacteria encontrada en los casos presentados con el antibiótico utilizado:

- *E. coli*: se tiene 39.8% de resistencia a cefalosporinas de tercera generación y 41% resistencia a fluoroquinolonas con una muestra de 1607 colonias aisladas en infección de tracto urinario en el 2010 con datos publicados en el 2013.
- *K. pneumoniae*: se tiene 31% de resistencia a cefalosporinas de tercera generación con una muestra hospitalaria de 2884 colonias aisladas y 3% de resistencia en carbapenems, específicamente Meropenem con 2884 colonias aisladas en muestras hospitalarias en el 2010 con datos publicados en el 2013.
- *S. aureus*: 52% de resistencia a meticilina (MRSA) en 666 muestras comunitarias con datos obtenidos en el 2010 y datos publicados en el 2013 (World Health Organization, 2014).

En el 2010 se desarrolló un estudio para determinar, por medio de la técnica de difusión en disco (sinergismo de EDTA 0.5M y carbapenems), presencia de metaloenzimas como mecanismo de resistencia en 95 aislamientos de *Pseudomonas sp.* y *Acinetobacter sp.* obtenidas del Laboratorio Nacional de Salud que provenían del Hospital Roosevelt. Se revisó el tipo de muestra y el tipo de servicio de donde se obtuvieron las muestras. Se determinó que de los 95 aislamientos, 29 eran de *Pseudomonas sp.* y 66 de *Acinetobacter sp.* Como resultados, se obtuvieron que el 66% de las cepas de *Pseudomonas sp.* y el 33% de las cepas de *Acinetobacter sp.* tenían presencia de metaloenzima. Las muestras en donde se encontraron las metaloenzimas, fueron por su mayoría, en aspirado traqueal y secreciones. Los servicios en donde se aislaron con mayor frecuencia y que mostraban presencia de la metaloenzima, fueron en unidades de cuidados intensivos de pediatría y adultos (Espinoza, 2010).

En el 2011, Morales, et al., en el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala, identificaron dos cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenems, las cuales fueron referidas por hospitales, una de tipo MBL y la otra del tipo KPC en donde se determinó que estas cepas podían deseminarse e incluso que pudieran surgir otras especies con este mecanismo de resistencia (Morales, Arbizú, Barrios & Valenzuela, 2011).

En el 2014 se realizó una investigación en donde se determinó por medio de PCR de punto final la presencia de carbapenemasas KPC y NDM en 54 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, obtenidas del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala. Asimismo, se definió el tipo de muestra y servicio del hospital en donde fueron aisladas las bacterias. Los carbapenémicos utilizados fueron Imipenem y/o Meropenem. Se encontró que el 91% de las muestras portaban el gen NDM. Además, las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron el 37% en sangre y 14% en orina (Velásquez Porta, & Lau Bonilla, 2016).

En 2014 y 2015 Guerra-Carías desarrolló el estudio de caracterización de carbapenemasas en enterobacterias de muestras de pacientes que acudieron al Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala, en donde determinó que en el 2014 el 100% de las carbapenemasas fueron de tipo metalo- β -lactamasas (MBL); en 2015, el 76% fueron MBL y el 24 % *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC). Asimismo, determinó que la enterobacteria productora de carbapenemasas con mayor frecuencia fue *Klebsiella pneumoniae* con un 81 % en 2014 y 69 % en 2015. Los resultados que se muestran, prueban que existe una constancia de carbapenemasas que inciden al llamado ante el riesgo que se tiene en la salud de la población guatemalteca (Carías, Acevedo, & Porta, 2020).

B. Justificación

Los antibióticos se utilizan, en general, para el tratamiento de enfermedades infecciosas, las cuales se saben que son resultado de las infecciones por presencia y crecimiento de agentes bacterianos patógenos en un organismo. Asimismo, la mayoría de los antibióticos, también son utilizados en animales de granja, con el fin de usarlos como componente alimenticio para ellos mismos y así servir como generadores del crecimiento del animal y luego poder usarlo para el consumo humano.

Por otro lado, el mal uso de antibióticos ha llevado a administrar los medicamentos en dosis inadecuadas, ya sea en cantidades excesivas, provocando toxicidad, o bajas dosis que se vuelven inefectivas; así como la administración sin prescripción de un médico, lo que lleva a la selección de bacterias resistentes a dichos medicamentos. En la OMS se mostró que la

resistencia a los antimicrobianos, en general, es una seria amenaza para la salud, ya que hace más difícil el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas como tuberculosis o enfermedades intestinales diarreicas y neumonías, las cuales son la causa de 10 millones de muertes anualmente en el mundo. Se debe reconocer la resistencia a los antibióticos como una amenaza para la salud de las personas, tanto en el ámbito farmacéutico como en el alimenticio. La resistencia a los antibióticos puede afectar a cualquier persona y esto es por consecuencia al mal uso de antibióticos. Cada vez es mayor el número de infecciones, y los tratamientos para estas, se vuelven más difíciles de formular y de tratar debido a la pérdida de eficacia de los antibióticos. En la actualidad se tienen muchos mecanismos de resistencia que ponen en riesgo el tratamiento de las enfermedades infecciosas comunes que también pueden ser transmitidas por medio de los alimentos: como salmonelosis.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos y por agua (ETAs) son consideradas como un problema en la salud de las personas, ya que estas enfermedades son por la contaminación que hay en los alimentos y en el agua con la cual estos alimentos han sido cultivados y cosechados. Dicha contaminación se debe a microorganismos, parásitos, y sustancias que se desechan y desembocan en los ríos o lagos de las ciudades (Aldana, 2016).

Los carbapenémicos se consideran como uno de los medicamentos más confiables para el tratamiento de infecciones bacterianas y la aparición y propagación de resistencia a estos antibióticos establece un substancial inconveniente de salud pública. Sin embargo, estos antibióticos son utilizados como de tercera línea, intrahospitalarios, por su gran espectro de actividad. Últimamente, ha habido una gran cantidad de investigación sobre la resistencia a carbapenémicos, (Codjoe & Donkor, 2018). Sin embargo, no existen estudios de revisión de resistencia a los carbapenémicos en aguas comúnmente utilizadas o como depósitos contaminantes de industrias, hospitales, municipalidades entre otros, en Guatemala. Es importante concientizar al personal de salud y a la población acerca de la resistencia bacteriana a este grupo de antibióticos porque no son la primera opción que el médico debería tomar para el tratamiento de alguna infección no severa. Asimismo, Enterobacterias como *Klebsiella spp* y *Escherichia coli* son de las principales bacterias patógenas que causan infecciones intrahospitalarias. Últimamente ha aumentado la resistencia a carbapenémicos y

las infecciones producidas por estas bacterias han aumentado dando como resultado una falla terapéutica que produce más efectos adversos.

En la actualidad, muchas industrias, municipalidades, hospitales y otros establecimientos vierten grandes volúmenes de desechos al Rio Villalobos provocando contaminación extrema por lo que su calidad de agua se ve afectada. Los sistemas de ríos y lagos son ecosistemas que tienen reservorios de genes resistentes a antibióticos. Además, estos se convierten en rutas de dispersión de patógenos resistentes, aumentando el riesgo de transmisión a humanos (Marathe et al., 2017).

La resistencia a los antimicrobianos es considerada una de las amenazas más importantes para la salud pública. El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) ha comprendido el papel del medio ambiente en la resistencia a los antimicrobianos como el primero de seis problemas emergentes de interés ambiental (PNUMA, 2017).

Los lagos y ríos proporcionan importantes recursos hídricos para el ser humano. Asimismo, estos cuerpos de agua son influenciados por actividades humanas. Los ríos que afluyen son conexiones a lagos, lo cual es importante ya que estos llevan materiales contaminantes hacia los lagos y despliegan un control fundamental sobre la calidad de agua de los lagos (Zhang et al., 2019). En los ríos existen sedimentos y microorganismos exógenos que son adsorbidos acumulativamente, como heces, y agentes antimicrobianos selectivos, como antibióticos o biocidas. Al encontrarse en los ríos, estos los transfieren a los lagos por medio de flujos de aguas y pueden generar enfermedades infecciosas como ETAS y contribuyen que los antibióticos sean ineficaces, dando un alto riesgo para la salud humana (Marathe et al., 2017). Es por esto por lo que el monitoreo de estos microorganismos es importante y vital para prevenir resultados indeseables en cuanto a la salud humana. Al efectuar un estudio de este impacto, los datos obtenidos serán útiles para el control y prevención de enfermedades infecciosas, así como contribuirá a diseñar estrategias para reducir la diseminación de la resistencia a los antibióticos, principalmente los carbapenémicos.

Las enterobacterias son una de las causas principales de infecciones intrahospitalarias y en la comunidad. Se han revisado un gran número de casos de resistencia a los carbapenémicos por parte de estos patógenos, provocando un ambiente alarmante. Actualmente, no hay suficiente evidencia acerca de resistencia por parte de enterobacterias a estos antibióticos que sean aisladas de cuerpos de aguas en Guatemala, lo cual es importante de estudiar, ya que los ríos y lagos son fuentes importantes de recursos para la población, además se sabe que son un conducto de transferencia de bacterias patógenas, lo cual genera enfermedades infecciosas para los habitantes. Por lo tanto, en este estudio se busca proporcionar una evaluación de resistencia de enterobacterias a los carbapenémicos (Meropenem e Imipenem) en el Río Villalobos, el cual es un cuerpo de agua utilizado regularmente en Guatemala. Se efectuaron muestreos en distintos sitios, en agosto del 2021, para tener puntos comparativos entre los mismos y saber qué área se ve más afectada por la contaminación de desechos provenientes de los municipios que comprenden la cuenca, así poder evaluar si existe resistencia por parte de las bacterias aisladas a los carbapenémicos estudiados y establecer si existe riesgo de infecciones que no se puedan tratar con eficacia y seguridad.

C. Planteamiento del problema

¿Las enterobacterias aisladas del Río Villalobos en la Ciudad de Guatemala presentan resistencia a los antibióticos carbapenémicos: Meropenem e Imipenem?

D. Alcance y limitantes del problema

1. Alcance:

- Criterios de inclusión: Se incluyeron todas las cepas de enterobacterias *E. coli*, género *Klebsiella*, *Enterobacter* y *coliformes* productores de betalactamasa de espectro extendido procedentes del muestreo del Río Villalobos.
- Criterios de exclusión: Se excluyeron todas las cepas contaminadas, las que no se logran aislar completamente o con alta pureza. Solo se trabajó con Enterobacterias específicas y fermentadoras de carbapenemasa; no otro tipo de

bacterias que se encuentren.

2. Limitantes:

- Control de variables a medir
- Lugares permitidos para muestrear en el río

III. MARCO TEÓRICO

A. Antibióticos

1. Generalidades

Se considera un antibiótico como una sustancia producida por microorganismos o una sustancia similar -producida parcialmente o totalmente por síntesis química- que en bajas concentraciones inhibe el crecimiento de otros microorganismos (Russell, 2004). La acción del antibiótico contra el microorganismo es de naturaleza selectiva ya que cada antibiótico se caracteriza por un espectro antimicrobiano específico. (Schofield, 2015).

Algunos antibióticos tienen altos potenciales quimioterapéuticos y esto les permite usarse para diversas infecciones microbianas en animales y humanos. Muchas enfermedades infecciosas que antes no se podían curar o eran mortales, ahora se tratan de forma efectiva con antibióticos.

Los antibióticos actúan impidiendo varios blancos moleculares dentro de las bacterias y su superficie celular, inhibiendo el crecimiento o destruyéndolas. Dichos blancos son, entre otros: las enzimas que sintetizan la pared bacteriana; el ribosoma bacteriano (en donde se bloquea la producción de nuevas proteínas); enzimas requeridas para la síntesis de nucleótidos y la replicación del ADN (Schofield, 2015; Katzung, 2017)

2. Uso de antibióticos en humanos

Los antibióticos, por lo general, se han utilizado para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Las enfermedades infecciosas se conocen como

enfermedades que son resultantes de la infección, presencia y crecimiento de agentes biológicos patógenos presentes en un organismo huésped individual. Los patógenos infecciosos incluyen: virus, bacterias, hongos, protozoos, etc. Cabe mencionar que los antibióticos pueden matar bacterias (bactericidas) o, anular el crecimiento (bacteriostático) al atacar componentes esenciales del metabolismo de las bacterias (Schofield, 2015), y que no tienen efecto contra virus, hongos y protozoos, para los que se requiere otro tipo de medicamentos.

La historia de los antibióticos abarca más de 100 años, en donde se han utilizado con el fin de combatir las enfermedades infecciosas causadas por bacterias.

a. Mecanismos de acción de antibióticos:

- Antibióticos que atacan la biosíntesis de la pared celular.

Los antibióticos *β -lactámicos* son el grupo de antibióticos más utilizado, estos en sus estructuras moleculares contienen un anillo de *β -lactámico*. Los *β -lactámicos* incluyen penicilina, los grupos de cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos y derivados de penicilina. La mayoría de *β -lactámicos*, inhiben la síntesis de la capa de peptidoglucano de las paredes celulares de las bacterias, por medio de enlaces irreversibles al sitio de acción de las proteínas de unión a la penicilina (PBP). Las penicilinas, derivadas del *Penicillium*, son uno de los primeros antibióticos efectivos contra cepas Gram-positivo de estreptococos y estafilococos, así como algunas bacterias Gram-negativo (Schofield, 2015; Katzung, 2017).

Los polipéptidos son una clase de antibióticos que contienen cadenas de polipéptidos no proteicos. Inhiben la biosíntesis de la pared celular bacteriana al interferir con la desfosforilación del pirofosfato de isoprenilo C55. Este antibiótico es utilizado contra especies de *Staphylococcus* y *S. pyogenes*, por lo que se usan para el tratamiento de infecciones de la piel y la prevención de infecciones por heridas (Schofield, 2015; Katzung, 2017).

Los glucopéptidos están compuestos por péptidos no ribosómicos cíclicos o policíclicos glicosilados. Estos antibióticos inhiben la síntesis de las paredes celulares en microorganismos susceptibles al inhibir la síntesis de peptidoglicano (Katzung, 2017).

La fosfomicina es un antibiótico de amplio espectro, es bactericida e inhibe la biosíntesis de la pared celular bacteriana al inhibir la enzima *UDP-N-acetilglucosamina-3-enolpiruviltransferasa*. Es utilizado para infecciones del tracto urinario solo si se utiliza como monofármaco y administrado oral. Si se usa en como tratamiento combinado con tobramicina, trata infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis quística (Schofield, 2015; Katzung, 2017).

La cicloserina, un antibiótico utilizado para el tratamiento de *Mycobacterium tuberculosis*. Este inhibe la biosíntesis de la pared celular en bacterias al inhibir la enzima alanina racemasa y la D-alanina ligasa. Cabe mencionar que es considerado un medicamento de segunda línea para la tuberculosis (Schofield, 2015; Katzung, 2017).

- Antibióticos que atacan la membrana celular bacterianas

La daptomicina es un producto de fermentación de lipopéptidos cíclicos de *Streptomyces roseosporus*. Su espectro de actividad es similar al de la vancomicina, excepto que, su efecto bactericida es más rápido in vitro. Asimismo, tiene actividad contra cepas de *enterococos* y *S. aureus* resistentes a la vancomicina. El mecanismo de acción no se comprende completamente, pero se sabe que se une a la membrana celular por medio de una inserción dependiente de calcio en la cola lipídica. Esto da lugar a la despolarización de la membrana celular con salida de potasio y por lo tanto se da una muerte celular rápida (Katzung, 2017).

La Bedaquilina, un medicamento nuevo contra la tuberculosis, inhibe una enzima específica de ATP de micobacterias, la cual necesitan para convertir la energía para su reproducción.

Polimixos, derivados de *Paenibacillus polymyxa*, contienen un grupo cíclico de péptido en su estructura. Este ha mostrado actividad antibacteriana cuando se une al lipopolisacárido de la membrana externa de las bacterias; interrumpe las membranas tanto externas como internas por la función de su estructura (cola hidrófoba). Estos antibióticos han sido considerados para el tratamiento clínico de infecciones por bacterias Gram- negativo (Schofield, 2015).

- Antibióticos que afectan la síntesis de proteínas

Los aminoglucósidos son antibióticos que tienen azúcares modificados con un grupo amino en sus estructuras. Kanamicina es un antibiótico de este grupo, es bactericida. Su mecanismo se basa en la unión de la subunidad 30 del ribosoma bacteriano. Inhibe la síntesis de proteínas ya que interfiere en la unión del formil-metionil-ARNt a la subunidad 30S. Es un antibiótico de amplio espectro y es utilizado contra Gram-positivo y Gram-negativo. Es muy utilizado en infecciones quirúrgicas, urinarias y respiratorias causada por los patógenos mencionados anteriormente (Katzung, 2017).

Cloranfenicol es un antibiótico aislado de *Streptomyces venezuelae*. Es un fármaco utilizado contra Gram- positivo específicamente *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), también en Gram-negativo y anerobios, pero no contra *Enterobacter*. Al principio se utilizaba como tratamiento de Tifus,, ocasionado por *Rickettsia typhi* , pero ahora se utiliza más para meningitis y abscesos cerebrales causados por *Staphylococcus* (Katzung, 2017).

Eritromicina, un antibiótico macrólido, aislado de *Saccharopolyspora erythraea*, inhibe el crecimiento de las bacterias, sin embargo no se ha logrado establecer bien su mecanismo de acción o no se ha comprendido bien. Se ha establecido que suprime la síntesis de proteínas evitando que continúe con su proceso. Es por esto que es conveniente para personas alérgicas a la penicilina. También ha sido utilizado como

agente procinético debido a que puede inducir los trastornos gastrointestinales (Katzung, 2017).

Cetólidos: son derivados de la eritromicina. La telitromicina es el primer antibiótico cetólido que ha sido utilizado clínicamente. Los cetólidos son efectivos contra las bacterias resistentes a macrólidos ya que se unen en dos sitios al ribosoma de las bacterias y modifican dichas estructuras que regulan la resistencia (Katzung, 2017).

Tetraciclinas: Son antibióticos de amplio espectro que inhiben la síntesis de proteínas al unirse a la subunidad ribosómica 30s en la traducción del ARNm. Por lo general, son utilizadas para tratar infecciones urinarias o en los intestinos. También es importante mencionar que son utilizadas para el tratamiento del acné y rosácea severa o graves (Etebu, & Ariekpar, 2016; Katzung, 2017).

El ácido fusídico es un antibiótico esteroideo de carácter lipofílico con fuerte actividad contra Gram-positivo como en *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Inhibe la transferencia de aminoácidos de aminoacil-sRNA a proteínas en los ribosomas. También tiene actividad contra MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina). Ha sido utilizado para tratar acné y para mejorar los síntomas de este (Etebu, & Ariekpar, 2016)

Las oxazolidinonas son antibióticos compuestos por 2-oxazolidona en su estructura. Inhiben la síntesis de proteínas cuando interfieren en la unión de N-formilmietionil-tRNA al ribosoma. Son utilizados contra muchos patógenos Gram-positivo incluyendo los *Staphylococcus* multirresistentes y los *Enterococcus* resistentes a vancomicina. Linezolid es el único disponible actualmente y es utilizado en infecciones cutáneas complicadas, neumonía nosocomial y otros padecimientos (Etebu, & Ariekpar, 2016).

- Antibióticos dirigidos a los nucleótidos

La rifampicina es un bactericida que funciona inhibiendo la ARN polimerasa dependiente del ADN de la bacteria, dando una inhibición de la síntesis del ARN

dependiente de ADN bacteriano. Se utilizó para la tuberculosis, pero en combinación con el ácido fusídico combate MRSA. Trata infecciones causadas por *Neisseria meningitidis*, patógenos transmitidos por garrapatas (Katzung, 2017).

Las quinilonas son antibióticos de amplio espectro. El ácido nalidixico fue un antibiótico de primera generación. Se usaba para las infecciones urinarias. Entre este grupo también se encuentran las fluoroquinolonas, las cuales son utilizadas en la parte clínica. Estas inhiben el crecimiento bacteriano al entrar en contacto con la ADN girasa y ADN topoisomerasa IV en el ADN como un complejo fármaco-enzima-ADN. Estos antibióticos se enfocan en las infecciones que son adquiridas en el área hospitalaria.

Fidaxomicina es un antibiótico macrocíclico con espectro de acción ancho, es activo contra aerobios y anaerobios Gram-positivos, sin embargo, su actividad contra Gram-negativos es estrecha. La fidaxomicina funciona inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad sigma de ARN polimerasa. La fidaxomicina ha sido aprobada por la FDA para el tratamiento de la colitis por *C. difficile* en adultos (Katzung, 2017).

Los nitrofuranos son antibióticos con un anillo furano y un grupo nitro. Actúan dañando el ADN de la bacteria debido a que su forma reducida es muy reactiva. La furozolidona se usa para tratar la diarrea y la enteritis bacteriana y protozoarias. La nitrofuntoina es usada para infecciones urinarias causadas por *E. coli* y otros enteropatógenos (Schofield, 2015).

Los nitromidazoles son derivados del imidazol; son de amplio espectro y tienen actividad contra Gram- positivo y Gram-negativo. Cabe mencionar que tienen baja incidencia de resistencia. Funcionan rompiendo la cadena de ADN para destruir a las bacterias (Schofield, 2015).

- Antibióticos que inhiben las vías metabólicas

Sulfonamidas, las primeras tabletas antimicrobianas. Estas funcionan inhibiendo de forma competitiva la enzima dihidropteroato sintetasa (DHPS), enzima implicada en la síntesis de folato. Son utilizadas para cancroide, gangrena gaseosa, artritis linfogranuloma, enfermedades infecciosas causadas por *Streptococcus*, y *meningococo*, entre otros.

La trimetoprima, inhibe selectivamente el ácido dihidrofólico reductasa bacteriano, e cual convierte el ácido dihidrofólico en ácido tetrahidrofólico, lo que conduce a la síntesis de purinas y finalmente a ADN. La trimetoprima en combinación con una sulfonamida bloquea los pasos secuenciales en la síntesis de folato, lo que resulta en una aumentar la actividad de ambos medicamentos. La combinación a menudo es bactericida, en comparación con la actividad bacteriostática de una sulfonamida sola. La combinación de trimetoprim-sulfametoxazol es el fármaco de elección para infecciones como la neumonía por *Pneumocystis jirovecii*, toxoplasmosis, nocardiosis y, en ocasiones, otras infecciones bacterianas (Katzung, 2017).

Los nitrofuranos son antibióticos con un anillo furano y un grupo nitro. Actúan dañando el ADN de la bacteria debido a que su forma reducida es muy reactiva. La furozolidona se usa para tratar la diarrea y la enteritis bacteriana y protozoarias. La nitrofuntoina es usada para infecciones urinarias causadas por *E. coli* y otros enterógenos (Katzung, 2017).

Los nitromidazoles son derivados del imidazol; son de amplio espectro y tienen actividad contra Gram- positivo y Gram-negativo. Cabe mencionar que tienen baja incidencia de resistencia. Funcionan rompiendo la cadena de ADN para destruir a las bacterias (Katzung, 2017).

3. Betalactámicos

Los betalactámicos han sido los antibióticos más comunes para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Todos los β -lactámicos tienen una estructura básica con un anillo de tiazolidina unido a un anillo β -lactama y un grupo amino secundario (RNH-). Los sustituyentes R pueden unirse al grupo amino. La integridad de los anillos A+B son los que le dan la actividad biológica y al hidrolizar el anillo β -lactámico, se produce ácido penicilóico que no tiene actividad antibacteriana (Letourneau, 2017; Shaikh, Fatima, Shakil, 2015).

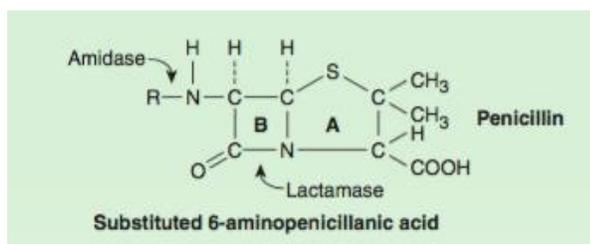


Figura No. 1. Estructura química de la penicilina, mostrando el anillo β -lactámico (Katzung, 2017).

Esta familia de antibióticos se ha determinado como la causa principal de resistencia a los antibióticos por parte de bacterias Gram-negativo. Debido a que hay muchas cepas bacterianas y han sido expuestas a los antibióticos β -lactámicos, ha provocado que haya una mutación de las β -lactamasas en las bacterias, expandiendo la actividad incluso contra los nuevos antibióticos β -lactámicos. Las β -lactamasas son enzimas producidas por las bacterias Gram-positivo y Gram-negativo como un mecanismo de defensa contra estos antibióticos. Estas enzimas cuando son de espectro extendido se conocen como BLEE (Katzung, 2017; Carroll, Butel, & Morse, 2015).

La diferencia entre la susceptibilidad de las bacterias Gram-positivo y Gram-negativo a los betalactámicos es principalmente por las diferencias estructurales que

estas dos poseen, la cantidad de peptidogluano , los receptores lipídicos, enzimas autolíticas, que determinan la penetración o unión-actividad de los antibióticos.

La resistencia ante estos antibióticos es determinada por la producción de β -lactamasas que presentan las bacterias. Estas enzimas abren el anillo β -lactámico eliminando la actividad antimicrobiana. Algunas β -lactamasas están mediadas por plásmidos, las cuales se producen constitutivamente y pueden moverse de una especie a otra.

a. Mecanismo de acción de los β -lactámicos

Los antibióticos β -lactámicos actúan inhibiendo el crecimiento bacteriano interfiriendo con la transpeptidación de la síntesis de la pared celular de las bacterias. Cabe mencionar que esta inhibición solo es una de las tantas actividades que realizan estos medicamentos, sin embargo, es la mejor estudiada y entendida.

La pared celular está conformada por una capa externa rígida que rodea una membrana citoplasmática. Esto permite mantener la célula interferida y evita la ruptura o lisis celular debido a la presión osmótica.

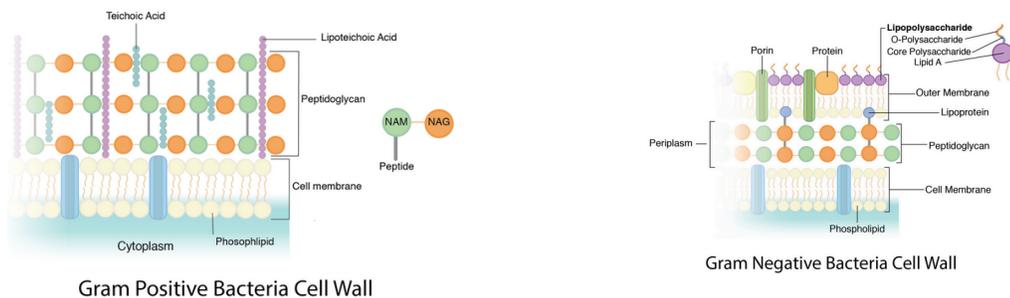


Figura No. 2. Pared celular de Gram-negativo y Gram-positivo (Bruslind, 2020).

El antibiótico se une a los receptores celulares o proteínas de unión a penicilina (PBP), las cuales eliminan la alanina terminal del péptido en la pared celular en el

proceso cuando forma un enlace cruzado con un péptido que se encuentre cerca. Esto hace que se bloquee la síntesis del peptidoglucano y esto provoca la eliminación del inhibidor de enzimas autolíticas de la pared celular.

Los enlaces cruzados son los responsables de la rigidez de la pared celular, entonces al eliminar este aminoácido, destruye la pared. Cabe mencionar que los betalactámicos matan a las células bacterianas cuando crecen de forma activa y sintetizan la pared celular. Además, los diferentes receptores tienen distintas capacidades para el fármaco, cada uno puede medir un efecto diferente. (Shaikh, Fatima, Shakil, 2015).

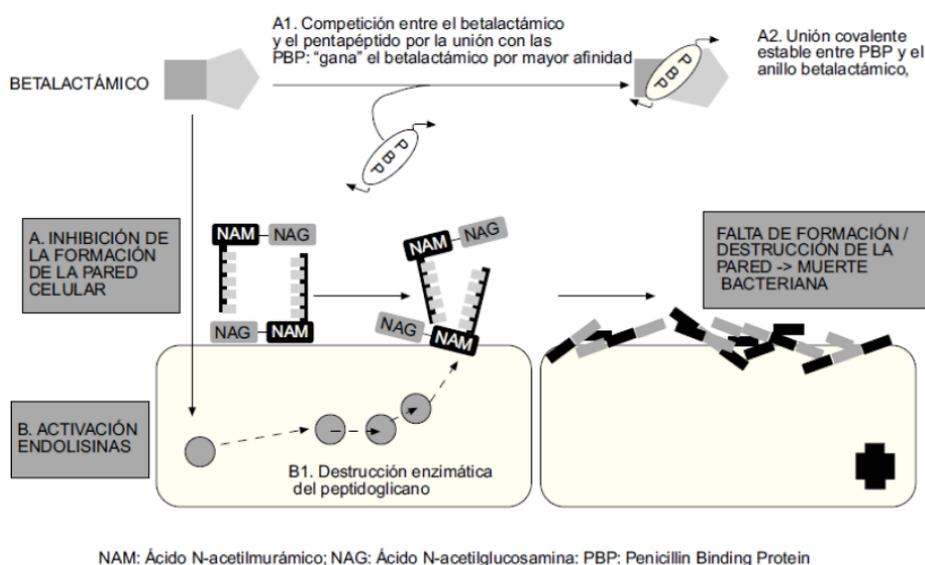


Figura No. 3. Mecanismo de acción de los betalactámicos (Suárez, & Gudiol, 2009).

b. Carbapenémicos

Son antibióticos del tipo β -lactámicos, utilizados ampliamente en la clínica debido a su gran eficacia y seguridad. Sin embargo, muchas especies bacterianas han

conseguido resistencia, provocando inquietud en las infecciones asociadas por *Pseudomonas* y enterobacterias BLEE.

Los carbapenémicos son el tipo de β -lactámicos más potentes, por lo cual se utilizan en infecciones asociadas a la atención de la salud con pacientes más críticos (Carroll, Butel, & Morse, 2015).

Los carbapenémicos tienen una actividad antibacteriana de amplio espectro ante Gram-positivo y Gram-negativo, incluyendo anaerobios. Se encuentran relacionados a los β -lactámicos por su estructura, ya que contienen un carbapenem acoplado a un anillo β -lactámico que da protección contra la mayoría de las β -lactamasas como la metalo- β -lactamasa (MBL) así como las β -lactamasas de espectro extendido - BLEE- (Katzung, 2017; Carroll, Butel, & Morse, 2015). Difieren de las penicilinas por un cambio de un carbono a azufre y por la saturación de los enlaces y las cadenas laterales.

Estos antimicrobianos bactericidas de β -lactamasas, tienen eficacia comprobada en infecciones graves causadas por las bacterias que producen β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). También son usados para el tratamiento empírico neumonía nosocomial, infecciones urinarias complicadas, infecciones intrabdominales complicadas, infecciones de la piel complicadas, y meningitis, entre otros (Carroll, Butel, & Morse, 2015).

Dentro de esta familia se encuentran Doripenem, ertapenem, Imipenem, Meropenem, ertapenem, panipenem y biapenem. Estos han sido usados como alternativa por la resistencia a los antibióticos cefalosporínicos.

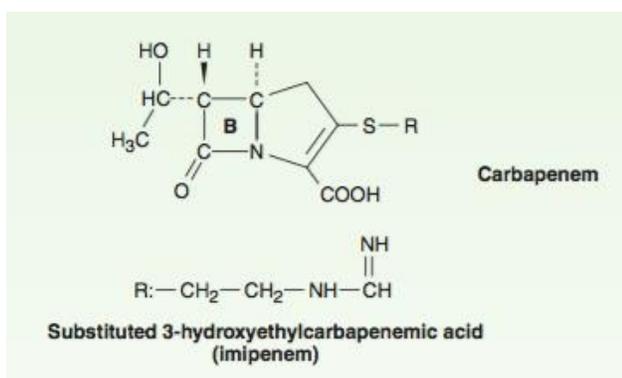


Figura No. 4. Estructura química de Imipenem

(Katzung, 2017).

Su mecanismo de acción funciona inhibiendo la síntesis de la pared celular durante la transpeptidación. Se unen a residuos de serina de las peptidasas de la parte externa de la membrana citoplasmática en las PBP (penicillin binding protein, proteínas que fijan penicilinas). Asimismo, impiden la síntesis de peptidoglucano, provocando que esta se ponga débil y que tenga autólisis destruyéndose por la presión osmótica en las bacterias Gram-negativo. Es por esto que se prefieren los carbapenémicos como tratamientos para infecciones invasivas. Además, son ampliamente efectivos contra bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinobacter baumannii* (Martinez, et al., 2010; Katzung, 2017).

Imipenem fue el primer fármaco de esta clase. Es un fármaco de amplio espectro. Tiene actividad contra la mayoría de bacterias Gram-negativo morfológicamente de bacilos, Gram-positivas, y bacterias anaerobias. Es inactivado por las deshidropeptidasas en los túbulos renales, por lo que no se encuentra en altas concentraciones urinarias. Además, se administra en conjunto con un Cilastatina, un inhibidor de la deshidropeptidasa renal para no tener afecciones renales (Katzung, 2017).

Doripenem y Meropenem son similares al Imipenem, pero tienen mejor actividad contra aerobios Gram-negativo y menor actividad contra Gram-positivo. No se

degradan por la deshidropeptidasa renal, por lo que no necesitan de un inhibidor. Sin embargo, el Imipenem/Cilastatina y Meropenem han sido estudiados en ensayos comparativos en donde indican que su eficacia en el tratamiento es efectiva en infecciones como intrabdominales complicadas, de piel, neumonías, infecciones de tracto urinario y neutropenia febril (Fuentes-Martinez, 2017).

Sin embargo, el doripenem es altamente estable frente a la hidrólisis de las β -lactamasas, pero tiene concentraciones inhibitorias mínimas más bajas respecto a los dos anteriores para *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. Doripenem es menos susceptible y más lento en la hidrólisis de carbapenemasas. Por otro lado, el ertapenem es eficaz contra *P. aeruginosa* y es un poco limitado en comparación con Meropenem e Imipenem (Fuentes-Martinez, 2017).

Los carbapenémicos logran penetrar los tejidos y los fluidos corporales. Todos son eliminados por los riñones. Es importante mencionar que la dosis debe reducirse en los pacientes con insuficiencia renal. La dosis de Imipenem es de 0,25 a 0,5g por vía intravenosa 6-8 horas. La dosis habitual de Meropenem en adultos es de 0,5-1g IV cada 8 horas. Imipenem, Meropenem y doripenem tienen una vida media de una hora y ertapenem tiene una vida media de 4h aproximadamente (Katzung, 2017). Imipenem tiene efectos secundarios, incluyendo gastrointestinales dependientes de la dosis, náuseas, vómitos, diarrea, erupciones cutáneas, entre otros.

En la actualidad, se usan diferentes carbapenémicos como agentes antipseudomoniales. El ertapenem, Imipenem, y Meropenem se absorben poco por vía oral, por lo que son administrados vía parenteral. Cabe mencionar que los carbapenémicos tienen efectos en el metabolismo hepático provocando hepatotoxicidad con ictericia. Los pacientes alérgicos a penicilinas también pueden ser alérgicos a los carbapenémicos, pero la incidencia de reactividad es menor al 1% (Katzung, 2017).

4. Usos de antibióticos en industria agropecuaria

La importancia del uso de antibióticos en agropecuarios y agrícolas ha causado propagación de resistencia a los antibióticos, ya que son una gran parte del aumento de cepas resistentes. Mucho de esto no se encuentra en medicamentos veterinarios, sino en la forma de aplicación subterapéutica para el crecimiento de los animales y poder vender la carne y para prevención de enfermedades en los cultivos. Los antibióticos se han asociado con una alta frecuencia de resistencia bacteriana en la microbiota intestinal de pollos, cerdos y otros animales que son usados como productores de alimentos para humanos (Chang, Wang, Regev-Yochay, Lipsitch, & Hanage, 2015).

Se indica que la población se encuentra en riesgo de exposición a nuevos microorganismos patógenos resistentes que provienen de animales, ya sea por contacto directo, por ingestión de alimentos animales o por el agua contaminada.

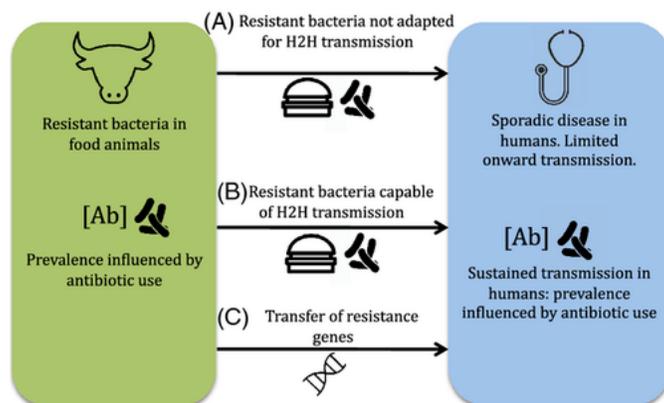


Figura No. 5. Ilustración esquemática de posibles vínculos entre el uso de antibióticos en la agricultura y las enfermedades humanas

(Chang, et al., 2015).

La mayoría de los antibióticos que se conocen son utilizados en animales de granja, para el consumo humano. La FDA en 2011, comunicó que se usaron el 80.5% del total de antibióticos consumidos en los Estados Unidos en estos animales.

Se sabe que los antibióticos son usados como tratamiento de enfermedades, pero también como componente alimenticio para los animales, así servir como promotores del crecimiento del animal (Chang, et al., 2015).

Asimismo, en la medicina veterinaria, las diferentes propiedades fisicoquímicas de los antibióticos veterinarios afectan su capacidad de absorberse a los suelos o los sedimentos y así determinan su movilidad en los sistemas, ya sea suelo o agua. La capacidad de absorción de estos antibióticos a los suelos dependen del pH y puede reducirse en la presencia de materia orgánica, lo que puede aumentar la movilidad y disminuir su capacidad de biodegradarse. Con frecuencia se han encontrado antibióticos veterinarios en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, así como en las plantas de tratamiento de agua potable (Tasho, & Cho, 2016; Mo, et al., 2017).

5. Abuso y uso incorrecto de los antibióticos

El mal uso de antibióticos se refiere al administrar los medicamentos en dosis inadecuadas, ya sea en cantidades excesivas provocando toxicidad, o, bajas dosis que son inefectivas; la administración sin prescripción de un médico o profesional de la salud autorizado; uso como antivirales.

La automedicación con antibióticos es un problema a nivel mundial, con gran impacto y que va aumentando cada vez más. Esta problemática varía en cada país, en consecuencia, de la venta libre de estos medicamentos, lo cual lleva a un consumo sin un diagnóstico previo y por consiguiente, un mal uso de los mismos (Grigoryan, et la., 2006). Este tipo de automedicación es una de las causas principales de aumento de resistencia antimicrobiana. El mal uso de antibióticos reduce el número de antibióticos efectivos y es alarmante ya que en los últimos 25 años no se han desarrollado nuevos antibióticos para tratar las infecciones bacterianas (OMS, 2014).

En Estados Unidos, el uso de los antibióticos es excesivo. Se sabe que aproximadamente el 80% de las ventas son para uso en la agricultura animal y el 70% de estos son clases importantes de uso humano. El uso extensivo no terapéutico de los antibióticos en animales causa resistencia a los antibióticos en humanos. Además, las bacterias resistentes se transmiten a través del contacto directo con los animales, por ejemplo, por el consumo de la carne poco cocinada de estos animales (Martin, Thottathil, & Newman, 2015).

En 2019, entró en vigor una nueva Normativa para la regulación de medicamentos que requieran prescripción médica como lo son los antimicrobianos y esteroides oftálmicos: Acuerdo 145-2019 y modificado posteriormente a través del acuerdo 181-2019 (Arguello, 2019).

El Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación, Universidad del Valle y Universidad de San Carlos de Guatemala han creado una Red Nacional de Vigilancia y Control de la Resistencia Antimicrobiana de Guatemala (REDRAM). Sin embargo, antes de la aprobación de la normativa mencionada, la FAO presentó estadísticas de las ventas de antibióticos en las diferentes formas que se distribuyen en el país:

- Entre el 0.2-0.4 de antibióticos se utilizan en la agricultura.
- Un 75-90% de los antibióticos usados en animales es excretado sin metabolizar al ambiente y transportado principalmente por el agua.
- En 2010, el uso de antimicrobianos en ganadería fue de 63,151 toneladas. Se estimó que se iba a tener un incremento del 67% para el 2020, es decir, a 105,596 toneladas

(Arguello, 2019).

La resistencia a los antibióticos es un tema que ha causado preocupación a nivel mundial. Los antibióticos son los medicamentos más vendidos en los países en vías de desarrollo. El uso excesivo de antibióticos para cualquier afección, aunque no sea por

infecciones, ha incrementado este problema. También a esto se le atribuye que los medicamentos alternos para las infecciones se elaboran de forma lenta; ya que se debe tomar en cuenta aspectos económicos, conocimientos de los medicamentos y la demanda mundial.

Es trascendental darle la importancia de implementar las medidas y regulaciones para sostener la eficacia de los antibióticos e impedir el desarrollo de la resistencia. Para esto se debe fomentar el uso adecuado en los sectores públicos y privados (OMS, 2014).

Se puede ver cómo la salud pública es afectada por el mal uso de antibióticos, al no ser generalmente efectivos en las infecciones bacterianas. Es por esto por lo que se debe evitar el tratamiento innecesario o se debe monitorear la adherencia al tratamiento para llevar un control de la resistencia y así poder controlar y reducir este grave problema. La importancia de las recetas de antibióticos como parte de un programa de administración de los antimicrobianos, tener mejores regulaciones, deben ser fundamentales.

Asimismo, el uso inadecuado y excesivo de estos medicamentos en los animales se debe regular también, ya que es un factor que contribuye al aumento de los costos para el tratamiento de las infecciones resistentes a los antibióticos en humanos. (Agarwal, Yewale, & Dharmapalan, 2015).

En India, y en países en de desarrollo, no todos los antibióticos necesitan receta, es decir que no hay una imposición de tener una receta válida para poder comprarlos. Debido a este constituyente, se realizaron investigaciones que muestran varios patrones de exención y uso inadecuado de antibióticos. Un factor importante de mencionar es la automedicación, ya que es uno de los principales fundamentos del mal uso de antibióticos. Y esto se debe a que las pautas de prescripción de antibióticos no son controlados (Ghaieth, Elhag, SHussien, & Konozy, 2015).

En 2010, se realizó un estudio con estudiantes de segundo año de la facultad de Ciencias Médicas de la Universidad San Carlos de Guatemala en donde se evidenció que el 95% de los estudiantes se automedicaba con antibióticos. Indicaban que el 86% de mujeres y 80% de hombres cumplían el tiempo del tratamiento (Arango-Azurdia, 2010).

En 2013, se realizó un estudio en dos distintas farmacias que atienden a comunidades socioeconómicas diferentes. Se encontró que en ambos grupos hubo 78% de automedicación, predominando mujeres (70%) de 20-29 años. El antibiótico con mayor incidencia de automedicación fue amoxicilina (Ramay, Lambour & Cerón, 2015).

B. Enterobacterias

La familia Enterobacteriaceae es un grupo de bacilos Gram-negativo que se encuentran en los intestinos de animales y de humanos. En esta familia se encuentran alrededor de 30 géneros y más de 130 especies, en donde se encuentran los géneros *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, entre otros (Carroll, Butel, & Morse, 2015).

Las enterobacterias son microorganismos que tienen forma de bastón, que, por lo general miden 1-3 μm de largo y 0.5 μm de diámetro. Su temperatura de crecimiento óptima es de 22°C y 37°C (Hernández-Sánchez, 2020).

Entre sus principales características se encuentran que son microorganismos aerobios no formadores de esporas, pueden crecer como anaerobios facultativos, tienen la capacidad de reducir nitratos a nitritos, fermentar la glucosa a ácidos. La mayoría de estas bacterias son móviles (con flagelos peritricos) (Farmer J. , 1995).

Son componentes de gran importancia en la microbiota intestinal normal, sin embargo, no son comunes como comensales en otras partes del cuerpo. Algunas

especies son causa frecuente de infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS). Las Enterobacterias son causa del 50 % de casos de septicemia, más del 70 % de infecciones del tracto urinario, provocan cistitis y en casos graves dan a lugar pielonefritis. Aproximadamente, constituyen un 66 % de cepas aisladas a partir de materia fecal de pacientes con gastroenteritis (Lopardo, 2016) .

Estas bacterias tienen una estructura antigénica compleja y son productoras de toxinas y de otros factores de virulencia. Las Enterobacteriaceae son los bacilos Gram-negativo más común que se encuentran en laboratorios clínicos junto con *Staphylococcus* y *Streptococcus*, y se encuentran entre las bacterias más comunes que causan enfermedades (Hernández-Sánchez, 2020).

Morfológicamente son cortos, pero es muy variable. Sus cápsulas son grandes y regulares en *Klebsiella*, y un poco menos en *Enterobacter*, son poco frecuentes en las otras especies.

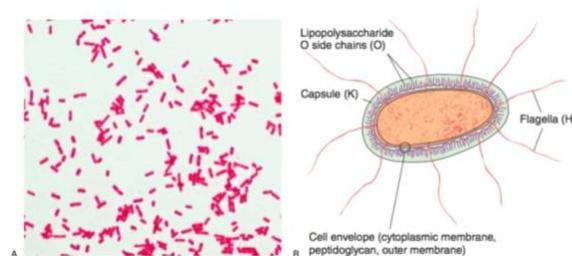


Figura No. 6. Tinción de Gram de *Escherichia coli*. × 1000.

(H Reyes.) B: Estructura antigénica de Enterobacteriaceae.

Según la taxonomía de estos bacilos, de acuerdo con la base de datos de taxonomía de Internet de la Biblioteca Nacional de Medicina, clínicamente relevantes solo se comprenden 20 a 25 especies (Carroll, Butel, & Morse, 2015).

La pared celular está compuesta por un polímero reticulado de porinas y peptidoglicanos, β -lactamasas polisacáridos y péptidos. El polisacárido contiene

aminos, azúcares, N-acetilglucosamina y ácido N- acetilmurámico. Este péptido termina en d-alanil-d-alanina. Se encuentra rodeada por una segunda membrana lipídica, membrana externa (OM). El espacio que se encuentra entre la OM y la membrana citoplasmática es el periplasma. La OM es la pared protectora extra que tienen este tipo de bacterias y esto impide que algunas sustancias puedan entrar. Las porinas de esta membrana permiten la entrada de varias moléculas incluyendo los fármacos. (Matar, 2017; Carroll, Butel, & Morse, 2015; Kapoor, Saigal, & Elongavan, 2017; Willey, Woolverton, & Sherwood, 2019)

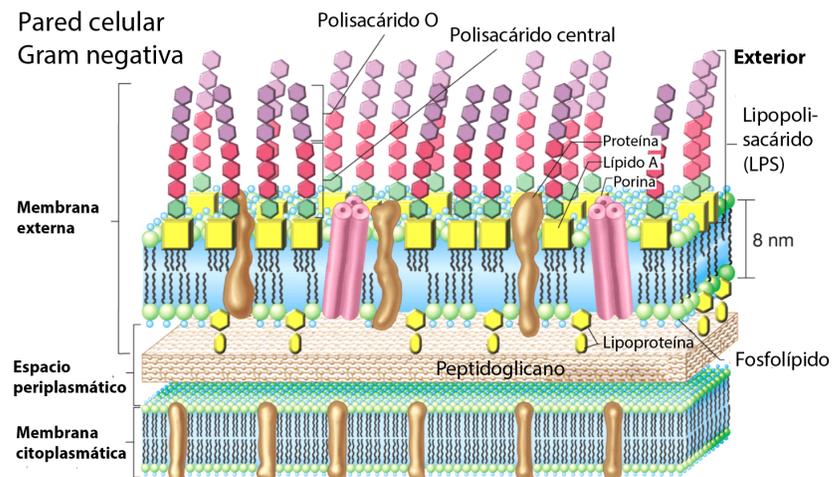


Figura No. 7. Estructura típica de una bacteria Gram-negativa (Woolverton, 2019).

1. Clasificación

- *Escherichia*: en este género se encuentra *Escherichia coli*. Su morfología se caracteriza por un brillo en medios diferenciales como en el agar EMB. Tiene forma de varilla. Es móvil ya que posee flagelos peritricos, pero algunas cepas no son móviles. *E. coli* Es el principal habitante anaerobio facultativo del intestino grueso y es único entre los microorganismos que integran la microbiota normal del tracto gastrointestinal (Carroll, Butel, & Morse, 2015; Hernández-Sánchez, 2020).
- *Klebsiella, Enterobacter, Serratia*: las especies de *Klebsiella* muestran un crecimiento mucoso, tienen grandes cápsulas de polisacárido y la mayoría de especies no son móviles. Generalmente dan positivos para pruebas de lisina descarboxilasa y citrato. En este género se encuentra *Klebsiella pneumoniae*, la cual se encuentra presente en las superficies mucosas de mamíferos; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal. Las especies de *Enterobacter* dan resultados positivos a motilidad. *Enterobacter aerogenes* tiene pequeñas cápsulas. En las especies de *Serratia*, producen DNAasa, lipasa y gelatinasa (Carroll, Butel, & Morse, 2015; Hernández-Sánchez, 2020).
- *Proteus – Morganella – Providencia*: Se caracterizan por ser móviles, crecen en medio de cianuro de potasio (KCN) y fermentan xilosa. Las especies de *Proteus* tienen motilidad activa porque poseen flagelos peritricosos. Las especies *Proteus* y *Morganella morganii* son ureasa positivas, y las especies de *Providencia* generalmente son ureasa negativas (Carroll, Butel, & Morse, 2015).
- *Citrobacterias*: Estas bacterias son bacilos que se pueden presentar solas o en pares. Generalmente dan positivas al citrato y se pueden diferenciar de *Salmonella* porque no se descarboxilan en lisina (Carroll, Butel, & Morse, 2015).
- *Shigella*: Este género no suele ser móvil y no fermentan lactosa, pero sí pueden fermentar otros tipos de carbohidratos produciendo ácido, pero no gas. Este grupo

posee cuatro especies y se encuentran muy relacionadas con *E. coli*. Cabe mencionar que muchas especies comparten antígenos comunes entre sí y con otras bacterias entéricas (Carroll, Butel, & Morse, 2015).

- *Salmonella*: Las especies de *Salmonella* también son bacilos móviles que fermentan glucosa y manosa sin tener una producción de gas. No logran fermentar lactosa ni sacarosa. La mayoría de especies de *Salmonella* producen H₂S, a diferencia de las *Citrobacterias*. Son consideradas como patógenos graves para humanos o animales cuando los ingieren. Antes existía un género llamado *Arizona*, pero ahora se incluyen como subespecies en este grupo (Carroll, Butel, & Morse, 2015).

C. Resistencia bacteriana

1. Problemática global

La resistencia antimicrobiana es el resultado de la capacidad de un microorganismo que resiste al efecto de un antibiótico, que a su vez provoca resistencia. Es decir que la información genética de las bacterias se transfiere a la nueva genética por medio de transferencia horizontal al intercambiar los plásmidos (Rios-Mondragón, 2012). Cabe mencionar que las bacterias pueden ser resistentes intrínsecamente a más agentes antimicrobianos, en donde su resistencia se pueda lograr por mutaciones o adaptaciones metabólicas al antibiótico o fármaco (Becerra, 2009).

En las últimas décadas, las bacterias han alcanzado gran importancia con respecto a agentes causantes de infecciones que son relacionadas con la atención de la salud (IAAS). Se han desarrollado fenotipos de resistencia amplios en relación con los antimicrobianos, lo cual prevalece mundialmente (Villegas, 2008).

El impacto de infecciones resistentes se estima en \$20 mil millones en excesos de costos médicos al año y 8 millones de días extra de hospitalización; más de 1.600

millones de euros y 2.5 millones de días extra de hospitalización en la Unión Europea (Dadgostar, 2019).

Uno de los constituyentes que afecta la resistencia a los antibióticos es la evolución y diseminación de los factores de resistencia dentro de las bacterias. Los humanos han acelerado la evolución de la resistencia bacteriana por medio de prescripción excesiva de antibióticos recetados por médicos, por síntomas que en muchos casos no son causados por bacterias o no son infecciones que se deberían tratar con estos medicamentos. Asimismo, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades estimó que el 50% de antibióticos aún se recetan innecesariamente en EEUU. Sin embargo, se han implementado otras estrategias para evitar la aceleración de la resistencia, tales como reducciones del uso de antibióticos, uso de ciclos entre las familias de antibióticos, terapias combinadas y evitar el uso de antibióticos de amplio espectro, al menos que sea muy necesario (Dadgostar, 2019).

Otro factor influyente es el desconocimiento de las personas acerca de los antibióticos y esto ha llevado al consumo excesivo de los mismo. En Europa, 2009, el 20% de personas que usaban antibiótico indicaban que era para la influenza, la cual es una enfermedad viral y no bacteriana. Esto muestra que el mal uso de antibióticos es por parte de las regulaciones que dejan obtener antibióticos sin necesidad de receta médica (Dadgostar, 2019).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Foro Económico Mundial, la resistencia a antibióticos es una de las problemáticas más grandes a nivel de salud pública. Esto se debe a que impide la capacidad de controlar las infecciones existentes, además de que aumenta la mortalidad y morbilidad. La transmisión de las bacterias infecciosas de un individuo a otro, provoca aumento en los costos de la salud por lo que perjudica a la economía también (Cifuentes, 2014).

2. Resistencia antibiótica en enterobacterias

La resistencia que presentan las Enterobacteriaceae a los antibióticos son principalmente de β -lactámicos y esto está sujeto por la transferencia de genes individuales que codifican a enzimas modificadoras de fármacos eficientes. De esta forma, la resistencia a los antibióticos se encuentra en organismos como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Los mecanismos de resistencia que se ven implicados son por resistencia natural como la impermeabilidad de la membrana externa, el flujo de salida del fármaco y cambios estructurales y moleculares de enzimas o proteínas (Iredell, Brown & Tagg, 2016).

En estos últimos diez años, se ha tenido un aumento impresionante a nivel mundial de la carga de resistencia antimicrobiana entre las Gram-negativo y también se ha reportado variabilidad entre diferentes países. El CDC reportó que, en Estados Unidos en el 2013, particularmente en infecciones asociadas a los cuidados de a salud, las enzimas ESBL se expresaron en el 23% de los casos en *K. pneumoniae* y 14% en *E. coli* provocando gastos económicos altos. También se ha reportado que para *P. aeruginosa* fue un 13% de los casos y para *A. baumannii* un 63% (CDC, 2013; World Health Organization, 2014).

Según la OMS, existe resistencia global por parte de BLEE en muchas penicilinas y cefalosporinas. Además mencionan que se producen con mecanismos de resistencia a otros antibióticos. La prevalencia de resistencia de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* se encuentra relacionada con factores de disponibilidad, manejo de desechos, de agua, asistencia sanitaria, entre otros (OMS, 2014).

Por esto mismo, se informan que el 60% de *E. coli* y *K. pneumoniae* son resistentes a antibióticos β -lactámicos hospitalarios, como las cefalosporinas de tercera generación. Cabe mencionar que el uso de antibióticos β -lactámicos y aminoglucósidos se ha extendido durante mucho tiempo y se ha controlado la resistencia con

carbapenémicos como Meropenem y doripenem y con fluoroquinolonas como ciprofloxacina y levofloxacina. Lastimosamente la resistencia a las fluoroquinolonas ahora también está presente en la mitad de los aislados clínicos de *E. coli* de muchos lugares del mundo (Vasoo, Barreto & Tosh, 2015).

3. Mecanismos de resistencia de enterobacterias

Las bacterias Gram-negativo tienen muchos mecanismos de resistencia y estos mecanismos pueden llevar al fallo terapéutico de los antibióticos. Se pueden resumir en cuatro categorías.

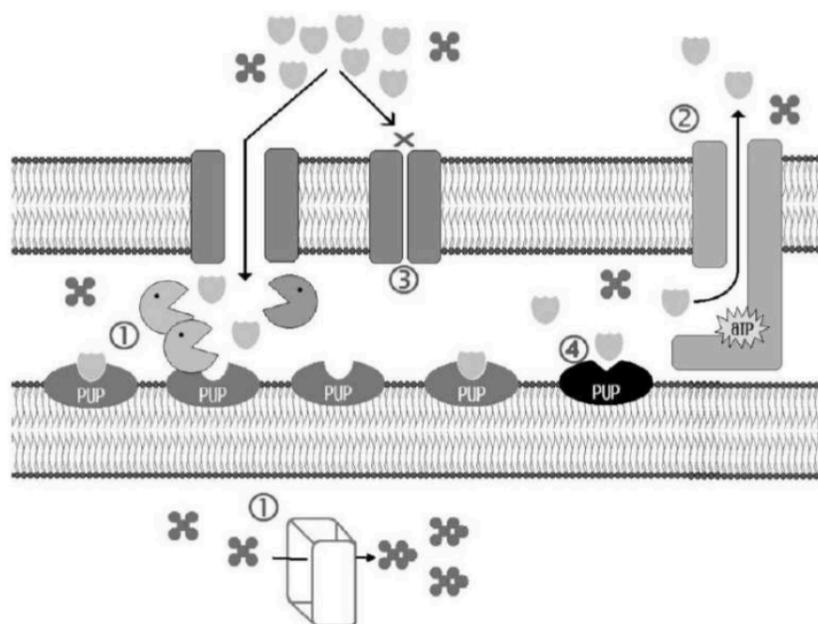


Figura No. 8. Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos. 1. Enzimas modificadoras. 2. Bombas de salida. 3. Cierre de porinas. 4. Proteínas unidoras de penicilina.

(Andrés Opazo , 2009)

a. Modificación enzimática del antibiótico.

Las bacterias contienen enzimas que crean cambios estructurales del antibiótico provocando que su función sea bloqueada. Las β -lactamasas son las enzimas que se encuentran en mayor cantidad. Estas son proteínas que hidrolizan el anillo de β -lactámico de los antibióticos de esta familia. Además, las bacterias también contienen enzimas modificadoras de aminoglucósidos capaces de modificar los antibióticos por medio de reacciones de acetilación y fosforilación (Livermore, 2000).

La mayoría de enterobacterias contienen una β -lactamasa cromosómica que es expresada de forma basal y puede ser aumentada como bomba de expulsión activa, esto decreta una resistencia intrínseca (Navarro, 2010). Asimismo, se han encontrado β -lactamasas de tipo AMPC en las Gram-negativo que hidrolizan a cefalosporinas de espectro reducido, de tercera generación e inhibidores de β -lactamasas (Jacoby, 2010).

Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que han sido reportadas en múltiples especies de bacterias Gram- negativo: *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli* son las más usuales de encontrar. Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas, penicilinas y las cefalosporinas de espectro reducido. Las BLEE son inhibidas el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam; esto las diferencia de las de tipo AmpC. La mayoría de BLEE se han originado por mutaciones espontáneas de β -lactamasas de espectro reducido, por cambios en los aminoácidos en su sitio activo; permitiendo aumentar su hidrolisis (Livermore M., 2000; Corp, 2019).

Las BLEE son mediadas por plásmidos lo cual atribuye la capacidad de diseminación entre diferentes especies. Es decir que el mismo plásmido que porta los genes de BLEE, se transmiten y se encuentran en los genes que codifican resistencia para otros antibióticos como aminoglucósidos, tetraciclinas y

trimetoprim/sulfametoxazo. Esto contribuye a que haya resistencia en muchas familias de antibióticos (Martinez-Martinez, 2007).

b. Bombas de salida

En este mecanismo de resistencia, sucede cuando se toma el antibiótico del espacio periplásmico y lo expulsan hacia la salida o exterior de la membrana, con esto evitan que llegue a su sitio de acción. Las bacterias lo realizan por medio de hidrólisis de ATP o con un mecanismo contra transporte iónico como un sustrato de energía. Cabe mencionar que se debe tener una baja concentración de sustancias tóxicas dentro de la célula. (Vila, 2007). Estas bombas son proteínas de membrana que tienen la capacidad de exportar los antibióticos de la célula y pueden mantener pequeñas concentraciones intracelulares. Cuando los antibióticos ingresan a la célula, los mecanismos de flujo de salida los bombean antes de que lleguen a su objetivo a la misma velocidad de la que entraron.

Cabe mencionar que las bombas de salida pueden ser específicas para un fármaco, generalmente codificadas en plásmidos, por lo tanto, se pueden transmitir. También pueden ser inespecíficas y se expresan en el cromosoma bacteriano (Depardieu, 2007).

c. Cambios en la permeabilidad de la membrana externa.

Las bacterias son capaces de generar cambios en la bicapa lipídica, alterando su permeabilidad al realizar cambios en las porinas. Al tener alteraciones en su conformación, hacen que la membrana externa obstruya el paso de los antibióticos al espacio periplásmico (Vila, 2007). Estas moléculas tienen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Es por esto que los antibióticos β -lactámicos deben penetrar a través de estos canales. Al perder una porina por alguna mutación, la Concentración Mínima Inhibitoria para el antibiótico aumenta (Hernández-Sánchez, 2020).

d. Alteraciones del sitio de acción.

Las bacterias tienen la capacidad de alterar el sitio de acción del antibiótico que se une a la bacteria, para así interrumpir la función de este. Sin embargo, este mecanismo es usado principalmente por Gram-positivas, las cuales alteran la estructura en los sitios de acción de los β -lactámicos a nivel de las proteínas unidoras de penicilinas (Cavaco, 2008).

La alteración del sitio de unión se define como una pérdida de afinidad y es por esto que el antibiótico no puede hacer su efecto terapéutico. Si se modifica un aminoácido, se da un blanco diferente y esto causa una disminución en la afinidad de unión (Cavaco, 2008).

e. Carbapenemasas

Las carbapenemasas tienen la capacidad de hidrolizar tanto a los carbapenémicos como a otros β -lactámicos (Fresnadillo Martínez, 2010).

Estas enzimas se encuentran divididas en subgrupos: serin carbapenemasas que pertenecen a la clase molecular A o D de Ambler y metalo- β -lactamasas (MBLs) que corresponden a la clase B de Ambler. Estos grupos se diferencian en su mecanismo de hidrólisis, el modo de transferencia y la acción de los inhibidores (Le, 2010).

- Carbapenemasas clase A

Las serin carbapenemasas clase A tienen la capacidad de hidrolizar diferentes antibióticos como penicilinas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, monobactámicos y carbapenémicos. Su hidrólisis depende del sustrato en el que actúan: SME-3 y KPC-2, los cuales hidrolizan mejor el Imipenem que el Doripenem (Bush, 2010).

Cabe mencionar que es la carbapenemasa expresada por *K. pneumoniae* productora de KPC y está descrita como una carbapenemasa mundialmente expresada. Algunos de los factores de riesgo que se consideran para que esta enzima sea expresada son largas estancias hospitalarias en cuidados intensivos, inmunosupresión y la utilización de un rango amplio de antibióticos. En Guatemala se ha reportado *K. pneumoniae* productora de NDM-1 y KPC-2 (Garza, 2014; Chinchilla & Morales 2012).

Las serin carbapenemasas pueden dividirse fenotípicamente en seis diferentes grupos que están formados por miembros de las enzimas: SME, IMI/NMC-A, KPC y GES/IBC (Leavitt, 2009).

- Carbapenemasasa clase B

Las metalo- β -lactamasas (MBLs), son el grupo más relevante de carbapenemasas. Hidrolizan todos los β -lactámicos exceptuando a los monobactámicos (Jacoby, 2010). Estas enzimas son codificadas por cromosomas o por medio de plásmidos (Shaikh, 2014).

Los genes MBLs pueden distinguirse en ocho grupos; sin embargo las más importantes son VIM, IMP y SPM-1 las cuales han sido detectadas en cepas de *P. aeruginosa*, miembros de la familia Enterobacteriaceae y *A. baumannii* (Kitchel, 2010; Bush, 2010).

- Carbapenemasas clase D

Las Carbapenemasas tipo D u oxacilinasas son las más comunes de la resistencia a carbapenémicos en bacterias como *A. baumannii*. Se denominan así porque son un grupo, que, tienen la facilidad de hidrolizar la oxacilina, además pueden inactivar efectivamente aminopenicilinas, meticilina y algunas cefalosporinas de primera generación. Entre este tipo de carbapenemasas existen 4 grupos característicos: OXA-

23, OXA-27 y OXA-49 que se pueden propagar por medio de transferencia de plásmidos (Pogue, 2013; Bush, 2010).

4. Resistencia a carbapenémicos

Durante los últimos diez años, se ha tenido un aumento en la incidencia y prevalencia de bacterias Gram-negativo resistentes a los carbapenémicos. Los carbapenémicos son considerados como un grupo potente con eficacia comprobada como tratamiento en infecciones bacterianas graves, e incluso, para infecciones causadas por cepas resistentes. Sin embargo, por el incremento increíble de Enterobacteriaceae Resistentes a Carbapenems (CRE), es un motivo de preocupación. Asimismo, las cepas productoras de carbapenem son resistentes a los carbapenémicos. (Iovleva, A., & Doi, 2017).

Los antibióticos Imipenem y Meropenem son potentes contra los Gram-negativos. La resistencia en las enterobacterias es rara pero puede estar mediada por tres mecanismos: hiperproducción de cefalosporina combinada con la reducción de la permeabilidad de fármaco por OM, disminución de la afinidad de PBP que constituyen la diana para estos antibióticos y, la hidrólisis de carbapenem- β -lactamasas. Pueden ser metalo- β - lactamasas mediadas por plásmidos IMP y VIM o enzimas codificadas inhibidas por el clavulanato (Petty, et al., 2018; Labarca et al., 2014).

En la actualidad, existen tres grupos de carbapenemasas que son consideradas como las principales de importancia epidemiológica y clínica: KPC, NDM y OXA-48. La primera es la más producida por CRE, sin embargo, ha habido Enterobacteriaceae productoras de NDM en hospitales. Las cepas que producen OXA-48 son un poco más extrañas de encontrar.

KPC está codificado por un plásmido que se puede transferir. La enzima es capaz de hidrolizar oxiiiminocefalosporinas y carbapenems eficientemente.

Table 1 Characteristics of major acquired carbapenemases in <i>Enterobacteriaceae</i>			
	KPC	NDM	OXA-48
Molecular class	A	B	D
Common species	<i>K pneumoniae</i>	<i>K pneumoniae</i> <i>E coli</i>	<i>K pneumoniae</i>
Regions/countries with high burden	United States Brazil Italy Greece Israel China	South Asia (India, Pakistan, Bangladesh, Nepal)	Mediterranean (Turkey, Algeria, Lebanon, Libya, Tunisia, Morocco) Gulf (Saudi Arabia)
Spectrum of resistance	All β -lactams including carbapenems	All β -lactams including carbapenems but except aztreonam	Penicillins and carbapenems
Inhibited by classic β -lactamase inhibitors	Minimally	No	No
Inhibited by avibactam	Yes	No	Yes

Figura No. 9. características de las principales carbapemenasas adquiridas en *Enterobacteriaceae*

(Alina Iovleva, Mda & Doi, 2017).

En Europa, se ha observado un gran aumento de aislamientos de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos desde 2012-2015, principalmente en Croacia, Portugal, Rumania y España (European Center of Disease Preventin and Control, 2013; OMS, 2017).

Las Enterobacterias productoras de KPC son la causa más común de resistencia a carbapenémicos en Estados Unidos (VaN Duin & Doi, 2017). Además KPC y NDM son las carbapenemasas más comunes en Latinoamérica (Logan & Weinstein, 2017).

En Guatemala se ha encontrado presencia de carbapenemasas en pacientes, específicamente tipo MBL-NDM. Asimismo, se ha evidenciado aislamiento de carbapenemasas del tipo KPC (Garrido Ortega, 2014).

D. Cepas multirresistentes

Las bacterias resistentes a múltiples fármacos (MDR) son reconocidas como un gran problema para la salud pública. En los últimos años, las MDR se han cuadruplicado en todo el mundo. La resistencia a los antimicrobianos es una gran amenaza para los pacientes, ya que puede aumentar la morbilidad y mortalidad, además que alarga la estancia del paciente en el hospital causando daños de salud, pero también económicos. Existen varios problemas de peligro que presentan el aumento de las MDR. Existen muchos pacientes infectados por bacterias MDR y tienden a ser peores en comparación a otros pacientes infectados por organismos más susceptibles. La prevalencia de las bacterias MDR están relacionadas con el uso de antibióticos de amplio espectro, incluyendo los de uso empírico como los de terapia definitiva (Van Duin, & Paterson, 2016; Basak, S., Singh, & Rajurkar, 2016).

Las infecciones se dividen en inicio comunitario o adquisición nosocomial. Lo que diferencia estas dos es si el inicio de la infección fue dentro de las primeras 48 horas de hospitalización, siendo para el inicio en la comunidad, o si fue más tarde de las 48 horas, nosocomial. Las limitaciones incluyen la naturaleza arbitraria del punto de 48 horas y la dependencia del diagnóstico. Cabe mencionar que si los cultivos tienen un rendimiento más temprano durante la hospitalización es más probable que sea de inicio comunitario (Van Duin, & Paterson, 2016).

Las bacterias MDR se encuentran asociadas con infecciones nosocomiales, pero algunas se han convertido en causas frecuentes de infecciones adquiridas en la comunidad. La expansión comunitaria da un gran riesgo a la población y dan un aumento al número de infecciones causadas por estas bacterias (Van Duin, & Paterson, 2016) Esto es por factores que incluyen el hábitat de la bacteria. Ciertas cepas parecen ser más capaces de mantener su fenotipo MDR y así propagarse por la comunidad. La propagación comunitaria de la bacteria MDR es asociado con la resistencia antibacteriana (Uddin, Yusuf, & Ratan, 2017).

Algunos ejemplos de bacterias MDS encontrados en aislamientos clínicos son *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Enterococci*, especialmente Enterococos resistentes a la vancomicina (VRE), y miembros de la familia Enterobacteriaceae, por ejemplo, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, y *Proteus sp.* Estos se han desarrollado rápidamente y han provocado resistencia antibiótica, propagándose en el área hospitalaria (Van Duin, & Paterson, 2016; Basak, S., Singh, & Rajurkar, 2016).

E. Análisis de calidad microbiológica del agua

Los cuerpos de agua son esenciales para la vida, es por esto que se debe disponer un suministro adecuado, seguro y accesible para la sociedad. Estos pueden ser afectados por efluentes que los contaminan por ejemplo las plantas de tratamiento de aguas residuales, desbordes de aguas pluviales o siembras agrícolas y superficies urbanas (Adekunle & Thor, 2018).

Según la OMS, más de 5 millones de muertes al año son asociadas a enfermedades causadas por contaminantes del agua. El 50% de estas muertes son por causa de infecciones intestinales microbianas, lo cual se sabe que están asociados a ingestión de agua contaminada con heces de animales y de personas. Asimismo, los vertidos de aguas residuales en aguas, principalmente dulces y costeras, son la principal fuente de microorganismos fecales. Las enfermedades diarreicas microbianas agudas también son un problema alarmante de salud pública en los países en vías de desarrollo (OMS, 2017).

Las personas afectadas por enfermedades diarreicas son las que tienen recursos económicos más escasos, consecuentemente sus estados de ambiente y vivienda no son suficientemente higiénicos. Asimismo, los niños menores a cinco años son los más afectados por las enfermedades microbianas transmitidas por medio del agua (Tian, et al., 2016).

Las enfermedades bacterianas más importantes transmitidas por el agua se encuentran en el siguiente cuadro:

Disease	Causal bacterial agent
Cholera	<i>Vibrio cholerae</i> , serovarieties O1 and O139
Gastroenteritis caused by vibrios	Mainly <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Typhoid fever and other serious salmonellosis	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium
Bacillary dysentery or shigellosis	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
Acute diarrheas and gastroenteritis	<i>Escherichia coli</i> , particularly serotypes such as O148, O157 and O124

Figura No. 10. Principales enfermedades bacterianas transmitidas por el agua potable (Cabral, 2010).

1. Cuerpos de agua en Guatemala

En Guatemala existen alrededor de 20 lagos de distintos tamaños y con condiciones ambientales diferentes. Su agua es dulce, sin embargo, no es potable. Uno de los principales lagos es El Lago de Amatitlán que se encuentra a 20 kilómetros del sur de la capital. Tiene un área de 15km² a una altura de 1.186 metros sobre el nivel medio del mar. Este lago es importante ya que es receptor de muchos efluentes domésticos e industriales que provienen de la Ciudad, los cuales son acarreados por medio del Río Villalobos (Spillman, Webster, Alas, Waite, & Buckalew, 2000).

La calidad de las aguas superficiales en Guatemala se considera como contaminados. Asimismo, en las zonas de agricultura, los plaguicidas son una de las principales fuentes de contaminación (Spillman, et al., 2000).

a. Río Villalobos

El Río Villalobos es un cuerpo de agua que pertenece a la cuenca del Lago de Amatitlán, recibiendo residuos de tipo doméstico, industrial, agrícola y hospitalario del sur de la ciudad capital y de municipios como San Miguel Petapa, Villa Canales, Villa Nueva y Mixco.

El Lago de Amatitlán recibe el 50% de las aguas negras de la ciudad de Guatemala que vienen por medio de la corriente del Río Villalobos, posicionándolo como el mayor contaminante. La contaminación del Río Villalobos se comenzó a estudiar a partir de 1978, mostrando que actualmente se encuentra rígidamente contaminado por concentraciones de metales como plomo, fósforo, potasio, nitratos, entre otros; asimismo, se encuentra contaminado por heces humanas y de animales, con presencia de coliformes fecales que provienen de aguas negras y drenajes (Minera-Castro, 2016). La interpretación quimiométrica de la calidad del agua del Lago Amatitlán, durante 1996 a 2006, mostró que la entrada del Río Villalobos al lago era su principal fuente de contaminación (Gil, 2008).

F. Técnicas de detección bacteriana

La identificación o detección de bacterias se puede realizar por diferentes métodos, incluyendo convencionales que son basados en características fenotípicas y en métodos moleculares que llevan más allá del genotipo bacteriano.

En las pruebas convencionales, se observan características típicas de las bacterias, como: morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas y metabólicas (Bou, Olmos Fernández, García, Sáez-Nieto, & Valdezaste, 2011).

a. Pruebas bioquímicas

Se pueden utilizar pruebas de identificación preliminar con lectura inmediata como pruebas bioquímicas, en las que se incluyen catalasas y oxidadas. Sin embargo, también se tienen pruebas con lectura menor a seis horas utilizando la hidrólisis del hipurato, la β -

galactosidasa, las aminopeptidasas, la ureasa y el indol. Por otra parte, se tienen pruebas de identificación que pueden tardar de 18 a 48 horas: óxido-fermentación(O/F), Reducción de nitratos, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, Agar hierro de Kligler, fermentación de carbohidratos, hidrólisis de la esculina, coagulasa, entre otras (Bou, Olmos Fernández, García, Sáez-Nieto, & Valdezaste, 2011).

2. Métodos moleculares

En los métodos moleculares, se han demostrado que son rentables para la identificación bacteriana a nivel de familia, género, especie, cepa y, para identificar si la cepa que se está evaluando es patógena o no. El método más preciso para la identificación bacteriana es el análisis de su material genético, el cuál se realiza por medio de técnicas de hibridación del ADN y por amplificación por PCR. Estos permiten proveer un análisis rápido de los ácidos nucleicos y facilitan los resultados (Murray, 2013).

a. Técnica de reacción de cadena de polimerasa: PCR

El primer estudio publicado de PCR fue en 1985 en donde se aplicó al diagnóstico prenatal de la anemia falciforme. Hoy en día es uno de los métodos más desarrollados para analizar el ADN (Joshi & Deshpande, 2010).

La técnica de PCR es un método de amplificación de ADN in vitro utilizando medios enzimáticos con una tasa exponencial que da un ciclo repetido. En PCR se tienen tres etapas definidas:

- Etapa de desnaturalización del ADN bacteriano: se extrae el material genético en estudio de las bacterias (ADN diana). Se debe implicar una temperatura de 95-98 ° C durante 60 segundos, en donde se producen dos hebras simples de ADN-ss. Estas hebras sirven como un patrón para la unión de los cebadores sintéticos (oligonucleótidos sintéticos de ADN monocatenario, formados por pares de bases de nucleótidos de largo).

- Etapa de hibridación: en esta etapa, la temperatura se debe reducir a aproximadamente 37-50 ° C durante 60-120 segundos. Los cebadores se adicionan a la reacción. Cabe mencionar que la disminución de la temperatura cede a que los cebadoras se puedan unir a sus sustancias complementarias, siendo así una a cada una de las dos hebras simples de patrón que fueron producidas con anterioridad.
- Etapa de extensión: esta reacción es llevada por una enzima ADN polimersasa que es termoestable, capaz de sintetizar una copia complementaria de las hebras simples iniciales por extensión de 3'. Esta etapa se realiza a una temperatura de 72 ° C durante 60-120 segundos. Es el final del primer ciclo del procedimiento mediante el cual se ha duplicado una de las moléculas de ADN diana originales. Después de esto, se inicia un segundo ciclo en donde se vuelve a elevar la temperatura para separar las hebras de ADN, en donde se producen cuatro ADN-ss, y el ciclo se repite nuevamente, aumentando de forma exponencial la cantidad de ADN diana (Joshi & Deshpande, 2010).

b. Sistema VITEK (Biomeriux)

El sistema VITEK es un sistema automatizado que identifica bacterias; es de estudio de sensibilidad antimicrobiana. Se basa en la inoculación de una suspensión de microorganismos en tarjetas que tienen paneles de reacciones químicas específicos. La sensibilidad antimicrobiana se realiza también por tarjetas, pero estas contienen diluciones estandarizadas con los antibióticos específicos según el punto de corte que se requiere. Este sistema se ha usado para estudios de cepas que son clínicamente significativas y que pueden ser aisladas de muestras, ya sea clínicas o de otras fuentes como agua (Romeu, et al., 2010).

Este sistema utiliza las tarjetas con reactivos colorimétricos, en donde se inoculan con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil se interpreta automáticamente. Estas tarjetas tienen alrededor de 64 pozos que contienen un sustrato de prueba individual para cada uno. Los sustratos miden actividades metabólicas, incluyendo la hidrólisis enzimática y desarrollo de presencia de sustancias inhibidoras. Las tarjetas deben de estar

selladas por una película clara, la cual ayuda a evitar el contacto entre las mezclas sustrato-microorganismo y a la vez transmite el nivel de oxígeno necesario. Cabe mencionar que cada tarjeta incluye un tubo específico de transferencia para la inoculación y cada una tiene códigos de barra que contienen la información de la muestra, etiquetada adecuadamente (Romeu, et al., 2010).

3. Pruebas de susceptibilidad

Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos son un importante proceso que se debe de realizar en los estudios de resistencia antimicrobiana. Los resultados son *in vitro* y son necesarios para seleccionar el agente activo para el tratamiento contra el microorganismo causante de las infecciones (Hernández-Sánchez, 2020).

La selección del antibiótico y la respuesta del paciente a esta terapia depende de diferentes factores que se encuentran relacionados: farmacocinética del antibiótico, toxicidad, estado general del paciente.

Existen dos formas generales de ensayos de susceptibilidad: dilución en caldo y difusión en agar.

En la dilución en caldo se debe de agregar una serie de diluciones de antibiótico en un caldo nutritivo, para después inocular una solución estándar de las bacterias. Luego se debe incubar y ya con las bacterias crecidas, se determina la concentración mínima del antibiótico, es decir lo que es capaz de eliminar las bacterias con el antibiótico (concentración mínima inhibitoria) (Hernández-Sánchez, 2020).

En el método de difusión en agar, se debe sembrar un inóculo de bacteria estandarizada y se debe extender por toda la superficie de la placa. Luego se debe colocar discos impregnados con concentraciones conocidas de antibióticos. Se debe incubar y después se debe analizar si existe algún halo de inhibición alrededor del disco impregnado. Cabe mencionar que el diámetro de esa área de inhibición corresponde a la actividad del antibiótico sobre la bacteria.

El Clinical Laboratory Standart Institute define a las bacterias como:

- Susceptibles: si las cepas aisladas tienen una MIC igual o menor o un halo de inhibición con diámetro igual o mayor que el punto de susceptibilidad en el que las bacterias son inhibidas por el antibiótico, lo cual resulta en una eficiencia clínica (CLSI, 2017).
- Susceptibles dependiendo de la dosis: esto implica un punto en el que la susceptibilidad de la cepa es dependiente a la dosis que se usa en el paciente, consecuentemente daría una mayor exposición al antibiótico (CLSI, 2017).
- Intermedio: si las cepas aisladas tienen una MIC o un halo de inhibición en un rango intermedio del punto de susceptibilidad en las que las bacterias son inhibidas a la dosis recomendada del antibiótico, la respuesta de este es menor que las susceptibles (CLSI, 2017).
- Resistentes: si las cepas aisladas tienen una MIC igual o mayor o un halo de inhibición con diámetro igual o menor que el punto de susceptibilidad, no existe inhibición por el antibiótico a la dosis recomendada o si demuestra un mecanismo de resistencia, lo cual supone una mala eficacia del tratamiento (CLSI, 2017).
- No susceptibles: es cuando se designa un punto de susceptibilidad debido a la ausencia o rara ocurrencia de cepas resistentes. Las cepas tienen una MIC mayor o un halo de inhibición con diámetro menor que el punto de susceptibilidad (CLSI, 2017).

4. Técnicas de detección de carbapenemasas

a. Prueba modificada de Hodge

Es un bioensayo que se basa en la inactivación del carbapenem por medio de la enzima carbapenemasa producida por la bacteria. Esta extiende su crecimiento cerca del disco en donde está impregnado el antibiótico, ya sea ertapenem o Meropenem, y a lo largo del estriado de la cepa productora de carbapenemasas. Esta prueba tiene baja especificidad y es difícil de interpretar los resultados en bacterias con otro mecanismo de resistencia.

Además, tiene limitaciones al detectar metalo-carbapenemasas y puede dar falsos positivos en bacterias BLEES tipo CTX-M15 (Cercenado, 2015).

b. CARBANP test

Es un ensayo bioquímico colorimétrico rápido que dura no más de dos horas. Se basa en la detección colorimétrica de la hidrólisis del Imipenem. Se produce un cambio de color por el indicador de pH, rojo de fenol, de rojo a amarillo/naranja que confirma la producción de carbapenemasa. Este ensayo requiere colonias aisladas puras. Tiene buena especificidad >90%, sin embargo, su sensibilidad para la detección de OXA-48 es baja. Es muy sensible para la detección de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasa (KPC) y metalo-beta-lactamasas (Pasteran, Tijet, Melano, & Corso, 2015; Cercenado, 2015).

c. Método de inactivación carbapenems o mCIM

El método de inactivación de carbapenems modificado (mCIM) es una prueba fenotípica simple que detecta enterobacterias productoras de carbapenemasas. Esta prueba se basa en el principio de que al incubar un disco de 10 µg de Meropenem por 2 horas en una suspensión acuosa de un microorganismo productor de carbapenemasa, la carbapenemasa degrada el carbapenem del disco; si el microorganismo de prueba no produce carbapenemasa, el Meropenem conserva su actividad antimicrobiana. El disco debe retirarse de la suspensión y luego se coloca en una placa de agar Mueller-Hinton (MHA) previamente sembrada con las bacterias indicadoras susceptible a carbapenémicos. Se deja incubando durante la noche y se mide el área de inhibición para determinar si el Meropenem se ha hidrolizado (al ver si hubo crecimiento de la bacteria indicadora cerca del disco) o si sigue activo (un halo de inhibición alrededor del disco) (Pierce, et al., 2017).

IV. MARCO METODOLÓGICO

A. Objetivos

1. Objetivos generales:

- Evaluar la presencia de resistencia bacteriana de enterobacterias a Imipenem y Meropenem tipo aisladas en las tres cuencas del Río Villalobos en Guatemala.
- Generar información de utilidad para atender y vigilar la resistencia de enterobacterias a carbapenémicos y así poder minimizar el mal uso de antibióticos.

2. Objetivos específicos

- Aislar enterobacterias de las muestras del Río Villalobos en Guatemala en agar Chromocult coliforme con antibióticos Meropenem e Imipenem Cilastatina.
- Determinar qué enterobacterias de las encontradas son resistentes a los carbapenémicos y comparar si su área de muestreo en el Río tiene algún efecto respecto a la resistencia.
- Comprobar qué enterobacteria resistente es la más común de todos los sitios de muestreo.

B. Hipótesis

Las enterobacterias *Escherichia coli*, género *Klebsiella*, *Enterobacter* y coliformes aisladas del Río Villalobos de Guatemala poseen resistencia a los antibióticos carbapenémicos Imipenem Cilastatina y Meropenem.

C. Variables

Cuadro No. 1. Variables identificadas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Criterios de Clasificación
Enterobacteria	Familia de bacterias, Gram-negativo, anaerobios facultativos	Familia de bacterias seleccionadas en el estudio	Cualitativa	Nominal polinómica	<i>E. coli</i> , género <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> y <i>Coliformes</i>
Tipo de cultivo	Difusión artificial de microorganismos o tejidos	Medio/agar en que se harán crecer las enterobacterias obtenidas de agua de río	Cualitativa	Nominal dicotómico	Chromocult coliforme con antibiótico/ sin antibiótico
Estación de clima para muestreo** caudal no	Periodos climáticos que se mantienen en una determinada región	Periodo climático ideal por contaminantes en el río	Cualitativa	Nominal	verano
Lugar de muestreo	Sitio para la selección de una muestra a interés para estudio	Río: cuerpo hídrico que recibe las descargas residuales. Lugar de donde se obtendrán las muestras para el estudio.	Cualitativa	Nominal politómica	Sitio de muestreo no.1 Sitio de muestreo no.2 Sitio de muestreo no.3 Sitio de muestreo no.4 Sitio de muestreo no.5

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Criterios de Clasificación
Profundidad de muestreo	Distancia entre el fondo de algo y el punto tomado como referencia	Distancia a tomar la muestra de agua del Río (será solo la superficie)	Cuantitativa	Real	Superficie (se medirá con instrumento)

D. Población y muestra

1. Sitio de estudio

El Río Villalobos el cual recoge los residuos de tipo doméstico, industrial, agrícola, hospitalario del sur de la ciudad capital y de municipios como San Miguel Petapa, Villa Canales, Villa Nueva y Mixco.

2. Diseño de investigación

El diseño del estudio es descriptivo transversal

3. Sujetos de estudio

Enterobacterias específicamente *E. coli*, género *Klebsiella*, *Enterobacter* y *coliformes* aisladas de cultivos realizados durante el mes de agosto 2021, obtenidas en diferentes sitios del Río Villalobos.

4. Tipo y tamaño de muestra

Se realizaron nueve muestreos en tres diferentes partes del río: en la desembocadura con el Lago de Amatitlán, en cuenca media y cuenca alta del río, en triplicado Se obtuvieron

cepas de enterobacterias específicamente género *Klebsiella* y *coliformes* aisladas en cultivos realizados en el laboratorio microbiológico de la UVG

Métodos y técnica de muestreo: No probabilístico de conveniencia.

E. Procedimiento e instrumentos de medición

- Se presentó el protocolo de trabajo de graduación incluyendo: título, objetivos, introducción y marco metodológico de la investigación para optar al grado académico de Licenciado en Química Farmacéutica.
- Al ser autorizado, se realizó el protocolo de investigación incluyendo: título, introducción, marco conceptual (antecedentes, justificación, planteamiento del problema, alcances y límites), marco teórico, marco metodológico, marco operativo, programa, bibliografía y anexos.
- El protocolo fue revisado por el asesor principal, coasesor-revisor y el director del Departamento de Química Farmacéutica.
- Se desarrolló una presentación para aceptar el trabajo de graduación y se comenzó la parte metodológica de análisis de muestras.
- Se procedió a muestrear y obtener cuadros de resultados con su respectivo análisis estadístico.
- Se elaboró el informe de investigación con los resultados obtenidos, análisis de estos y conclusiones conseguidas.

1. Metodología

a. Sitio de estudio y recolección de muestras

En el Río de Villalobos se recolectaron nueve muestras de agua del río en botellas estériles (100mL) por triplicado seleccionados a ninguna profundidad, solo en la superficie por contaminantes debajo de la superficie del agua, en tres distintos sitios del río: en la

desembocadura con el Lago de Amatitlán, en cuenca media y cuenca alta río. El muestreo se realizó en agosto de 2021.

Las muestras se almacenaron en una hielera a 4°C con hielo como medio conservante y se trasladaron al laboratorio, para ser procesadas.

b. Preparación de medios de cultivo

Se disolvieron 26.4g de agar Chromocult coliforme en 1000mL de agua destilada. Se calentó en agua a ebullición y se agitó con frecuencia hasta que se disolvió por completo. Se dejó enfriar a 45-50°C. Se realizaron medios de cultivo con antibiótico y sin antibiótico. Para los medios sin antibiótico después se dejó verter en cajas Petri estériles. En los medios que se les agregó antibiótico, se añadió asépticamente Meropenem e Imipenem Cilastatina a 1mg / litro, se mezcló bien y luego se vertió en cajas de Petri estériles a una profundidad de 4 mm (aproximadamente 18 ml en una placa de 90 mm).

c. Inoculación y aislamiento de bacterias

Se utilizó el método de filtración por membrana. Se prepararon diluciones en serie de 10¹, 10², 10⁴ de cada muestra de agua recogida en agua estéril, se vertió a través de un filtro de membrana (0,22 µm tamaño de poro y 47 mm de diámetro). Luego se transfirió el filtro con las bacterias atrapadas a la superficie del agar Chromocult coliforme con y sin antibiótico.

Se dejó incubando las placas Petri inoculadas a 37° C durante 24 horas. Después de 24 horas de incubación si hubo un aislado crecido en cultivo, se consideró positivo, mientras que un aislado no crecido en el cultivo, se consideró negativo para la resistencia a la carbapenemasa.

d. Identificación de enterobacterias resistentes

Después del aislamiento primario de las enterobacterias, se minimizó el manejo en un sencillo inóculo estandarizado. Se utilizó el sistema VITEK2 BIOMERIEUX.

e. Análisis estadístico

Se llevaron a cabo pruebas de Mann-Whitney y prueba T para muestras no pareadas para cada variable, utilizando el programa estadístico Prism 9; comparando ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem para cada especie de enterobacteria aislada; cada antibiótico para todas las bacterias aisladas. Se utilizó un intervalo de confianza de 95% considerando valor $p < 0.05$ significativo.

V. MARCO OPERATIVO

A. Recolección y tratamiento de los datos

Se ejecutaron cuadros de resultados en los cuales indican qué enterobacterias son resistentes a los antibióticos evaluados (Meropenem e Imipenem). Asimismo, se incluyen la frecuencia de las enterobacterias aisladas según el lugar de obtención del Río Villalobos.

Se elaboró una comparación cualitativa y cuantitativa entre ambos antibióticos utilizados: Meropenem e Imipenem Cilastatina para determinar a cuál se detectó mayor resistencia. Se utilizaron gráficas para ilustrar esta diferencia. Asimismo, se presentaron cuadros y gráficas comparativas entre los sitios de muestreo.

El margen utilizado será de 0.05

El margen utilizado será de 0.05

Fórmula de de Mann-Whitney

$$U_1 = N_1N_2 + \frac{N_1(N_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = N_1N_2 + \frac{N_2(N_2 + 1)}{2} - R_2$$

Donde:

N_1 es el tamaño de muestra 1

N_2 es el tamaño de muestra 2

R_1 es la suma de rangos ajustada para la muestra 1

R_2 es la suma de rangos ajustada de la muestra 2

1. Correlación entre frecuencia de enterobacteria aislada y el punto de muestreo del Río Villalobos

- Ho- La frecuencia de *E. coli* resistente es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Hi- La frecuencia de *E. coli* resistente no es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Ho- La frecuencia de *K. pneumoniae* resistente es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Hi- La frecuencia de *K. pneumoniae* resistente no es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Ho- La frecuencia de *Enterobacter sp.* resistente es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Hi- La frecuencia de *Enterobacter sp.* resistente no es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Ho- La frecuencia de *coliformes* resistente es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos
- Hi- La frecuencia de *coliformes* resistente no es igual en todos los puntos de muestreo del Río Villalobos

2. Correlación entre frecuencia enterobacteria resistente a ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem.

- Ho- La frecuencia de *E. coli* resistente es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem
- Hi- La frecuencia de *E. coli* resistente no es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem
- Ho- La frecuencia de *K. pneumoniae* resistente es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem
- Hi- La frecuencia de *K. pneumoniae* resistente no es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem
- Ho- La frecuencia de *Enterobacter sp.* resistente es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem
- Hi- La frecuencia de *Enterobacter sp.* resistente no es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem

- Ho- La frecuencia de *coliformes* resistente es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem
- Hi- La frecuencia de *coliformes* resistente no es igual en ambos antibióticos: Meropenem e Imipenem

B. Recursos

1. Recursos humanos

Autora: Ana Gabriela Cabrera Jérez

Asesora: Dra. Dalia Lau Bonilla

Colaboradores: Dra. Brooke Ramay, Departamento de Química Farmacéutica, Departamento de Bioquímica y Microbiología de la Universidad del Valle de Guatemala, Polifarma y AMSA

2. Recursos materiales

- a. Cristalería y equipo de laboratorio
 - Gradillas
 - Balanza analítica
 - Tubos de ensayo de 1.5mL
 - Beaker de 250 mL
 - Beaker de 500 mL
 - Probeta de 250mL
 - Probeta de 500mL
 - Probeta de 25mL
 - Varilla de vidrio
 - Erlenmeyer de 500mL
 - Micropipeta de 10um
 - Micropipeta de 100um
 - Micropipeta de 1000m
 - Guantes
 - Estufa

- Autoclave
- Equipo de PCR
- Tubos para PCR
- Cajas Petri
- Refrigerador
- Incubadora
- Filtro de membrana 0.200um
- Hielera
- Celdas de muestreo

b. Reactivos

- Agar Chromocult para coliformes
- Agarosa
- Tampón TBE
- Marcador de ADN
- Buffer de carga de ADN
- Solución acuosa de bromuro de etidio
- Solución salina estéril (NaCl al 0,85%)
- Master mix para PCR
- Cebador Bla_{NDM-1}
- Cebador Bla_{KPC-2}
- Antibiótico Meropenem
- Antibiótico Imipenem Cilastatina

VI. RESULTADOS

Cuadro No. 2. Parámetros de medición climáticos en las tres cuencas del Río Villalobos

Parámetros	Baja	Media	Alta
Fecha	10/8/2021	10/8/2021	10/8/2021
Hora inicial	8:25 A.M.	11:40 A.M.	1:48 P.M.
Hora final	9:11 A.M.	12:15 P.M.	2:02 P.M.
Hora toma de muestra	8:45 A.M.	11:50 A.M.	1:54 P.M.
OD	4.07 ml/L	0.05 mL/L	N/A
% saturación	52.8%	0.7%	N/A
TDS	282 mg/L	47.4%	N/A
Conductividad eléctrica	563 mS/cm	827 mS/cm	N/A
pH	7.76	7.88	N/A
T	20.7°C	24.8°C	22.4°C
Ancho	14.87m	9.82m	N/A
Punto medio	0.45m	0.215m	N/A
Sensación térmica	21°C	27°C	23°C
Humedad	67%	57%	66%
Precipitación	0.0mm	0.7mm	0.0mm
Probabilidad lluvia	20%	18%	10%
Índice UV	4	Extremo	4
Viento	23km/h	20 km/h	29 KM/H
Observaciones	Mayormente nublado	Mayormente nublado	Mayormente nublado

Cuadro No. 3. Promedio de Colonias UFC en las cuencas del Río Villalobos en placas con Imipenem, Meropenem y sin antibiótico

Cuenca del Río Villalobos	Promedio de Colonias UFC sin antibiótico	Promedio de Colonias UFC en Imipenem Cilastatina	Promedio de Colonias UFC en Meropenem
Cuenca alta	43	41	45
Cuenca media	N/A	55	86
Cuenca baja	101	93	95

En el presente cuadro se observan el promedio de colonias UFC de bacterias obtenidas de las cuencas del Río Villalobos, en medios de cultivo conteniendo Imipenem Cilastatina y Meropenem y sin antibiótico. No se logró obtener datos para el promedio de colonias en medio sin antibiótico para la cuenca media.

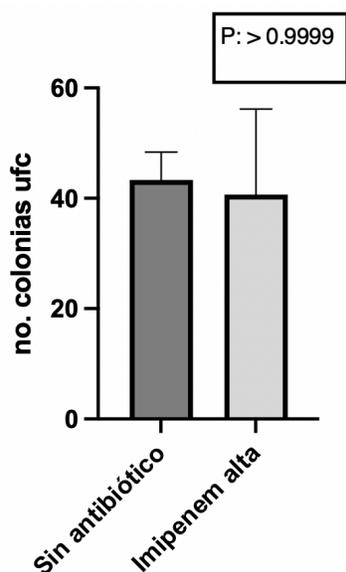


Figura No. 11. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca alta del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y control negativo (sin antibiótico)

Se percibe que el valor $p > 0.9999$ no es menor que 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas sin antibiótico y con Imipenem Cilastatina para la cuenca alta del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 43 UFC y 41 UFC respectivamente.

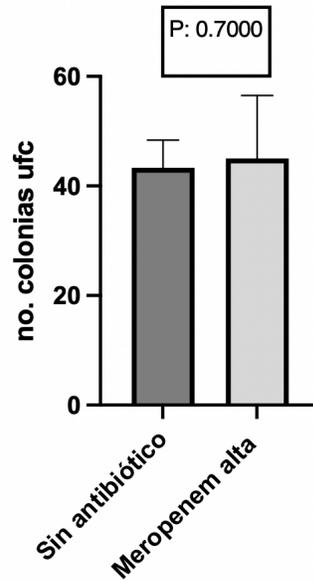


Figura No. 12. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca alta del Río Villalobos en placas con Meropenem y control negativo (sin antibiótico)

Se obtuvo el valor $p = 0.7000$ lo que muestra que no es menor que 0.05 , por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas sin antibiótico y con Meropenem para la cuenca alta del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 43 UFC y 45 UFC respectivamente.

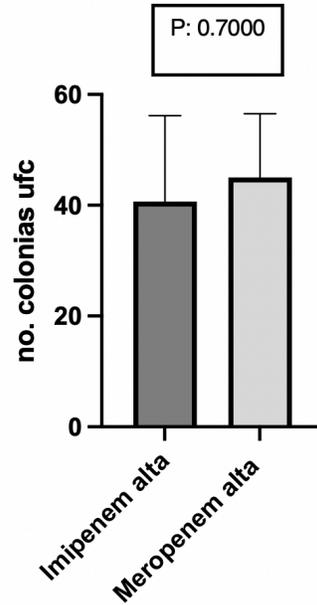


Figura No. 13. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca alta del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y Meropenem

Se determinó que el valor p 0.7000 no es menor que 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas con Imipenem y con Meropenem para la cuenca alta del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 41 UFC y 45 UFC respectivamente.

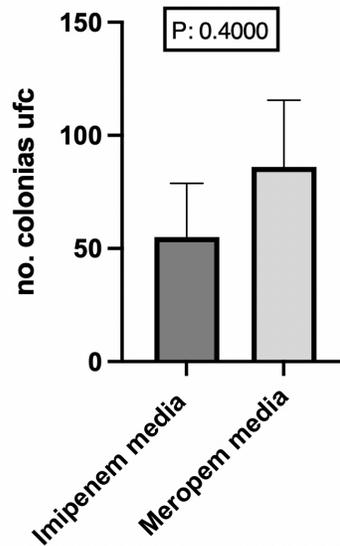


Figura No. 14. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca media del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y Meropenem

Se estableció que el valor p 0.4000 no es menor que 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas con Imipenem Cilastatina y con Meropenem con dilución para la cuenca media del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 55 UFC y 86 UFC respectivamente.

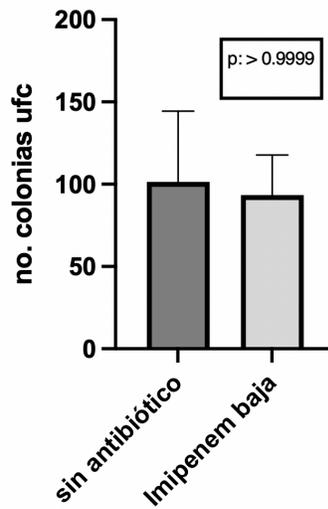


Figura No. 15. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca baja del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y control negativo (sin antibiótico)

Se estipuló que el valor $p > 0.9999$ no es menor que 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas sin antibiótico y con Imipenem Cilastatina para la cuenca baja del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 101 UFC y 93 UFC respectivamente.

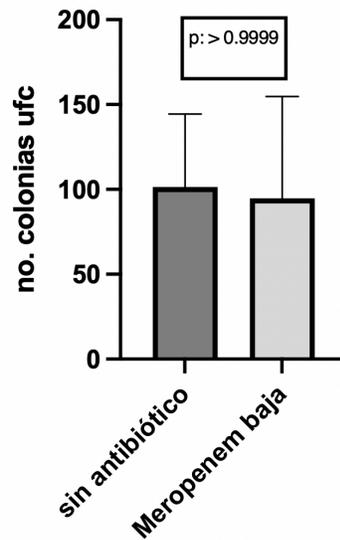


Figura No. 16. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca baja del Río Villalobos en placas con Meropenem y control negativo (sin antibiótico)

Se señaló que el valor $p > 0.9999$ no es menor que 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas sin antibiótico y con Meropenem para la cuenca baja del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 101 UFC y 95 UFC respectivamente.

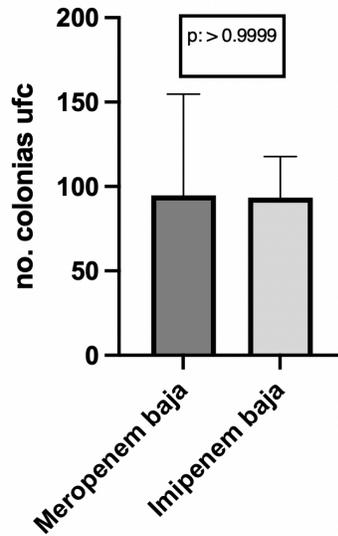


Figura No. 17. Comparación de conteo de colonias de muestras de agua provenientes de la Cuenca baja del Río Villalobos en placas con Imipenem Cilastatina y Meropenem

Se demostró que el valor $p > 0.9999$ no es menor que 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias en las placas con Imipenem Cilastatina y con Meropenem con dilución para la cuenca baja del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 93 UFC y 95 UFC respectivamente.

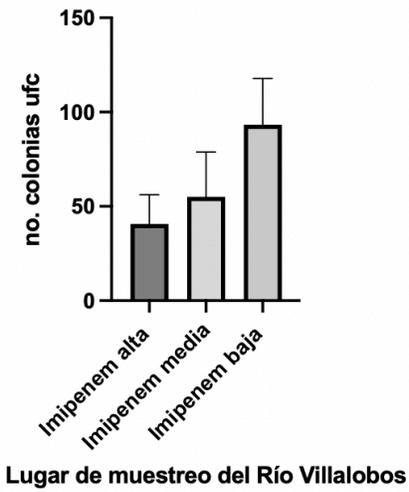


Figura No. 18. Comparación de conteo de colonias resistentes a Imipenem Cilastatina provenientes de la Cuenca alta, media y baja del Río Villalobos

Se obtuvo un valor $p = 0.9999$ en la comparación de colonias entre la cuenca alta y media y debido a que no es menor que 0.05 , no hay diferencia significativa entre el crecimiento de enterobacterias entre las cuencas, sin embargo sí existe una diferencia entre Imipenem Cilastatina y con Meropenem con dilución para la cuenca baja del Río Villalobos. Ambos mostraron un crecimiento bacteriano muy similar, obteniendo un promedio de 93 UFC y 95 UFC respectivamente.

Cuadro No. 4. Identificación de bacterias resistentes a Imipenem y/o Meropenem aisladas de las cuencas alta, media y baja del Río Villalobos

Código de identificación	Bacteria	Crecimeinto en agar Meropenem	Crecimeinto en agar Imipenem	Resistencia	Lugar de aislamiento	Resistencia a otros antibióticos
G1	<i>Proteus mirabilis</i>		x	Intermedio	Cuenca baja	Sensible
G2	<i>Stenotrophomas maltophila</i>	x		Sí	Cuenca media	Sensible
G3	<i>Providencia rettgeri</i>		x	No	Cuenca media	ampicilina y tigeclina
G4	<i>Proteus mirabilis</i>		x	Intermedio	Cuenca baja	ciprofloxacino y trimetropim/sulfa
G5	<i>Chromobacterium violaceum</i>		x		Cuenca alta	N/A
G6	<i>Chromobacterium violaceum</i>	x			Cuenca alta	N/A
G7	<i>Stenotrophomas maltophila</i>	x			Cuenca media	Sensible
G8	<i>Pantoea dispersa</i>	x		Sí	Cuenca alta	N/A
G9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	x		Sí	Cuenca media	piperacilina/Tazo, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, ertapenem, Imipenem, ciprofloxacino levofloxacina y trimetropim/sulfa

Código de identificación	Bacteria	Crecimiento en agar Meropenem	Crecimiento en agar Imipenem	Resistencia	Lugar de aislamiento	Resistencia a otros antibióticos
G9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		x	Sí	Cuenca baja	piperacilina/ Tazo, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, ertapenem, Imipenem, ciprofloxacina levofloxacina y trimetopim/ sulfa
G10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	x	x	Sensible	Cuenca alta	Sensible
G10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	x		Sensible	Cuenca alta	Sensible
G11	<i>Yersenia frederiksenii</i>		x	Sensible	Cuenca media	Resistente a ampicilina, ciprofloxacina y levofloxacina
G12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	x		Resistente sí	Cuenca media	piperacilina/ Tazo, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, ertapenem, Imipenem, ciprofloxacina y levofloxacina

Código de identificación	Bacteria	Crecimeinto en agar Meropenem	Crecimeinto en agar Imipenem	Resistencia	Lugar de aislamiento	Resistencia a otros antibióticos
G12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	x		Resistente sí	Cuenca baja	piperacilina/ Tazo, cefotitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, ertapenem, Imipenem, ciprofloxacina y levofloxacina
G13	<i>Acinobacter Iwoffii</i>	x		No	Cuenca baja	N/A
G14	<i>Pantoea spp</i>		x	Resistente	Cuenca media	N/A
G14	<i>Pantoea spp</i>		x	Resistente	Cuenca baja	N/A

En el presente cuadro se observan las especies de bacterias identificadas por medio del sistema VITEK2 BIOMERIEUX y aisladas obtenidas de las cuencas del Río Villalobos, en medios de cultivo impregnados Imipenem Cilastatina y Meropenem. Los resultados de resistencia son de acuerdo al sistema VITEK 2 y a los antibióticos: Imipenem y Meropenem.

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis bacteriológico del agua de los ríos se utilizan para evaluar su calidad para el consumo humano, fines recreativos o actividades agrícolas. La mayoría de las fuentes de agua de los ríos de Guatemala, albergan patógenos, lo cual muestra que existe una mala calidad microbiológica del agua, por lo tanto, no es segura para el consumo humano ni como recurso para crecimientos de plantaciones ni de animales.

La presencia de patógenos bacterianos en las fuentes de agua puede significar riesgos para la salud, como enfermedades diarreicas, que representan un grado sustancial de morbilidad y mortalidad en adultos y niños. La alta tasa de aislamiento bacteriano de los ríos impide el uso doméstico directo y también puede ser problemático para fines de floculación y filtración, con el consiguiente aumento del costo del tratamiento del agua.

En este estudio, se identificaron los bacilos Gram-negativos y los patrones de susceptibilidad a los carbapenémicos: Imipenem y Meropenem, de las tres cuencas de agua del Río Villalobos, con el fin de establecer la presencia de enterobacterias resistentes a estos antibióticos, demostrar la importancia del mal uso y abuso de antibióticos y proporcionar datos actualizados sobre resistencia antimicrobiana de enterobacterias, con el fin de contribuir al mejor manejo en el país.

El 31.57% de las bacterias identificadas fueron de *Klebsiella pneumoniae* seguidamente del género *Pantoea* con 15.78%. *Chromobacterium violaceum*, *Proteus mirabilis* y *Stenotrophomas maltophila* tuvieron 10.53% de frecuencia y *Yersenia frederiksenii*, *Acinobacter Iwoffii* y *Providencia rettgeri* un 5.26% de frecuencia.

De las bacterias identificadas como *Klebsiella pneumoniae*, el 33.3% se aislaron de la cuenca alta, 33.3% de la cuenca media y 33.3% de la cuenca baja. Sin embargo, las pertenecientes de la cuenca alta fueron catalogadas como sensibles, mientras que las aisladas de la cuenca media y baja como resistentes de acuerdo al sistema VITEK2. Se mostraron que

K. pneumoniae proveniente de la cuenca media mostró resistencia a Meropenem y las provenientes de la cuenca baja a ambos antibióticos: Imipenem y Meropenem específicamente. De acuerdo al sistema VITEK2, *K. pneumoniae* aisladas de la cuenca media y baja son bacterias multirresistentes ya que presentan resistencia a otros antibióticos como Piperacilina/Tazo, Cefoxitina, Ceftazidima, Ceftriaxona, Cefepima, Ertapenem, Ciprofloxacina y Levofloxacina.

Según este comportamiento de identificación y resistencia, se observa que aún no hay factores de resistencia antimicrobiana múltiple para este patógeno en la cuenca alta del Río Villalobos.

El segundo patógeno más frecuente mostrando un 33.3% de frecuencia en cada cuenca del Río Villalobos fue el género *Pantoea*. Los aislamientos de la cuenca alta fueron resistentes a Meropenem, mientras que los de la cuenca media y baja a Imipenem.

A pesar de que se obtuvo crecimiento de las bacterias en los medios con antibióticos, en el sistema VITEK2 se obtuvo el resultado de resistencia aceptada. El crecimiento de las bacterias en los medios con Imipenem y Meropenem, fue afectado por una mal manipulación de los antibióticos en el laboratorio. Debido a que hacer los medios con los antibióticos lleva una serie de pasos específicos y de cuidado con temperaturas, pudo que no se haya realizado de la forma correcta, dejando así los medios sin la dosis de antibiótico adecuada o incluso, no haberlos colocado correctamente. Se alcanzaría una confirmación de si las bacterias son realmente resistentes haciendo tests de carbapenemas específicamente o método de inactivación de carbapenemas modificado (mCIM).

La razón de la resistencia a los β -lactámicos aislados se debe a la producción de β -lactamasa, que está hereditariamente localizada en el cromosoma o en un plásmido o bien, por falta de receptores de proteínas en la pared celular y alteración en su permeabilidad a los antibióticos β -lactámicos y la prevención de la toma de antibióticos al bloquear el poros de la membrana externa. Tanto *Pantoea spp* como *Chromobacterium violaceum* y *Stenotrophomas maltophilia* tienen la capacidad de producir la enzima β -lactamasa que le ha

dado a la bacteria alta resistencia a varios antibióticos β -lactámicos. (AbdAlhussen & Darweesh, 2016).

Chromobacterium violaceum solo fue encontrada en la cuenca alta del Río Villalobos. *Chromobacterium violaceum* es un bacilo Gramnegativo que se encuentra tanto en el suelo como en aguas dulces que se encuentra en regiones tropicales y subtropicales. La infección humana no es común; por lo tanto, su presencia como agente causal generalmente no se toma en cuenta en la práctica clínica. A menos de que la muestra de la que se aísla provenga de un tipo de muestra estéril, como sangre, líquido cefalorraquídeo o biopsia. Es por esto que se debe tener cuidado especial para tratar a los pacientes que presenten síntomas dados por este microorganismo. Este muestra una alta tasa de susceptibilidad a varias clases de antibióticos como aminoglucósidos, quinolonas y a los carbapenémicos (Alisjahbana et al., 2021).

Es importante mencionar que Imipenem, por su mecanismo de acción es más activo contra bacilos Gram-positivo, mientras que Meropenem es más activo contra bacilos Gram-negativo. Ambos tienen una farmacocinética similar, pero en particular, tienen afinidad diferente a cada patógeno. En enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae* y del género *Proteus*, Meropenem demuestra una alta afinidad por PBP3, la cual no se encuentra con Imipenem, por lo que el desarrollo de los mecanismos resistencia a Imipenem.

Ambos carbapenémicos son altamente resistentes a la hidrólisis por la mayoría de las betalactamasas, clínicamente importantes, medidas por plásmidos o cromosomas como *E. coli*, especies de *Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, especies de *Proteus*, *Serratia marcescens*, especies de *Klebsiella*, *P. aeruginosa* y *Bacteroides fragilis*. Es importante este tipo de estudios ya que permite tener el control temprano de la fuente y la pronta provisión del régimen antibiótico apropiado. La receta de antibióticos debe ser guiada por los resultados de las pruebas de cultivo y susceptibilidad.

Las especies *Acinobacter iwoffii*, *Yersenia frederiksenii* y *Providencia rettgeri* no presentaron resistencia a los antibióticos estudiados según el de identificación con el sistema

VITEK el cual muestra la sensibilidad antimicrobiana con diluciones estandarizadas con los antibióticos específicos según el punto de corte que se requiere. Sin embargo, todas las especies identificadas fueron inoculadas en agar Chromocult preparados previamente con Imipenem o Meropenem. Esto puede dar una pauta en la cual muestra que el procedimiento de añadir el antibiótico no fue correcta ya que se colocó cuando el medio de cultivo no había llegado a la temperatura óptima. Es por esto que se debería de realizar otras pruebas de susceptibilidad como lo son por halo de inhibición de Kirby Bauer o con antibiogramas específicos. Asimismo, pruebas específicas para detección de carbapenemasas: prueba modificada de Hodge, método de inactivación carbapenems o mCIM y CARBA NP test.

Las bacterias coliformes se definen como bacilos anaerobios facultativos, Gram-negativo, que no forman esporas y que fermentan vigorosamente la lactosa hasta convertirla en ácido y gas a 35 ± 2 °C en 24 o 48 h. Las bacterias coliformes generalmente pertenecen a cuatro géneros de Enterobacteriaceae: *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Algunas bacterias coliformes están asociadas con los intestinos de animales de sangre caliente (llamados coliformes fecales), mientras que otras están relacionadas con material vegetal. Las bacterias coliformes se consideran microorganismos indicadores porque su presencia en los alimentos indica que las circunstancias son adecuadas para la presencia de patógenos entéricos y pueden significar condiciones sanitarias insuficientes. Esto aumenta el riesgo de contaminación por bacterias en los alimentos. Se abordaron los géneros *Klebsiella* y *Pantoea*, en los cuales sí se presentó resistencia a los carbapenémicos.

No se lograron identificar enterobacterias esperadas como como *E. coli*, *Enterobacter* u otras especies las cuales se creían muy probables de encontrar en el río. Esto se debe a que no se aislaron todos los tipos de bacterias de las muestras sembradas con anterioridad ya que al momento de filtrar las muestras del río e inocular en los medios, hubo bastante crecimiento bacteriano. Sin embargo, debido a que la metodología utilizada involucraba el aislamiento en los medios impregnados con los antibióticos de estudio, nos indica que estas especies no son resistentes a meropenem e imipenem, sin embargo, el cambio en la resistencia de los

patógenos es bastante rápido, por lo que se debería de hacer un reanálisis con las condiciones climáticas ideales para afirmar que estas especies no son resistentes aún ya que en estudios anteriores de microbiología en el Río Villalobos mencionan presencia de estas especies, mas no resistencia a los carbapenémicos. Cabe mencionar que las cepas seleccionadas para identificación fueron las obtenidas en los medios con antibióticos. *E. coli* al no exhibir resistencia a los antibióticos, no fue seleccionada para la identificación posterior.

Según pruebas estadísticas (Mann Whitney Wilcoxon) no hay diferencia significativa entre el número de colonias en todas las variables. Esto indica que el nivel de bacterias resistentes es alto por lo que las bacterias aisladas del río son resistentes indicando que no hay diferencia significativa en el medio sin antibiótico y con antibióticos. Asimismo, a pesar de que en la cuenca alta del río se estipula que hay menos crecimiento bacteriano, estadísticamente no hay diferencia significativa en el crecimiento del número de colonias formadoras resistentes comparándolo con la cuenca media y baja. Sin embargo, sí determina que conforme se va evaluando las cuencas, en la baja sí se observó mayor número de colonias.

Cabe mencionar que la cuenca baja es un punto antes de llegar al lago de Amatitlán en donde todos los desechos desembocan y se encuentran mayor número de contaminantes. De igual forma, se vienen arrastrando los contaminantes del río Pinula y el Frutal, que intersecan en la cuenca media del Río Villalobos, lo cual explica la cantidad, no significativa, pero visual del mayor número de colonias.

Por otro lado, se sabe que en Villacanales se encuentran muchas industrias farmacéuticas, textiles, alimenticias entre otros tipos de manufactureras que cuentan con alta cantidad de contaminantes, y a pesar de que se debe tener regulaciones ambientales.

Es importante tomar en cuenta estos contaminantes ya que al observar en los mapas de ubicación de las áreas de muestreo, (ver figuras 22,24,27) se pueden identificar distintas industrias las cuales tienen residuos importantes como detergentes y otros fármacos que ayudan a tener modificaciones en la membrana celular de las enterobacterias dando una mutación genética y permitiendo los cambios estructurales de las mismas, influyendo a la

falta de eficacia de los carbapenémicos como tratamiento para combatir a las enterobacterias. (Rong, Sun, Li, & Zhang, 2022).

No existe diferencia significativa entre el crecimiento bacteriano en las placas de Imipenem y Meropenem en ninguna de las cuencas del Río de donde se obtuvieron las muestras. Esto indica que la resistencia por parte de las coliformes y enterobacterias es para ambos antibióticos estudiados. Sin embargo, siempre se puede considerar que hubo un menor crecimiento para ambos antibióticos en la cuenca Alta del río Villalobos.

Teniendo en cuenta las especies aisladas del río, la prevalencia de cepas de enterobacterias y fermentadoras productoras de carbapenemasas es alta en el medio ambiente, se recomienda seguir el trabajo de investigación con la caracterización de los genes de resistencia de estas bacterias, identificándolos y así poder tener un mejor detalle de la resistencia que se presenta en el Río Villalobos.

VIII. CONCLUSIONES

1. La enterobacteria que se encontró con mayor frecuencia en todos los puntos de muestreo fue *Klebsiella pneumoniae* con el 31.57%, presentando resistencia a ambos antibióticos, pero con mayor índice a Imipenem.
2. El punto de muestreo con mayor aislamiento de bacterias resistentes fue la cuenca baja del Río Villalobos, obteniendo un mayor número de bacterias aisladas e identificadas. Asimismo, la cuenca alta fue el punto que obtuvo menor aislamientos de bacterias resistentes y la cuenca media y baja obtuvieron más, sin embargo, ningún punto de muestreo tuvo diferencias estadísticas significativas, por lo que los tres puntos tienen bacterias resistentes a los carbapenémicos
3. No existe diferencia significativa entre el crecimiento bacteriano en las placas de Imipenem y Meropenem en ninguna de las cuencas del Río de donde se obtuvieron las muestras. Esto indica que la resistencia por parte de las coliformes, enterobacterias y bacterias fermentadoras es para ambos antibióticos estudiados. Sin embargo, siempre se puede considerar que hubo un menor crecimiento para ambos antibióticos en la cuenca Alta del Río Villalobos.
4. No hay diferencia significativa entre el número de colonias en todas las variables. Esto indica que el nivel de bacterias resistentes es alto por lo que las bacterias aisladas del río son resistentes indicando que no hay diferencia significativa en el medio sin antibiótico y con antibióticos.
5. No se lograron identificar enterobacterias esperadas como como *E. coli*, *Enterobacter* u otras especies las cuales se creían muy probables de encontrar en el río, indicando que no muestran resistencia a los antibióticos de interés.

6. Las aguas del del Río Villalobos son fuente de diseminación de bacterias Gram-negativo resistentes a Imipenem y Meropenem, caracterizando un problema de salud pública, por lo que no deben ser utilizadas para consumo individual, alimenticio ni industrial sin haber sido tratadas previamente.

IX. RECOMENDACIONES

1. Seguir la caracterización de los genes de resistencia de bacterias aisladas, identificándolos y así tener un mejor detalle de la resistencia antibiótica que se presenta en el Río Villalobos.
2. Este estudio presenta la primera evidencia de bacterias resistentes a carbapenémicos que circulan en fuentes de agua dulce y no en un ambiente clínico. Esta situación representa un serio problema de salud pública. Es necesario fortalecer las estrategias de vigilancia, prevención y control a nivel hospitalario, para evitar la diseminación de enterobacterias portadoras de genes de resistentes a carbapenémicos, de lo contrario, en un futuro probablemente no contaremos con opciones terapéuticas viables, asumiendo el riesgo de incrementar la morbilidad y mortalidad de los pacientes.
3. Realizar pruebas de susceptibilidad con Imipenem y Meropenem mediante método de disco de difusión para poder obtener concentraciones mínimas inhibitorias y poder tener puntos de comparación cuantificables de las bacterias identificadas en cada punto del río. Es por esto que se debería de realizar otras pruebas de susceptibilidad como lo son por halo de inhibición de Kirby Bauer o con antibiogramas específicos. Asimismo, pruebas específicas para detección de carbapenemasas: prueba modificada de Hodge, método de inactivación carbapenems o mCIM y CARBA NP test.
4. Muestrear e identificar especies de bacterias importantes como *E. coli* y del género *Enterobacter* y caracterizar los genes resistentes para poder tener una mejor visión de las enterobacterias resistentes comunes en aguas del río y en otros ambientes importantes que son una amenaza para la salud pública.

5. Ejecutar muestreos periódicos y evaluación de enterobacterias en el Río Villalobos en los puntos de estudio: cuenca media y baja del río; por parte de las autoridades del control y manejos sostenible del lago de Amatitlán

6. Sensibilizar a personal de salud y entidades competentes sobre la responsabilidad que lleva el uso de antibióticos y su correcto manejo de administración en pacientes y su respectivo desecho.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. AbdAlhussen, L. S., & Darweesh, M. F. (2016). *Prevalance and antibiotic susceptibility patterns of Pantoea spp. isolated form clinical and environmental sources in Iraq*. Int J Chem Tech Res, 9, 430-7.
2. Agarwal, S., Yewale, V. N., & Dharmapalan, D. (2015). *Antibiotics use and misuse in children: a knowledge, attitude and practice survey of parents in India*. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR, 9(11), SC21.
3. Aldana, A., (2017). *Análisis de la situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por agua y alimentos en GUATEMALA 2016*. Departamento de Epidemiología. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Obtenido a partir de <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/Publicaciones%202017/ETAS/AN%C3%81LISIS%20DE%20LA%20SITUACI%C3%93N%20EPIDEMIOLOGICA%20DE%20LAS%20ETAS%202016.pdf>
4. Alisjahbana, B., Debora, J., Susandi, E., & Darmawan, G. (2021). *Chromobacterium violaceum: A Review of an Unexpected Scourge*. International journal of general medicine, 14, 3259–3270. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S272193>
5. Anthony A, A., Adekunle C, F., & Thor A, S. (2018). *Residual antibiotics, antibiotic resistant superbugs and antibiotic resistance genes in surface water catchments: public health impact*. PCE, 105, 177-183.
6. Antimicrobial agents and chemotherapy, 54(3), 969-976.
7. Arguello, B., (2019). *ANTIBIÓTICOS: Más del 50% son utilizados de manera inadecuada*. Dirección General de Investigación, Universidad San Carlos de Guatemala.

8. Alisjahbana, B., Debora, J., Susandi, E., & Darmawan, G. (2021). *Chromobacterium violaceum: A Review of an Unexpected Scourge*. *International journal of general medicine*, *14*, 3259–3270. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S272193>
9. Balloux, F., & van Dorp, L. (2017). Q&A: *What are pathogens, and what have they done to and for us?*. *BMC biology*, *15*(1), 91. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0433-z>
10. Basak, S., Singh, P., & Rajurkar, M. (2016). *Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study*. *Journal of Pathogens*, 2016, 1–5. doi:10.1155/2016/4065603
11. Bu, Q., Wang, B., Huang, J., Liu, K., Deng, S., Wang, Y., & Yu, G. (2016). *Estimating the use of antibiotics for humans across China*. *Chemosphere*, *144*, 1384-1390.
12. Bush, K. F. (2010). *Epidemiological Expansion Structural Studies, and Clinical Challenges of New β -Lactamases from Gram-Negative Bacteria*. *Annu. Rev. Microbiol.* *65*, 455-469
13. Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). *Updated functional classification of β -lactamases*.
14. Cabral, J. P. (2010). *Water microbiology. Bacterial pathogens and water*. *International journal of environmental research and public health*, *7*(10), 3657-3703.
15. Carías, E. I. G., Acevedo, L. V., & Porta, T. V. (2020). *Caracterización de carbapenemasas en enterobacterias de muestras de pacientes que acudieron al Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala durante 2014 y 2015*. *Revista Científica*, *29*(2).
16. Carroll, K. C., Butel, J., & Morse, S. (2015). *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 27 E* (pp. 212-20). McGraw Hill Professional.
17. Carroll, K. C., Butel, J., & Morse, S. (2015). *Jawetz Melnick and Adelbergs*

Medical Microbiology 27 E. McGraw-Hill Education.

18. Castanheira, M., Davis, A. P., Mendes, R. E., Serio, A. W., Krause, K. M., & Flamm,
19. CDC threat report 2013; *ECDC Europa antimicrobial resistance europe 2014.*
20. Cercenado, E. (2015). *Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio.* Rev Esp Quimioter, 28(1), 8-11.
21. Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M., & Hanage, W. P. (2015). *Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be?* Evolutionary applications, 8(3), 240-247.
22. Codjoe, F. S., & Donkor, E. S. (2018). *Carbapenem resistance: a review.* Medical Sciences, 6(1), 1.
23. Codjoe, F., & Donkor, E. (2018). *Carbapenem resistance: a review.* Medical Sciences, 6(1), 1.
24. Corp, M. S. (13 de mayo de 2019). *ZERBAXA, manual de usuario.* Obtenido de <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2013.pdf>.
25. *Dirección General de Investigación.* Universidad de San Carlos de Guatemala. Obtenido a partir de <http://investigacionparatodos.usac.edu.gt/art%C3%ADculos-principales/item/51-control-antibioticos>
26. Dorian Rafael Minera Castro (2016). *Cuantificación físico-química de la calidad del agua del río Molino, afluente del lago de Amatitlán, Mixco, Guatemala.* Universidad San Carlos de Guatemala
27. Epanand, R. M., Walker, C., Epanand, R. F., & Magarvey, N. A. (2016). *Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1858(5), 980-987.
28. Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). *Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives.* Int. J. Appl. Microbiol.

- Biotechnol. Res, 4, 90-101.
29. Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). *Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century*.
 30. Fuentes Martínez, J., (2017), *Identificación de la presencia de carbapenemasas y determinación de su tipo (A, B y D) en cepas de Acinetobacter baumannii y Pseudomonas aeruginosa multirresistentes a antibióticos aisladas en un hospital de tercer nivel Universidad Nacional Autónoma de México*. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
 31. Ghaieth, M. F., Elhag, S. R., Hussien, M. E., & Konozy, E. H. (2015). *Antibiotics self- medication among medical and nonmedical students at two prominent Universities in Benghazi City, Libya*. Journal of pharmacy & bioallied sciences, 7(2), 109.
 32. Gil Rodas de Castillo, N. E. (2008). *Interpretación quimiométrica de la calidad del agua de los ríos que conforman la microcuenca del Río Villalobos, principal tributario del Lago de Amatitlán, durante los años 1996 a 2006* (Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala).
 33. Hernández Sánchez, D., (2020). *Evaluación de la susceptibilidad de ceftolozane/tazobactam una cefalosporina de 5° generación en cepas de Enterobacterias multirresistentes (Klebsiella spp, Escherichia coli) y Pseudomonas aeruginosa*. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
 34. Iovleva, A., & Doi, Y. (2017). *Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae*. Clinics in Laboratory Medicine, 37(2), 303–315.
 35. Iredell, J., Brown, J., & Tagg, K. (2016). *Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications*. Bmj, 352, h6420.
 36. Jacoby, G. B. (2010). *Updated Functional Classification of β -Lactamases*. Antimicrob agents chemother, 969-976
 37. Joshi, M., & Deshpande, J. D. (2010). *Polymerase chain reaction: methods*,

- principles and application*. International Journal of Biomedical Research, 2(1), 81-97.
38. Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). *Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians*. Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology, 33(3), 300.
39. Katzung, B. G. (2017). *Basic and clinical pharmacology*. McGraw-Hill Education
40. Labarca, J. A., Salles, M. J. C., Seas, C., & Guzmán-Blanco, M. (2014). *Carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii in the nosocomial setting in Latin America*. Critical Reviews in Microbiology, 1–17.
41. Leavey-Roback, S. L., Krasner, S. W., & Suffet, I. M. H. (2016). *Veterinary antibiotics used in animal agriculture as NDMA precursors*. Chemosphere, 164, 330- 338.
42. Landers, T. F., Cohen, B., Wittum, T. E., & Larson, E. L. (2012). *A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential*. Public health reports, 127(1), 4-22.
43. Lin, J., Nishino, K., Roberts, M. C., Tolmasky, M., Aminov, R. I., & Zhang, L. (2015). *Mechanisms of antibiotic resistance*. Frontiers in microbiology, 6, 34.
44. Livermore, D. (2000). *Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics*. Scand J Infect Dis., 7-16
45. Martin, M. J., Thottathil, S. E., & Newman, T. B. (2015). *Antibiotics overuse in animal agriculture: a call to action for health care providers*.
46. Martinez-Martinez, L. (2007). *Association of ESBL with other resistance mechanisms*. Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica, 38-47.
47. Mo, W. Y., Chen, Z., Leung, H. M., & Leung, A. O. W. (2017). *Application of veterinary antibiotics in China's aquaculture industry and their potential human health risks*. Environmental Science and Pollution Research, 24(10), 8978-8989.

48. Morales, M., Díaz, S., Arbizú, E., Barrios, J., & Valenzuela, C. (2011). *Resistencia a los carbapenemes en Klebsiella pneumoniae: primeros aislamientos clínicos en Guatemala*. Revista del Colegio de Médicos y Cirujanos de Guatemala, 6(3), 21-24. Nature Reviews Microbiology, 12(1)
49. Navarro, F. (2010). *Interpretive reading of enterobacteria antibiograms*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 638-645.
50. Pasteran, F., Tijet, N., Melano, R. G., & Corso, A. (2015). *Simplified protocol for Carba NP test for enhanced detection of carbapenemase producers directly from bacterial cultures*. Journal of clinical microbiology, 53(12), 3908-3911.
51. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, PMC-S14459.
52. Petty, L. A., Henig, O., Patel, T. S., Pogue, J. M., & Kaye, K. S. (2018). *Overview of Meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*. Infection and drug resistance, 11, 1461.
53. Pierce, V. M., Simner, P. J., Lonsway, D. R., Roe-Carpenter, D. E., Johnson, J. K., Brasso, W. B., ... & Das, S. (2017). *Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among Enterobacteriaceae*. Journal of clinical microbiology, 55(8), 2321-2333.
54. Programa de control de calidad de ácidos nucleicos. (2020). *Banco Nacional de ADN Carlos III (Universidad de Salamanca)*. www.bancoadn.org
55. R. K. (2018). *In vitro activity of plazomicin against Gram-negative and Gram-positive isolates collected from US hospitals and comparative activities of aminoglycosides against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and isolates carrying carbapenemase genes*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 62(8), e00313-18
56. Romeu, B., Salazar, P., Navarro, A., Lugo, D., Hernández, U., Rojas, N., & Eslava, C. (2010). *Utilidad del sistema VITEK en la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de ecosistemas dulceacuícolas*. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, 41, 1-9.

57. Rong, F., Sun, Y., Li, X., & Zhang, C. (2022). *Drug Resistance Mechanism of Enterobacteriaceae with Decreased Antibiotic Sensitivity*. Applied Bionics and Biomechanics, 2022.
58. Schofield, C. (2015). *Antibiotics: Current innovations and future trends*. Edited by Sergio Sánchez and Arnold L. Demain. ChemMedChem, 10(5), 925-925.
59. Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., & Kamal, M. A. (2015). *Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment*. Saudi journal of biological sciences, 22(1), 90-101.
60. Siddiqui, R., & Khan, N. A. (2017). *Strategies to counter transmission of “superbugs” by targeting free-living amoebae*. Experimental Parasitology, 183, 133–136.
61. Spillman, T. R., Webster, T. C., Alas, H., Waite, L., & Buckalew, J. (2000). *Water resources assessment of Guatemala*. Doral: US Army Corp of Engineers, 1-50.
62. Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). *Antibióticos betalactámicos*. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 27(2), 116-129.
63. Sun, Q., Dyar, O. J., Zhao, L., Tomson, G., Nilsson, L. E., Grape, M., ... & Lundborg, C. S. (2015). *Overuse of antibiotics for the common cold—attitudes and behaviors among doctors in rural areas of Shandong Province, China*. BMC Pharmacology and Toxicology, 16(1), 6.
64. Tasho, R. P., & Cho, J. Y. (2016). *Veterinary antibiotics in animal waste, its distribution in soil and uptake by plants: a review*. Science of the Total Environment, 563, 366-376.
65. Tian, L., Zhu, X., Chen, Z., Liu, W., Li, S., Yu, W., ... & Sun, Z. (2016). *Characteristics of bacterial pathogens associated with acute diarrhea in children under 5 years of age: a hospital-based cross-sectional study*. BMC Infectious Diseases, 16(1), 1-8.
66. Toma, A., & Deyno, S. (2015). *Overview on mechanisms of antibacterial resistance*. IJRPB, 2(1), 27.

67. Uddin, B. M. M., Yusuf, M. A., & Ratan, Z. A. (2017). *A Review of Superbug: A Global Threat in Health Care System*. Bangladesh Journal of Infectious Diseases, 4(1), 25-28.
68. Van Duin, D., & Paterson, D. L. (2016). *Multidrug-Resistant Bacteria in the Community*. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(2), 377–390. doi:10.1016/j.idc.2016.02.004
69. van Duin, D., Kaye, K. S., Neuner, E. A., & Bonomo, R. A. (2013). *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a review of treatment and outcomes*. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 75(2), 115-120.
70. Velásquez Porta, T., & Lau Bonilla, D. (2016). *Detección de los genes de carbapenemasas blaKPC y blaNDM en aislamientos de Klebsiella pneumoniae del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala*. *Rev. cient.(Guatem.)*, 8-17.
71. Ventola, C. L. (2015). *The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats*. *Pharmacy and therapeutics*, 40(4), 277
72. Vira, H., Bhat, V., & Chavan, P. (2016). *Diagnostic molecular microbiology and its applications: Current and future perspectives*. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1(1), 20-31.
73. Watkins, R. R., & Bonomo, R. A. (2016). *Overview: global and local impact of antibiotic resistance*. *Infectious Disease Clinics*, 30(2), 313-322.
74. WHO (World Health Organization), (2017). *Guidelines for drinking-water quality, 4th edition incorporating 1st addendum*. WHO: Geneva, Switzerland.
75. Wilson, D. N. (2014). *Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance*.
76. World Health Organization. (2014). *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. World Health Organization.
77. Zhanel, G. G., Simor, A. E., Vercaigne, L., Mandell, L., & Canadian Carbapenem Discussion Group (1998). *Imipenem and Meropenem: Comparison of in vitro*

activity, pharmacokinetics, clinical trials and adverse effects. The Canadian journal of infectious diseases. Journal canadien des maladies infectieuses, 9(4), 215–228. <https://doi.org/10.1155/1998/831425>

XI. ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de Río Villalobos y su desembocadura en el Lago de Amatitlán



Figura No.19. Mapa de ubicación del Río Villalobos, otros ríos alternos y desembocadura en el Lago de Amatitlán

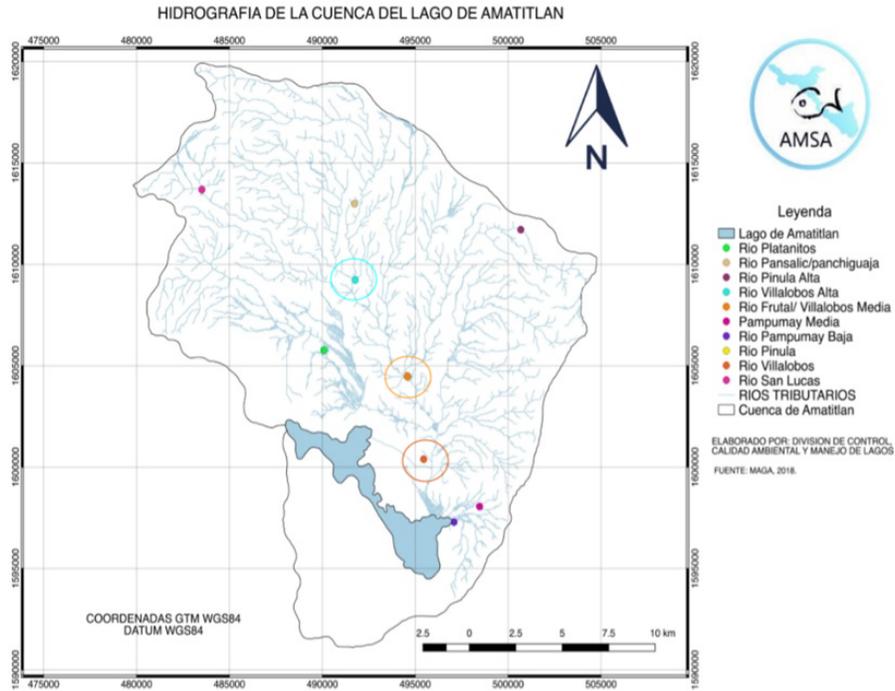


Figura No.20. Mapa hidrográfico de la cuenca del Lago de Amatitlán con los puntos de muestreo del Río Villaobos.

Anexo 2. Figuras y mapas de ubicación de puntos de muestreo en el Río Villalobos



Figura No. 21. Punto de muestreo en la cuenca baja del Río Villalobos, Villacanales.

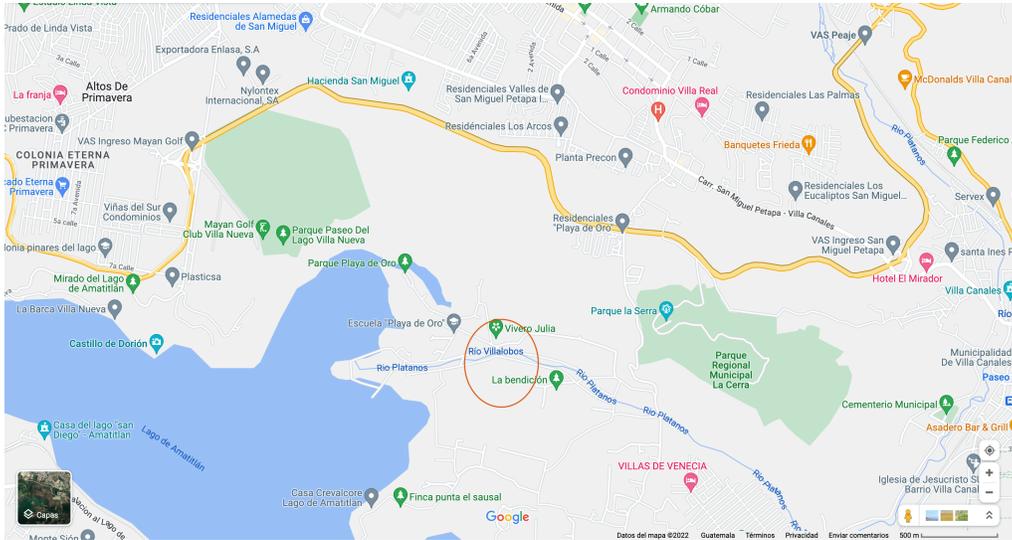


Figura No.22. Mapa de ubicación de la cuenca baja del Río Villalobos



Figura No. 23. Punto de muestreo en la cuenca media del Río Villalobos, San Miguel Petapa.

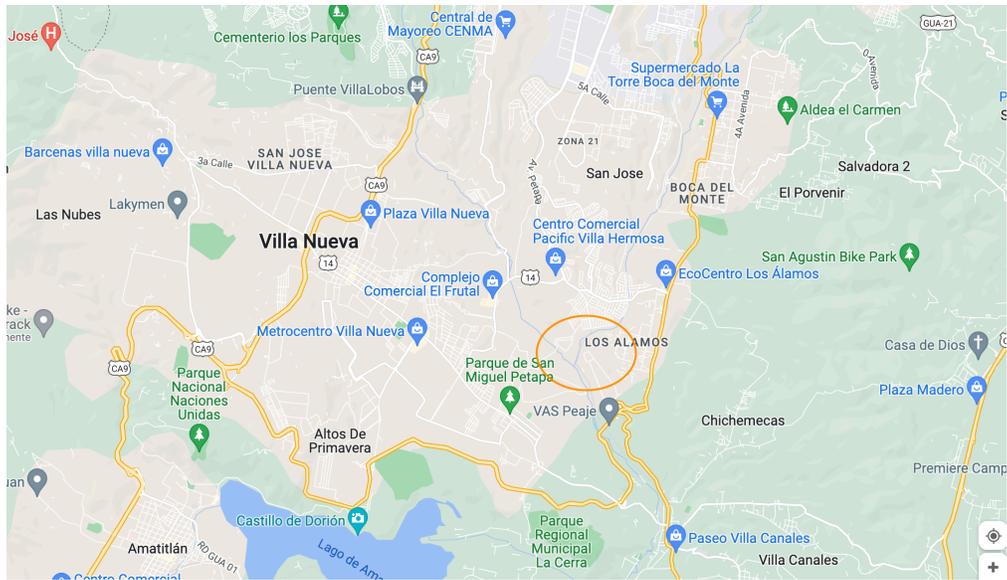


Figura No. 24. Mapa de ubicación de la cuenca media del Río Villalobos, Intersección del Río Pinula



Figura No. 25. Punto de intersección del Río Pinula con en la cuenca media del Río Villalobos, San Miguel Petapa.



Figura No. 26. Punto de muestreo en la cuenca alta del Río Villalobos, Ciudad de Guatemala.

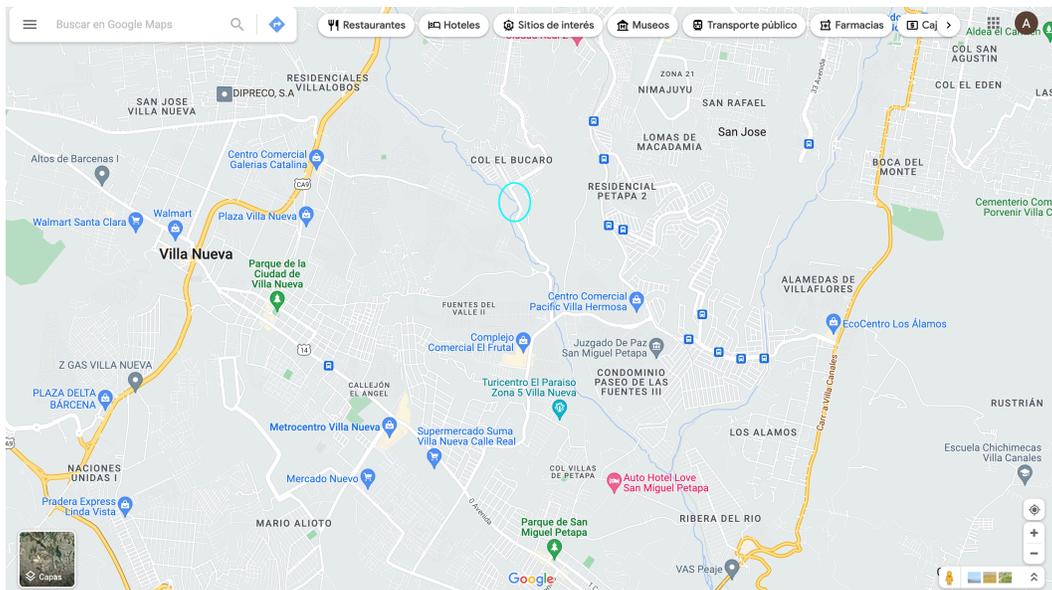


Figura No. 27. Mapa de ubicación de la cuenca alta del Río Villalobos

Anexo 3. Figuras de obtención de bacterias a partir de muestras de agua de de puntos de muestreo en el Río Villalobos

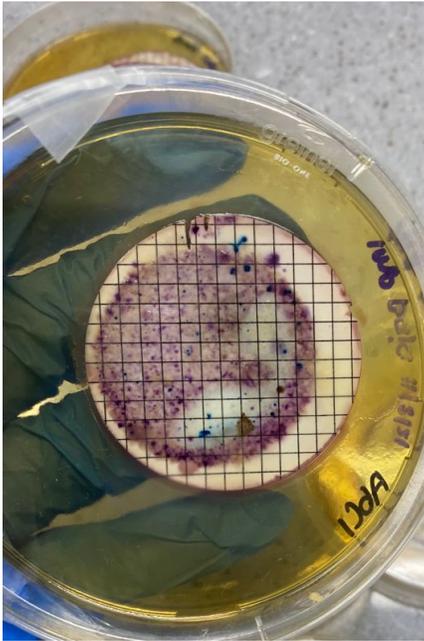


Figura No. 28. Muestra de parte baja en Imipenem

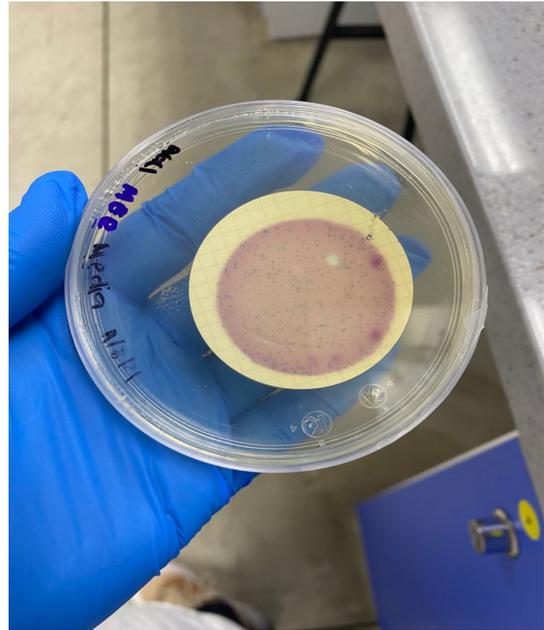


Figura No. 29. Muestra de parte media en Meropenem



Figura No. 30. Muestra de parte baja en Meropenem

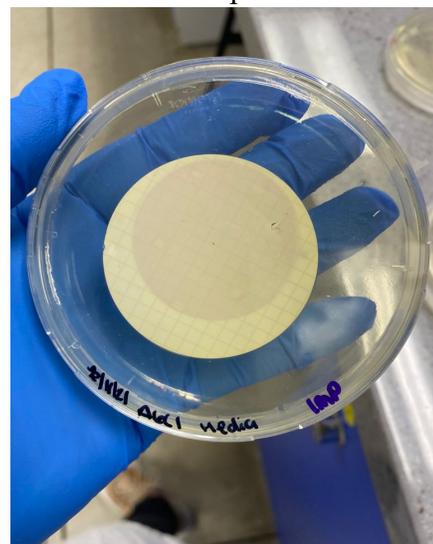


Figura No. 31. Muestra de parte media en Imipenem

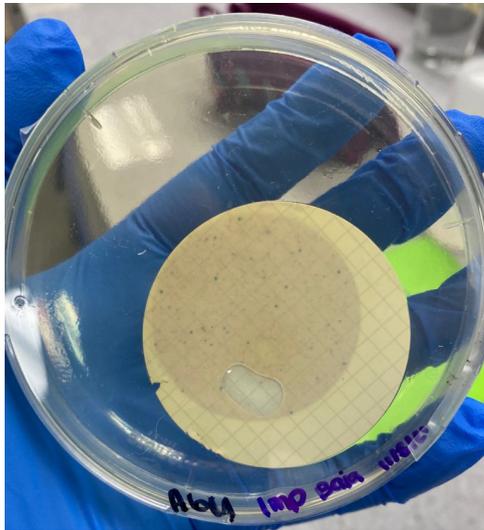


Figura No. 32. Muestra de parte baja en Imipenem

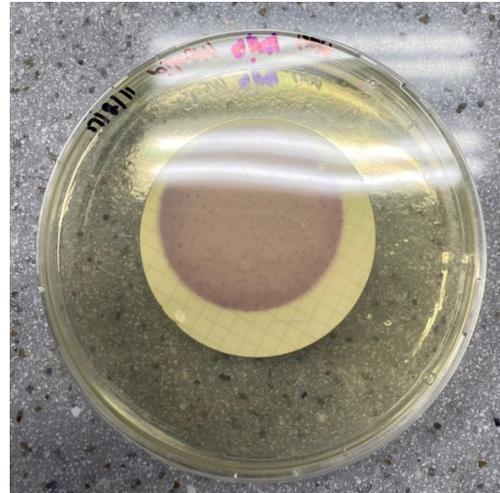


Figura No. 33. Muestra de parte media en Imipenem

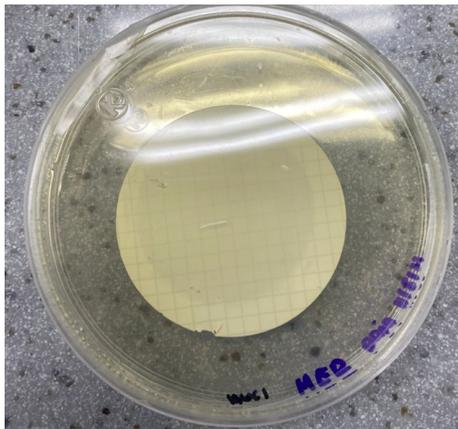


Figura No. 34. Muestra de parte baja en Meropenem

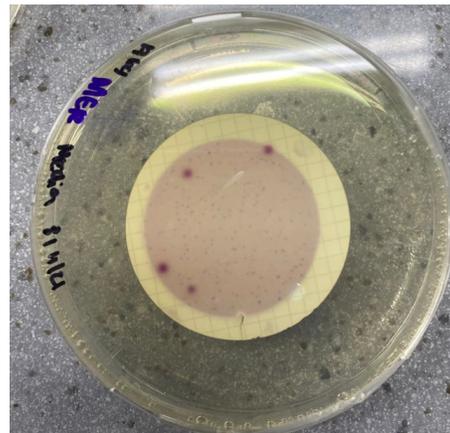


Figura No. 35. Muestra de parte media en Meropenem

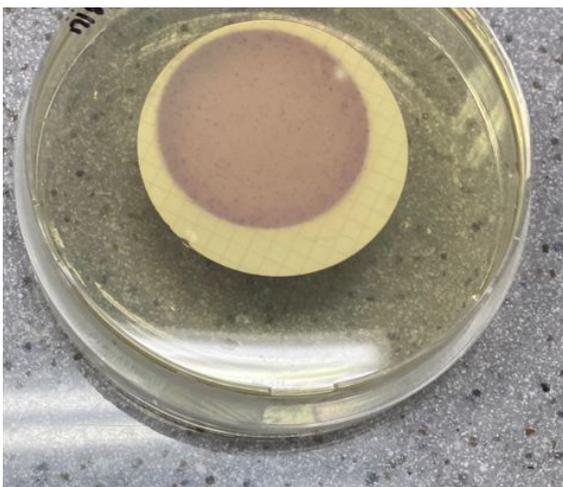


Figura No. 36. Muestra de parte baja en Meropenem



Figura No. 37. Muestra de parte alta en agar chromocult sin antibiótico



Figura No. 38. Muestra de parte baja en agar chromocult sin antibiótico

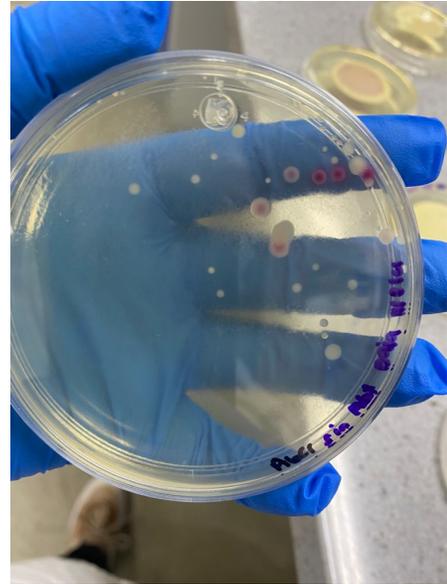


Figura No. 39. Muestra de parte baja en agar chromocult sin antibiótico



Figura No. 40. Muestra de parte baja en agar chromocult sin antibiótico

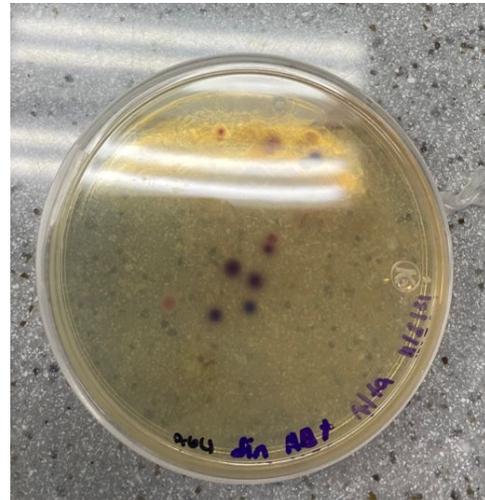


Figura No. 41. Muestra de parte alta en agar chromocult sin antibiótico

Anexo 4. Identificación de bacterias aisladas en cultivos cromocult con Imipenem y Meropenem obtenidas de las cuencas del Río Villalobos



Figura No. 42. *Proteus mirabilis* aislada de la cuenca baja del Río Villalobos en Imipenem



Figura No. 43. *Stenotrophomas maltophila* aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Meropenem

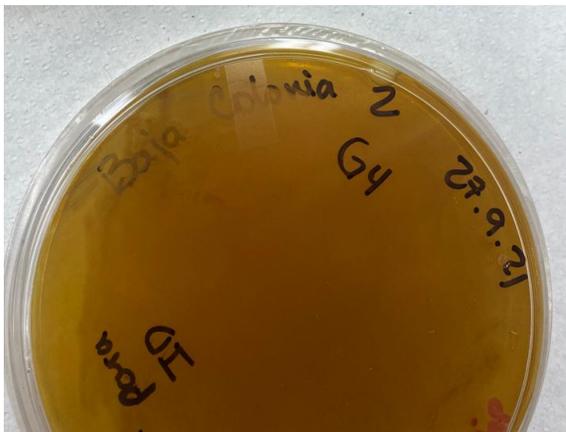


Figura No. 44. *Proteus mirabilis* aislada de la cuenca baja del Río Villalobos en Imipenem

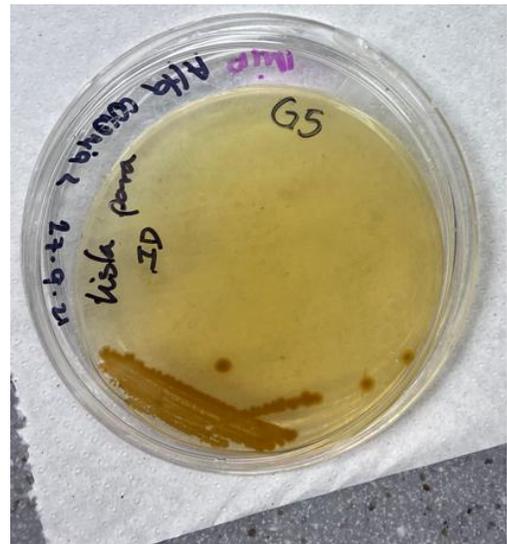


Figura No. 45. *Chromobacterium violaceum* aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Imipenem

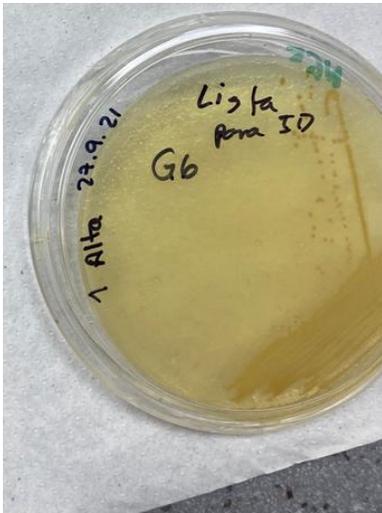


Figura No. 46. *Chromobacterium violaceum* aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Meropenem



Figura No. 47. *Stenotrophomonas maltophilia* aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Meropenem



Figura No. 48. *Pantoea dispersa* aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Meropenem

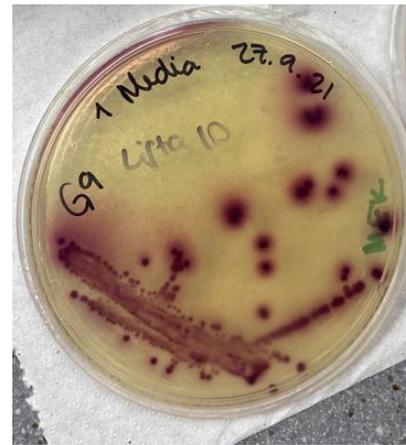


Figura No. 49. *Klebsiella pneumoniae* aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Meropenem

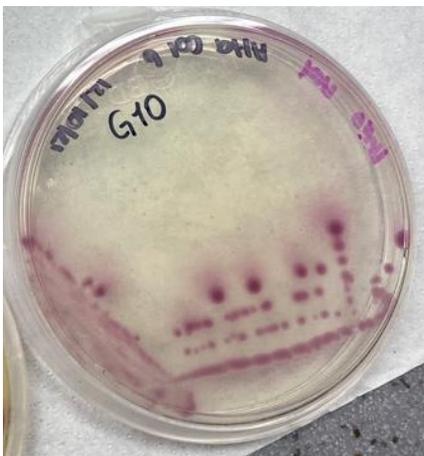


Figura No. 50. *Klebsiella pneumoniae* aislada de la cuenca alta del Río Villalobos en Imipenem



Figura No. 51. *Yersenia frederiksenii* aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Imipenem

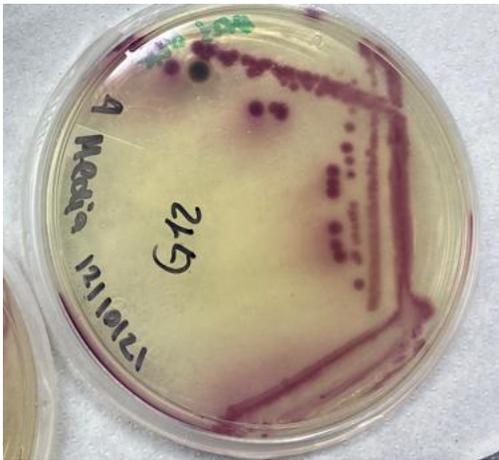


Figura No. 52. *Klebsiella pneumoniae* aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Meropenem



Figura No. 53. *Acinobacter Iwoffii* aislada de la cuenca baja del Río Villalobos en Meropenem



Figura No. 54. *Pantoea spp* aislada de la cuenca media del Río Villalobos en Imipenem

XII. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Antibiótico: sustancia producida por microorganismos o una sustancia similar -producida parcialmente o totalmente por síntesis química- que en bajas concentraciones inhibe el crecimiento de otros microorganismos (Russell, 2004). Medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas (OMS, 2020).

Bacterias: microorganismos procariotas unicelulares que pueden tener distintas formas: esféricas, alargadas o espirales. Existen bacterias dañinas, llamadas patogénicas, las cuales causan enfermedades; pero también existen bacterias no dañinas (Bettie J. Graham).

Bacterias Gram-negativo: tipo de bacterias que estructuralmente contienen tres capas en la pared celular: la membrana interna, una capa delgada de peptidoglicano, y una membrana externa que contiene lipopolisacárido. Son causantes de muchas infecciones como neumonía, del torrente sanguíneo y por heridas; además, tienen capacidades integradas para encontrar nuevas formas de ser resistentes y pueden transmitir su material genético lo cual permiten que otras bacterias también se vuelvan resistentes a los medicamentos. No retienen la tinción de violeta cristal durante la tinción de Gram (CDC, 2011).

Bacterias Gram-positivo: tipo de bacterias que estructuralmente contienen una capa gruesa de peptidoglicano con ácido teicoico incrustado externo a la membrana plasmática. Son causantes de muchas infecciones como infecciones de piel. Retienen la tinción cristal violeta durante la tinción de Gram, dando el color positivo para las pruebas (Parker, et al., 2018).

Bactericida: mecanismo de un agente específico que producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso (Salido, 2004).

Bacteriostáticos: mecanismo de un agente específico que provoca inhibición de la actividad celular bacteriana sin causar una muerte bacteriana directa el agente previene el crecimiento de bacterias (Loree & Lappin, 2020).

Betalactámicos: clase de antibióticos que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano al interferir con la síntesis de la pared celular de las bacterias. Son caracterizados por su estructura básica con un anillo de tiazolidina unido a un anillo β -lactama y un grupo amino secundario (RNH-) (Katzung, 2017).

Carbapenémicos: antibióticos de la clase de β -lactámicos considerados como los más potentes, por lo cual se utilizan en infecciones asociadas a la atención de la salud con pacientes más críticos. Los carbapenémicos tienen una actividad antibacteriana de amplio espectro ante Gram-positivo y Gram-negativo, incluyendo anaerobios. Se encuentran relacionados a los β -lactámicos por su estructura, ya que contienen un carbapenem acoplado a un anillo los β -lactámico (Katzung, 2017; Carroll, Butel, & Morse, 2015).

Cepas multirresistentes: microorganismos que son resistentes a una o más clases de antibióticos con posibilidad de causar brotes epidémicos y que son capaces de transmitir los mecanismos de resistencia (López-Pueyo, et al., 2011).

Enterobacterias: son un grupo de bacilos Gram-negativo, aerobios no formadores de esporas, pueden crecer como anaerobios facultativos, tienen la capacidad de reducir nitratos a nitritos, fermentar la glucosa a ácidos. La mayoría de estas bacterias son móviles con flagelos; tienen forma de bastón y conforman alrededor de 30 géneros y más de 130 especies, en donde se encuentran los géneros *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella* (Carroll, Butel, & Morse, 2015; Hernández-Sánchez, 2020).

Enterobacterias resistentes a carbapenémicos: grupo de bacterias que han desarrollado resistencia a todos los β -lactámicos, incluidos los carbapenémicos y muchas otras clases de fármacos (Parker, et al., 2018).

Genes resistentes: genes que codifican enzimas cuya actividad permite que la célula se defiende del antibiótico a través de diversas estrategias

Infección: es la invasión y el crecimiento de microorganismos en el cuerpo, se reproducen y causan una reacción inmunológica en el (CDC, 2016).

Inoculación: cantidad de microorganismos agregadas a un medio de cultivo donde pueden crecer y reproducirse. También se puede definir como la introducción de una determinada sustancia en otra sustancia (Parker, et al., 2018).

Mal uso de antibióticos: se refiere al administrar los medicamentos en dosis inadecuadas, ya sea en cantidades excesivas provocando toxicidad, o, bajas dosis que son inefectivas; la

administración sin prescripción de un médico o profesional de la salud autorizado; uso como antivirales.

Medios de cultivo: combinación de compuestos en solución que favorece el crecimiento de microorganismos al otorgar los nutrientes necesarios (Parker, et al., 2018).

Membrana celular: bicapa lipídica con proteínas y carbohidratos incrustados que define el límite de la célula (también llamada membrana citoplasmática o membrana plasmática) (Parker, et al., 2018).

Patógeno: microorganismo que causa una enfermedad a su huésped. Comprenden virus y bacterias, así como eucariotas unicelulares y multicelulares (Balloux & van Dorp, 2017).

Plásmido: molécula de ADN pequeña, circular y de doble hebra que normalmente es independiente del cromosoma bacteriano.

Resistencia bacteriana: es el resultado de la capacidad de un microorganismo que resiste al efecto de un antibiótico, que a su vez provoca resistencia. Es decir que la información genética de las bacterias se transfiere a la nueva genética por medio de transferencia horizontal al intercambiar los plásmidos (Rios-Mondragón, 2012).

Susceptibilidad: Es la prueba encargada de decidir cuál antibiótico será el más eficaz para tratar una infección. Se utiliza para encontrar un tratamiento contra las infecciones resistentes a los antibióticos (Ferraro, 2001).