



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN

PREVALENCIA DE *Klebsiella* spp. EN MUESTRAS RESPIRATORIAS
RECOLECTADAS EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN
BACTERIOLOGÍA “DR. ROBERTO GABALDÓN PARRA” DE LA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS ENTRE
ENERO 2016- JULIO 2018.

Autor:

Ramón José Zambrano Rojas

C.I 19.031.918

Tutora:

MSc. María Evelyn Alviárez

Mérida, Agosto de 2019



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN



**PREVALENCIA DE *Klebsiella* spp. EN MUESTRAS RESPIRATORIAS
RECOLECTADAS EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN
BACTERIOLOGÍA “DR. ROBERTO GABALDÓN PARRA” DE LA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS ENTRE
ENERO 2016- JULIO 2018.**

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de Licenciado
en Bioanálisis

Autor:

Ramón José Zambrano Rojas

C.I 19.031.918

Tutora:

MSc. María Evelyn Alviárez

Mérida, Agosto de 2019

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por ser mi guía, fortaleza y ayuda incondicional, todo esto fue posible gracias a Él. Aún en los momentos de debilidad fue su mano sosteniéndome para no decaer. (Isaías 41:10)

A mi Madre, por ser el motor que me impulsa a seguir adelante cada día, éste logro también es para tí por ser mi ejemplo de superación, sin tu apoyo quizá éste sueño no se hubiese materializado.

A mi Padre, aunque físicamente no estés, sé que compartirías ésta alegría conmigo, gracias por cada consejo, cada enseñanza, siempre estaré agradecido con Dios por todo lo que aprendí de ti.

A mis hermanos, por ser un ejemplo a seguir para ellos, gracias por sus palabras de aliento.

A toda mi familia; abuelos, tíos, primos...ustedes forman parte de éste logro, gracias por creer siempre en mí, han sido una bendición para mi vida.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Ilustre Universidad de los Andes por ser la casa que me acogió durante éste largo camino de preparación, siempre estaré agradecido, y podemos estar seguros que vendrán tiempos mejores.

Gracias a la Prof. María Evelyn Alviárez por su ayuda, dedicación y paciencia para llevar a cabo dicho proyecto, siempre estaré agradecido con Dios por haberla colocado en mi camino, miles de bendiciones para su vida.

Gracias al personal docente de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis por su respaldo a través de los conocimientos impartidos.

Gracias a todas las personas que fueron parte fundamental para poder alcanzar este logro.

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del Problema	4
Objetivos de la Investigación	7
Objetivo General	7
Objetivos Específicos	7
Justificación de la investigación	8
Alcances y Limitaciones de la Investigación	9
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	10
Trabajos Previos	10
Antecedentes Históricos	13
Bases Teóricas	16
Vías Respiratorias Superiores	16
Microbiota habitual del Aparato Respiratorio	16
Enfermedades Microbianas de las vías respiratorias superiores	17
Faringitis	18

Laringitis	18
Amigdalitis	18
Sinusitis	19
Características generales de la familia Enterobacteriaceae	19
Factores de virulencia, patogenia	22
Características del género <i>Klebsiella</i>	24
Aislamiento e identificación de <i>Klebsiella</i> spp.	26
Operacionalización del evento de estudio	27
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	28
Tipo de Investigación	28
Diseño de la Investigación	28
Población y Muestra	29
Sistema de Variables	30
Instrumentos de recolección de datos	31
Preprocesamiento	32
Recolección de la muestra	32
Procedimiento de la investigación	34
Diseño de Análisis	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
Resultados	36
Discusión	46

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
Conclusiones	49
Recomendaciones	50
BIBLIOHEMEROGRAFÍA	51
ANEXOS	56
Anexo 1: Planilla para determinar la presencia de <i>Klebsiella</i> spp. en muestras provenientes del tracto respiratorio superior en pacientes de la comunidad.	56
Anexo 2. Identificación de bacilos Gram negativos no Fermentadores	58
Anexo 3. Identificación de cocos Gram positivos	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura N° 1. Estructura antigénica de las Enterobacterias	22
Figura N° 2. Determinación de <i>Klebsiella</i> spp. a través de pruebas bioquímicas	34

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág
Gráfico 1. Prevalencia del género <i>Klebsiella</i> , respecto a los Microorganismos aislados en las muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	37
Gráfico 2. Microorganismos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	39
Gráfico 3. Cocos Gram positivos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	40
Gráfico 4. Bacilos Gram negativos no fermentadores de la Glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	42
Gráfico 5. Bacilos Gram negativos fermentadores de la Glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	43
Gráfico 6. Frecuencia de especies de <i>Klebsiella</i> en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Microbiota del Aparato Respiratorio	17
Tabla 2. Operacionalización del evento de estudio	27
Tabla 3. Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos	31
Tabla 4. Identificación de especies del género <i>Klebsiella</i> . Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	33
Tabla 5. Prevalencia del género <i>Klebsiella</i> , respecto a los Microorganismos aislados en las muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	37
Tabla 6. Microorganismos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	38
Tabla 7. Cocos Gram positivos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	40
Tabla 8. Bacilos Gram negativos no fermentadores de la Glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	41
Tabla 9. Bacilos Gram negativos fermentadores de la Glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	43
Tabla 10. Frecuencia de especies de <i>Klebsiella</i> en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018	44



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN



PREVALENCIA DE *Klebsiella* spp. EN MUESTRAS RESPIRATORIAS RECOLECTADAS EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BACTERIOLOGÍA “DR. ROBERTO GABALDÓN PARRA” DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS ENTRE ENERO 2016- JULIO 2018.

Trabajo de Grado

Autor:
Ramón J. Zambrano R.
C.I 19.031.918

Tutora:
MSc. María Evelyn Alviárez

www.bdigital.ula.ve

RESUMEN

Las infecciones respiratorias representan un grave problema de salud pública, con una tasa de mortalidad de aproximadamente un 50%, por lo tanto un gran número de ellas son causadas por bacterias que forman parte la microbiota habitual, mientras que otras son microbiota transitoria, como es el caso del género *Klebsiella*, éste género se encuentra asociado principalmente a infecciones adquiridas en los centros de salud. En esta investigación se propuso como objetivo confirmar la prevalencia de *Klebsiella* spp. en muestras respiratorias En el estudio se incluyeron 300 pacientes con infecciones respiratorias a repetición, de los cuales en 212 se aislaron bacilos Gram negativos, en 48 pacientes se detectaron cocos Gram positivos, y en 40 pacientes se aislaron bacilos Gram negativos no fermentadores. En el caso del género *Klebsiella*, se obtuvo un total de 85 aislamientos, donde la mayor prevalencia se determinó para la especie *Klebsiella pneumoniae*, lo cual permitió determinar que las Enterobacterias influyen en gran manera en las infecciones respiratorias superiores.

Palabras Clave: Prevalencia, Tracto Respiratorio Superior, *Klebsiella*, Microbiota habitual.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias (IR) comprenden un grupo heterogéneo de entidades clínicas que se caracterizan por su corta evolución, una etiología variada y la diversidad de síntomas clínicos. Particularmente, las infecciones del tracto respiratorio superior (ITRS) registran una elevada tasa de morbilidad, constituyéndose en una de las causas más frecuentes de visitas a los centros de atención primaria de salud.

Aproximadamente el 25 % de las IR son causados por bacterias; por consiguiente, estas infecciones representan las principales entidades contra las cuales se prescriben y administran antibióticos; lo cual ha contribuido al incremento de la resistencia antimicrobiana entre los patógenos respiratorios de origen comunitario (Harrison T. (Ed). 2012)

Entre las principales bacterias potencialmente patógenas que causan IR se señalan: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Neisseria meningitidis*; no obstante, un porcentaje (37%) importante de casos son ocasionados por miembros de la familia *Enterobacteriaceae*; estos últimos suelen ser oportunistas y microbiota transitoria de vías respiratorias superiores, aunque su presencia a ese nivel no es bien entendida. (Sejas., y Condori., 2018)

Dentro de las Enterobacterias, *Klebsiella pneumoniae* se encuentra colonizando vías respiratorias entre el 5-10% de los individuos sanos. Esta especie es responsable de un bajo porcentaje de neumonías bacterianas e igualmente puede producir necrosis pulmonar complicada con hemorragia pulmonar. Ocasionalmente, produce infecciones urinarias y bacteriemia, que

puede sembrar focos a distancia en pacientes inmunocomprometidos. (Kang., y cols., 2006)

La especie *K. pneumoniae* ha cobrado gran importancia en las últimas décadas en vista del desarrollo de resistencia a varios antibióticos, entre estos a las cefalosporinas de tercera generación, situación que determinó su caracterización como una bacteria multirresistente.

Dichas infecciones del tracto respiratorio suelen ser oportunistas. En los pacientes con enfermedades graves, la alteración de la anatomía y fisiología del tracto respiratorio superior, permite la colonización de microorganismos en las vías respiratorias superiores. El cuadro clínico suele ser el de una bronconeumonía que compromete más a los lóbulos inferiores de los pulmones, con empiema (acumulación de pus en la cavidad pleural) en un tercio de los pacientes, además de bacteriemia en otros. La tasa de mortalidad es alta (50% o más) favorecida sobre todo porque afecta a personas con un sistema inmunológico comprometido. (Brooks, G., (Ed). 2014).

Este informe final ha sido sistematizado en 5 capítulos. El capítulo I denominado El Problema, hace referencia al Planteamiento del Problema, Justificación de la Investigación, Objetivos, Alcances y las Limitaciones. El capítulo II, en él se refiere el Marco Teórico a través de los elementos nucleares respectivos: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Operacionalización del evento de estudio. El capítulo III, presenta el Marco Metodológico con el correspondiente Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variables, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y el Diseño de Análisis. El capítulo IV, denominado Resultados y Discusión. El capítulo V, denominado Conclusiones y Recomendaciones. Por último, la Bibliohemerografía y los anexos.

A través de esta investigación se confirmará la prevalencia de *Klebsiella* spp. en muestras respiratorias recolectadas en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón Parra”, adscrito al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis entre Enero 2016- Julio 2018.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones respiratorias altas son las que afectan el tracto respiratorio superior; nasofaringe, orofaringe, laringe, traquea, senos paranasales y oídos. Las vías aéreas superiores están expuestas a microorganismos ambientales, que en ocasiones alteran o superan las barreras anatómicas naturales; barreras como la nariz y su intrincada estructura hacen que se formen corrientes de aire que favorecen el depósito de partículas en la mucosa nasal, cuando un patógeno invade el epitelio respiratorio produce inicialmente en el huésped una respuesta inflamatoria aguda y posteriormente puede cronificarse, y éstas son las causantes de la mayoría de los signos y síntomas que acompañan a las infecciones respiratorias. (Batista., y cols., 2006)

La infección de la nasofaringe y la sinusitis aguda su etiología generalmente es de origen infeccioso. Los agentes etiológicos más habituales son: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipificable, *Moraxella catarrhalis* y Enterobacterias. (Torres., 2014)

(Araujo., *et al.*, 2007) realizaron un estudio prospectivo en Porto Alegre, Brasil, en 134 pacientes con rinosinusitis crónica cuyas muestras fueron obtenidas de secreciones del meato medio, resultando 220 microorganismos, siendo el *Staphylococcus aureus* el más frecuente, seguido de *Staphylococcus coagulasa negativo* y las Enterobacterias en menor proporción.

En el laboratorio de microbiología del centro provincia de higiene, epidemiología y microbiología de Guantánamo en enero de 2016, se realizó un estudio para identificar la incidencia de Enterobacterias productoras de infecciones respiratorias adquiridas en la comunidad, donde se identificaron en 72 muestras bacilos Gram negativos, de las cuales 34 de ellos se aisló *K. pneumoniae* aislada de secreciones nasofaríngeas, lavados bronquiales y esputo. Se estudiaron los mecanismos de patogenicidad, tales como: la función que cumple la cápsula para evitar la fagocitosis y evadir la respuesta inmune, y el polisacárido que constituye el Antígeno O de la endotoxina presente en la membrana de *K. pneumoniae*. (Expósito., *y cols.*, 2014)

(Panduranga., *y cols.*, 2013) llevaron a cabo en pacientes un estudio microbiológico y biopsia de los senos paranasales para evaluar infecciones bacterianas. Todos los pacientes presentaron infección crónica de la mucosa nasal, abundante descarga de secreción mucoide, y a través de la endoscopia se determinó que dichos pacientes en su mayoría tenían afectación de la mucosa ciliar, edema y formación de pólipos. Se realizó cultivo bacteriológico en las biopsias y secreciones nasofaríngeas, se inocularon en agar Sangre, Chocolate y MacConkey, obteniéndose un 51,24% de microorganismos aeróbicos en ambos senos paranasales, un 41,32% de microorganismos aeróbicos en un solo seno paranasal, y se obtuvo un 7,4% representado por hongos. En cuanto a la frecuencia de los microorganismos, el 43% representó a *Staphylococcus aureus*, un 9% para *Klebsiella spp.* y el resto del porcentaje lo constituyó otros bacilos Gram

negativos como *Enterobacter*, *Citrobacter* y el grupo de bacilos Gram negativos no fermentadores.

Es de vital importancia determinar los agentes causales de las infecciones respiratorias asociadas con la presencia de Enterobacterias, lo cual llevó a formular la siguiente interrogante relacionada con el enunciado holopráxico ¿Cuál es la prevalencia de *Klebsiella* spp. en muestras respiratorias recolectadas en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón Parra” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis desde Enero 2016- Julio 2018?

www.bdigital.ula.ve

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *Klebsiella* spp. en las muestras respiratorias recolectadas en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón Parra” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis entre Enero de 2016- Julio 2018.

www.bdigital.ula.ve

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar el aislamiento de cepas de *Klebsiella* spp. a partir de muestras provenientes del tracto respiratorio superior..
2. Identificar las cepas de *Klebsiella* spp. asociadas a infecciones respiratorias, mediante técnicas microbiológicas convencionales, como el cultivo y pruebas bioquímicas.
3. Determinar la especie de *Klebsiella* spp. más predominante en las muestras proveniente del tracto respiratorio superior.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Las vías respiratorias superiores e inferiores son vulnerables a infecciones causadas por un amplia variedad de microorganismos, debido a que es uno de los sistemas orgánicos que comunica de forma directa el ambiente interno con el externo; gran parte de los microorganismos que producen infecciones de las vías respiratorias inferiores primero colonizan el epitelio nasal y faríngeo. El microorganismo que reside en estas vías alcanza el tracto respiratorio inferior cuando los mecanismos normales de defensa se alteran, por lo general a causa de una infección viral o una alteración anatómica del tracto respiratorio superior. Diversos estudios han señalado que los aspirados nasofaríngeos, la frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* es de aproximadamente de un 20% seguido de *Streptococcus pneumoniae* con un 12,5%, y *Klebsiella pneumoniae* se ha aislado en una frecuencia del 10,3% como representante del grupo de las Enterobacterias en muestras respiratorias analizadas en pacientes de la comunidad que asistieron a un hospital de niños en Costa Rica. (Somogyi., y cols., 2005)

El Laboratorio de Microbiología juega un papel fundamental a la hora de brindar un diagnóstico etiológico, además ayuda y orienta en la terapéutica con los estudios de los patrones de resistencia de las cepas aisladas. Como grupo, las Enterobacterias son las responsables de una tercera parte de los aislamientos en las bacteriemias, de dos tercios de los aislamientos en gastroenteritis, y de tres cuartas partes de los aislamientos

en infecciones del tracto urinario. Habitualmente colonizan las diferentes mucosas, especialmente las del tracto gastrointestinal y urinario, por lo que las infecciones suceden a partir de estas localizaciones. (Fariñas., y Martínez., 2013)

En Venezuela las infecciones respiratorias representan un problema de salud pública relevante y es considerada como la principal causa de morbimortalidad en niños menores de 5 años. A finales del año 2016 según el Ministerio de Salud, ocupó la primera causa entre las enfermedades de denuncia obligatoria y fue motivo de consulta en 89.426 casos. (Avilán., 2016).

Cabe destacar que las Enterobacterias son capaces de producir enfermedades en el tracto respiratorio, sin embargo; son microbiota transitoria, por lo que encontrarlas allí no es común, esto conlleva a evaluar los hábitos de vida en la población, ya que se desconoce la manera en la que las Enterobacterias colonizan el tracto respiratorio superior. Dentro de este grupo, se encuentra el género *Klebsiella*, el cual está relacionado con las infecciones respiratorias. (Kang., y cols., 2006)

ALCANCES Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Alcances de la investigación

El alcance de esta propuesta estuvo dirigido a confirmar la presencia de *Klebsiella* spp en muestras provenientes del tracto respiratorio y su asociación con infecciones respiratorias.

Limitaciones de la investigación

Relacionadas con los escasos insumos disponibles en el laboratorio para la realización de todas las pruebas de identificación; de igual manera, la falla en los servicios de agua, electricidad y gas que de alguna manera influyeron en el desarrollo de esta investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

www.bdigital.ula.ve

Liu, y cols., (2018). *Klebsiella grimontii*, una nueva especie resistencia adquirida a carbapenemos

Klebsiella grimontii es una nueva especie del género *Klebsiella*, la cual se encuentra relacionada estrechamente con *K. oxytoca*, esta nueva especie, siendo un patógeno humano relativamente común, se encuentra asociada a infecciones humanas como la bacteriemia e infección de tejidos blandos, algunos casos se han reportado en Francia, Alemania y Sudáfrica. *K. grimontii* se sometió a secuenciación del genoma, llevándose a cabo la identificación de la especie mediante estudios moleculares. La cepa WCHKG020121 de *K. grimontii* se recuperó de una muestra de esputo humano en 2017 en China. La identificación inicial de la especie se realizó

con Vitek II. La concentración inhibitoria mínima (CIM) a los antibióticos (amikacina, aztreonam, aztreonam / avibactam, ceftazidima, ceftazidima / avibactam, ciprofloxacina, colistina, imipenem, meropenem, piperacilina / tazobactam, tigeciclina, y trimetoprim / sulfametoxazol) se determinó utilizando el método de microdilución en caldo de acuerdo a las instrucciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por sus siglas en inglés). En este estudio se demostró que la especie *K. grimontii* fue resistente a los carbapenemos a través del gen *bla*_{KPC-2}, plasmídico, el cual había circulado durante dos años (2016-2017) en diferentes especies bacterianas en el hospital donde se aisló *K. grimontii*.

Bottiglieri, y cols., 2016. Colonización por bacterias multirresistentes en unidades de alto riesgo de una institución polivalente.

Las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes representan una elevada tasa de morbimortalidad en todos los sistemas sanitarios. A través de dicho estudio se evaluó mediante cultivo nasal el estado de colonización por microorganismos multirresistentes, y se determinaron las especies predominantes y los perfiles de resistencia prevalentes. Se estudiaron pacientes mayores de 20 años de edad, se llevó a cabo la realización de cultivos mediante hisopado nasal, encontrándose colonización en el 31% de los pacientes. La distribución porcentual fue la siguiente: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina un 5%, *Enterococcus* resistentes a la vancomicina un 10% y Enterobacterias productoras de BLEE un 25%, con predominio de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*. En el caso de las Enterobacterias productoras de BLEE, se observó resistencia al trimetropin-sulfametoxazol y fluoroquinolonas, y se mantuvo sensibilidad a los carbapenémicos.

Gonzales- Zamora y Murali (2016). Rinoscleroma con afectación faringolaríngea causada por *Klebsiella ozaenae*.

El rinoscleroma es una infección bacteriana granulomatosa crónica y lentamente progresiva, es endémica de países tropicales, reportándose casos en América Central y África. Afecta predominantemente a la mucosa nasal, aunque también puede afectarse al resto del tracto respiratorio superior. El agente causal de esta patología es *Klebsiella rhinoscleromatis*; excepcionalmente se ha descrito a *Klebsiella ozaenae* asociado a rinoscleroma. En este estudio se reportó a un paciente con rinoscleroma faringolaríngeo comprobado histológicamente; siendo detectado *K. ozaenae* mediante cultivo microbiológico.

Solo dos casos de rinoscleroma debido a *K. ozaenae* se han reportado en la literatura hasta la fecha. Dicho caso ilustra la importancia de reconocer esta infección en un entorno no endémico como los EE. UU. La falta de conciencia y un retraso en el diagnóstico de esta enfermedad pueden llevar a complicaciones como la obstrucción del tracto respiratorio superior, deformidad física y, rara vez, sepsis. Además, es importante mencionar que el tratamiento del rinoscleroma es desafiante y requiere un curso prolongado de antibióticos para lograr una cura definitiva y evitar las recaídas.

Quiñones., y cols., (2014). Resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Klebsiella* spp. en hospitales de Cuba.

Los autores realizaron una investigación con el objetivo de determinar el perfil de resistencia de los aislamientos clínicos de *Klebsiella* spp en

hospitales. Entre los resultados, se caracterizaron 448 aislamientos de *Klebsiella* spp., siendo *K. pneumoniae* la especie más prevalente (95,1%), seguida por *K. oxytoca* (4,5%) y *K. ozaenae* (0,4%). Del total de aislamientos, 71% procedieron de pacientes hospitalizados y 29%, de la comunidad. El 51.5% (231/448) de los aislamientos se confirmaron fenotípicamente productores de BLEE, para los aminoglucósidos la resistencia presentó valores de 13% y 80,4 %, el nivel más bajo de este grupo se encontró en Amikacina; en relación a las quinolonas la resistencia se encontró entre un 50 y 80%. La alta prevalencia de *K. pneumoniae* pudiera deberse a la capacidad de este microorganismo para resistir a la desecación en el medio y sobrevivir en éste debido a su cápsula hidrofílica, la presencia de adhesinas y fimbrias que le permiten adherirse a las superficies.

www.bdigital.ula.ve

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

A principios de la década de los años 80 comenzaron a reportarse los primeros aislamientos del género *Klebsiella* resistente a varios antibióticos, entre ellos las cefalosporinas de tercera generación, esta situación constituyó el primer paso para ser considerada una bacteria multirresistente. En 1996 se reportó el primer aislamiento de *K. pneumoniae* resistente a los carbapenémicos. (Kang., y cols., 2006).

(Guzmán M., y cols., 2005). Las infecciones respiratorias abarcan un grupo heterogéneo de cuadros clínicos en el que se incluyen sinusitis, otitis, faringoamigdalitis, bronquitis y neumonía. En el presente trabajo, se encontró un número elevado de casos diagnosticados clínicamente como infecciones

del tracto respiratorio superior, detectándose con mayor frecuencia la faringoamigdalitis y la otitis media aguda. Esta frecuencia pudiera estar relacionada con la presencia de portadores sanos, quienes pueden presentar en su flora habitual microorganismos capaces de desarrollar infecciones respiratorias por oportunismo.

En la presente investigación se encontró que *K. pneumoniae* fue el microorganismo aislado con mayor frecuencia (10,20%) en infecciones del tracto respiratorio inferior. Estos hallazgos coinciden en gran parte con los reportados por Acostal y Pérez, quienes encontraron un 11, 60% de cultivos positivos para *K. pneumoniae*.

Los resultados antes mencionados reflejan una contradicción en la etiología de las neumonías, debido a que normalmente *K. pneumoniae* es considerado un agente causal de neumonía nosocomial y no comunitaria. Sin embargo, la gran mayoría de los pacientes atendidos con neumonía padecían de enfermedades respiratorias crónicas, condición que pudo favorecer en este grupo de pacientes a la adquisición de infecciones por microorganismos oportunistas como *K. pneumoniae*.

Al analizar los patrones de susceptibilidad de *K. pneumoniae* se encontró un 20,00% de resistencia a las cefaloporinas de tercera generación, estos hallazgos coinciden con los reportados por Acostal y Pérez (21) quienes encontraron tasas elevadas de sensibilidad para las cefalosporinas de primera y segunda generación en cepas comunitarias de *K. pneumoniae*. Aun cuando la mayoría de las cepas de *K. pneumoniae* aisladas son sensibles a los antibióticos de elección, es de interés el hecho de que existe un porcentaje de cepas con resistencia a las cefalosporinas de tercera generación posiblemente debido a la producción de enzimas β -lactamasas de espectro extendido.

A pesar de que los resultados del estudio antimicrobiano a los agentes bacterianos aislados en infecciones del tracto respiratorio, no muestran una resistencia marcada contra los antibióticos utilizados en el tratamiento empírico, hay que considerar el hecho de que cepas patógenas que antes normalmente eran limitadas al ámbito hospitalario se han logrado aislar de muestras comunitarias (*S. aureus* meticilino resistente y *K. pneumoniae* resistentes a cefalosporinas de tercera generación), lo que sugiere, que la resistencia ya no está limitada al ámbito hospitalario y probablemente se esté extendiendo hacia el medio comunitario, caso preocupante porque la evidencia de resistencia a estos antimicrobianos limita al personal médico a emplear la terapia empírica para estas infecciones. (Guzmán., y cols., 2005)

Botelho., y cols., (2007). Llevaron a cabo un estudio sobre *Klebsiella rhinoscleromatis* y *Klebsiella ozaenae*, las cuales se encuentran asociadas con enfermedades crónicas de las vías respiratorias superiores: rinoscleroma y ozena, respectivamente. El objetivo del presente trabajo consiste en confirmar el papel patógeno de *K. ozaenae* en la ozena y el rinoscleroma en casos clínicos. El diagnóstico se realizó mediante evidencia directa de los microorganismos (cultivos específicos y autoinmunoquímica en biopsia nasal) y mediante un método indirecto (serología). Los métodos específicos y originales utilizados en esta investigación han permitido confirmar el papel patógeno de *K. ozaenae* en la ozena y el rinoscleroma confirmado en una lesión granulomatosa. En la literatura, *K. rhinoscleromatis* sólo se asocia con rinoscleroma, mientras que *K. ozaenae* también se asocia con enfermedades clínicas distintas de la rinitis crónica, como bacteriemias. En los casos de rinitis crónica, se debe tener en cuenta la ozena y el rinoscleroma, incluso en los países desarrollados, y se debe realizar una detección sistemática, especialmente porque existen herramientas de diagnóstico específicas y tratamientos efectivos disponibles.

BASES TEÓRICAS

Vías Respiratorias Superiores

Las vías respiratorias superiores o tracto respiratorio superior está constituido por: nariz, faringe, y las estructuras asociadas con estas, como el oído medio y las trompas de Eustaquio. Los conductos provenientes de los senos paranasales y los conductos nasolagrimales provenientes del aparato lagrimal (formador de las lágrimas) desembocan en la cavidad nasal. Las trompas de Eustaquio del oído medio desembocan en la porción superior de la faringe. (Tortora., y cols., 2016).

Microbiota habitual del Aparato Respiratorio

La microbiota habitual de las vías respiratorias superiores está conformada por un grupo variado de géneros (Tabla 1). Algunos de estos son bacterias potencialmente patógenas (BPP) en población susceptible como niños y ancianos. Esta microbiota está influenciada por multitud de factores, como la edad, e le estado inmunológico, la antibioterapia, la hospitalización, y la

inmunización frente a *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. La importancia de la microbiota habitual consiste en que su presencia y predominio suprime el crecimiento de patógenos por competencia con nutrientes, bloqueo de sitios de receptores y la producción de sustancias inhibitoras; así mismo, el estímulo de la respuesta inmune local que inhibe la colonización por patógenos respiratorios (Tortora., y cols.,2016).

Tabla 1: Microbiota del Aparato Respiratorio

Microbiota Aparato Respiratorio	
<i>Streptococcus</i> del grupo viridans	<i>Corynebacterium</i> sp.
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	<i>Neisseria</i> sp (no patógena)
<i>Micrococcus</i>	<i>Lactobacillus</i> sp.
<i>Espiroquetas</i>	<i>Veillonella</i> sp.

Tomado de: Sánchez., y cols., 2011(Manual Práctico de Bacteriología Clínica)

Enfermedades Microbianas de las vías respiratorias superiores:

Las vías respiratorias superiores se encargan de filtrar las partículas inhaladas en función de su tamaño, densidad y características físicas. Sin embargo, las partículas menores a 10 micras (como la mayoría de los microorganismos patógenos) pueden atravesar esta barrera física, lo cual no suele ocurrir en condiciones fisiológicas adecuadas. La nasofaringe presenta formaciones, como las amígdalas y adenoides, con capacidad para activar

mecanismos inmunológicos de defensa. Existen otros mecanismos reflejos como el estornudo y la tos, que permiten la eliminación de gran cantidad de secreciones y microorganismos que se depositan en la nasofaringe. Otro mecanismo de defensa importante lo constituye el sistema mucociliar, formado por el epitelio ciliar, que cubre las vías respiratorias desde la nariz hasta los bronquiolos; y por el moco, que recubre a los cilios y que es secretado por las células caliciformes y las sub-mucosas del epitelio de las vías respiratorias. De forma habitual, la superficie del epitelio de la orofaringe es colonizado por un número limitado de especies bacterianas. Sólo las bacterias que poseen sistemas específicos de adhesión al epitelio pueden establecer una colonización duradera (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*). Otras especies bacterianas tal como *Pseudomonas aeruginosa* necesita que el epitelio esté previamente dañado para poder adherirse al mismo (Álvarez., y cols., 2015).

El aparato respiratorio es el foco de numerosas infecciones comunes, como; faringitis, laringitis, amigdalitis, sinusitis y otitis (Mandell y cols., 2006).

Faringitis: La faringitis aguda es causada por diferentes microorganismos. La mayoría de los casos son de etiología viral y se producen como parte de los síndromes del resfriado común y la gripe. La infección bacteriana más importante es la causada por el grupo de los estreptococos beta-hemolíticos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*). Es importante diferenciar la faringitis estreptocócica de la viral por la respuesta de la infección estreptocócica al tratamiento antimicrobiano y la ineficacia del tratamiento con antibióticos en el caso de las infecciones virales. En algunos casos hay dolor marcado de la faringe, odinofagia y una temperatura de 39,4°C, o superior. Puede haber dolor de cabeza, sensación de frío y dolor abdominal. La membrana faríngea se encuentra enrojecida, y en las amígdalas hay exudado amarillo-grisáceo, irregular (Mandell., y cols., 2015).

Laringitis: La laringitis aguda es un síndrome clínico muy frecuente en atención primaria. Los síntomas suelen describirse como una aparición reciente de ronquera asociada a tos seca. Puede haber episodios de afonía, que suelen producirse en el contexto de una infección de las vías respiratorias superiores con rinorrea y dolor de garganta. Entre las causas poco frecuentes de laringitis aguda se encuentran herpesvirus, *Candida* sp, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans* y *Streptococcus* betahemolíticos del grupo G, tanto en pacientes sanos, como inmunocomprometidos. (Mandell., y cols., 2015).

Amigdalitis: Es la inflamación de las amígdalas (ganglios linfáticos) que se encuentran en la parte posterior de la boca y en la parte superior de la garganta. Esta estructura contribuye a eliminar agentes infecciosos y previene las infecciones en el TR. Los síntomas que se presentan son: dificultad para deglutir, dolor de oído, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, dolor de garganta que dura más de 48 horas, se puede presentar además, problemas respiratorios si las amígdalas están inflamadas. Se recomienda tomar una muestra de exudado faríngeo y realizar un cultivo para determinar el agente microbiano causante de la amigdalitis (Shulman., y cols., 2014).

Sinusitis: Es una enfermedad inflamatoria de uno o más senos paranasales. Los casos más agudos se deben a infección, aunque puede haber otras causas, como los procesos alérgicos. La sinusitis infecciosa aguda se clasifica de acuerdo a diferentes características, como el entorno extra o intrahospitalario, el estado inmunitario del paciente y su etiología viral, bacteriana o micótica. La sinusitis bacteriana extrahospitalaria en general se superpone a la rinosinusitis viral (RSV) preexistente, por lo que las características clínicas de la enfermedad reflejan la naturaleza dual de la infección. En la mayoría de los casos no es posible separar los rasgos clínicos de la RSV de los de la sinusitis bacteriana aguda extrahospitalaria (SBAEH). Normalmente, en ambas enfermedades se producen estornudos,

descarga nasal, rinorrea, obstrucción nasal, presión facial y dolor de cabeza. Las características más clásicas de la SBAEH es temperatura de 38°C o más, dolor facial y eritema (Morcom., y cols., 2016).

Características generales de la Familia *Enterobacteriaceae*

Las Enterobacterias son un grupo heterogéneo y extenso de bacilos Gram negativos cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y de los animales. La familia comprende más de 40 géneros y cientos de especies y subespecies, identificados en función de sus propiedades bioquímicas, estructura antigénica, hibridación ADN-ADN y secuenciación del ARNr 16S. Entre los géneros más comunes se citan: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, entre otros. Algunos microorganismos entéricos, por ejemplo, *Escherichia coli*, son parte de la microbiota habitual y en forma incidental producen enfermedad; mientras que, otros como *Salmonella* y *Shigella* son patógenos para el ser humano. Las Enterobacterias son aerobios o anaerobios facultativos, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas. Las Enterobacterias también se conocen como bacilos Gram negativos entéricos, bacterias entéricas, o coliformes (Brooks., 2014).

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son bacilos Gram negativos de tamaño intermedio (0,3 a 1 x 1 a 6 µm). Comparten un antígeno común, pueden ser inmóviles o móviles con flagelos peritricos, y no forman esporas; son anaerobios facultativos y pueden desarrollar en medios de cultivo básicos, enriquecidos y selectivos diferenciales. Entre otras características se describen como: fermentadores de la glucosa y otros

carbohidratos, reducen los nitratos a nitritos, son catalasa-positivos y oxidasa-negativos (Murray., y cols., 2017).

Estos microorganismos están asociados a diferentes cuadros clínicos en seres humanos, incluyendo la formación de abscesos, neumonías, meningitis, septicemias, infecciones de tracto urinario e intestinal. Los miembros de ésta familia representan la mayor parte de la microbiota intestinal y muchas de las especies son importantes en las infecciones adquiridas en los centros de salud.

Las Enterobacterias tienen una estructura antigénica compleja; con base a ésta, las enterobacterias se clasifican en más de 150 diferentes antígenos somáticos termolábiles, más de 100 antígenos K (capsulares) termolábiles y más de 50 antígenos H (flagelares). A continuación se describe la estructura antigénica de las Enterobacterias (Figura 1):

- Antígeno O: Constituye la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular y constan de unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos O específicos contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol y por lo general se detectan mediante la aglutinación bacteriana. Los anticuerpos formados contra los antígenos O son predominantemente IgM. Si bien cada género de las Enterobacterias se relaciona con grupos O específicos, un solo microorganismo puede portar varios antígenos O y producir reacciones cruzadas con otras especies. En ocasiones, los antígenos O se relacionan con enfermedades humanas específicas, por ejemplo, tipos O específicos de *E. coli* se detectan en la diarrea y en las infecciones del tracto urinario.
- Antígeno K: está presente en algunas Enterobacterias, algunos son de naturaleza polisacárida como los antígenos K de *E. coli*; otros son proteínas. Los antígenos K pueden interferir en la aglutinación por

antisuero O y relacionarse con virulencia (p. ej., las cepas de *E. coli* productoras de antígeno K1 sobresalen en la meningitis neonatal y los antígenos K de *E. coli* producen la adherencia de las bacterias a las células epiteliales antes de la invasión del tubo digestivo o del sistema urinario). Por su parte, *Klebsiella* spp. forma grandes cápsulas que constan de polisacáridos (antígenos K) que recubren los antígenos somáticos (O u H) y se pueden identificar mediante las pruebas de determinación capsular con antisueros específicos. Las infecciones del sistema respiratorio en seres humanos son causadas sobre todo por los tipos capsulares 1 y 2; las del sistema urinario por los tipos 8, 9, 10 y 24.

- Antígeno H: están situados en los flagelos y son desnaturalizados o eliminados mediante calor o alcohol. Estos antígenos H se aglutinan con anticuerpos anti-H, principalmente IgG. Los determinantes en los antígenos H dependen de la secuencia de aminoácidos en la proteína flagelar (flagelina). Los antígenos H en la superficie bacteriana pueden interferir con la aglutinación por anticuerpos contra antígeno O (Brooks., 2014).

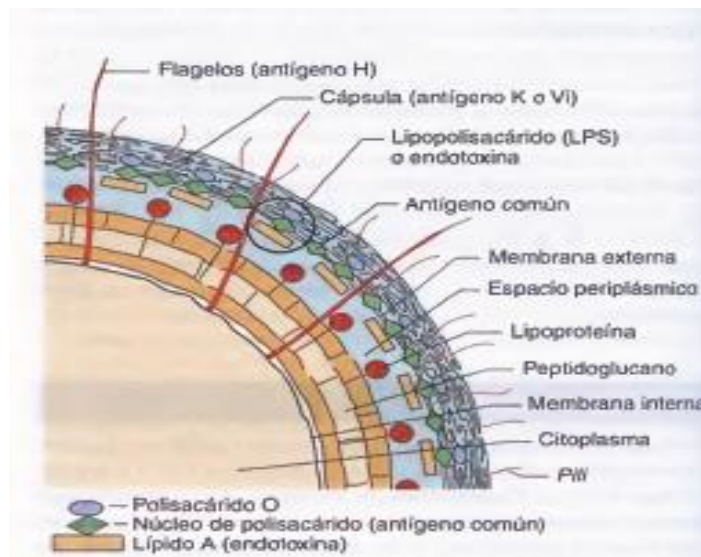


Figura 1. Estructura antigénica de las Enterobacterias

Tomado de Brooks (2014).

Factores de virulencia, patogenia e inmunidad en *Enterobacteriaceae*

Se han identificado numerosos factores de virulencia en los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Algunos son comunes a todos los géneros; mientras que otros son específicos de las cepas virulentas.

Endotoxina: Es un factor de virulencia que comparten las bacterias gramnegativas aerobias y algunas anaerobias. La actividad de esta endotoxina depende del lípido A del lipopolisacárido que se libera durante la lisis celular, causando manifestaciones sistémicas como: activación del complemento, liberación de citosinas, leucocitosis, trombocitopenia, coagulación intravascular diseminada, fiebre, disminución de la circulación periférica, shock y muerte (Murray., y cols., 2017).

Cápsula: Las bacterias encapsuladas se protegen de la fagocitosis mediante los antígenos capsulares hidrofílicos, los cuales repelen la superficie hidrofóbica de la célula fagocítica. Estos antígenos interfieren en la unión de esos anticuerpos a las bacterias y son poco inmunógenos o activadores del complemento. Sin embargo, el papel protector de la cápsula se reduce cuando el paciente desarrolla anticuerpos anticapsulares específicos. (Brooks., 2014).

Variación de fase antigénica: La expresión del antígeno capsular K y del antígeno flagelar H están bajo control genético del microorganismo. Cada uno de estos antígenos se puede expresar alternativamente o bien no

expresarse en absoluto (variación de fase), una característica que protege a las bacterias de la destrucción celular mediada por anticuerpos.

Secuestro de factores de crecimiento: Los medios de cultivo enriquecidos aportan nutrientes a los microorganismos, pero las bacterias se tienen que comportar como carroñeras con los nutrientes en condiciones *in vivo*. El hierro es un importante factor de crecimiento para las bacterias, pero se encuentra unido a las proteínas hemo (hemoglobina y mioglobina) o a las proteínas quelantes del hierro (transferrina, lactoferrina). Las bacterias contrarrestan esta unión con la producción de sideróforos que compiten en la quelación del hierro (enterobactina y aerobactina). El hierro se puede liberar, igualmente, desde las células del anfitrión como consecuencia de la acción de hemolisinas sintetizadas por las bacterias (Mandell., y cols., 2015).

Resistencia al efecto bactericida del suero: Mientras que muchas bacterias se pueden eliminar rápidamente de la sangre, los microorganismos virulentos que son capaces de producir infecciones sistémicas son con frecuencia resistentes a la acción bactericida del suero. Aunque la cápsula bacteriana puede proteger a los microorganismos de este efecto bactericida, otros factores evitan la unión de los componentes del complemento a las bacterias y su eliminación posterior mediada por el complemento (Murray., y cols., 2017).

Resistencia antimicrobiana: Con la misma rapidez con la que se introducen nuevos antibióticos en la industria farmacéutica, así los microorganismos desarrollan resistencia a estos. Esta resistencia puede estar codificada en plásmidos transferibles e intercambiarse entre especies, géneros e incluso familias de bacterias (Murray., y cols., 2017).

Características del Género *Klebsiella*

Este género es nombrado en honor al microbiólogo alemán Edwin Klebs (1834-1913). Su significado viene del griego *pneumonia* que significa pulmonía. Anteriormente, fue designada con otros nombres como: *Aerobacter aerogenes* y *Klebsiella pneumoniae*, comúnmente llamado bacilo de Friedlander. *K. pneumoniae* es la especie más común de todo el género con el 95% de los aislamientos (Rya y Ray, 2013). Estructuralmente, los miembros del género *Klebsiella* se caracterizan por poseer una gran cápsula de polisacáridos que diferencia a estos microorganismos de otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae*.

Taxonómicamente, *Klebsiella* se ubica como sigue:

Dominio: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: *Enterobacteriaceae*

Género: *Klebsiella*

Especies: *K. granulomatis*, *K. mobilis*, *K. ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *K. variicola*, *K. planticola*, *K. pneumoniae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. singaporensis*, *K. terrigena*, *K. ascorbata*, *K. trevisanii*, y *K. aerogenes*. (Trigoso y cols., 2007) y una nueva especie: *Klebsiella grimontii* (Liu., y cols., 2018).

Actualmente ha sido modificado el nombre de *Enterobacter aerogenes* por *Klebsiella aerogenes*, tomando en cuenta que al momento de informar

los resultados de las pruebas de sensibilidad, se lleva a cabo de la misma manera que para *Enterobacter aerogenes*, ya que la resistencia natural es la misma (Weinstein., y cols., 2019).

Desde el punto de vista de su hábitat, *Klebsiella* spp. se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de hombre y animales y son excretados a través de las heces, por lo que se detectan con facilidad en aguas residuales; igualmente, está presente de forma natural en muchos ambientes acuáticos, pueden multiplicarse y alcanzar concentraciones elevadas en aguas ricas en nutrientes tales como, residuos de fábricas de papel, plantas de acabado textiles y centros de procesamiento de caña de azúcar. Estos microorganismos pueden proliferar en sistemas de distribución de agua y permanecer en las arandelas de los grifos. *Klebsiella* spp. puede causar infecciones intrahospitalarias, siendo el agua y los aerosoles contaminados fuente de estos microorganismos (Ainsworth., 2014).

En este contexto, *Klebsiella* spp. es uno de los patógenos más importantes, que produce neumonía intrahospitalaria, donde la transmisión está asociada con la manipulación frecuente de los pacientes (por ejemplo, en las unidades de cuidados intensivos), existe mayor riesgo en personas con sistemas inmunitarios deprimidos, como las personas ancianas o muy jóvenes, alcohólicos, pacientes con quemaduras o heridas extensas, los que están siendo sometidos a tratamientos inmunodepresores o con infección por VIH (Echeverría., y Cataño, 2014).

El mecanismo fisiopatológico habitual es la colonización de la orofaringe, seguida de la microaspiración de las secreciones del tracto respiratorio superior. *Klebsiella pneumoniae* así como otros bacilos gramnegativos colonizan las vías respiratorias superiores en los pacientes con enfermedades de base. También se debe sospechar la infección por estos microorganismos en un paciente con neumonía que pertenezca a uno

de los grupos de riesgo antes descritos, sobre todo cuando exista neutropenia o la infección sea a nivel hospitalario (Hernández., y cols., 2010).

De acuerdo a Murray y Baron (2014), el alto consumo de cefalosporinas de tercera generación y la cateterización son factores de riesgo para el desarrollo de neumonías por bacilos gramnegativos.

Aislamiento e identificación de *Klebsiella* spp.

El aislamiento primario de *Klebsiella* spp. implica el uso de medios de cultivo selectivos diferenciales, como MacConkey, en el cual sus características coloniales (colonias grandes, mucoides, brillantes) y la fermentación de la lactosa orientan el diagnóstico preliminar de este microorganismo (Murray., y cols., 1995). Las pruebas de identificación convencional emplea la fermentación de carbohidratos, producción de indol, utilización del citrato /fosfato de amonio y la prueba de la ureasa (MacFaddin., 2003).

Tabla N°2 Operacionalización del evento de estudio

Evento	Variable	Tipo de Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicador
--------	----------	------------------	-----------------------	------------------------	-------------	-----------

Infecciones del tracto respiratorio superior	Cualitativa	Dependiente	Infecciones comunes, entre ellas; faringitis, laringitis, amigdalitis, sinusitis, otitis, entre otros. (Mandell G., y cols., 2015).	Se evalúa a través de estudios clínicos(signos y síntomas) y paraclínicos(pruebas de laboratorio y cultivos)		Irritación, dolor, secreciones
Bacteria <i>Klebsiella</i> spp.	Cuantitativa continua	Independiente	Son bacilos Gram negativos inmóviles que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. (Echeverría L., y Cataño J. 2014)	Se determina a través de cultivo bacteriológico	Aislamiento en cultivo	Lectura de la batería bioquímica y comparación en las tablas TLM

(Zambrano y Alviárez, 2019)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2010), el tipo de investigación está relacionado con lo que se quiere saber y tiene correspondencia con el objetivo de la investigación. Al respecto, Hurtado refiere que existen 10 tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, proyectiva, explicativa, predictiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. En tal caso, las investigaciones de tipo analítica tienen como fin estudiar la estructura de los fenómenos, que no se perciben a simple vista. Por ende, esta investigación es de tipo analítica ya que el objeto de estudio está relacionado con un criterio de análisis representado por el aislamiento e identificación de *Klebsiella* spp.

Diseño de la Investigación

www.bdigital.ula.ve

Las herramientas que se emplearon para recolectar los datos fueron denominadas como diseño de la investigación. Específicamente, Hurtado (2010) refirió que los diseños de la investigación responden al dónde, cuándo y a la amplitud de la información que se quiere recolectar. Con respecto al dónde, esta investigación tuvo un diseño de campo y de laboratorio, ya que los datos se recolectaron en la realidad representada por el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón Parra” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. En relación al cuándo, esta investigación tiene un diseño contemporáneo y transversal, ya que los datos se recolectaron en el momento mientras se realizó la investigación, y una sola vez en cada unidad de investigación. Según la amplitud de la información recolectada, el diseño es bivariable, pues se consideró la infección del tracto respiratorio superior, y el resultado del aislamiento e identificación bacteriana.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Hernández, Fernández y Baptista (2003), refirieron que una población es el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones. El grupo de investigación estuvo representado por 300 muestras nasofaríngeas de pacientes con infecciones recurrentes, procedentes de distintos laboratorios de Microbiología de la ciudad de Mérida y otras fueron tomadas en el Laboratorio de Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, durante el período Enero 2016 a Julio 2018. Las muestras nasofaríngeas fueron transportadas en el medio de Stuart para su procesamiento. Estos pacientes cumplieron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

www.bdigital.ula.ve

Criterios de inclusión:

- Pacientes con infecciones respiratorias recurrentes.
- Pacientes que no hayan recibido terapia antibiótica al menos 10 días antes de la toma de muestra.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que estén recibiendo terapia antibiótica.

Selección del tamaño muestral

La “n” muestral estuvo representada por 85 muestras de bacilos Gram negativos pertenecientes al género *Klebsiella*, aisladas de las muestras nasofaríngeas recolectadas en el Laboratorio de Bacteriología “Dr. Roberto

Gabaldón Parra” adscrito al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Sistema de Variables

Las variables estadísticas de esta investigación fueron clasificadas desde su naturaleza y escala de medida, con la finalidad de identificar el indicador estadístico pertinente (Tabla 3)

El SPSS (*Statistical Package of the Social Science*) es uno de los programas estadísticos más conocidos, teniendo en cuenta su capacidad para trabajar con bases de datos de gran tamaño y su facilidad de realizar un amplio y descriptivo análisis de los resultados, mediante el uso de indicadores que permiten la creación de tablas de frecuencias, porcentajes y de gráficos.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos.

Variables	Tipo de variables			Escala de medida			Indicador Estadístico	
	Cualitativa	Cuantitativa		Nominal	Ordinal	Intervalo		Razón
		Discreta	Continua					

Infección respiratoria	Si	No	No	Si	No	No	No	Frecuencias absolutas y relativas
Bacteria <i>Klebsiella</i> spp.	No	No	Si	Si	No	Si	Si	Frecuencias absolutas y relativas
Factor clínico Secreción nasal y expectoración.	Si	No	No	Si	No	No	No	Frecuencias absolutas y relativas

Fuente: (Zambrano y Alviárez, 2019)

www.bdigitalula.ve Instrumento de Recolección de Datos

Según Palella y Martins (2006), un instrumento permite recolectar datos, para posteriormente medirlos a través de modelos matemáticos. Por esto, los elementos para la realización del sistema de recolección de datos fueron: las variables, los objetivos, las bases teóricas y la operacionalización del evento de estudio. En tal sentido, se diseñó una planilla con el fin de recolectar la mayor cantidad de información sobre el paciente y relacionarlos con los objetivos (Anexo 1).

El instrumento de recolección de datos fue valorado por el juicio de tres expertos, quienes evaluaron cada ítem a través de un escalamiento tipo Likert. Posteriormente, se analizó el coeficiente alfa de Cronbach con el fin de determinar la validez y confiabilidad del instrumento.

Procesamiento

Recolección de la Muestra

Las muestras nasofaríngeas fueron obtenidas mediante un hisopo estéril, previamente humedecido en solución fisiológica estéril y transportado al laboratorio en medio de Stuart. Las muestras recolectadas en el laboratorio se inocularon directamente en los medios de cultivo (Figura 2).

Aislamiento e Identificación bacteriana

Las muestras se inocularon en agar sangre, agar MacConkey (HiMedia) y agar Manitol Salado (HiMedia) y luego se incubaron a 37°C por 18-24 horas; al cabo de este tiempo se revisaron las placas y se seleccionaron de 3 a 5 colonias fermentadoras de la lactosa sugestivas de *Klebsiella* spp., las cuales se repicaron en un medio básico agar Trypticase Soya (BBL) y se incubaron a 37°C en condiciones de aerobiosis durante 18-24 horas (Koneman *et al*, 2012).

La identificación bacteriana se realizó mediante las siguientes pruebas: Oxidasa, Kligler (BBL), Lisina-hierro-agar (LIA, BBL), Motilidad-indol-ornitina (MIO, BBL), Urea y Citrato (HiMedia). Las cepas de *Klebsiella* spp. fueron identificadas según el siguiente patrón bioquímico: (Murray y cols., 1995)

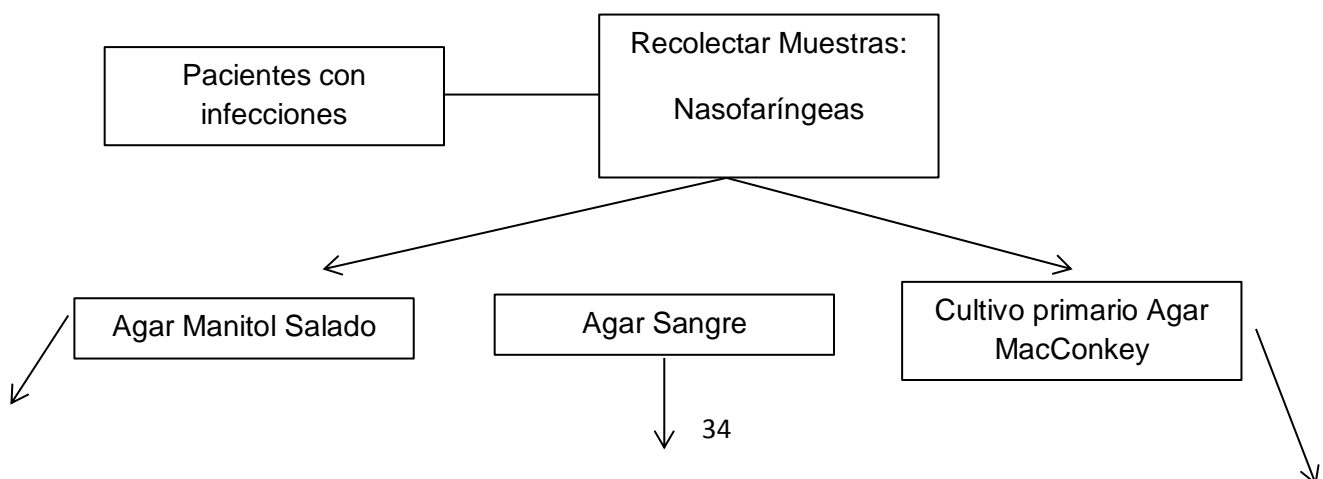
	VP	L	G	G	L	A	C	M	I	O	H ₂ S	U	ONPG
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
<i>Klebsiella ozaenae</i>	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
<i>Klebsiella ascorbata</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+

VP:voges proskauer L:lisina G:gas G:glucosa L:lactosa A:arginina C:citrato M:motilidad
 I: indol O:ornitina H₂s:sulfuro de hidrógeno U: urea ONPG:
 OrtoNitroFenilGalactopiranósido

www.bdigital.ula.ve

Tabla 4. Identificación de especies del género *Klebsiella*

Procedimiento de la Investigación



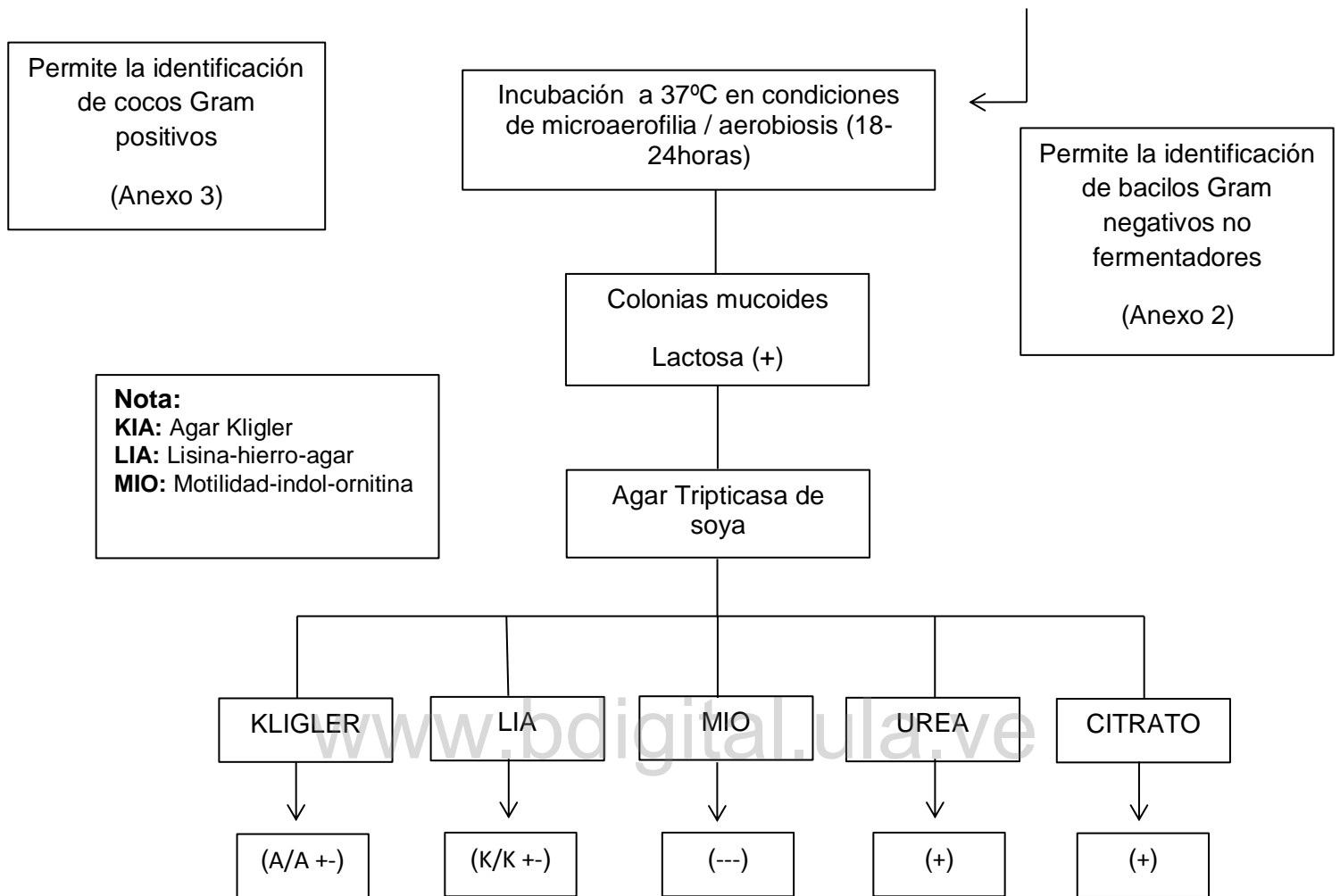


Fig 2. Determinación de *Klebsiella* spp. a través de pruebas bioquímicas. Trigoso., y cols., 2007. Manual de procedimientos bacteriológicos en sensibilidad y resistencia antimicrobiana.

Diseño de análisis de los datos

Los resultados de esta investigación fueron analizados a través de un enfoque cuantitativo. Tal como lo proponen Palella y Martins (2006), los datos se expresaron numéricamente y fueron analizados a través de operaciones matemáticas. En tal sentido, los datos relacionados con el problema de investigación infecciones respiratorias y el aislamiento e

identificación de *Klebsiella* spp. se expresaron cualitativa y cuantitativamente. Estos datos fueron analizados a través de modelos matemáticos, utilizando el SPSS-21 (*Statistical Package of the Social Science*). El universo de esta investigación está representado por los pacientes que presentaron infección a nivel de las vías respiratorias superiores.

Sistematización de los resultados

Los resultados fueron sistematizados a través de tablas, gráficos y diagramas. El fin de esta sistematización fue contribuir con la interpretación de los resultados. De esta manera, se dio a conocer la respuesta del enunciado holopráxico, y a su vez, se obtuvo el conocimiento formulado en el objetivo general.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO IV

RESULTADOS

Análisis de los Resultados

Una vez recolectada toda la información, es necesario analizar y presentar todos los resultados obtenidos al aplicar las diferentes metodologías analíticas, con el fin de evaluar el enfoque principal plasmado en cada uno de los objetivos de dicha investigación, y así llevar a cabo el análisis de la Prevalencia de *Klebsiella* spp. en muestras respiratorias recolectadas en el Laboratorio en Investigaciones en Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón Parra” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis entre Enero 2016- Julio 2018.

Los siguientes datos permitieron la elaboración de las conclusiones, así como recomendaciones futuras. A continuación los resultados obtenidos en dicha investigación:

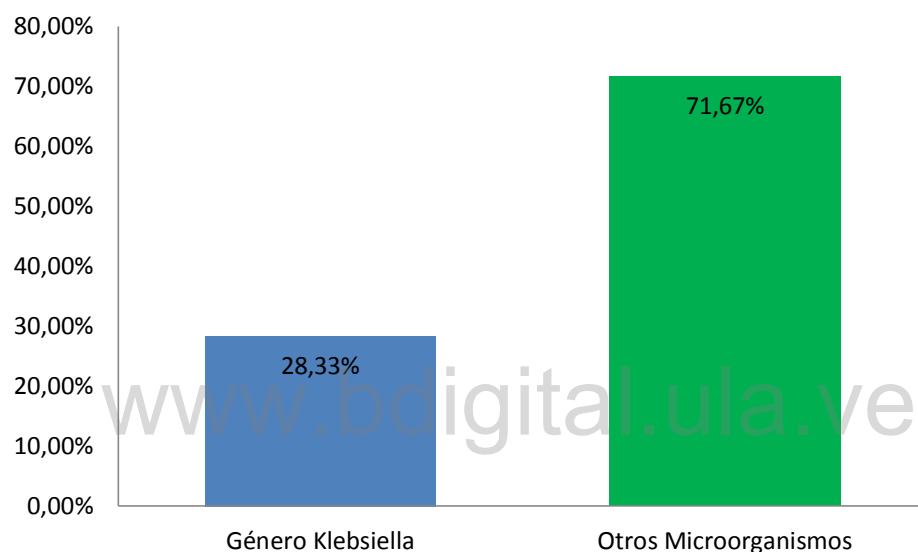
www.bdigital.ula.ve

Tabla 5. Prevalencia del género *Klebsiella*, respecto a los microorganismos aislados en las muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016- Julio 2018.

En la Tabla 5, Gráfico 1 se evidencia la prevalencia del género *Klebsiella* respecto a los demás microorganismos aislados en las muestras respiratorias.

Pacientes (n=300)		Frecuencia	Porcentaje
	Género <i>Klebsiella</i>	85	28,33%
	Otros Microorganismos	215	71,66%

Fuente: (Zambrano y Alviárez. 2019)



Fuente: (Zambrano y Alviárez. 2019)

Gráfico 1. Prevalencia del género *Klebsiella*, respecto a los microorganismos aislados en las muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016- Julio2018.

En la Tabla 6, Gráfico 2 se observó la distribución porcentual relacionada con los microorganismos aislados en los 300 pacientes que asistieron al Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Dr. Roberto Gabaldón Parra” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, donde los bacilos Gram negativos ocuparon el primer lugar con un setenta con sesenta y siete por ciento (70,67%), seguido de los cocos Gram positivos, quienes ocuparon el

segundo lugar con un dieciséis por ciento (16,00%), y en último lugar los bacilos Gram negativos no fermentadores representaron con un trece con treinta y tres por ciento (13,33%).

Tabla 6. Microorganismos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016- Julio 2018.

		Frecuencia	Porcentaje
Pacientes (n=300)	Cocos Gram positivos	48	16,00%
	Bacilos Gram negativos fermentadores de la glucosa	212	70,67%
	Bacilos Gram negativos no fermentadores de la glucosa	40	13,33%

Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019).

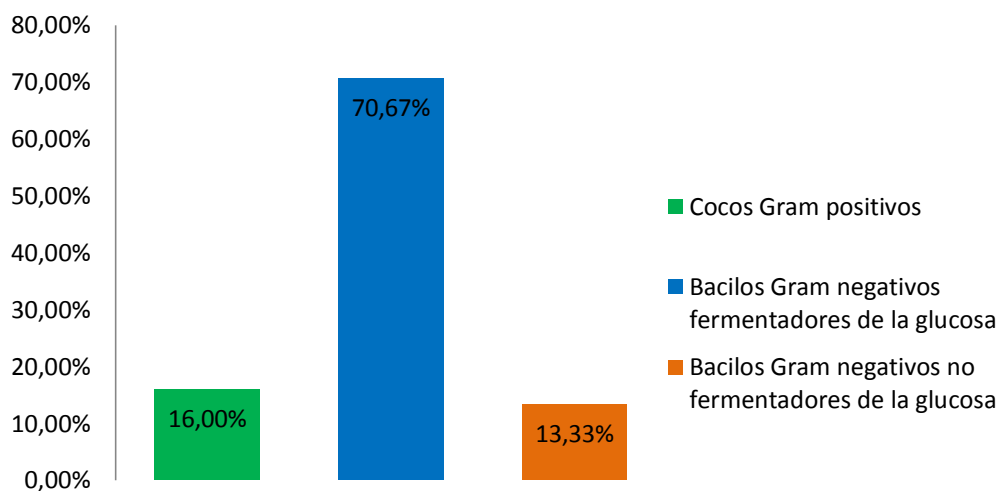


Gráfico 2. Microorganismos

aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016- Julio 2018.

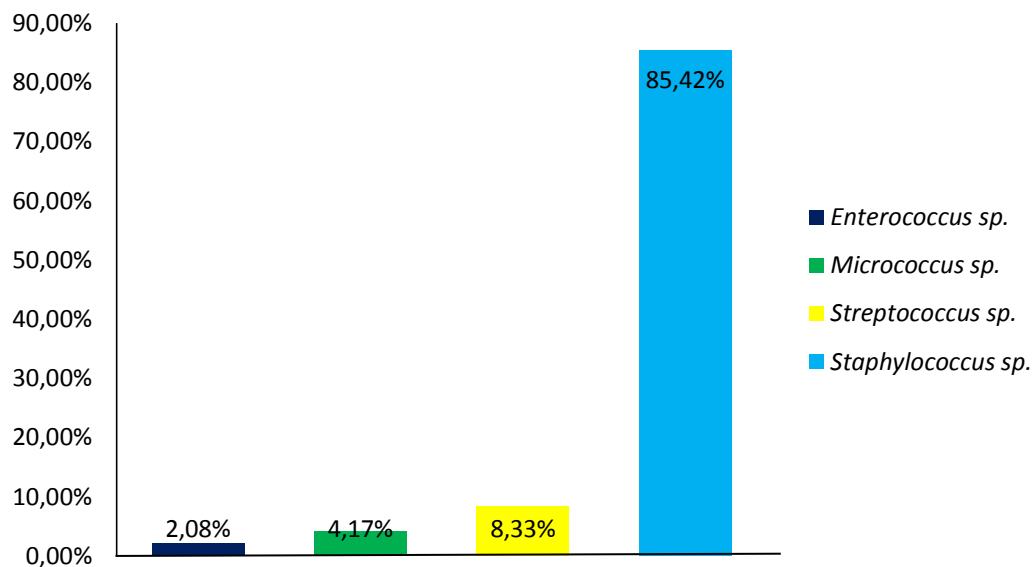
En la Tabla 7, gráfico 3, se llevó a cabo la determinación porcentual de 48 pacientes, a los cuales se les aisló cocos Gram positivos en las muestras recolectadas, donde se observó que el mayor porcentaje de cocos Gram positivos está constituido por el género *Staphylococcus* sp. representado en un ochenta y cinco con cuarenta y dos por ciento (85,42%), mientras que el género *Streptococcus* sp. se aisló en un ocho con treinta y tres por ciento (8,33%), en el caso del género *Micrococcus* sp. éste representó un cuatro con diecisiete por ciento (4,17%), y finalmente el género *Enterococcus* sp. constituyó sólo un dos con ocho por ciento (2,08%)

www.bdigital.ula.ve

Tabla 7. Cocos Gram positivos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016- Julio2018.

		Frecuencia	Porcentaje
Pacientes (n=48)	<i>Staphylococcus</i> sp.	41	85,42%
	<i>Streptococcus</i> sp.	4	8,33%
	<i>Micrococcus</i> sp.	2	4,17%
	<i>Enterococcus</i> sp.	1	2,08 %

Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019).



Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019).

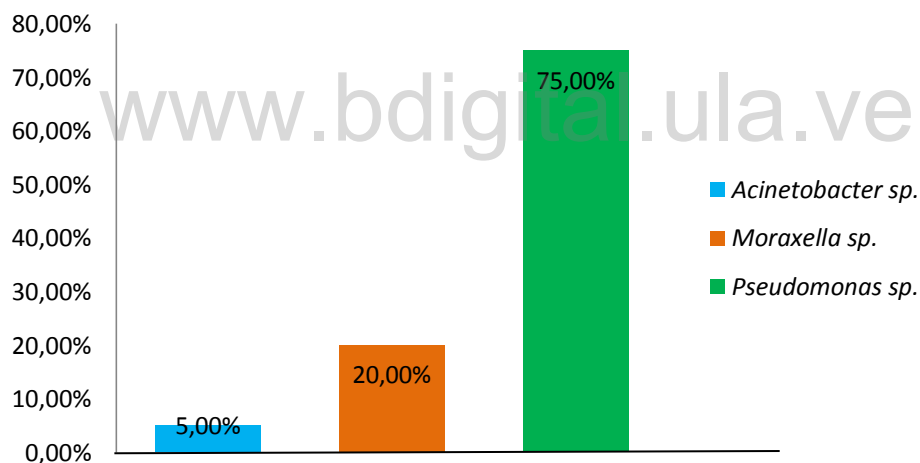
Gráfico 3. Cocos Gram positivos aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016- Julio2018.

En la Tabla 8, Gráfico 4, se estudió el valor porcentual de 40 pacientes, a los cuales se les aisló bacilos Gram negativos no fermentadores en las muestras respiratorias recolectadas, obteniéndose un setenta y cinco por ciento (75,00%) para el género *Pseudomonas sp.* luego se obtuvo un veinte por ciento (20%) para el género *Moraxella* y un cinco por ciento (5,00%) para el género *Acinetobacter sp.*

Tabla 8. Bacilos Gram negativos no fermentadores de la glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018

		Frecuencia	Porcentaje
Pacientes (n=40)	<i>Acinetobacter sp.</i>	2	5,00%
	<i>Moraxella sp.</i>	8	20,00%
	<i>Pseudomonas sp.</i>	30	75,00%

Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019).



Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019).

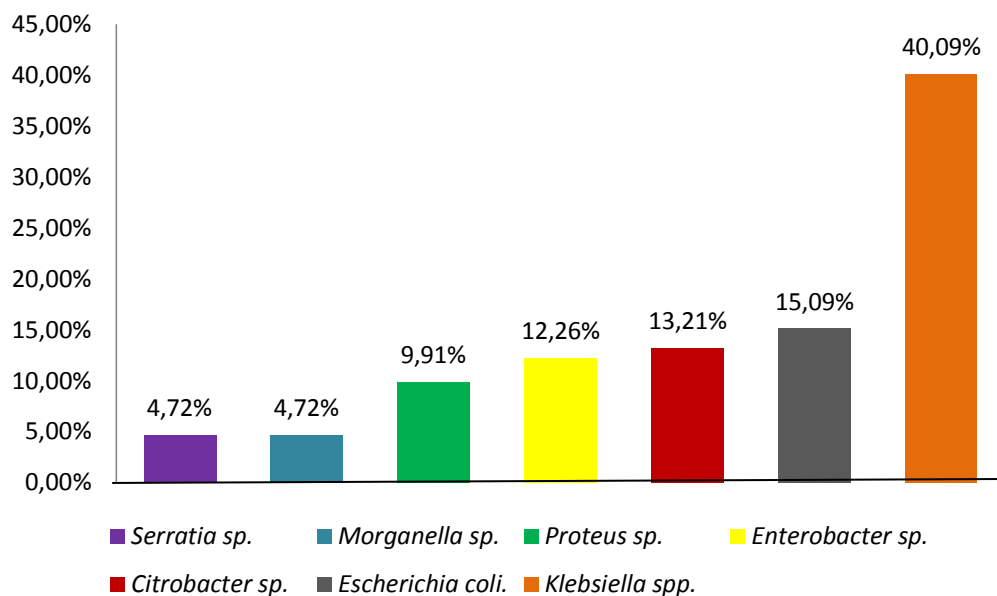
Gráfico 4. Bacilos Gram negativos no fermentadores de la glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018

En la Tabla 9, Gráfico 5, de 212 muestras respiratorias, se aisló gran variedad de Enterobacterias, esto permitió obtener un cuarenta con nueve por ciento (40,09%) del género *Klebsiella*, un quince con nueve por ciento (15,09%) de *Escherichia coli*, un trece con veintiuno por ciento (13,21%) de *Citrobacter sp.* , un doce con veintiséis por ciento (12,26%) de *Enterobacter sp.* , en el caso de *Proteus* se observó un nueve con noventa y uno por ciento (9,91%), *Morganella* y *Serratia* se aislaron en un cuatro con setenta y dos por ciento (4,72%) cada una.

Tabla 9. Bacilos Gram negativos fermentadores de la glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018.

		Frecuencia	Porcentaje
Pacientes (n=212)	<i>Serratia sp.</i>	10	4,72%
	<i>Morganella sp.</i>	10	4,72%
	<i>Proteus sp.</i>	21	9,91%
	<i>Citrobacter sp.</i>	28	12,26%
	<i>Escherichia coli.</i>	32	13,21%
	<i>Enterobacter sp.</i>	26	15,09%
	<i>Klebsiella spp.</i>	85	40,09%

Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019)



Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019)

Gráfico 5. Bacilos Gram negativos fermentadores de la glucosa aislados en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018.

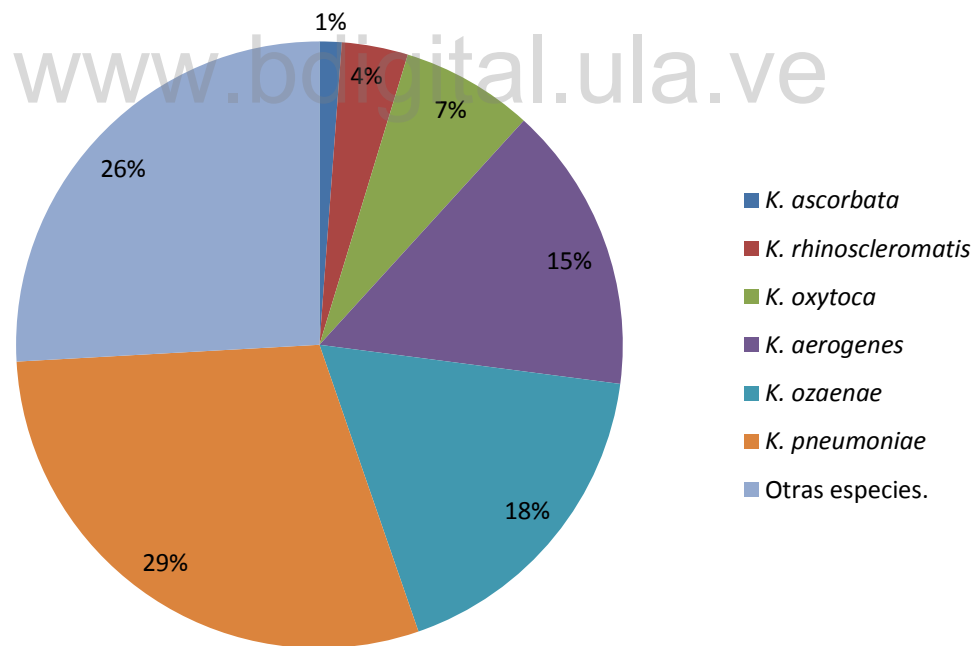
Nasofar

En la Tabla 10, Gráfico 6, de 300 muestras se logró aislar la cantidad de 85 cepas pertenecientes al género *Klebsiella* esto, permitió obtener un veintinueve con cuarenta y uno por ciento (29,41%) para *K. pneumoniae*, un veinticinco con ochenta y ocho por ciento (25,88%) para otras especies de *Klebsiella*, diecisiete con sesenta y cinco por ciento (17,65%) para *K. ozaenae*, un quince con veintinueve por ciento (15,29%) para *K. aerogenes*, un siete con seis por ciento (7,06%) para *K. oxytoca*, un tres con cincuenta y tres por ciento (3,53%) para *K. rhinoscleromatis* y finalmente se encontró el uno con dieciocho por ciento (1,18%) para *K. ascorbata*, tomando en cuenta que el microorganismo más predominante fue *K. pneumoniae*.

Tabla 10. Frecuencia de especies de *Klebsiella* en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018.

		Frecuencia	Porcentaje
Pacientes (n=85)	<i>Klebsiella ascorbata</i>	1	1,18%
	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	3	3,53%
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	6	7,06%
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	13	15,29%
	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	17,65 %
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	29,41%
	Otras especies	22	25,88%

Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019)



Fuente: (Zambrano y Alviárez 2019).

Gráfico 6. Frecuencia de especies de *Klebsiella* en muestras respiratorias. Laboratorio “Dr. Roberto Gabaldón Parra”. Enero 2016-Julio 2018.

Discusión

www.bdigital.ula.ve

Los resultados muestran claramente que el género *Klebsiella* está por encima de los cocos Gram positivos y de otros microorganismos Gram negativos, lo cual es indispensable discutirlo para ir en concordancia con los capítulos anteriores del proyecto de investigación.

Las Enterobacterias son responsables de más del 30% de las infecciones respiratorias, sin embargo existen pacientes con riesgo de colonización de orofaringe por Enterobacterias como son: pacientes geriátricos y pacientes con comorbilidades (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes mellitus, cirrosis hepática, insuficiencia renal crónica, alcoholismo, neoplasia, desnutrición (Vives., y Difabio., 2010).

Dentro del grupo de Enterobacterias que causan infecciones del tracto respiratorio, se encuentra; *E.coli*, y en menor grado *Klebsiella* y *Enterobacter*, constituyendo los patógenos más virulentos de este grupo. Sin embargo, en

España para el año 2003, el 93% de *K. pneumoniae* se aisló de pacientes hospitalizados, y un 51% de *E. coli* se aisló de pacientes de la comunidad, lo cual permitió obtener un aumento significativo en cuanto a la colonización por Enterobacterias, ya que para el año 1991 se obtuvo un 0,3% en pacientes hospitalizados y 0,7% en pacientes de la comunidad, y para el año 2003 se obtuvo un 11,8% en pacientes hospitalizados y un 5,5% en pacientes de la comunidad. (Fariñas., y Martínez., 2013)

El género *Klebsiella* es capaz de causar infecciones urinarias y neumonía en personas sanas, aunque casi todas las infecciones por este microorganismo se adquieren en el hospital u ocurren en pacientes debilitados por enfermedades subyacentes. Casi todos los pacientes con enfermedad pulmonar por *Klebsiella* presentan una bronconeumonía o una bronquitis, con frecuencia adquiridas en el hospital, donde llega a representar el 7-8% de las neumonías nosocomiales (Puerta A. y Mateos F. 2013)

Quiñones D., y cols., (2014) caracterizaron 448 aislamientos de *Klebsiella* spp. resultando *Klebsiella pneumoniae* la especie más prevalente (95.1%) y del total de aislamientos, 71% procedieron de pacientes hospitalizados y 29% de la comunidad los cuales no tuvieron ingreso hospitalario durante el último año por lo que se consideraron aislamientos comunitarios.

(Padilla., 2012) llevó a cabo el aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* obteniendo como resultado que *K. pneumoniae* causó un gran número de infecciones, entre ellas: infecciones urinarias (56,5%), faríngeas (10,9%), pulmonares (26,1%) e infecciones de heridas (6,5%).

En la presente investigación una de las especies más representativas en las muestras procesadas fue *K. pneumoniae*, la cual puede colonizar pacientes sanos, sin embargo puede causar neumonía e incluso necrosis

pulmonar y bacteriemia a pesar de considerarse una bacteria oportunista, siendo de vital importancia el estado inmunológico del paciente o alguna enfermedad de base, todo esto implicaría llevar a cabo un seguimiento de cada paciente, ya que se aislaron 25 cepas de *K. pneumoniae* en las muestras respiratorias, representadas por un 29,41%.

Cabe mencionar que una de las especies que representa un gran peligro es *Klebsiella rhinoscleromatis*, ya que está asociada con destrucción del tabique nasal y complicaciones del sistema respiratorio superior, esto permite evaluar el hallazgo de la misma en dicha investigación, donde se aislaron 3 cepas de *K. rhinoscleromatis*, representando un 3,53%, cabe destacar que dicho microorganismo presenta una amplia distribución geográfica. (Chan., y Spiegel., 2007)

Otros estudios (Artiles., y cols., 2000) han descrito a *K. ozaenae* como uno de los agentes responsables de enfermedades crónicas del tracto respiratorio superior, como lo es la ozena (enfermedad que causa inflamación y placas queratosas en la nariz), esto permite evidenciar el posible riesgo que representa esta especie bacteriana, tomando en cuenta que en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología se logró aislar 15 cepas de *K. ozaenae*, con un porcentaje de 17,65% en las muestras de secreción nasal y exudado faríngeo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El género *Klebsiella* representó el 40,09%, esto confirma gran prevalencia, respecto a las demás Enterobacterias aisladas. En el caso de las especies del género *Klebsiella*, se obtuvo un 29,41% de *K. pneumoniae*, bacteria intrahospitalaria, patógeno oportunista que causa infecciones de las vías respiratorias superiores, neumonía e infecciones del tracto urinario,

además de ser una bacteria aislada también en pacientes ambulatorios, esto permite observar mayor preponderancia respecto a las demás especies del género *Klebsiella*.

www.bdigital.ula.ve **Recomendaciones**

La vigilancia epidemiológica es de vital importancia para evitar complicaciones a futuro, así como la propagación de las enfermedades.

Es importante realizar una identificación correcta de cada microorganismo, debido a que muchos géneros bacterianos presentan resistencia natural a los antimicrobianos. Los sistemas API, facilitan la identificación bacteriana. La resistencia a los antimicrobianos es de vital importancia y el tratamiento debe basarse en el antibiograma.

Ainsworth R (Ed.), 2014. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 45(1), 25-36.

Álvarez M., Castro R., Abdo A., Orta S., Gómez M. 2015. Infecciones respiratorias altas recurrentes: Algunas consideraciones. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 24(1).

Araujo E., Dali C., Cantarelli V., Pereira A., & Mariante A. 2007. Microbiology of middle meatus in chronic rhinosinusitis. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 73(4), 549-55.

Artiles F., Bordes A., Conde A., Dominguez S., Ramos J., y Suárez S. 2000. Rinitis crónica atrófica e infección por *Klebsiella ozaenae*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 18(6), 299-300.

- Avilán J. 2016. El Boletín Epidemiológico Semanal. *Gaceta Médica de Caracas*, 116(1), 1-2.
- Batista N., Bordes A., Diez O., Lecuona M., y Lara M. 2006. Diagnóstico Microbiológico de las Infecciones del Tracto Respiratorio Superior. *Procedimientos en Microbiología Clínica, Capítulo 23, SEIMC*.
- Bravo, L., Majano, A., Fernández, A., Martínez, I., Núñez, F., Mederos, L., Ramírez, M., y Castro, G. 2013. Susceptibilidad antimicrobiana de bacilos Gram negativos anaerobios facultativos oxidasa positiva. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 28(1), 23-27.
- Brooks, G., (Ed). 2014. *Microbiología Médica*. Ciudad de México, México: Editorial: McGraw-Hill.
- Boletín Epidemiológico del Ministerio de Salud. Venezuela. Semana Epidemiológica N° 50. 2006. p 18.
- Botelho E., Gouriet F., Lepidi H., Couvret A., Amphoux B., Dessi P., y Raoult D. 2007. Infección nasal crónica causada por *Klebsiella rhinoscleromatis* o *Klebsiella ozaenae*: dos enfermedades infecciosas olvidadas. *Revista Internacional de Enfermedades Infecciosas*, 11(5), 423- 429.
- Bottiglieri M., García M., Berruezo F., Amieva C., y Pereyra L. 2016. Colonización por bacterias multirresistentes en unidades de alto riesgo de una institución polivalente. *Salud y Ciencia*, 22, 47-52.
- Chan T., y Spiegel J. 2007. *Klebsiella rhinoscleromatis* del tabique nasal membranoso. *La Revista de Laringología y Otología*, 121(10), 998-1002.
- Echeverría L., y Cataño J. 2014. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Iatreia*, 23(3), 240-249.

- Expósito L., Álvarez L., Bermellón S., Morales Y., y Drullet M. 2017. *Klebsiella pneumonia* aislada en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad. *Revista Información Científica*, 96(4), 658-666
- Fariñas M., y Martínez L. 2013. Infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes: Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos Gram negativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(6), 402-409.
- García C. 2013. Infecciones por Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido. *Revista Médica Herediana*, 24(2), 99-100.
- González J., y Murali A. 2016. Rinoescleroma con afectación faringolaríngea causado por *Klebsiella ozaenae*. *Case Reports in Infectious Diseases*, 20(16), 1-5.
- Guzmán M., Albarado L., Betancourt J., y Medina B. 2005. Bacterias patógenas en infecciones del tracto respiratorio. Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá". Cumaná, Estado Sucre. *Kasmera*, 33(1).
- Harrison T. (Ed). 2012. *Harrison. Principios de Medicina Interna*. Distrito Federal. México: McGraw-Hill.
- Hernández J., Conejo M., y Pascual A., 2013. El problema creciente de la resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(1), 27-31.
- Hernández R., Fernández C., y Baptista P. 2003. "Metodología de la Investigación". México. Pearson.
- Hurtado de Barrera, J. 2010. Guía para la comprensión holística de la ciencia. Tercera Edición, Fundación Sygal: Caracas. (Parte II Capítulo 3 y 4).
- Jiménez R. 2000. *Bioestadística. Métodos Estadísticos Descriptivos*. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.

- Kang C., Kim S., Bang J., Kim H., Oh M., y Choe K. 2006. Bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* adquirida en la comunidad versus nosocomial: características clínicas, resultados del tratamiento e implicaciones clínicas de la resistencia a los antimicrobianos. *Journal of Korean Medical Science*, 21(5), 816-822.
- Liu L., Feng Y., Hu Y., Kang M., Xie Y., y Zong Z. 2018. *Klebsiella grimontii*, una nueva especie resistencia adquirida a carbapenem. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2170.
- MacFaddin, J. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Madrid, España: Panamericana.
- Mandel G., Douglas R., y Bennett J. 2015. *Enfermedades Infecciosas*, Madrid, España: Elsevier.
- Morcom S., Phillips N., Pastuszek A., y Timperley D. 2016. Sinusitis. *Australian Family Physician*, 45(6), 374-377.
- Murray P., Baron, E., Pfaller M., Tenever F., & Tenover R. 1995. *Manual of clinical microbiology*. 6th ed. Washington, D.C: ASM Press.
- Murray R., y Baron, J. 2014. *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C: ASM Press.
- Murray P., Rosenthal K., y Pfaller M. 2017. *Microbiología Médica*. Barcelona, España: Elsevier.
- Padilla M. 2012. *Klebsiella pneumoniae*: aislamiento, identificación y resistencia a los antimicrobianos, hospital “Jaime Mendoza”. *Archivos Bolivianos de Medicina*, 19(87), 30-36.
- Parella S., y Martins F., 2006 La Metodología o Marco Metodológico. En metodología cuantitativa. Segunda edición. Caracas: FEDUPEL; p.73-81.
- Panduranga M., Vijendra S., Nithin M., y Nitishs S. 2013. Microbiological Analysis of Paranasal Sinuses in Chronic Sinusitis. A South Indian

Coastal Study. *Egyptian Journal of Ear, Nouse, Throat and Allied Science*, 14(3), 185-189

- Puerta A., y Mateos F. 2013. Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-3431.
- Quiñonez D., Carmona Y., Zayas A., Abreu M., Salazar D., Garcia S., y cols., 2014. Resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Klebsiella* spp. en hospitales de Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(3), 386-99.
- Rya K., y Ray C. 2013. Eficacia de algunos antibióticos en la infección por *Escherichia coli*. *Journal of Biosciences and Medicines*, 3(7), 31-53.
- Sánchez K., Velasco J., Araque M., Araujo E., Longa A., Nieves B., y Velazco E. 2011. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto respiratorio superior. En: Manual Práctico de Bacteriología Clínica. 1ª ed digital. Mérida: Vicerrectorado Académico ULA pag 31-46.
- Sejas A., y Condori R. 2018. Prevalencia de infecciones respiratorias y enfermedades diarreicas agudas en niños de villa Carmen-quillacollo, 2017. *Revista Científica Ciencia Médica*, 20(1), 50-59.
- Somogyi T., Alfaro W., Herrera M., y Herra F. 2005. Infecciones del tracto respiratorio: etiología bacteriana y viral en una población pediátrica. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 40(1).
- Shulman S., Bisno A., Clegg H., Gerber M., Kaplan E., Lee G., Martin J., y Van Beneden C. 2014. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la faringitis estreptocócica del grupo A. *Enfermedades Infeccionnes Clínicas*, 55(10), 1279-1282.
- Tarrico E., Trigoso C., Damiani M., y Estévez R., 2007. (Manual de aislamiento e identificación de patógenos Gram negativos asociados a infecciones intrahospitalarias). Ministerio de salud y deportes Instituto Nacional de Laboratorio en Salud. "Dr. Néstor Morales Villazón". Laboratorio Nacional de Referencia en bacteriología Clínica. La Paz-Bolivia.

- Tortora G., Funke B., y Case C. 2016. *Introducción a la Microbiología*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
- Torres J. 2014. Manejo de las infecciones respiratorias bacterianas en pediatría. *Revista Médica Clínica Condes*, 25(3), 412-417.
- Torrice E. 2019. Bacilos Gram negativos no fermentadores. Recuperado de <http://www.docplayer.es/>
- Vives M., y Difabio M. 2010. Tratamiento de las infecciones por Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3432-3439.
- Weinstein M., y cols., 2019. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. 29th ed.

www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

Anexo 1: Planilla para determinar la presencia de Klebsiella spp. en muestras provenientes del tracto respiratorio superior en pacientes de la comunidad.

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BACTERIOLOGÍA DR.
ROBERTO GABALDÓN PARRA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS

HOJA DE REQUISITO

Nº: _____

Fecha: _____

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Antibiótico	Microorganismo	Antibiótico	Microorganismo	Antibiótico	Microorganismo
-------------	----------------	-------------	----------------	-------------	----------------

Impresión Diagnóstica: _____
www.bdigital.ula.ve

Examen Solicitado: _____

Tipo de Muestra: _____

Fecha y Hora de la Toma de Muestra: _____

Terapia Antibiótica previa: SI ____ NO ____ Especifique: _____

____ Ultima Dosis: _____

Cultivo Anterior: SI ____ NO ____ Tipo de Microorganismo: _____

RESULTADO

Examen Directo

Microorganismos Aislados:

1. _____ 2. _____

_____ 3. _____

	1	2	3		1	2	3		1	2	3
Ácido Nalidíxico				Claritromicina				Ofloxacina			
Amikacina				Clavulanico/Amox				Oxacilina			
Ampicilina				Clindamicina				Penicilina			
Amoxicilina				Cloranfenicol				Perfloxacina			
Azitromicina				Colimicina				Piperacilina			
Aztreonam				Eritromicina				Piperacilina/Tazb			
Cefaclor				Estreptomina 300mg				Rifampicina			
Cefalotina				Fleroxacina				Sulbactan/ Ampic			
Cefepime				Fosfomicina				Sulbactan/Cefope			
Cefixime				Gentamicina				Sulfa/Trimetropin			
Cefoxitina				Gentamicina 120ug				Sulfisoxazol			
Cefpirome				Imipenem				Tetraciclina			
Cefpodoxime				Lomefloxacina				Teicoplanina			
Cefotaxima				Levofloxacina				Ticarcilina			
Ceftazidima				Meropenem				Ticarcilina/Clav			
Ceftibuten				Moxifloxacina				Tobramicina			
Ceftriaxona				Netimicina				Vancomicina			
Cefuroxima				Nitrofuradantoina							
Ciprofloxacina				Norfloxacina							

www.bdigital.ula.ve

S: Sensible

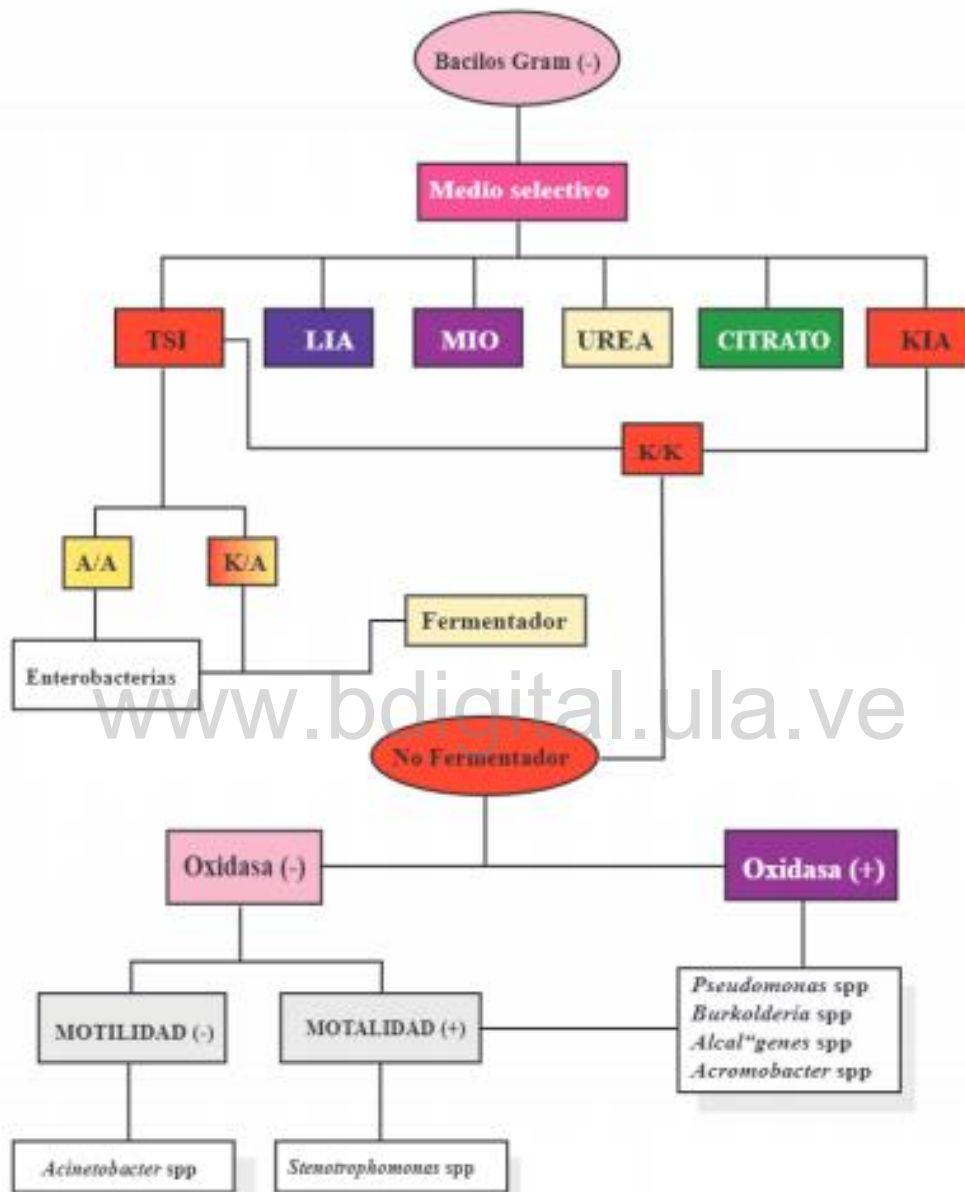
R: Resistencia

I: Intermedio

Fecha: _____ Procesado por: _____ Firma _____

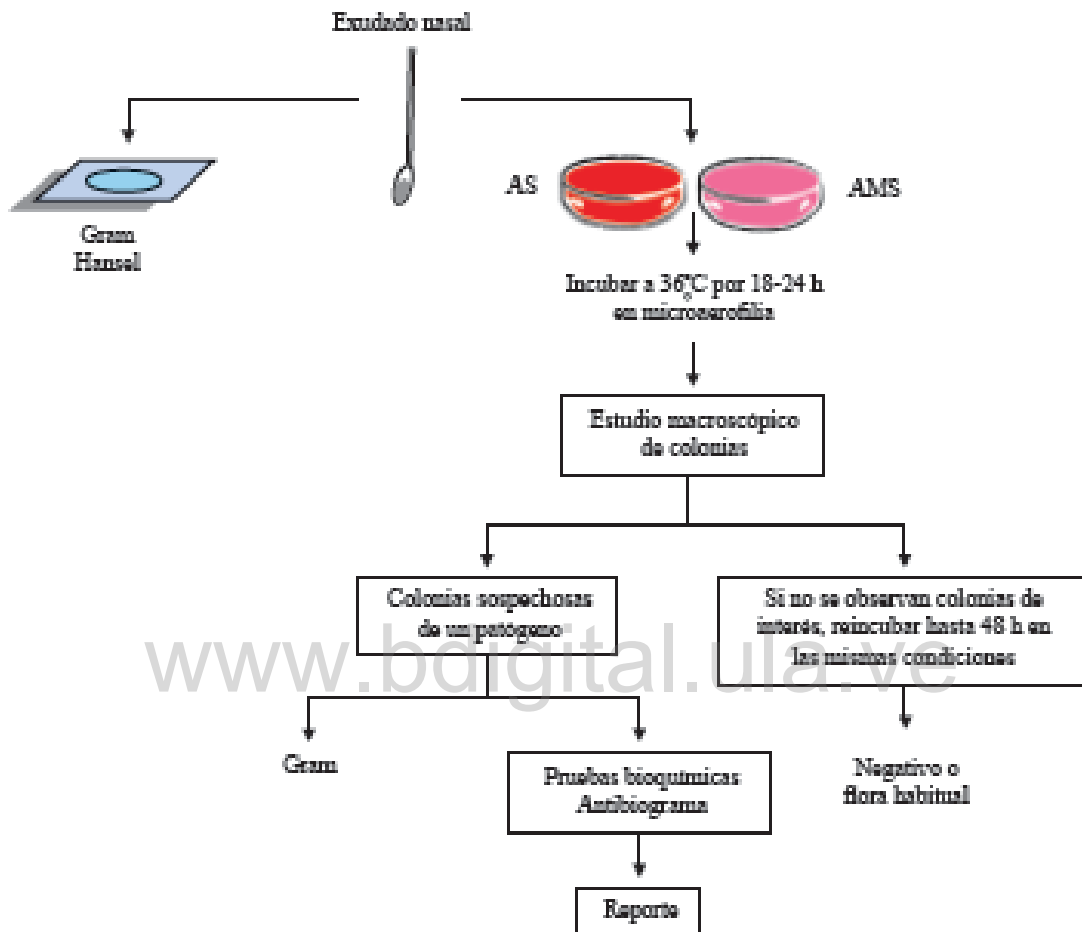
Observaciones:

Anexo 2: Identificación de bacilos Gram negativos no fermentadores.



Torrice E. 2019. Bacilos Gram negativos no fermentadores.

Anexo 3: Identificación de cocos Gram positivos.



Sánchez K. y cols., 2011 (Manual Práctico de Bacteriología Clínica)