

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS PATRONES DE
SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LAS BACTERIAS NO FERMENTADORAS,
AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS DE PACIENTES INTERNOS EN EL
HOSPITAL REGIONAL DE OCCIDENTE "SAN JUAN DE DIOS",
QUETZALTENANGO.

MARGARETH ESPERANZA CUÉLLAR SAGASTUME
QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, FEBRERO DEL 2004

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS PATRONES DE
SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LAS BACTERIAS NO FERMENTADORAS,
AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS DE PACIENTES INTERNOS EN EL
HOSPITAL REGIONAL DE OCCIDENTE "SAN JUAN DE DIOS",
QUETZALTENANGO.

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

MARGARETH ESPERANZA CUÉLLAR SAGASTUME

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, FEBRERO DEL 2004

INDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Bacilos Gramnegativo no fermentadores	5
1. Metabolismo de los no fermentadores	5
a. Metabolismo fermentativo y oxidativo	5
i) Vía de Emden-Meyerhof-Parnas	6
ii) Vía de Entner-Doudoroff	6
iii) Vía de la hexosa monofosfato de Warburg-Dickens	7
2. Indicios de que un aislamiento es un no fermentador	7
a. Falta de evidencia de fermentación de la glucosa	7
b. Reacción positiva de citocromo-oxidasa	7
c. Falta de desarrollo en agar MacConkey	7
3. Pruebas utilizadas para la identificación de los no fermentadores	8
a. Utilización de la glucosa	8
4. Bacilos Gramnegativo no fermentadores de importancia clínica	9
a. Microorganismos inmóviles con flagelos polares	9
i) Familia <i>Pseudomonadaceae</i>	9
ii) Familia <i>Methylococcaceae</i>	16
b. Microorganismos de ubicación taxonómica dudosa	16
i) Género <i>Roseomonas</i>	16
ii) Género <i>Balneatrix</i>	16
c. Microorganismos móviles con flagelos peritricos	16
i) Familia <i>Alcaligenaceae</i>	16
ii) Familia <i>Rhizobiaceae</i>	17
d. Microorganismos de ubicación taxonómica dudosa	17
i) Género <i>Achromobacter</i>	17
ii) Género <i>Ochrobactrum</i>	18
iii) Género <i>Oligella</i>	18
e. Microorganismos inmóviles oxidasa positivos	18
i) Familia <i>Flavobacteriaceae</i>	18
f. Microorganismos de ubicación taxonómica dudosa	18
i) Género <i>Sphingobacterium</i>	18
ii) Género <i>Moraxella</i>	19
g. Microorganismos inmóviles oxidasa negativos	19
i) Género <i>Acinetobacter</i>	19

	Página
5. Antimicrobianos	23
a. Clasificación	24
b. Mecanismos de acción	24
i) Inhibidores de la síntesis de pared celular	25
ii) Inhibidores de la síntesis de proteínas	27
iii) Inhibidores de la función de la membrana celular	29
iv) Antagonistas competitivos	29
6. El laboratorio en la orientación del tratamiento antimicrobiano	30
a. Principio de la prueba de susceptibilidad por difusión con discos	31
i) Test de Bauer – Kirby	31
ii) Prueba de susceptibilidad por microdilución en caldo	34
iii) Prueba de E-test	34
7. Resistencia antimicrobiana	35
a. Bases genéticas de la resistencia	35
i) Selección de mutantes resistentes	35
ii) Resistencia por intercambio genético	36
b. Mecanismos bioquímicos implicados en la resistencia a antibióticos	37
i) Disminución de la permeabilidad celular hacia el antibiótico	37
ii) Inactivación enzimática del antibiótico	38
iii) Modificación química de la diana del antibiótico	40
iv) Síntesis de una nueva enzima resistente	41
8. Susceptibilidad a los patógenos nosocomiales	42
a. Emergencia de las infecciones nosocomiales	42
b. Prevención y control de las infecciones nosocomiales	43
IV. JUSTIFICACION	45
V. OBJETIVOS	46
VI. HIPÓTESIS	47
VII. MATERIALES Y METODOS	48
VIII. RESULTADOS	51
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	70
X. CONCLUSIONES	76
XI. RECOMENDACIONES	78
XII. REFERENCIAS	81
XIII. ANEXOS	83

I. RESUMEN

La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico natural, el cual se ve aumentado muchas veces debido a la mala utilización que hace el hombre de los antibióticos y a la indiferencia demostrada a las consecuencias de ese hecho.

El aumento general de la resistencia a los medicamentos antimicrobianos, incluida la aparición de cepas de bacterianas resistentes a todos los agentes antibacterianos disponibles, ha creado un problema de salud pública de grandes proporciones, con potencialidad de crisis. Debido a la relevancia que ha cobrado el fenómeno de la resistencia a nivel mundial, se realizó este estudio descriptivo y transversal en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios ubicado en el departamento de Quetzaltenango. Se tomaron 151 muestras de pacientes internos en este Hospital, cuyos cultivos fueron positivos para el aislamiento de bacilos Gramnegativo no fermentadores, de los cuales se llevo a cabo la identificación y determinación de sus patrones de susceptibilidad antibiótica.

Los cultivos positivos para bacilos Gramnegativo no fermentadores se sometieron a análisis mediante el sistema semiautomatizado Microscan®, de Merck. El resultado de la identificación se obtuvo en una hoja de papel impresa por la máquina, la cual contiene el nombre de la bacteria identificada, y los patrones de susceptibilidad hacia un panel de antibióticos que se compara con los parámetros de la NCCLS. El panel de consta de 20 antibióticos, de los cuales la mayoría están disponibles en el Hospital; dentro de estos antibióticos se incluyen: ampicilina/sulbactam, ampicilina, cefalotina, cefazolina, cefepime, cefotaxima, cefotetán, cefpodoxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, ofloxacina, piperacilina/tazobactam, piperacilina, ticarcilina/ácido clavulánico, tobramicina y trimetoprim/sulfametoxazol.

Los resultados se analizaron por medio del programa Whonet 5 versión de evaluación, que realiza un análisis de frecuencia para la descripción de la población. En este estudio se encontró que del total de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados, el 31% corresponde a *Pseudomonas aeruginosa*, seguida de *Acinetobacter baumannii* con un 28%. Con respecto al origen de la muestra, los aislamientos más

frecuentes fueron en heridas (50%), seguido por sangre (11%), catéteres (11%) y aspirados traqueales (7%).

En las muestras provenientes de heridas y catéteres *Acinetobacter baumannii* fue el bacilo aislado en mayor porcentaje; en muestras de sangre fueron *Empedobacter brevis* y *Chryseobacterium indologenes* y en aspirados traqueales fue *Pseudomonas aeruginosa*. En los servicios de Medicina Interna, Cirugía y Unidad de Cuidados Intensivos fueron en los que se obtuvieron los mayores porcentajes de aislamiento con 50%, 18% y 17% respectivamente.

Con respecto a los patrones de susceptibilidad antibiótica encontrados, existe un alto porcentaje de resistencia de los bacilos Gramnegativo no fermentadores hacia la cefalotina, cefazolina y cefuroxima; y una menor resistencia a imipenem, piperacilina/tazobactam, cefepime, ceftazidima, y ticarcilina/ácido clavulánico.

Existen altos porcentajes de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* con idénticos patrones de susceptibilidad antibiótica que se han constituido en cepas nosocomiales como producto de la forma de utilización de los antibióticos disponibles. Se observó una alta multirresistencia de las todas las cepas aisladas de bacilos Gramnegativo no fermentadores pues la resistencia comprende entre 11 y quince antibióticos. Los porcentajes de no susceptibilidad hallados, son indicadores de un aumento progresivo de la resistencia antibiótica.

Los estudios de resistencia antibiótica como el presente, son de ayuda en la instauración de políticas de uso adecuado de los antibióticos, para desacelerar los procesos de selección que producen el desarrollo de cepas multirresistentes causantes de infecciones nosocomiales.

La comprensión de la necesidad del uso adecuado y racional de los antibióticos que aún disponen de vida útil es tarea tanto del personal de salud como de los pacientes e involucra mejoras tanto en educación como en actitudes.

II. INTRODUCCION

La era de la quimioterapia contra las enfermedades infecciosas tiene ahora más de 40 años; esos años de han visto marcados por el continuo desarrollo e introducción de nuevos y potentes agentes antimicrobianos, paralelo al de la resistencia bacteriana.

La resistencia microbiana o pérdida de susceptibilidad de un microorganismo hacia un antimicrobiano al que originalmente fue susceptible, deriva tanto de su abuso o prescripción innecesaria, como de la interrupción de los tratamientos. Lo que la utilización abusiva e incontrolada de los antibióticos ha provocado, es una presión selectiva sobre las bacterias, surgiendo microorganismos con mecanismos de resistencia cada vez más complejos que han hecho que gran parte de los antibióticos utilizados actualmente pierdan su actividad.

La situación de los hospitales es cada vez más grave, pues es allí donde más antibióticos se utilizan ya sea para prevenir, o para tratar infecciones. Este es uno de los motivos principales por los que más de la mitad de las infecciones nosocomiales está causada por microorganismos resistentes a los antibióticos.

Los bacilos Gramnegativo no fermentadores son frecuentemente aislados de muestras de pacientes internos en el Hospital Regional de Occidente del departamento de Quetzaltenango y algunas cepas de ellos se han visto involucrados como causa de infecciones nosocomiales, observándose el surgimiento de cepas multirresistentes de los mismos.

Con el presente estudio, se pretendió identificar a los bacilos Gramnegativo no fermentadores que con mayor frecuencia son causa de infecciones intrahospitalarias y establecer sus patrones de susceptibilidad antibiótica, mediante la utilización de un sistema semiautomatizado. Los patrones de susceptibilidad que se obtengan pueden constituir una ayuda en la adecuada selección de regímenes antibióticos, que incluyan la utilización de antimicrobianos disponibles y efectivos contra el microorganismo en cuestión, y además que contribuya a contrarrestar el impacto que la resistencia microbiana representa en términos de costos para la institución de salud, en donde al igual que en el resto de la red hospitalaria, los recursos financieros son limitados, y en donde aún no se comprende la importancia de este fenómeno global.

La resistencia bacteriana constituye uno de los mayores retos de la humanidad, ya que los niveles de resistencia alcanzados actualmente por muchas bacterias causantes de las infecciones más comunes, nos obligan a tomar acciones que tiendan a limitar su diseminación y reducir el impacto en morbi-mortalidad que provocarían las mismas de llegarse a transformar en un problema generalizado.

En este sentido, la vigilancia de los patrones de susceptibilidad antibiótica se constituye en una de nuestras principales armas de defensa contra la diseminación de la resistencia bacteriana dentro de un hospital.

III. ANTECEDENTES

A. Bacilos Gramnegativo no fermentadores

Los bacilos Gramnegativo no fermentadores constituyen un grupo que comprende una diversa colección de microorganismos, relacionados por la tinción de Gram, su morfología, carencia de esporas y un metabolismo aerobio no fermentativo (1).

Dentro de este grupo se encuentran varios géneros entre ellos: *Achromobacter*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Balnaetrix*, *Bergeyella*, *Bordetella*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Chyseomonas*, *Comamonas*, *Empedobacter*, *Flavimonas*, *Flavobacterium*, *Methylobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Roseomonas*, *Shewanella*, etc (2).

1. Metabolismo de los no fermentadores

La mayoría de bacterias que se encuentran en la clínica obtienen energía de la utilización de hidratos de carbono por medio de una o varias vías metabólicas. Para identificar las especies bacterianas que pueden ser causantes de enfermedades infecciosas, es necesaria la detección y medición de sus diferentes productos metabólicos (2).

a. Metabolismo fermentativo y oxidativo La degradación bacteriana de los hidratos de carbono tiene lugar a través de varias vías metabólicas en las cuales se transfieren sucesivamente iones hidrógeno (electrones) a compuestos de potencial redox más alto, con la liberación final de energía en forma de trifosfato de adenosina (ATP). Todos los hidratos de carbono de seis, cinco y cuatro átomos de carbono se degradan inicialmente a ácido pirúvico, intermediario inicial. La glucosa es el principal carbohidrato proveedor de carbono para las bacterias y su degradación se lleva a cabo por tres vías principales: la de Embden-Meyerhof-Parnas, la de Entner-Doudoroff y la de Warburg-Dickens (de la hexosa monofosfato) (2).

i) Vía de Emden-Meyerhof-Parnas (EMP) Debido a que en ella la glucosa se degrada sin oxígeno, también ha sido llamada vía **glucolítica** o **anaerobia**; la utilizan las bacterias anaerobias y, hasta cierto punto, también las anaerobias facultativas. Esta vía fue llamada por mucho tiempo vía fermentativa. Se dice que existe metabolismo fermentativo en un sistema glucolítico cuando los compuestos orgánicos funcionan como aceptores finales de hidrógeno (electrones) (2).

Puede dividirse en tres partes principales; la primera es una serie de reacciones de rearrreglo preparatorio que no implica oxidación-reducción y produce el intermediario clave gliceraldehído-fosfato. En la segunda parte, tiene lugar una reacción de oxidación-reducción, se produce energía (en forma de ATP) y se produce piruvato. En la tercera parte, el ácido pirúvico es oxidado y cede sus iones hidrógeno al lactato de sodio, para formar ácido láctico o a otras sales orgánicas para formar un ácido mixto (ácidos succínico y acético) (1,2,3).

Estos ácidos son el producto final de la vía EMP y responsables de la caída del pH en las pruebas de fermentación utilizadas para identificar bacterias. Los productos glucolíticos formados por fermentación tienen una acidez relativamente fuerte, que se detecta fácilmente por los indicadores de pH y pueden producirse grandes cantidades de gas (2).

ii) Vía de Entner-Doudoroff También se denomina **vía aerobia** debido a que se necesita oxígeno para que haya glucólisis. Al carecer de las enzimas deshidrogenasa necesarias para oxidar el ácido pirúvico a ácido láctico y otros ácidos mixtos, las bacterias oxidativas transfieren los iones hidrógeno disponibles del ácido pirúvico al ciclo de Krebs donde finalmente se unen al oxígeno elemental para formar agua. Se define al metabolismo oxidativo de los hidratos de carbono como las reacciones productoras de energía que requieren oxígeno molecular (u otros elementos inorgánicos) como aceptor terminal de hidrógeno (1,2).

Los ácidos que se forman por ésta vía (glucorónico y sus derivados) y los producidos en el ciclo de Krebs (cítrico y sus derivados) son extremadamente débiles en comparación con los ácidos mixtos que se forman en la fermentación. Debido a que el producto final del metabolismo oxidativo es el agua, los microorganismos oxidativos no forman gas a partir de los hidratos de carbono (2,4).

iii) Vía de la hexosa monofosfato de Warburg-Dickens

Las

bacterias anaerobias facultativas son capaces de desarrollarse en la superficie de una placa de agar en presencia de oxígeno o en un medio anaerobio. Que el microorganismo pueda desarrollarse en un medio aerobio no significa necesariamente que utilice el oxígeno para sus procesos metabólicos. Es decir, no todos los aerobios son oxidativos. Muchos de los anaerobios pueden utilizar la vía EMP o la ED indistintamente, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se desarrollan. La vía de la hexosa monofosfato (HMP) es en realidad un híbrido de las vías EMP y ED (1,4).

2. Indicios de que un aislamiento es un no fermentador

a. Falta de evidencia de fermentación de la glucosa

Los ácidos

producidos por los no fermentadores son más débiles que los ácidos mixtos producidos por las bacterias fermentadoras; por lo tanto, el pH de un medio para fermentadores en el cual se desarrolla un no fermentador puede no caer lo suficiente como para hacer virar el indicador de pH. El indicio inicial de que un microorganismo desconocido es un no fermentador es la falta de producción de ácido en medio KIA o TSI, que se manifiesta en ambos casos como un pico de flauta alcalino (rojo) y una fondo alcalino (2).

b. Reacción positiva de citocromo-oxidasa

Puede sospecharse que toda

colonia de un bacilo Gramnegativo que crece en agar sangre u otro medio de aislamiento que sea citocromo-oxidasa positivo pertenece al grupo de no fermentadores. Sin embargo, no todos los bacilos Gramnegativo oxidasa positivos son no fermentadores (especies de *Pasteurella*, especies de *Aeromonas*, especies de *Plesiomonas*, especies de *Vibrio* y otras) lo que demuestra la importancia de la determinación de la forma de utilización de la glucosa mediante la siembra de TSI o KIA.

c. Falta de desarrollo en agar MacConkey

Puede sospecharse que un

bacilo Gramnegativo que se desarrolla en agar sangre pero poco o nada en agar MacConkey es un no fermentador. La capacidad de las bacterias para crecer en éste agar se determina por inspección con luz de la superficie de las placas incubadas durante 24 a 48 horas (2).

3. Pruebas utilizadas para la identificación de no fermentadores

a. Utilización de la glucosa Los medios de cultivo utilizados para detectar la producción de ácido por los fermentadores no son adecuados para el estudio de los no fermentadores pues no soportan el desarrollo de muchas cepas y los ácidos producidos son muy débiles como para hacer virar el indicador de pH. Hugh y Leifson crearon el medio OF que contiene peptona al 0.2% y 1.0% de hidratos de carbono (relación peptona carbohidratos 1:5 a diferencia de la relación 2:1 de los medios para fermentación de hidratos de carbono). La disminución de la peptona minimiza la formación de productos de oxidación a partir de aminoácidos, que elevan el pH del medio y pueden neutralizar los ácidos débiles que producen los no fermentadores. Además, el aumento de la concentración de hidratos de carbono incrementa la producción de ácido por parte del microorganismo. La consistencia semisólida del agar, y el azul de bromotimol como indicador sirven para aumentar la detección de ácidos (2).

Para la prueba se necesitan dos tubos; el medio de uno de ellos queda expuesto al aire y el otro se cubre con vaselina o parafina líquida. Los microorganismos oxidativos producen ácido sólo en el tubo expuesto al oxígeno; los fermentadores producen ácido en ambos tubos y las bacterias no sacarolíticas son inertes en éste medio, que se conserva alcalino después de incubarlo.

Otras pruebas de utilidad para la identificación de microorganismos no fermentadores son las siguientes:

- ▶ Motilidad
- ▶ Producción de pigmento
- ▶ Hidrólisis de la urea
- ▶ Reducción de nitratos
- ▶ Desnitrificación de nitratos y nitritos
- ▶ Producción de indol
- ▶ Descarboxilación
- ▶ Hidrólisis de la esculina
- ▶ Coloraciones para flagelos (2).

4. Bacilos Gramnegativo no fermentadores de importancia clínica

1.1.1 a. Microorganismos móviles con flagelos polares

i) Familia *Pseudomonadaceae*

Pseudomonas aeruginosa *Pseudomonas aeruginosa* pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*, que constituye una mezcla compleja de patógenos oportunistas de plantas y animales. Sus miembros poseen la característica de ser bacilos Gramnegativo rectos o ligeramente curvos, aerobios estrictos; la mayoría de las cepas son móviles, por medio de uno o más flagelos polares; utilizan la glucosa y otros hidratos de carbono oxidativamente y por lo general son citocromo-oxidasa positivos (3).

Se han creado dos esquemas para clasificar a los microorganismos de la familia *Pseudomonadaceae*. Uno de ellos se basa en las características fenotípicas y divide a los pseudomonadales en siete grupos: *fluorescent*, *stutzeri*, *alcaligenes*, *seudomallei*, *acidovorans*, *facilis-delafieldii* y *diminuta*. El segundo esquema, se basa en estudios de homología de rRNA-DNA y ubica a los pseudomonadales en uno de cinco grupos de homología de rRNA que a su vez incluye varios subgrupos menores de homología de DNA (anexo No.1) (2).

Pseudomonas aeruginosa se encuentra dentro del grupo I rRNA y dentro del grupo fluorescente junto con otras dos especies: *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida* (anexo No. 2). Estas dos especies se encuentran en aguas y suelos, y pueden existir en los suministros de agua hospitalarios. Ambas pueden encontrarse como parte de la microbiota normal de la faringe y son patógenos oportunistas raros para el hombre. *P. putida* produce sepsis relacionada con catéteres en pacientes cancerosos y artritis séptica. Ambas especies han sido relacionadas con bacteremia producida por transfusiones de sangre. Aunque la mayoría de los miembros de las *Pseudomonaceae* se clasificaban originalmente dentro del género *Pseudomonas*, actualmente cada uno de los cinco grupos de rRNA representan grupos genéticos taxonómicamente diferentes y por ello se han asignado nuevos nombres de género a cada uno de los grupos de rRNA. Sólo los miembros del grupo I retienen la designación de género *Pseudomonas* (2).

Las especies del grupo fluorescente se caracterizan por producir un pigmento hidrosoluble, la pioverdina, que fluoresce entre blanco y azul verdoso con luz UV de onda larga (400nm). Los tres miembros del grupo producen pioverdina; de ellos, sólo *P. aeruginosa* produce el característico pigmento azul hidrosoluble piocianina. *P. aeruginosa* es el pseudomonadal que con mayor frecuencia se aísla de las muestras clínicas (5).

Distribución Puede encontrarse en la mayoría de ambientes húmedos y en ocasiones, en la microbiota normal intestinal o de la piel. Los fregaderos, el equipo de asistencia respiratoria y los humidificadores suelen constituir importantes reservorios. La capacidad de usar moléculas orgánicas simples como fuente de energía y carbono permite su multiplicación en soluciones (tales como antisépticos débiles, solución salina y soluciones jabonosas) que no permitirían el crecimiento de la mayoría de bacterias. Además los enfermos pueden infectarse sistémicamente a partir de su propia microbiota normal (6,7).

A causa de la ubicuidad de éste microorganismo, puede encontrarse en muestras clínicas como contaminante sin relación alguna con la enfermedad. Para evaluar la relevancia clínica de un aislado es importante el conocimiento de la situación clínica del paciente, ya que rara vez infecta a los individuos sanos no hospitalizados. Sin embargo, *Pseudomonas aeruginosa* es responsable de algunas de las infecciones más graves y mortales en individuos inmunodeprimidos. Exhibe niveles inusualmente elevados de resistencia a muchos antibióticos; de ahí que la introducción de antibióticos de amplio espectro, que suprimen la microbiota normal ha traído como consecuencia su aparición como importante patógeno nosocomial (7).

Patogenicidad - Síndromes clínicos La infección por *Pseudomonas aeruginosa* es especialmente prevalente en pacientes con quemaduras, fibrosis quística, leucemia aguda, transplantes de órganos y adicción a drogas intravenosas. Las infecciones se observan habitualmente en los sitios en los que tiende a acumularse humedad: traqueostomías, catéteres permanentes, quemaduras, oído externo (oído del nadador) y heridas cutáneas exudativas. La exudación de pus azulado, con olor a uvas producido por la piocianina, es característica (6).

P. aeruginosa también produce infecciones del tracto urinario y del tracto respiratorio inferior; éstas últimas pueden ser graves e incluso amenazantes para la vida

en hospederos inmunocomprometidos. El microorganismo también produce infecciones oculares devastadoras (queratitis, infección de úlceras de córnea, endoftalmitis). También existen casos de endocarditis, meningitis, abscesos cerebrales e infecciones óseas por diseminación hemática (5).

La bacteremia producida por *Pseudomonas aeruginosa* no se diferencia clínicamente de las infecciones producidas por otras bacterias Gramnegativo, pero su índice de mortalidad es mayor, lo que se debe a su predilección por pacientes inmunodeprimidos y a su virulencia específica. La bacteremia por *P. aeruginosa* es particularmente común en pacientes con neutropenia secundaria a tratamiento inmunosupresor, diabetes mellitus, quemaduras extensas y neoplasias hematológicas. La mayoría se producen a partir de infecciones del tracto respiratorio inferior, tracto urinario, tejidos blandos y piel (particularmente infecciones de heridas). Además la cateterización intravenosa o urinaria prolongada, los procedimientos quirúrgicos invasivos y las quemaduras graves posibilitan que el microorganismo burle la protección de la capa dérmica y colonice diversos tejidos produciéndose la septicemia (2).

La endocarditis es más frecuente en drogadictos por vía parenteral; la válvula tricúspide es la que se afecta con mayor frecuencia y la infección cursa crónicamente. En enfermos con fibrosis quística, el tracto respiratorio se ve colonizado por *P. aeruginosa* al final de la enfermedad y con frecuencia la muerte sobreviene por complicaciones pulmonares de la infección crónica. Los pacientes inmunocomprometidos y neutropénicos están muy expuestos a infecciones por *Pseudomonas* por el uso de equipamientos de terapia respiratoria contaminados. La enfermedad de ésta población se caracteriza por una bronconeumonía difusa, bilateral, con formación de microabscesos y necrosis tisular. En las infecciones graves se produce bacteremia (2).

La otitis externa suele ser consecuencia de *P. aeruginosa*; la natación representa un factor de riesgo. Existe una forma más virulenta de la enfermedad (otitis externa maligna) que se asocia a invasión de los tejidos subyacentes y es potencialmente mortal. Este microorganismo también suele asociarse a otitis media crónica (2,5).

La colonización de una quemadura por *P. aeruginosa*, seguida de daño vascular localizado, necrosis tisular y, por último, bacteremia, puede darse en pacientes que han

sufrido quemaduras graves. La superficie húmeda de la quemadura y la ausencia de respuesta neutrofílica a la invasión tisular predisponen a los pacientes a la infección.

P. aeruginosa se asocia a otras infecciones como las que se localizan en el tracto gastrointestinal y urinario, ojo, sistema nervioso central y sistema músculo-esquelético.

Las condiciones necesarias para la aparición de estas infecciones son la presencia del microorganismo en un reservorio húmedo y la ausencia de defensas en el hospedero (5).

Factores de virulencia *Pseudomonas aeruginosa* produce varias sustancias que se supone aumentan la colonización e infección de los tejidos del hospedero. Estas sustancias junto con una variedad de factores de virulencia, incluidos el lipopolisacárido (LPS), la exotoxina A, la leucocidina, la viscosidad extracelular, las proteasas, la fosfolipasa y otras enzimas hacen de *P. aeruginosa* la bacteria de mayor importancia clínica dentro de los bacilos Gramnegativo no fermentadores. Con frecuencia se aísla un morfotipo inusual mucoide de *P. aeruginosa* a partir de secreciones respiratorias de pacientes con enfermedad fibroquística infectados crónicamente por ésta bacteria. Este morfotipo se debe a la producción de grandes cantidades de mucopolisacárido (llamado alginato) que rodea a la célula (2).

Los factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* son:

- ▶ Alginato: polisacárido capsular que permite que se adhiera a las superficies epiteliales pulmonares y forme una película biológica.
- ▶ Pili: apéndices superficiales que permiten su adhesión a los receptores del gangliósido GM-1 presente en la superficie de las células epiteliales del hospedero.
- ▶ Neuraminidasa: elimina ácido siálico y residuos de los receptores de gangliósido GM-1, lo que facilita la unión de los pili.
- ▶ Lipopolisacárido: produce endotoxina y es la causa del síndrome séptico: fiebre, shock, oliguria, leucopenia o leucocitosis, coagulación intravascular diseminada, anomalías metabólicas.
- ▶ Exotoxina A: produce destrucción tisular, inhibición de la síntesis proteica; interrumpe la actividad celular y la respuesta macrofágica.

- ▶ Enterotoxina: interrumpe la actividad gastrointestinal normal, lo que produce diarrea.
- ▶ Exoenzima S: inhibe la síntesis proteíca.
- ▶ FosfolipasaC: destruye la membrana citoplasmática; destruye el surfactante pulmonar; inactiva las opsoninas.
- ▶ Elastasa: degrada las inmunoglobulinas y los componentes del complemento, destruye la actividad de los neutrófilos.
- ▶ Leucocidina: inhibe la función de los neutrófilos y de los linfocitos.
- ▶ Píocianinas: suprimen el desarrollo de otras bacterias y elimina la actividad de los cilios respiratorios; produce daños oxidativos en los tejidos, en particular en los tejidos oxigenados, como el pulmón (2).

1.1.2 Identificación Más del 95% de las cepas de *P. aeruginosa* recuperadas de muestras clínicas pueden identificarse si se observan las siguientes características fundamentales:

- Colonias grandes con aroma a uvas
- Producción de píocianina
- Colonias oxidasa positivas (en el término de 10 segundos)

La mayor parte de las cepas produce píocianina, un pigmento fenazínico hidrosoluble, verde que imparte un color verdoso al medio de cultivo. En realidad, puede que la simple observación de este pigmento sea suficiente para identificar a *P. aeruginosa*, pues ningún otro no fermentador lo produce. El olor a uvas también es un indicio valioso. Las colonias son grandes, pueden ser mucoides o secas y con frecuencia son invasoras. Unas pocas cepas de *P. aeruginosa* pueden producir pigmentos de otros colores, como píorrubina (rojo), píomelanina (marrón a negro) y píoverdina (amarillo) (2).

El pigmento fluoresceína puede observarse en ciertos medios y con una fuente de luz ultravioleta de onda larga (una lámpara de Wood). Las siguientes características adicionales son útiles para identificar cepas de *P. aeruginosa* no productoras de pigmento:

- Desarrollo a 42° C
- Alcalinización de la acetamida
- Desnitrificación de nitratos y nitritos
- Motilidad por medio de un flagelo monotrico polar

En resumen, la mayoría de cepas de *P. aeruginosa* puede identificarse con facilidad por observación de las colonias típicas grandes, con un tono azul-verdoso en los medios de aislamiento primario y la confirmación surge por el olor a uvas clásico. La demostración de fluoresceína y de actividad citocromo-oxidasa confirma la identificación inicial (2).

Susceptibilidad a agentes físicos y químicos *P. aeruginosa* no es particularmente resistente al calor, muere a una temperatura de 55°C aplicada por una hora. Es capaz de sobrevivir varios meses a temperatura ambiente y tiene la habilidad de multiplicarse en agua que contenga una cantidad mínima de nutrientes, como por ejemplo los depósitos de agua destilada hospitalaria (8).

P. aeruginosa es parcialmente resistente a los compuestos de amonio cuaternarios, en particular a la ceftrimida y al cloruro de benzalconio, que rápidamente se inactivan al almacenarse por tiempos prolongados en soluciones diluidas, en donde el microorganismo puede multiplicarse. Además, puede observarse el crecimiento de ésta bacteria en soluciones de desinfectantes mal preparados y mal almacenados. Ha sido aislada de jabones que contienen hexaclorofeno y soluciones de clorhexidina. El microorganismo es susceptible a los ácidos y a las sales de plata. Su susceptibilidad hacia la plata ha sido explotada en el tratamiento de quemaduras; sin embargo se han reportado cepas resistentes a ella (8).

Tratamiento Por dos motivos la mayoría de cepas de *P. aeruginosa* son resistentes a niveles relativamente elevados de gran parte de los antibióticos en uso. El primero, es que la entrada del antibiótico en el espacio periplásmico y en el citoplasma está más restringida que en otras bacterias Gramnegativo porque las porinas de la membrana externa, bajo la influencia de cationes divalentes, limitan el paso de moléculas hidrosolubles. El segundo, es que presentan mecanismos de resistencia de nivel elevado que incluyen la producción de varias β -lactamasas y enzimas inactivadoras de aminoglucósidos, acetilación de cloranfenicol y una eficaz expulsión de las tetraciclinas. En estos procesos se encuentran involucrados tanto plásmidos como genes cromosómicos. Con frecuencia los plásmidos se transmiten no solo dentro del género sino también a otros patógenos Gramnegativo (5).

Las infecciones agudas que ponen en riesgo la vida del paciente se tratan con una combinación de tobramicina y un β -lactámico anti-*Pseudomonas* (como azlocilina, piperacilina o ceftazidima). Las quinolonas (como la ciprofloxacina) han demostrado su efectividad en infecciones más leves o crónicas, incluyendo las oculares, urinarias, óseas y articulares (2).

Otros pseudomonadales de homología de ácidos nucleicos desconocida

Género *Chryseomonas* Consta de una sola especie: *C. luteola*, que se mueve mediante flagelos polares multitricos, es oxidasa negativo y se desarrolla en MacConkey y en agar sangre, produciendo colonias pigmentadas de amarillo. Es un aislamiento clínico raro y no se le asigna importancia clínica.

Género *Flavimonas* Esta representado por la especie *F. oryzihabitans*, que posee características similares a *C. luteola*, pues es móvil y oxidasa negativo, y forma colonias amarillas en agar sangre; posee un único flagelo polar. Se ha recuperado de heridas, esputo, ojo, oído, orina, líquido peritoneal y sangre. Las infecciones por ésta especie han sido relacionadas con la presencia de catéteres intravasculares en pacientes inmunocomprometidos.

Género *Sphingomonas* *S. paucimobilis* es la especie más frecuentemente aislada de muestras clínicas. Es un bacilo móvil con un flagelo polar y su reacción de oxidasa es positiva. Es una especie de desarrollo lento cuya temperatura óptima de crecimiento es 30° C. Ha sido aislada de una variedad de muestras como: sangre, líquido cefalorraquídeo, heridas, vagina, cuello uterino y ambiente hospitalario.

Género *Shewanella* Está compuesto por tres especies: *S. putrefasciens*, *S. hanedai* y *S. benthica*, que se asocian con hábitats acuáticos y marítimos. La especie prototipo es *S. putrefasciens*, que ha sido recuperada de muestras clínicas humanas. Este microorganismo es oxidasa positivo y móvil mediante flagelos polares. Se distinguen fácilmente pues son los únicos no fermentadores que producen ácido sulfhídrico en KIA y TSI. *S. putrefasciens* se ha asociado a úlceras cutáneas, infecciones óticas, bacteriemia y peritonitis.

ii) Familia *Methylococcaceae*

Género *Methylobacterium* Existen nueve especies de éste género, de las cuales *M. mesophilicum* es la especie aislada con mayor frecuencia de muestras clínicas. Son bacilos Gramnegativo con pigmento rosado, capaces de utilizar metano en forma facultativa. Los aislamientos de *M. mesophilicum* son inmóviles y su reacción de oxidasa es débil; su mejor desarrollo se observa en agar Sabouraud, en agar tamponado carbón-extracto de levadura, o en agar 7H11 de Middlebrook, entre 25° y 30°C. No se tiñe bien o puede ser variable para la tinción de Gram. Se ha reportado que *M. mesophilicum* produce úlceras cutáneas crónicas, bacteriemia en pacientes inmunocomprometidos y peritonitis.

1.1.3 b. Microorganismos de ubicación taxonómica dudosa

i) **Género *Roseomonas*** Está constituido por bacterias pigmentadas de rosa similares a las *Methylobacterium*. Son no fermentadores, toman débilmente la tinción de Gram, son bacilos cocoides gruesos, en pares o cadenas cortas. El género incluye tres especies: *R. gilardi*, *R. cervicalis* y *R. fauriae*. Se desarrollan en agar sangre, chocolate, BCYE, Sabouraud y en MacConkey. El crecimiento se observa a 25, 35 y 42° C. Todas las cepas son débilmente oxidasa positivas, catalasa positivas y ureasa positivas. Los aislamientos se han efectuado a partir de sangre, heridas, exudados, abscesos y localizaciones genitourinarias.

ii) **Género *Balneatrix*** Consta de una sola especie: *B. alpica*, que se ha descrito como un bacilo recto o curvo, con un único flagelo polar que le da movilidad. Son aerobios estrictos y se desarrollan en un amplio rango de temperaturas (20 a 46° C). Es oxidasa positivo, no fermentativo y oxida la glucosa, manosa, fructosa, maltosa, sorbitol, manitol, glicerol e inositol. Produce indol y reduce los nitratos a nitritos. Hidroliza débilmente la gelatina y es lecitinasa positivo. Se ha asociado a brotes de neumonía y meningitis. Es resistente a la clindamicina y a la vancomicina.

1.1.4

1.1.5 c. Microorganismos móviles con flagelos peritricos

i) Familia *Alcaligenaceae*

Género *Alcaligenes* Dentro del género se encuentran las especies *A. xylosoxidans* subesp. *xylosoxidans* y *A. xylosoxidans* subesp. *denitrificans* y *A. faecalis* que es la especie prototipo y la que más se aísla en el laboratorio clínico. Son bacilos Gramnegativo oxidasa positivo que se desarrollan en agar MacConkey. *A. faecalis*

produce fuertes reacciones alcalinas en todos los medios con hidratos de carbono. La mayoría de cepas forman colonias características con tendencia a la invasión. Algunas cepas producen un olor frutal característico (a manzana verde) y una coloración verdosa en agar sangre. Una característica clave de ésta especie es su capacidad para reducir los nitritos pero no los nitratos. La mayoría de infecciones por *A. faecalis* son oportunistas y se adquieren a partir de elementos húmedos como nebulizadores, respiradores y líquidos de lavado. La sangre y la orina son las localizaciones habituales de donde se recupera.

Género *Bordetella* Las tres especies más frecuentes en el ser humano son *B. pertussis*, *B. parapertussis* que son inmóviles y *B. bronchiseptica* que se mueve por flagelos peritricos. *B. pertussis* requiere de medios especiales para su desarrollo, *B. parapertussis* se desarrolla en agar sangre, chocolate, pero no en MacConkey y *B. bronchiseptica* se desarrolla en medios comunes. Con la tinción de Gram los microorganismos son pequeños y de aspecto cocobacilar. Poseen la característica bioquímica diferencial de convertir con rapidez el agar urea de Christensen. Se han descrito dos nuevas especies que pueden infectar al hombre en raras ocasiones: *Bordetella hinzii* y *Bordetella holmesii*.

ii) Familia *Rhizobiaceae*

Género *Agrobacterium* Es el género de mayor importancia médica. Contiene varias especies de patógenos vegetales. Se reconocen cuatro especies: *A. radiobacter*, *A. rhizogenes*, *A. vitis* y *A. rubi*. La separación de las especies se ha basado en características fitopatogénicas más que en criterios genéticos. La especie prototipo de éste género es *A. radiobacter*. Las características clave de este grupo de microorganismos son una reacción de ureasa rápida y una prueba positiva para fenilalanina desaminasa. Crece en agar sangre y MacConkey en forma óptima entre 25° y 28° C; se relaciona raramente con infecciones humanas, sin embargo se ha aislado de sangre, dializados peritoneales, orina y líquido ascítico. La mayoría de casos se ha observado en pacientes con catéteres transcutáneos o prótesis implantadas.

1.1.6

1.1.7 d. Microorganismos de ubicación taxonómica dudosa

i) Género *Achromobacter* Es un género sin ninguna especie nominada, y por lo tanto, no posee ubicación taxonómica oficial.

ii) Género *Ochrobactrum* Incluye la especie *O. anthropi*. Las pruebas de utilidad para diferenciarla de otras especies relacionadas son su capacidad para hidrolizar la urea, incapacidad de hidrolizar la esculina y una prueba de ONPG negativa. Crece con facilidad en agar MacConkey. Las cepas se han aislado de sangre, heridas, orina, tracto respiratorio, oído, heces, ojo y líquido cefalorraquídeo

iii) Género *Oligella* Abarca las especies *O. urethralis* y *O. ureolytica*. La primera se recupera de muestras uretrales y se considera un comensal del tracto urogenital; la segunda a partir de muestras de orina de pacientes con sondas permanentes.

e. Microorganismos inmóviles oxidasa positivos

i) Familia *Flavobacteriaceae*

Géneros *Chryseobacterium* y *Empedobacter* Estos géneros se encuentran en aguas, suelos, vegetales y alimentos. En el ambiente hospitalario, se encuentran en los sistemas de agua y en superficies húmedas. Se diferencian de otros no fermentadores por su capacidad de producir indol en caldo triptófano. *C. indologenes* es la especie aislada con mayor frecuencia de muestras humanas. Las especies de *Chryseobacterium* suelen desarrollarse poco o nada en MacConkey y se las considera oxidadoras de la glucosa. *C. meningosepticum* es otra especie, asociada a enfermedades importantes en el hombre (meningitis neonatal y neumonía en adultos inmunocomprometidos). *Empedobacter brevis* se recupera en raras oportunidades a partir de materiales clínicos y se conoce poco acerca de su participación en enfermedades clínicas.

Géneros *Weeksella* y *Bergeyella* Las especies *W. virosa* y *B. zoohelcum* son oxidasa positivas, no se desarrollan en MacConkey, son no pigmentadas, asacarolíticas e indol positivas. Ambas especies poseen la característica de ser susceptibles a la penicilina. *W. virosa* se ha recuperado del tracto urogenital de mujeres, pero hasta el momento no existe evidencia de que tenga importancia patogénica. *B. zoohelcum* forma parte de la microbiota normal oral y nasal del perro; por lo tanto los aislamientos obtenidos en humanos han sido consecuencia de mordeduras.

f. Microorganismos de ubicación taxonómica dudosa

i) Género *Sphingobacterium* Se describen ocho especies en éste género; las dos especies recuperadas con mayor frecuencia en muestras clínicas humanas son *S. multivorum* y *S. spiritivorum*. *S. multivorum* ha sido aislada de diferentes muestras, pero

se la ha asociado sólo en raras ocasiones a infecciones graves (peritonitis y sepsis). La sangre y orina han sido las dos fuentes de aislamiento de *S. spiritivorum*.

ii) Género *Moraxella* Existen varias características clave que hacen sospechar que un no fermentador desconocido puede pertenecer a éste género. Después de 24 horas de incubación en agar sangre, las colonias son pequeñas en punta de alfiler con poco o ningún desarrollo en MacConkey. En la tinción de Gram las células aparecen como delgados diplococos o diplobacilos. Las reacciones de oxidasa y de catalasa son positivas. La incapacidad de las especies de *Moraxella* de formar ácido a partir de hidratos de carbono elimina la posibilidad de que se trate de alguna especie de *Neisseria*. Todas las especies de *Moraxella* son inmóviles y la mayoría son susceptibles a bajas concentraciones de penicilina; sin embargo se han encontrado cepas productoras de beta lactamasas. Las especies de importancia médica son *M. lacunata*, *M. nonliquefaciens*, *M. osloensis*, *M. phenylpyruvica* y *M. atlantae*. Las especies de *Moraxella* constituyen parte de la microbiota normal de las superficies mucosas y se considera que tienen bajo potencial patógeno. Son muy comunes en el tracto respiratorio y menos comunes en el genital; asimismo, en ocasiones pueden producir infecciones sistémicas.

g. Microorganismos inmóviles oxidasa negativos

1.1.7.1.1.1 **i) Género *Acinetobacter*** Las bacterias del género *Acinetobacter* son bacilos o cocobacilos Gramnegativo, no fermentan la glucosa y son aerobios estrictos, inmóviles, catalasa positivos y oxidasa negativos. Crecen bien en todos los medios de cultivo de rutina, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 33 a 35° C (10).

Los miembros del género *Acinetobacter* han sufrido una gran cantidad de cambios taxonómicos a lo largo de la historia, lo cual ha impedido su estudio adecuado. La última definición taxonómica de *Acinetobacter* corresponde a Bouvet y Grimont e incluye 17 genoespecies, siendo *A. baumannii* la más frecuentemente aislada y con mayor importancia clínica. Según la utilización de 6 fuentes de carbono (levulinato, citraconato, L-fenilacetato, L-fenilalanina, 4-hidroxibenzoato y L-tartrato) se han definido 19 biotipos de *A. baumannii*, de los cuales los biotipos 1, 2, 6 y 9 son los más frecuentemente hallados en muestras clínicas. Los grupos 1 (*A. calcoaceticus*), 2 (*A. baumannii*), 3 y 13 poseen características bioquímicas similares. La capacidad de crecer a 44° C podría ser una característica distintiva entre *A. baumannii* y las otras genoespecies, aunque

recientemente se ha comprobado que un elevado porcentaje de cepas pertenecientes a la genoespecie 13 también pueden crecer a esta temperatura. Por ello, Gerner-Smidt ha sugerido que estos cuatro grupos podían ser referidos como complejo *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* (2).

Epidemiología y clínica Debido a la simplicidad en sus requerimientos de crecimiento y a la capacidad para usar una gran variedad de fuentes de carbono a través de diversas vías metabólicas, *A. baumannii* puede ser hallado en múltiples medios animados e inanimados; así, puede ser aislado en material hospitalario, como aparatos de ventilación mecánica, catéteres, líquido de diálisis peritoneal y una amplia variedad de instrumentos. Además, *A. baumannii* puede formar parte de la microbiota normal de la piel de los adultos sanos (especialmente las manos) y puede colonizar la cavidad oral, faringe e intestino, constituyendo éstos unos reservorios epidemiológicos muy importantes en brotes nosocomiales (11).

En los últimos años se ha observado un importante incremento de las infecciones nosocomiales por *A. baumannii*, siendo responsable de infecciones graves como sepsis, neumonía y meningitis. No es infrecuente que algunas de estas infecciones nosocomiales aparezcan en forma de brotes. Las unidades más afectadas son las de cuidados intensivos y quemados, donde el uso masivo de antibióticos puede seleccionar la aparición de cepas multirresistentes (11).

Existe una gran variedad de infecciones humanas producidas por especies de *Acinetobacter*, incluídas neumonía (relacionada con mayor frecuencia con tubos endotraqueales o traqueostomías), endocarditis, meningitis, infecciones de piel y heridas, peritonitis (en pacientes sometidos a diálisis peritoneal) e infecciones del tracto urinario.

A. johnsonii y *A. lwoffii* parecen ser habitantes normales de la piel humana y también pueden ser comensales de la orofaringe y de la vagina. *A. lwoffii* ha sido asociado a meningitis más que otras especies de *Acinetobacter*. Estas tienden a ser resistentes a una variedad de antibióticos, aunque la especie *A. lwoffii* suele ser más susceptible que las otras (2).

1.1.7.2

1.1.7.3 Identificación Un indicio inicial de que un aislamiento de un microorganismo no fermentador puede pertenecer al género *Acinetobacter* es la morfología en las coloraciones de Gram directas de las muestras clínicas: las células cocobacilares Gramnegativo con frecuencia aparecen como diplococos (1.0 x 0.7µm, con un aspecto similar al de *Neisseria gonorrhoeae*). Cuando las coloraciones se hacen a partir de cultivos en medios sólidos o líquidos, las células pueden ser más grandes y de aspecto cocobacilar (2,5).

Después de 24 horas de desarrollo en agar sangre, las colonias tienen entre 0.5 y 2 mm de diámetro son translúcidas u opacas (nunca pigmentadas, lo que es una característica útil para diferenciarlo de otros no fermentadores), convexas y de bordes regulares. La mayoría de las cepas se desarrolla bien en agar MacConkey y produce un leve tinte rosado. La identificación presuntiva como especie de *Acinetobacter* puede hacerse sobre la base de la falta de actividad citocromo-oxidasa, carencia de motilidad y resistencia a la penicilina (2,5).

A. baumannii es el no fermentador encontrado en segundo orden de frecuencia en los laboratorios clínicos, pero con una frecuencia de sólo la décima parte de la de *P. aeruginosa*. Las siguientes son características por las cuales puede identificarse presuntivamente:

- Cocos o cocobacilos en la coloración de Gram.
- Buen desarrollo en agar MacConkey (las colonias pueden tener un tinte ligeramente rosado).
- No producen citocromo-oxidasa.
- Muestran una utilización rápida de la glucosa, con producción de ácido.
- Muestran una utilización rápida de la lactosa al 10%, con producción de ácido.
- Son inmóviles.
- Son resistentes a la penicilina (2).

La resistencia a la penicilina ayuda a distinguir a *A. baumannii* de las especies de *Moraxella* que son altamente susceptibles a ella y que también aparecen como

cocobacilos en las coloraciones de Gram. La mayoría de las cepas de especies de *Moraxella* también son citocromo-oxidasa positivas. *A. lwoffii* es asacarolítica y puede diferenciarse de *A. baumannii* debido a que no produce ácido cuando se desarrolla en medios con hidratos de carbono (11).

1.1.7.4 Mecanismos de resistencia a los antibióticos La resistencia a múltiples antibióticos es habitual en este microorganismo. Este hecho lleva consigo dificultades para realizar un tratamiento adecuado, lo cual contribuye a aumentar la potencial gravedad de la infección. *A. baumannii* es, de manera significativa, la especie de *Acinetobacter* más resistente a los antibióticos. Cada vez es más frecuente encontrar una resistencia combinada a todos los β -lactámicos, a todos los aminoglucósidos y a las quinolonas (11).

1.1.7.5 Tratamiento El principal problema que presenta *A. baumannii* es su multirresistencia. Existe una relación directa entre el consumo de ciertos agentes antibacterianos en determinadas áreas del hospital (como unidades de cuidados intensivos) y el incremento de la resistencia a dichos antibióticos en las cepas de *Acinetobacter* que se encuentran en dichas áreas. Actualmente, el tratamiento de elección en la mayor parte de los hospitales es el imipenem. Sin embargo, hay que resaltar de nuevo que se han descrito diversos brotes epidémicos ocasionados por cepas de *A. baumannii* resistentes a ese compuesto. Ante esta situación, la disponibilidad antibiótica es mínima. Las alternativas en este caso serían ampicilina-sulbactam o combinaciones de imipenem más amikacina, imipenem más tobramicina, ampicilina-sulbactam más tobramicina, ampicilina-sulbactam más amikacina y ticarcilina-clavulánico más tobramicina (11).

Existe resistencia prácticamente universal a penicilina, ampicilina y cefalotina y la mayoría de especies son resistentes al cloranfenicol. Se ha notado una tendencia al aumento de la resistencia a aminoglucósidos de las especies de *Acinetobacter* en los últimos años. Se ha encontrado susceptibilidad variable a cefalosporinas de segunda y tercera generación; la susceptibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol también es variable. El tratamiento combinado con un aminoglucósido más ticarcilina o piperacilina es sinérgico y puede ser eficaz en las infecciones graves (11).

5. Antimicrobianos

Paul Ehrlich definió por primera vez la quimioterapia en 1913 como el tratamiento de una infección sistémica por un medicamento específico. El concepto darwiniano de antibiosis (del griego, anti, 'contra'; bios, 'vida'), fue usado por Sellman Waksman para definir el término antibiótico refiriéndose a sustancias producidas por microorganismos vivientes que antagonizan la vida de otros similares. Una propiedad común a todos los antibióticos es la toxicidad selectiva: la toxicidad hacia los organismos invasores es superior a la toxicidad frente a los animales o seres humanos (12).

En un principio, el término antibiótico sólo se empleaba para referirse a los compuestos orgánicos producidos por bacterias u hongos que resultaban tóxicos para otros microorganismos. En la actualidad también se emplea para denominar compuestos sintéticos o semisintéticos. La principal categoría de antibióticos son los antibacterianos, pero se incluyen los fármacos antipalúdicos, antivirales y antiprotozoos (12).

El espectro quimioterapéutico se refiere al grupo de microorganismos contra los que un medicamento es eficaz. Los fármacos antibacterianos pueden ser subdivididos en agentes de amplio espectro y agentes de espectro restringido. Las penicilinas de espectro restringido actúan frente a multitud de bacterias Grampositivo. Los aminoglucósidos, también de espectro restringido, actúan frente a bacterias Gramnegativo. Las tetraciclinas y cloranfenicol son antibióticos de amplio espectro, eficaces frente a bacterias Grampositivo y Gramnegativo (13).

Los antimicrobianos pueden tener actividad bactericida (destrucción) o actividad bacteriostática (inhibición de la multiplicación). El sinergismo y antagonismo de los agentes antimicrobianos se refieren a las acciones del fármaco sobre el microorganismo, no en el hospedero.

Los fármacos bacteriostáticos resultan eficaces debido a que las bacterias inhibidas en su crecimiento morirán con el tiempo o serán atacadas por los mecanismos de defensa del hospedero. Las tetraciclinas y las sulfonamidas son antibióticos bacteriostáticos. Los antibióticos que lesionan la membrana celular producen una liberación de los metabolitos celulares al exterior, y por tanto su muerte. Tales compuestos, como las penicilinas o cefalosporinas, son por tanto bactericidas (12,13).

a. Clasificación Existen varias clasificaciones de antibióticos. La más habitual los agrupa en función de su mecanismo de acción frente a los organismos infecciosos. Algunos lesionan la pared de la célula; otros alteran la membrana celular, la mayor parte de ellos inhiben la síntesis de ácidos nucleicos o proteínas, los polímeros constituyentes de la célula bacteriana. Otra clasificación agrupa a los antibióticos en función de las bacterias contra las que son eficaces: estafilococos, estreptococos y *Escherichia coli*, por ejemplo. También se pueden clasificar en función de su estructura química, diferenciando así las penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos, sulfamidas u otros (anexo No.3) (12).

b. Mecanismo de acción Los antibióticos pueden lesionar de forma selectiva la membrana celular en algunas especies de hongos o bacterias; también pueden bloquear la síntesis de proteínas bacterianas.

La mayor parte de los antibióticos inhiben la síntesis de diferentes compuestos celulares. Algunos de los fármacos más empleados interfieren con la síntesis de peptidoglicanos, el principal componente de la pared celular. Entre éstos se encuentran los antibióticos betalactámicos, que, dependiendo de su estructura química, se clasifican en penicilinas, cefalosporinas o carbapenem. Todos los antibióticos betalactámicos comparten una estructura química similar en forma de anillo. Este anillo impide la unión de los péptidos a las cadenas laterales en el proceso de formación de la pared celular. Todos estos compuestos inhiben la síntesis de peptidoglicanos pero no interfieren con la síntesis de componentes intracelulares. De este modo, continúan formándose materiales dentro de la célula que aumentan la presión sobre la membrana hasta el punto en que ésta cede, el contenido celular se libera al exterior, y la bacteria muere. Estos antibióticos no lesionan las células humanas ya que éstas no poseen pared celular (12).

Muchos antibióticos actúan inhibiendo la síntesis de moléculas bacterianas intracelulares como el ADN, el ARN, los ribosomas o las proteínas. Las sulfonamidas son antibióticos sintéticos que interfieren la síntesis de proteínas. La síntesis de ácidos nucleicos puede ser detenida por los antibióticos que inhiben las enzimas que realizan el ensamblaje de los polímeros (por ejemplo, el ADN polimerasa o ARN polimerasa). Entre éstos, se encuentran la actinomicina, rifamicina y la rifampicina (estos dos últimos empleados en el tratamiento de la tuberculosis). Las quinolonas son antibióticos que inhiben la síntesis de una enzima que realiza el proceso de enrollado y desenrollado de los cromosomas: este proceso es fundamental para la replicación y transcripción del ADN en ARN. Algunos fármacos antibacterianos actúan sobre el ARN mensajero, alterando su mensaje genético. Así, al realizarse el proceso de traducción del ARN defectuoso, las proteínas producidas no son funcionales. Las tetraciclinas compiten con alguno de los componentes del ARN impidiendo la síntesis proteica; los aminoglucósidos producen una alteración del proceso de lectura del mensaje genético, produciéndose proteínas defectuosas; el cloranfenicol impide la unión de aminoácidos en la formación de las proteínas; la puromicina interrumpe la formación de la cadena proteica, liberándose una proteína incompleta (12).

i) Inhibidores de la síntesis de la pared celular

Penicilinas El término genérico beta-lactámicos designa a penicilinas y cefalosporinas. Las penicilinas interfieren en la fase de entrecruzamiento de la síntesis de la pared bacteriana, conduciendo a su destrucción vía las fuerzas osmóticas. Todas las penicilinas poseen el fragmento ácido 6-amino-penicilánico, indispensable para desarrollar su actividad antimicrobiana, y cada una tiene una cadena lateral distinta.

La penicilina G es la única penicilina natural que se emplea aun, las demás son sintetizadas por adición de amidasa a las penicilinas naturales; esta enzima desprende la cadena lateral. La naturaleza de la cadena natural agregada determina su espectro, estabilidad y grado de fijación a proteínas plasmáticas (14).

Los efectos colaterales de las penicilinas son poco frecuentes. Cuando aparecen, consisten en hiper-susceptibilidad inmediata o retardada, erupciones cutáneas, fiebre y shock anafiláctico (reacciones anormales al fármaco) (15).

✿ Grupos de penicilinas

- a) Penicilina G
- b) Penicilina V: creada para protegerla contra la acción del ácido gástrico. Se utilizan en el tratamiento de infecciones respiratorias.
- c) Penicilinas de espectro más amplio: útiles contra *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Proteus sp.* y otros microorganismos. La ampicilina es el prototipo de éste grupo. Dentro de éste grupo se halla el subgrupo carbenicilina/ticarcilina, activo y útil en particular contra *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Proteus*; y el subgrupo azlocilina/piperacilina de utilidad contra *Klebsiella* y *Pseudomonas*.
- d) Las penicilinas utilizadas contra *Pseudomonas* se utilizan en combinación con un aminoglucósido que puede ejercer sinergismo.
- e) Penicilinas resistentes a penicilinasa: utilizadas sólo contra microorganismos productores de ésta enzima. Útiles contra las bacterias que han desarrollado resistencia frente a la penicilina G.
- f) Amidinopenicilinas: con la amidinocilina como prototipo, se une sólo a la proteína 2 fijadora de penicilina.
- g) Combinaciones penicilina/inhibidores de beta-lactamasa: como amoxicilina/ácido clavulánico, ticarcilina/ácido clavulánico y ampicilina/sulbactam, en las que el inhibidor aumenta la eficacia de la penicilina (14).

Cefalosporinas Al igual que las penicilinas, son beta-lactámicas. Tienen en su molécula un fragmento ácido 7-aminocefalosporánico comparable con el 6-aminopenicilánico de las penicilinas. De igual modo, tienen cadenas laterales diferentes que les confieren variadas propiedades como agentes individuales. Se subdividen en agentes de primera, segunda, tercera y cuarta generación, terminología que se refiere al espectro que poseen y a la vía de administración de cada uno de los grupos (15).

Las de primera generación tienen actividad contra cierto número de Grampositivo y selectividad limitada contra Gramnegativo como *E. coli*, *Klebsiella* y *Proteus*. Las de segunda generación tienen un espectro más amplio, en particular contra Gramnegativo, sin embargo pueden tener mayor eficacia contra cocos Grampositivo. Las de tercera generación agregan características de un espectro más

específico, pero pierden eficacia contra muchos de los microorganismos que eran afectados por las primeras cefalosporinas.

A pesar de ser en general más costosas que las penicilinas, se emplean con frecuencia debido a su amplio margen de seguridad. Las reacciones de hipersusceptibilidad a las cefalosporinas son raras: incluyen erupciones cutáneas y, con menos frecuencia, shock anafiláctico (15).

Otros inhibidores de la síntesis de la pared celular El monobactam aztreonam, es un beta-lactámico mono cíclico resistente a las beta-lactamasas y activa contra cierto número de microorganismos anaerobios Gramnegativos.

Otro grupo de beta-lactámicos (con configuración estereoquímica diferente) son los carbapenems, cuyo prototipo es el imipenem. También resisten a las beta-lactamasas. Su espectro incluye algunos microorganismos Grampositivo y Gramnegativo (14).

ii) Inhibidores de la síntesis de proteínas

Aminoglucósidos La estreptomina es el más antiguo de los aminoglucósidos y, después de la penicilina, el antibiótico más empleado. Inhiben la síntesis al causar la formación anormal del complejo de inicio y una lectura errónea del ARNm con síntesis de una proteína no funcional. Los aminoglucósidos son antibióticos de espectro restringido que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas en bacilos Gramnegativo y estafilococos. Al contrario de otros inhibidores de la síntesis proteínica, pueden ser bactericidas. En ocasiones se utilizan en combinación con la penicilina. Todos los miembros de esta familia —en especial la neomicina— tienen mayor toxicidad que la mayor parte del resto de antibióticos. Los efectos adversos asociados con la utilización prolongada de aminoglucósidos son infrecuentes e incluyen lesión de la región vestibular del oído interno, pérdida auditiva y lesiones en el riñón. Por este motivo su uso está restringido al ámbito hospitalario (15).

Tetraciclinas Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas. Son antibióticos de amplio espectro eficaces frente a cepas de estreptococos, bacilos Gramnegativo, espiroquetas, leptospiras, clamidias,

micoplasmas, amebas y algunas rickettsias. Actúan sobre las bacterias impidiendo el acceso de cada aminoácido ARNt al sitio aceptor en el complejo ARNm-ribosoma y de este modo bloquea la adición de aminoácidos nuevos a la cadena peptídica H en crecimiento. Debido a su amplio espectro, las tetraciclinas pueden, en ocasiones, alterar el equilibrio de la microbiota bacteriana interna que normalmente es controlada por el sistema inmunológico del organismo; esto puede producir infecciones secundarias en el tracto gastrointestinal o la vagina, por ejemplo. Las tetraciclinas se emplean cada vez menos debido a la aparición de gran número de cepas bacterianas resistentes. Su uso está contraindicado en niños menores de ocho años y mujeres embarazadas por su acumulación en las zonas de crecimiento del hueso y en los dientes, produciendo una pigmentación característica (15).

Cloranfenicol Junto con las tetraciclinas es un antibiótico de amplio espectro. Es una molécula sintética eficaz contra cierto número de bacterias Grampositivo y Gramnegativo y también algunas rickettsias. Es un antimicrobiano de tipo bacteriostático. Inhibe la síntesis de proteínas en la unidad 50S al evitar la agregación de nuevos aminoácidos por bloqueo de la peptidiltransferasa. También puede inhibir la síntesis mitocondrial de proteínas en células de mamíferos, en particular las eritropoyéticas en pacientes debilitados (14).

Macrólidos Los macrólidos son bacteriostáticos. Se unen a los ribosomas bacterianos para inhibir la síntesis de proteínas. La eritromicina es un macrólido con un amplio margen de seguridad y mínimos efectos adversos. La eritromicina es eficaz frente a cocos Grampositivo, y muchas veces se emplea como alternativa a la penicilina frente a infecciones por estreptococos o neumococos. Los macrólidos también se emplean en el tratamiento de la difteria y de las bacteriemias. Los efectos secundarios incluyen náuseas, vómitos y diarrea; pueden producir, de forma excepcional, alteraciones auditivas transitorias (14).

Lincosamidas Incluyen a la lincomicina y clindamicina que inhiben la síntesis de proteínas en la subunidad 50S. El espectro de la lincomicina es similar al de la eritromicina. La clindamicina es un derivado químico de lincomicina y actúa contra cocos Grampositivos y algunos anaerobios (14).

La clindamicina está relacionada con los macrólidos en cuanto a su mecanismo de acción y presentación de resistencias cruzadas (15).

iii) Inhibidores de la función de la membrana celular Las polimixinas son polipéptidos que alteran la permeabilidad de las membranas celulares en las bacterias susceptibles y son bactericidas. La polimixina B y la polimixina E son útiles contra bacterias Gramnegativo, siendo los únicos que se expenden en el comercio.

El uso actual más popular de las polimixinas es tópico contra infecciones por bacterias Gramnegativo (14).

iv) Antagonistas competitivos

Sulfonamidas Las sulfonamidas son antibióticos bacteriostáticos sintéticos de amplio espectro, eficaces contra la mayor parte de bacterias Grampositivo y muchas bacterias Gramnegativo. Sin embargo, la aparición de resistencias entre las bacterias Gramnegativo a las sulfonamidas, hacen que estos antibióticos se empleen hoy en día en situaciones muy concretas, como el tratamiento de las infecciones del tracto urinario, contra ciertas cepas de meningococo, o como profilaxis de la fiebre reumática. Algunas sulfonamidas son: sulfadiacina, sulfisoxazol, silfacitina, sulfametizol, sulfasalacina, sulfametoxazol, entre otras. Los efectos colaterales incluyen alteraciones del tracto gastrointestinal e hipersusceptibilidad (14).

Trimetoprim Este medicamento es un análogo del metrotexato, que a su vez es análogo de la pirimidina. Actúa como antibacteriano contra bacterias Grampositivo y Gramnegativo. Aunque este agente sólo es eficaz en infecciones de vías urinarias, tiene acción sinérgica cuando se usa con sulfonamidas, que es la base de su combinación con sulfametoxazol para formar trimetoprim-sulfametoxazol. Esta combinación se utiliza en infecciones de vías urinarias, tifoidea y otras enfermedades (14).

Antisépticos urinarios no sulfonamidas La nitrofurantoína y el ácido nalidíxico están entre los antisépticos urinarios más destacados que no pertenecen a las sulfonamidas. La nitrofurantoína tiene actividad antimicrobiana de cierta amplitud contra estas infecciones, pero *Pseudomonas* es resistente. El ácido nalidíxico es otro

agente sintético utilizado en infecciones urinarias por Gramnegativos. Inhibe la ADN girasa y por tanto, bloquea la síntesis de ADN en *E. coli* pero se desconoce si este es su único mecanismo de acción *in vivo*. También se encuentran la norfloxacin y la ciprofloxacina y compuestos fluoroquinolónicos de estructura relacionada con el ácido nalidixico, que también inhiben la ADN girasa bacteriana y son bactericidas (14).

6. El laboratorio en la orientación del tratamiento antimicrobiano

Los microbiólogos pueden ser de gran ayuda para los médicos. Pueden evaluar las interacciones *in vitro* entre un aislamiento bacteriano y los agentes antimicrobianos que serían adecuados para el tratamiento de la infección *in vivo*. Su trabajo puede proporcionar datos que ayuden al médico a decidir si las dosis de antibiótico elegidas son las adecuadas (2,16).

Las pruebas de susceptibilidad antibiótica pueden dividirse en dos grupos: 1) las que predicen la eficacia del tratamiento y 2) las pruebas que controlan la eficacia del tratamiento.

Las dos pruebas de referencia son los procedimientos macroscópicos de dilución en caldo y dilución en agar. Ambos están diseñados para cuantificar la menor concentración de un antibiótico que inhibe el desarrollo visible del microorganismo *in vitro*, la concentración inhibitoria mínima (CIM). La prueba utilizada con mayor frecuencia para orientar el tratamiento es el procedimiento de difusión con discos (prueba de Bauer-Kirby), en la cual las interpretaciones clínicas se deducen por correlación con la prueba de referencia. En los últimos años, una gran cantidad de laboratorios ha utilizado una prueba miniaturizada en medio líquido (prueba de microdilución en caldo) o un sistema comercial automatizado. La prueba de microdilución en caldo se ha hecho tan común y está tan bien estudiada que se ha convertido en el estándar de referencia para muchos investigadores (2,16).

En muchas infecciones la forma más útil para determinar si un tratamiento antimicrobiano es apropiado es la respuesta clínica del paciente y, si es necesario, la demostración por cultivos reiterados de que el microorganismo causante ha sido

eliminado o que persiste. Es importante recalcar que las pruebas de susceptibilidad a antibióticos están pensadas para ser una ayuda para el médico, y no una garantía de que un agente antimicrobiano será eficaz para el tratamiento (anexo No. 4) (16).

a. Principio de la prueba de susceptibilidad por difusión con discos

El

principio de esta prueba consiste en que tan pronto como el disco impregnado en el antibiótico toma contacto con la superficie húmeda del agar, el agua se absorbe en el papel filtro y el antibiótico se difunde en el medio que lo rodea. A medida que aumenta la distancia, hay una reducción logarítmica de la concentración del antibiótico. Si las placas ya fueron inoculadas con una suspensión bacteriana, se produce el crecimiento simultáneo de las bacterias sobre la superficie del agar. Cuando se alcanza una masa celular crítica de bacterias, se sobrepasa la actividad inhibitoria y aparece el crecimiento bacteriano. El tiempo requerido para alcanzar la masa celular crítica es característico de cada especie, pero depende de la composición del medio y de la temperatura de incubación. Los puntos en los que se alcanza la masa celular crítica aparecen como círculos de crecimiento bacteriano, con bordes definidos con claridad con el medio del disco formando el centro del círculo si la prueba se realiza de manera apropiada.

La concentración del antibiótico que se difundió en esta interfase de crecimiento y las bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la CIM, obtenida en las pruebas de dilución (2).

i) Test de Bauer-Kirby Se realiza mediante la utilización de una cantidad constante de antimicrobianos aplicada sobre la superficie de discos papel. En el ensayo, dichos discos se colocan sobre la superficie de una placa de medio de Müller -Hinton, previamente inoculada con una suspensión de la bacteria a estudiar. Luego de un período de incubación, se formará, por difusión, un gradiente de concentración del agente antimicrobiano y la susceptibilidad o resistencia hacia el mismo estará indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del disco (16).

Factores que influyen en el ensayo La validez de esta prueba depende de varios factores que afectan al desarrollo de la misma, dentro de los cuales se encuentran: la carga del disco, el grosor de la capa de agar, su pH, composición del medio, la

capacidad de difusión de la droga, la temperatura, la velocidad de duplicación bacteriana, el tamaño y fase de crecimiento del inóculo (2).

◆ Medio de cultivo

De los medios disponibles, se considera al agar Müller-Hinton como el mejor para las pruebas rutinarias de susceptibilidad, el cual contiene infusión de carne deshidratada, ácido de caseína y almidón de maíz; además, este medio posee propiedades inhibitorias mínimas para las sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclina.

◆ pH del medio

El pH de cada lote de agar debe ser controlado cuando se prepara el medio, el cual debe estar entre 7.2 y 7.4, a temperatura ambiente, y debe medirse después de su solidificación. Si el pH es demasiado bajo, ciertas drogas parecerán menos activas, mientras que otras parecerán tener mayor actividad.

◆ Efecto de la Timina o Timidina

Los medios que contienen excesiva cantidad de timina o timidina, pueden revertir los efectos inhibitorios de las sulfonamidas y trimetoprim, produciendo zonas más pequeñas, menos nítidas o sin halo; lo cual puede dar como resultado un informe de falsa resistencia.

◆ Efectos por variación en la composición de los cationes divalentes

La variación en cationes divalentes, principalmente Ca^{++} y Mg^{++} , afectarán los resultados con tetraciclina, colistín y aminoglucósidos frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Un excesivo contenido de cationes reducirá la zona de inhibición, mientras que bajas concentraciones de cationes resultarán en zonas de inhibición mayores que las esperadas. Un exceso de zinc podría reducir las zonas de inhibición de los carbapenems.

◆ Temperatura

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son muy susceptibles a la temperatura, por lo que las placas y los tubos deben ser incubados de rutina a 35°C.

◆ Preparación y aplicación del inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo, se debe utilizar una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez (0.5 de la escala de McFarland). Deberán tomarse colonias de aspecto similar, para minimizar las variaciones de la

población bacteriana, y el grado de turbidez se compara con el estándar; ambos se observan contra un fondo blanco. Inocular las placas de agar en tres planos, con un hisopo impregnado con cierta cantidad del estándar.

◆ Aplicación de los discos de antimicrobianos en las placas inoculadas

Los discos se colocan sobre la superficie del agar inoculada con una pinza estéril, con una distancia no menor de 24 mm desde un centro al otro, debido a que las drogas difunden casi instantáneamente, un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar, no se deben colocar más de 12 discos por placa de 150mm y no más de 5 discos por placa de 100mm , las placas se incuban a 35° C y no deberán incubarse en concentración elevada de CO₂, porque los estándares de interpretación fueron desarrollados usando incubación ambiente y el agregado de CO₂ alteraría significativamente el tamaño de las zonas inhibitorias para algunos agentes antibióticos (2).

Interpretación de la susceptibilidad

● Lectura de las placas de agar

Las placas se leen después de 16 a 18 horas de incubación y se miden los diámetros de las zonas de inhibición, si el inóculo se realizó adecuadamente, estas zonas serán uniformemente circulares y habrá desarrollo confluyente.

El tamaño del halo que se observa en una prueba de difusión de discos no es significativo por sí solo. Los estándares de interpretación provistos por el NCCLS derivan de una correlación entre los tamaños de los halos y las CIM.

Las normas de interpretación para la prueba de difusión con discos permite al usuario realizar aproximaciones de la CIM para cada uno de los antibióticos con los diámetros de los halos por la técnica de difusión con discos (2).

● Categorías de interpretación

a) **Susceptible (S):** Esta categoría implica que una infección dada por la cepa en estudio, puede ser tratada apropiadamente con la dosis de antibiótico recomendada, para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que se presentaran

contraindicaciones. En la práctica esto se interpreta si determinada bacteria presenta un halo de inhibición grande medido en milímetros en el medio de inoculación.

- b) **Intermedio (I):** Indica que el agente causal puede ser inhibido por concentraciones de antibiótico más elevada, siempre que las dosis utilizadas puedan ser aumentadas. Debido a que cada bacteria presenta un halo de inhibición diferente para cada antibiótico, el patrón de intermedio se le da a las bacterias que no presentan un halo de inhibición definido.
- c) **Resistente (R):** El agente causal no es inhibido por las concentraciones séricas de antibiótico normalmente alcanzadas a dosis habituales, lo cual es observado por la formación de un halo de inhibición pequeño, y/o caen en el rango donde son comunes mecanismos específicos de resistencia antimicrobiana (por ejemplo β -lactamasas) y la eficiencia clínica no ha sido comprobada (17).

Limitaciones La prueba de Bauer y Kirby, modificada por el NCCLS, ha sido aceptada como la técnica estándar para la realización de las pruebas de susceptibilidad por difusión con discos; en la mayoría de los casos brinda información útil. Hay, sin embargo, algunas limitaciones. La prueba sólo debiera aplicarse a especies bacterianas que han sido cuidadosamente evaluadas. Las bacterias que crecen con lentitud, las que necesitan nutrientes especiales, o las que requieren CO₂ o condiciones anaerobias para su desarrollo no deben probarse, a menos que la validez del procedimiento haya sido comprobada (2).

ii) Prueba de susceptibilidad por microdilución en caldo Esta prueba fue una de las primeras en desarrollarse y aun sirve como método de referencia. Se realizan diluciones seriadas del agente antimicrobiano en caldo o en agar, después de lo cual, se agrega una suspensión bacteriana estandarizada. Se colocan 10 tubos, los cuales contienen caldo de Müller-Hinton suplementado con cationes; las cantidades de antibióticos son diluidas en forma seriada, el tubo con el número 10 no contiene antibiótico y sirve como control del crecimiento. Cada uno de los 10 tubos se inocula con una suspensión calibrada del microorganismo a ser probado y se incuba a 35° C durante 18 horas; al término del período de incubación los tubos se examinan a simple vista, para observar la presencia de turbidez, la que es indicativo de que el crecimiento bacteriano no ha sido inhibido por la concentración de antibiótico contenida en el medio. Existe un

punto límite, el cual representa la CIM, definida como la concentración de antibiótico en microorganismos por mililitro que impide el crecimiento *in vitro* de las bacterias (2).

iii) Prueba de E-test Este procedimiento consiste en tiras impregnadas del antibiótico que se colocan en la superficie del agar. El principio es una aplicación del método de difusión en discos y el protocolo para la preparación del inóculo es el mismo. Después de la incubación se lee la CIM por el punto de la tira donde comienza la inhibición del crecimiento. La difusión de los antibióticos comienza inmediatamente después de la colocación de la tira, por lo que no debe retirarse la tira luego de haber sido colocada (2).

7. Resistencia antimicrobiana

"No existe antimicrobiano para el que la bacteria no haya desarrollado resistencia."

Watanabe, 1971 (18).

Se considera a la resistencia microbiana como la pérdida de la susceptibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo, que se transmite a sus descendientes, los que por este motivo resultan también resistentes al antimicrobiano en cuestión. Si bien cualquier microorganismo puede desarrollar resistencia a los antimicrobianos, este fenómeno ha sido estudiado más ampliamente en las bacterias (19).

a. Bases genéticas de la resistencia

Una cepa bacteriana puede volverse resistente a un antibiótico por dos tipos principales de mecanismos:

- a) mutación en un gen cromosómico;
- b) introducción de un plásmido R de resistencia. Este segundo mecanismo supone el problema más serio, ya que:
 - ▶ está muy extendido;
 - ▶ puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez;

- ▶ a diferencia del mecanismo mutacional, no suele suponer una desventaja adaptativa (no disminuye la tasa de crecimiento de la bacteria ni le hace perder sus propiedades de virulencia) (19,20).

i) Selección de mutantes resistentes Las mutaciones bacterianas espontáneas son aleatorias, y afectan a un gen cualquiera con frecuencias dentro del rango de 10^{-5} a 10^{-10} por célula y división. Lo que hacen los antibióticos es seleccionar los mutantes resistentes espontáneos que surgen en la población. Esta es precisamente la base genética del surgimiento de ciertas cepas patógenas resistentes a antibióticos: el fármaco inhibe o mata las bacterias silvestres susceptibles, pero no afecta a los pocos individuos que por mutación espontánea hayan adquirido un alelo resistente; estos individuos se multiplican, de modo que al final son los más prevalentes (19).

ii) Resistencia por intercambio genético La principal amenaza al éxito de la quimioterapia está representada por la transmisión genética de plásmidos de resistencia a antibióticos (plásmidos R).

Existen plásmidos R capaces de diseminarse por **conjugación**, que consiste en un fenómeno de intercambio dependiente de contactos célula-célula, no sólo entre células de la misma especie, sino entre especies distintas, incluyendo bacterias patógenas.

Existen plásmidos R de distintos grupos de incompatibilidad. Son abundantes en *Pseudomonas* y en Enterobacterias, desde donde pueden ser transferidos a una amplia gama de bacterias Gramnegativo (plásmidos promiscuos). Aparte de los plásmidos R conjugativos existen otros no conjugativos, que sin embargo pueden ser transferidos entre distintas bacterias por otros medios:

- los plásmidos no conjugativos movilizables pueden ser transferidos por otro plásmido conjugativo compatible residente en la misma célula.
- por **transducción** (mediante bacteriófagos) Un virus bacteriófago transfiere ADN extracromosomal bacteriano incorporado en su cubierta proteica desde una bacteria no susceptible a una susceptible, la cual adquiere la resistencia y al capacidad de transferirla a su descendencia.
- por **transformación** (ADN desnudo del plásmido puede ser captado por una bacteria susceptible receptora) (21).

Ventajas adaptativas de los plásmidos R

- a) Los plásmidos R han evolucionado en respuesta a presiones selectivas ambientales (antibióticos usados por los humanos o inhibidores presentes en los medios naturales de las bacterias).
- b) Son capaces de conferir varias resistencias simultáneamente a las bacterias que los adquieran.
- c) Tienen capacidad de diseminarse epidémicamente de modo "horizontal" (es decir, entre células distintas de la misma especie o -en el caso de los promiscuos- distintas especies).
- d) Están constituidos por "módulos" móviles (transposones), de modo que tienen flexibilidad para adquirir nuevos módulos a partir de otras especies.
- e) Economía: cuando no existe presión selectiva, pueden perderse de la mayor parte de las bacterias de una determinada población (curación espontánea), pero su modo de transmisión "epidémica" los capacita para diseminarse rápidamente a la mayoría de la población cuando la ocasión lo requiere (cuando vuelve la presión selectiva).
- f) No tienen apenas efectos negativos sobre los demás caracteres de la bacteria (incluyendo, en las patógenas, su poder virulento).
- g) Muchos de ellos responden a mayores concentraciones del antibiótico aumentando su número de copias (20).

b. Mecanismos bioquímicos implicados en la resistencia a antibióticos

Los principales mecanismos se pueden agrupar de la siguiente manera:

- Disminución de la permeabilidad hacia el antibiótico
- Inactivación enzimática del antibiótico
- Modificación química de la diana sobre la que actúa el antibiótico
- Síntesis de una enzima resistente (19,20).

i) Disminución de la permeabilidad celular hacia el antibiótico

Modificación de una barrera preexistente Como se sabe, la membrana externa de bacterias Gramnegativo supone una barrera natural que hace que

muchas bacterias de este grupo sean no susceptibles a varios antibióticos (por ejemplo, la vancomicina y la bacitracina no pueden atravesar las porinas).

No todas las bacterias Gramnegativo son igualmente impermeables a los mismos antibióticos:

- ✘ Entre las menos impermeables se encuentran *Haemophilus* y *Neisseria*, que dejan pasar a numerosos β -lactámicos.
- ✘ Las enterobacterias suelen ser intermedias
- ✘ Las bacterias del género *Pseudomonas* son insusceptibles a la mayoría de antibióticos β -lactámicos, porque no pueden pasar a través de la membrana externa. Se han aislado mutantes que se han vuelto resistentes a los β -lactámicos de última generación: el cambio ha afectado a una determinada porina que ahora no deja pasar a estos nuevos antibióticos (22).

Mecanismo de extrusión activa del antibiótico El ejemplo más típico estriba en la resistencia a las tetraciclinas desarrollada por muchas bacterias. El efecto inhibitorio de las tetraciclinas depende de la acumulación activa de este tipo de antibióticos por parte de las bacterias. Pues ciertos plásmidos R poseen transposones que codifican un sistema para "bombear" tetraciclina desde el interior bacteriano hacia el exterior, en contra del gradiente de concentración. Igualmente se conocen resistencias a sulfamidas dependientes de un mecanismo específico de impermeabilidad (19).

Alteración del mecanismo de transporte del antibiótico Cuando el antibiótico accede al interior bacteriano por algún mecanismo de transporte específico, una mutación que afecte a dicho sistema de transporte supondrá una mayor resistencia al antibiótico (19).

ii) Inactivación enzimática del antibiótico Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de plásmidos R. Los ejemplos típicos son las resistencias a β -lactámicos, la resistencia al cloranfenicol y las resistencias a aminoglucósidos.

Resistencia a β -lactámicos por acción de β -lactamasas Ciertas bacterias producen *penicilinasas* (β -lactamasas), capaz de abrir el anillo β -lactámico de la penicilina para dar ácido peniciloico, que carece de actividad antibacteriana. Lo mismo ocurre con

las cefalosporinas, donde la β -lactamasa (*cefalosporinasa*) genera un producto inestable inactivo que se descompone rápidamente. Sin embargo, la naturaleza de la cadena lateral (grupo acilo, R) influye notablemente en la susceptibilidad de rotura del anillo β -lactámico por las lactamasas.

- Ⓢ ***β -lactamasas codificadas por cromosoma y de bajo nivel (β -lactamasas de tipo TEM)*** Están muy distribuídas entre bacterias Gramnegativo y confieren resistencia a cefalosporinas y penicilinas. La base de la resistencia en muchos casos es la siguiente: Cuando se expone la bacteria al β -lactámico durante mucho tiempo, pueden seleccionarse determinadas mutaciones en genes cromosómicos que codifican proteínas parecidas de tipo PBP, de modo que adquieren un fuerte promotor que permite su expresión a alto nivel. Este tipo de β -lactamasa es excretada al medio, donde inactiva al antibiótico (20).
- Ⓢ ***β -lactamasas de origen plasmídico*** Se trata de enzimas inducibles: el gen que codifica la β -lactamasa se induce por pequeñas cantidades de penicilina o cefalosporina, y se producen enormes cantidades del antibiótico, que se excreta, de modo que inactiva al β -lactámico en el entorno de la bacteria. El gen responsable es portado por plásmidos de tipo R (que llevan genes de resistencia para otros antibióticos). En las bacterias Gramnegativo se han descubierto unos 20 tipos de β -lactamasas de codificación plasmídica. Suelen ser enzimas de síntesis constitutiva y cuya localización es periplásmica; esta localización permite que el antibiótico sea inactivado antes de que llegue a la membrana citoplásmica, donde se localizan las proteínas diana de los β -lactámicos (20).
- Ⓢ ***Origen de las β -lactamasas*** Aunque la prevalencia de cepas (sobre todo no patógenas) resistentes a β -lactámicos es un fenómeno que se "disparó" desde los años 50 con el uso masivo de estos antibióticos, está claro que la resistencia debía de existir previamente al uso humano de los antibióticos. La aplicación clínica a gran escala (incluyendo el abuso) de las penicilinas y cefalosporinas sólo ha permitido que veamos en acción un caso "acelerado" de evolución bacteriana, donde las cepas más aptas han sobrevivido y se han multiplicado, y en el que, merced a los procesos de intercambio genético y a la construcción "modular" (transposones) de muchos plásmidos R, las entidades genéticas responsables se han diseminado de unas

especies bacterianas a otras. Profundizando más en el tema, parece que las propias β -lactamasas proceden evolutivamente (por mutaciones sucesivas) de alguno de los genes que originalmente codificaban algunas de las "autolisinas" (PBPs) que intervienen en la maduración del peptidoglucano. Es decir, las β -lactamasas serían formas modificadas de las mismas dianas sobre las que actúan los β -lactámicos (20).

Como se sabe, los β -lactámicos forman complejos covalentes estables con algunas de las PBPs (peniciloil-PBPs), que hacen que estas se inactiven. Pues bien, existen indicios de que las β -lactamasas serían unas "autolisinas" evolucionadas que en vez de formar complejos estables con los β -lactámicos, se habrían especializado en cortar el anillo lactámico (dando peniciloico) a expensas de su actividad transpeptidasa original.

Resistencia al cloranfenicol La resistencia al cloranfenicol suele deberse a una enzima inactivante de dicho antibiótico, denominada cloranfenicol-acetiltransferasa (CAT), que normalmente está codificada por genes plasmídicos.

La CAT convierte el cloranfenicol en el producto final, 1,3-diacetoxi-cloranfenicol; los derivados mono o diacetilados del cloranfenicol son inactivos como antibióticos (19).

Resistencia a ciertos aminoglucósidos Los aminoglucósidos son un grupo amplio y abundante de antibióticos, por lo que no es sorprendente que las bacterias hayan evolucionado distintos mecanismos para inactivarlos; estos mecanismos se pueden agrupar en tres tipos: fosforilación, adenilación y acetilación.

Las fosforilaciones y adenilaciones se dan sobre grupos -OH susceptibles, mientras que las acetilaciones recaen sobre determinados grupos -NH₂.

La modificación enzimática de los aminoglucósidos ocurre en el espacio periplásmico o en la membrana citoplásmica, y produce un doble efecto:

- El antibiótico modificado covalentemente ya no puede utilizar el mecanismo de transporte facilitado a través de la membrana; por lo tanto, accede en menor cantidad al citoplasma.
- El compuesto modificado ya no puede afectar al cromosoma, por lo que no ejecuta acción inhibitoria sobre el crecimiento de la bacteria (19).

iii) Modificación química de la diana del antibiótico

Resistencia a la estreptomicina Una mutación cromosómica produce una proteína ribosómica alterada que impide la unión de la estreptomicina (19).

Resistencia a la eritromicina Ciertos plásmidos de cepas de *Staphylococcus aureus* y de *Streptococcus* codifican una metilasa de ARN inducida por la presencia de eritromicina esta enzima produce un cambio conformacional en el ribosoma que disminuye su afinidad hacia la eritromicina y hacia la lincomicina (resistencia cruzada a los dos antibióticos) (19,20).

Resistencia a las rifamicinas Las rifamicinas actúan uniéndose a la subunidad β de la ARN polimerasa eubacteriana. La resistencia a estos antibióticos depende de una mutación cromosómica que altera dicha subunidad, haciéndola insusceptible a estos inhibidores (19,20).

Resistencia a las quinolonas, novobiocina y coumermicina Las mutaciones cromosómicas que interesan a la subunidad A de la ADN-girasa (complejo enzimático formado por las subunidades A y B, que interviene en los procesos de replicación y de transcripción del ADN) bacteriana producen resistencia al ácido nalidíxico. Sin embargo, las quinolonas de última generación (fluoroquinolonas como la ciprofloxacina) no se ven afectadas, quizá debido a la enorme potencia de estos quimioterápicos.

Las mutaciones cromosómicas que afectan a la subunidad β de la girasa rinden resistencia a la novobiocina y a la coumermicina (20).

iv) Síntesis de una nueva enzima resistente

Resistencia a sulfamidas Determinados plásmidos R portan genes de resistencia a sulfamidas que codifican una dihidropteroico sintetasa muy resistente a la acción de estos quimioterápicos, debido a que tienen una afinidad 10,000 veces menor que la enzima normal codificada por el cromosoma (20).

Resistencia a trimetoprim Muchos plásmidos R llevan un gen que codifica una dihidrofolatorreductasa (DHFR) muy resistente al trimetoprim (20).

Resistencia a meticilina En muchos hospitales medran cepas muy peligrosas de *Staphylococcus aureus* resistentes al β -lactámico meticilina. Estas cepas producen una forma especial de proteína PBP2 (la llamada PBP2a) que posee una baja afinidad por los β -lactámicos, incluyendo la meticilina.

8. Susceptibilidad a los patógenos nosocomiales

Las infecciones nosocomiales típicamente afectan a los pacientes inmunocomprometidos debido a su edad, a enfermedades subyacentes o a tratamientos médicos o quirúrgicos. Los más altos índices de infección recaen en los pacientes de cuidados intensivos: los índices de infecciones nosocomiales en las unidades de cuidados intensivos de adultos y en las pediátricas se triplican en comparación a las infecciones en el resto de las unidades hospitalarias. Es importante recalcar que la localización de la infección y el tipo de patógenos involucrados se relacionan directamente con los procedimientos terapéuticos que se realizan en cuidados intensivos. En estas áreas, los pacientes con catéteres vasculares y con equipos de monitoreo invasivos presentan más infecciones hematógenas por estafilococos coagulasa negativos. De hecho, la mayoría de los casos de bacteremia oculta en cuidados intensivos se debe a las infecciones relacionadas al “acceso vascular” (19, 20).

a. Emergencia de las infecciones nosocomiales Existen tres fuerzas importantes que involucran a las infecciones nosocomiales. La primera es el uso de antimicrobianos relacionado a una larga estancia intrahospitalaria.

En segundo lugar, el personal hospitalario no sigue al pie de la letra los métodos de control de infecciones; en las unidades de cuidados intensivos, la emergencia muchas veces se antepone a la asepsia.

En tercer lugar, cada vez más pacientes hospitalarios se hallan inmunocomprometidos. La nueva medicina ambulatoria hace que los pacientes más vulnerables sean los que permanecen internados en el hospital.

Muchos otros factores precipitantes se deben al “manejo” intrahospitalario. Los trasplantes son un arma de doble filo debido a los efectos de la inmunosupresión en los pacientes transplantados. La transfusión sanguínea seguirá siendo una fuente importante de enfermedades infecciosas. De igual manera, la necesidad de remodelaciones en las infraestructuras hospitalarias creará más diseminación aérea de hongos u otros patógenos por polvos y esporas liberadas durante la demolición y construcción (23).

b. Prevención y control de las infecciones nosocomiales El control de las infecciones puede ser muy costoso. Aproximadamente una tercera parte de las infecciones nosocomiales se pueden prevenir, para lo cual se deben realizar una serie de estrategias simultáneas (22).

Primero, debe buscarse la mejora de la vigilancia nacional de infecciones nosocomiales para que, de esta manera, se obtengan datos más representativos. Se debe estudiar la susceptibilidad y especificidad del sistema de vigilancia y establecer parámetros para hacer diagnósticos difíciles de infecciones. De igual modo, deben desarrollarse sistemas de vigilancia de aquellas infecciones “nosocomiales” que ocurren fuera del hospital (15).

En segundo lugar, debemos asegurarnos que nuestros sistemas de vigilancia sean válidos. (15).

En tercer lugar, el éxito del control de las infecciones nosocomiales recae en la mejora del diseño del equipo invasivo. Esto es particularmente importante debido al incremento significativo de las infecciones hematógenas asociadas a los métodos de “acceso vascular”, específicamente en los pacientes de cuidados intensivos. Es de suma importancia el desarrollo de métodos no invasivos de monitoreo y de técnicas quirúrgicas de invasión mínima que eviten el alto riesgo asociado al traspaso de las barreras de defensa naturales del hospedero (como lo son la piel y la mucosa).

En cuarto lugar, se requieren programas agresivos de control de antibióticos. El riesgo de cepas resistentes a antibióticos también puede reducirse en el futuro al controlar su colonización mediante la adecuada inmunización (18).

En quinto lugar, los problemas de resistencia antimicrobiana y el advenimiento de los xenotransplantes enfatizan la importancia de nuevos métodos microbiológicos. La electroforesis por gel se ha convertido en una herramienta epidemiológica de rutina para la investigación de patógenos resistentes a la politerapia. Asimismo, el análisis epidemiológico molecular puede ayudarnos a comprender mejor ciertos factores que conllevan al surgimiento de nuevas cepas resistentes.

En sexto lugar, el control de la tuberculosis en los hospitales estadounidenses, es un excelente ejemplo de la colaboración exitosa del control extrahospitalario, mediante la participación del CDC y de ciertas agencias que regulan el cuidado de la salud.

Por último, el control de la infección es una parte integral de cualquier servicio de asistencia del personal hospitalario. Un programa eficaz protegerá al personal frente a la adquisición de infecciones laborales, así como a los pacientes y a otros miembros del personal hospitalario frente a un empleado infectado. La organización y las operaciones de un servicio de asistencia la personal variarán de acuerdo al tamaño de la institución, al número de empleados. Sin embargo, se requieren determinados elementos para todos los programas, como los son los siguientes: la adecuada detección de la enfermedad, con una vigilancia rutinaria del estado inmunológico del personal; la inmunización, para proteger a los empleados de las infecciones laborales y a los pacientes del personal infectado; el control de las exposiciones y el tratamiento de la enfermedad aguda en el personal hospitalario (18).

IV. JUSTIFICACION

Las infecciones nosocomiales son un problema crítico que afecta a la calidad del cuidado de la salud en la red hospitalaria del país, ello debido a que aun no se cuenta con sistemas de prevención de infecciones y de vigilancia epidemiológica adecuados.

En el Hospital Regional de Occidente del departamento de Quetzaltenango, los bacilos Gramnegativo no fermentadores se encuentran dentro de los principales causantes de complicaciones de tipo nosocomial; según datos recopilados, las especies aisladas con mayor frecuencia son *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp.

Hasta hace algún tiempo, el laboratorio de microbiología del Hospital Regional de Occidente, realizaba la identificación de especies bacterianas y determinación de su susceptibilidad antibiótica, utilizando procedimientos manuales básicos; así, se clasificaba a cualquier bacilo Gramnegativo no fermentador oxidasa negativo dentro del género *Acinetobacter*, a falta de pruebas adicionales. Además, existían serios errores en el procedimiento de la técnica de determinación de susceptibilidad antibiótica (test de Bauer-Kirby) haciendo poco confiables los resultados derivados de ella.

Con el presente estudio se pretendió identificar correctamente a los bacilos Gramnegativo no fermentadores que con mayor frecuencia son causantes de infecciones -que podrían estar involucrados en complicaciones nosocomiales- y establecer sus patrones de susceptibilidad antibiótica, mediante la utilización de un sistema automatizado que permite la exclusión del factor humano como fuente de error.

El establecimiento de los patrones de resistencia de las cepas existentes dentro del hospital en estudio, así como el registro de su prevalencia constituye una ayuda en la

adecuada selección del régimen antibiótico; además es una base para crear una estrategia de contención que contrarreste el impacto que la resistencia bacteriana representa en términos de antibióticos disponibles y de costos en una red hospitalaria en donde los recursos financieros son escasos y en donde aun no se tiene una clara comprensión de éste fenómeno y del papel modulador que sobre él tendría la aplicación de una correcta política de uso de los antibióticos.

2.

3. V. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Identificar las cepas de bacilos Gramnegativo no fermentadores aisladas en el Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios* (HROSJD) y determinar sus patrones de susceptibilidad antimicrobiana.

2. OBJETIVO ESPECIFICO

Determinar la frecuencia de los géneros de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados de muestras clínicas en el laboratorio clínico del Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios* (HROSJD).

VI. HIPÓTESIS

Debido a que el estudio es de tipo descriptivo y transversal no se formula hipótesis para esta investigación.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

El universo de estudio comprendió a todos los pacientes internados en el Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios* (HROSJD).

B. Muestra

Se tomaron 151 cultivos positivos para cepas de bacilos Gramnegativo no fermentadores.

C. Recursos

1. Humanos

Bachiller Margareth Esperanza Cuéllar Sagastume (tesista)

Licenciado José Manuel Arriaga (asesor)

Licenciado Jorge Luis de León (asesor estadístico)

Personal técnico del Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios* (HROSJD).

2. Institucionales

Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios*, (HROSJD) Quetzaltenango.

3. Físicos

▀ Equipo

Incubadora a 35° C

Microscopio
Mechero Bunsen
MICROSCAN® lector
Placas para el equipo de MICROSCAN®

D. Metodología

Las muestras analizadas fueron los cultivos positivos para bacilos Gramnegativo no fermentadores, según las pruebas básicas como características de la colonias, tinción de Gram, etc., aislados en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios* (HROSJD) a partir de muestras clínicas de pacientes internos en este centro hospitalario. Los cultivos que cumplieron con el requisito anterior, fueron sometidos a pruebas de identificación y determinación de su patrón de susceptibilidad por el sistema semi-automatizado Microscan®.

E. Procedimiento

1. Preparación de la suspensión bacterial

- Remover la tapadera de las botellas de preparación del inóculo.
- Seleccionar 3 colonias representativas y tomarlas, en forma perpendicular, con el capilar provisto para ello. Tener cuidado de únicamente tocar la superficie de cada colonia, no atravesarlas ni perforar el medio.
- Introducir el capilar dentro de la botella, cerrarla y agitarla vigorosamente de 8 a 10 veces. La suspensión obtenida puede utilizarse dentro de un lapso de 2 horas.
- Colocar la suspensión en la placa de inoculación.
- Instalar el pipeteador (RENOK) en una charola de inoculación (sistema de transferencia), colocarlos sobre la placa de inoculación y aspirar la suspensión, presionando el botón de aspiración / liberación.
- Colocar el sistema de transferencia sobre un panel para Gramnegativo de MICROSCAN® y expeler (inocular) la suspensión, presionando, otra vez, el botón de aspiración / liberación.

- ▀ Agregar aceite a los pozos en los que se necesita una atmósfera anaeróbica.
- ▀ Cubrir el panel con la tapadera e incubar a 35 ° C por 16 a 42 hrs.
- ▀ Sacarlo de la incubadora y añadir los reactivos a los respectivos pozos.
- ▀ Introducir los datos del paciente a la computadora, colocar la placa y esperar los resultados.

2. Interpretación de los resultados

El resultado de la identificación se obtuvo en una hoja de papel impresa por la máquina, la cual contiene el nombre de la bacteria identificada, y los patrones de susceptibilidad hacia cada antibiótico, comparado con los parámetros de la NCCLS.

F. Análisis estadístico

1. Análisis de Datos

- a. Tipo de estudio: Descriptivo, transversal.
- b. Población: Los pacientes internados en el Hospital Regional de Occidente *San Juan de Dios* (HROSJD).
- c. Tamaño de la muestra: 151 cultivos positivos para diferentes cepas de bacilos Gramnegativo no fermentadores; el tamaño de la muestra fue determinado por conveniencia, debido a los recursos económicos disponibles en la institución.

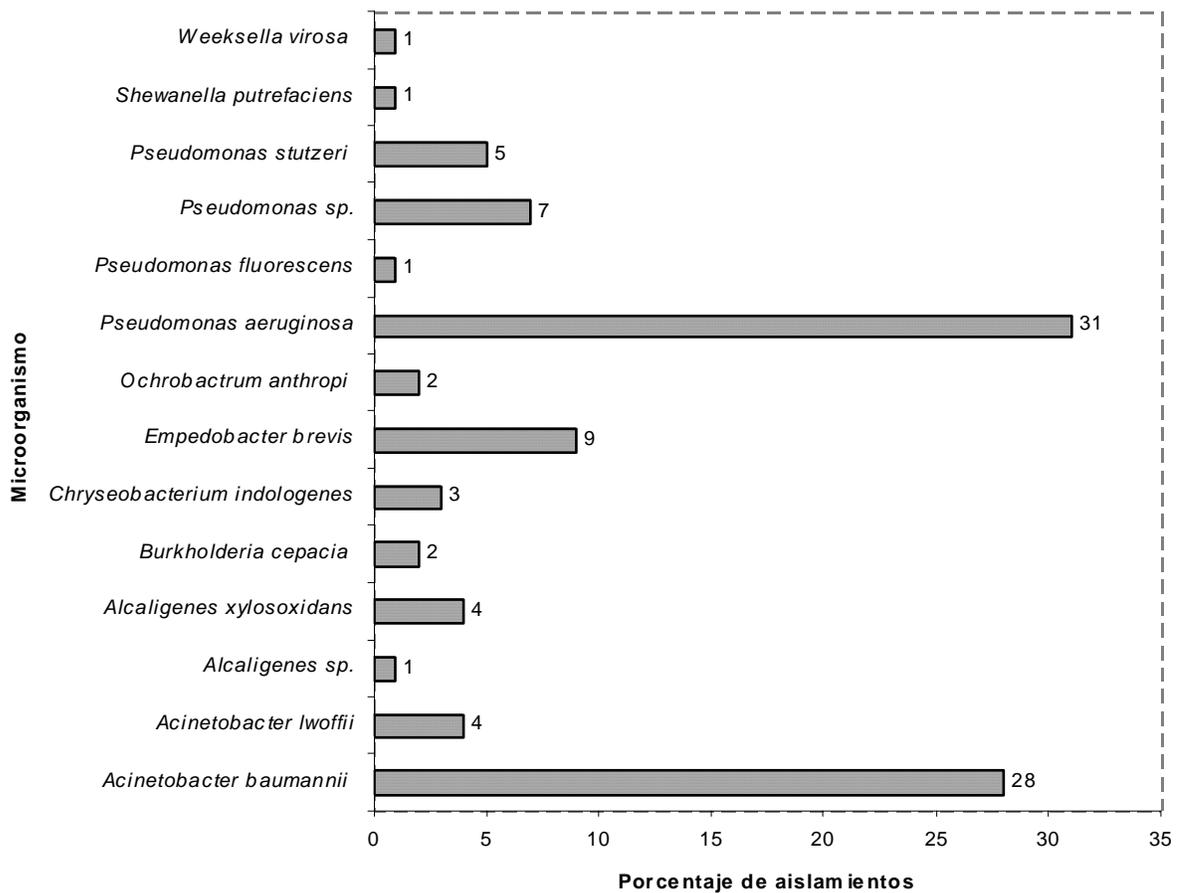
2. Análisis Estadístico

Se llevó a cabo con el programa Whonet versión 5 que realiza un análisis de frecuencia para descripción de la población, los resultados se graficaron con porcentajes para determinar la frecuencia de cada especie y sus patrones de resistencia.

VIII. RESULTADOS

En la Gráfica 1 se observa que en las muestras analizadas en este estudio, el bacilo Gramnegativo no fermentador más frecuentemente aislado fue *Pseudomonas aeruginosa*, seguido de *Acinetobacter baumannii* y *Empedobacter brevis*.

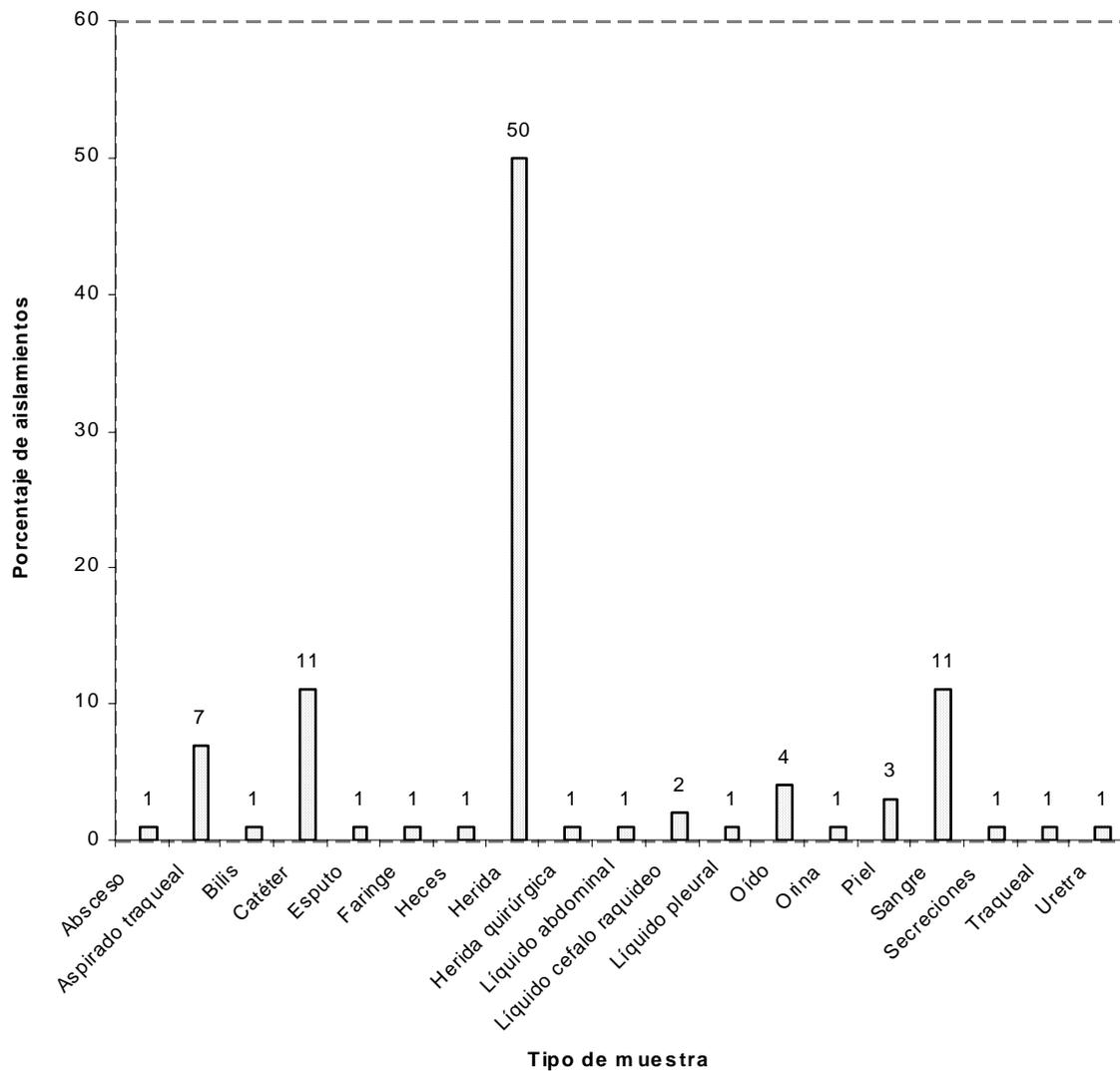
Gráfica 1 Frecuencia de cada tipo de bacilo Gramnegativo no fermentador aislado en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 2 se observan todas las muestras de donde se aislaron bacilos Gramnegativo no fermentadores, siendo las heridas de donde se aislaron en mayor cantidad, seguidas de las muestras de sangre, catéteres y aspirados traqueales.

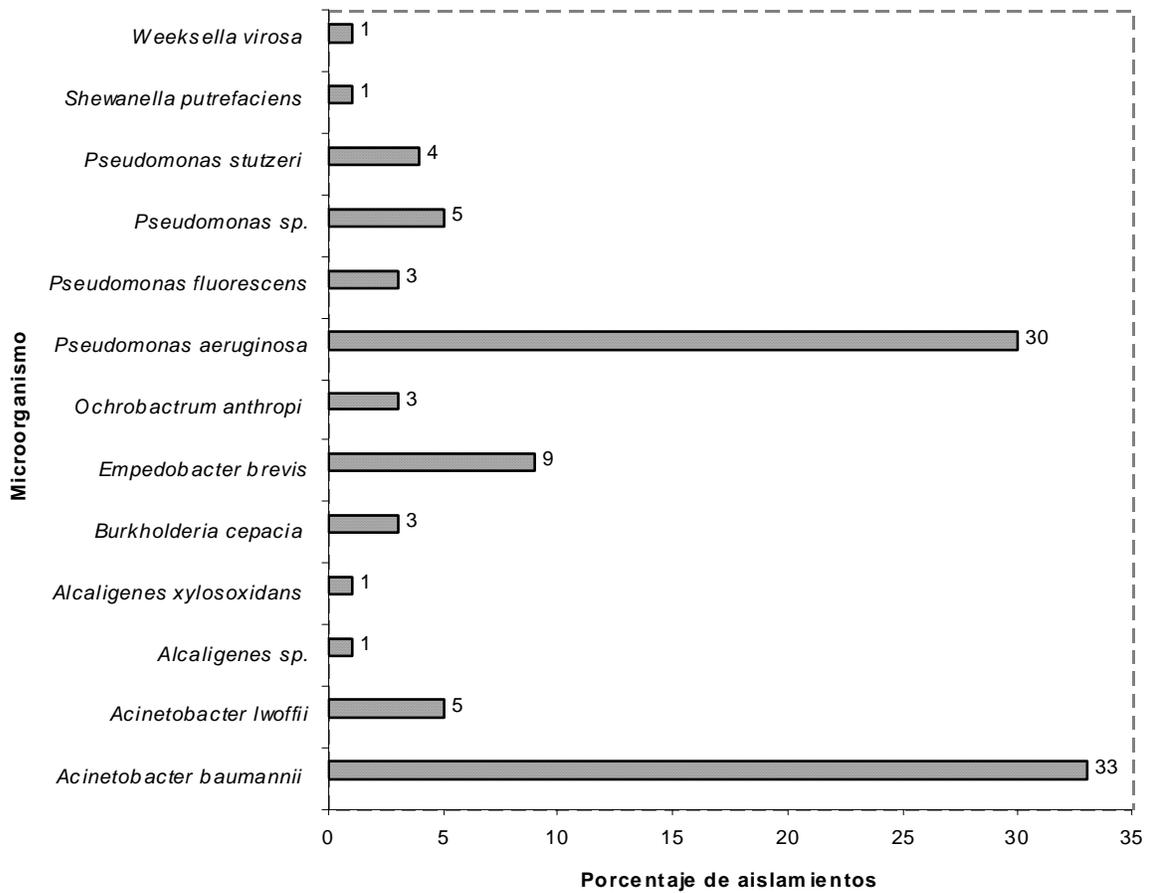
Gráfica 2 Porcentaje de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados según el tipo de muestra en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 3 se observa que en las muestras provenientes de heridas, el bacilo Gramnegativo no fermentador aislado con mayor frecuencia es *Acinetobacter baumannii*, seguido de *Pseudomonas aeruginosa* y *Empedobacter brevis*.

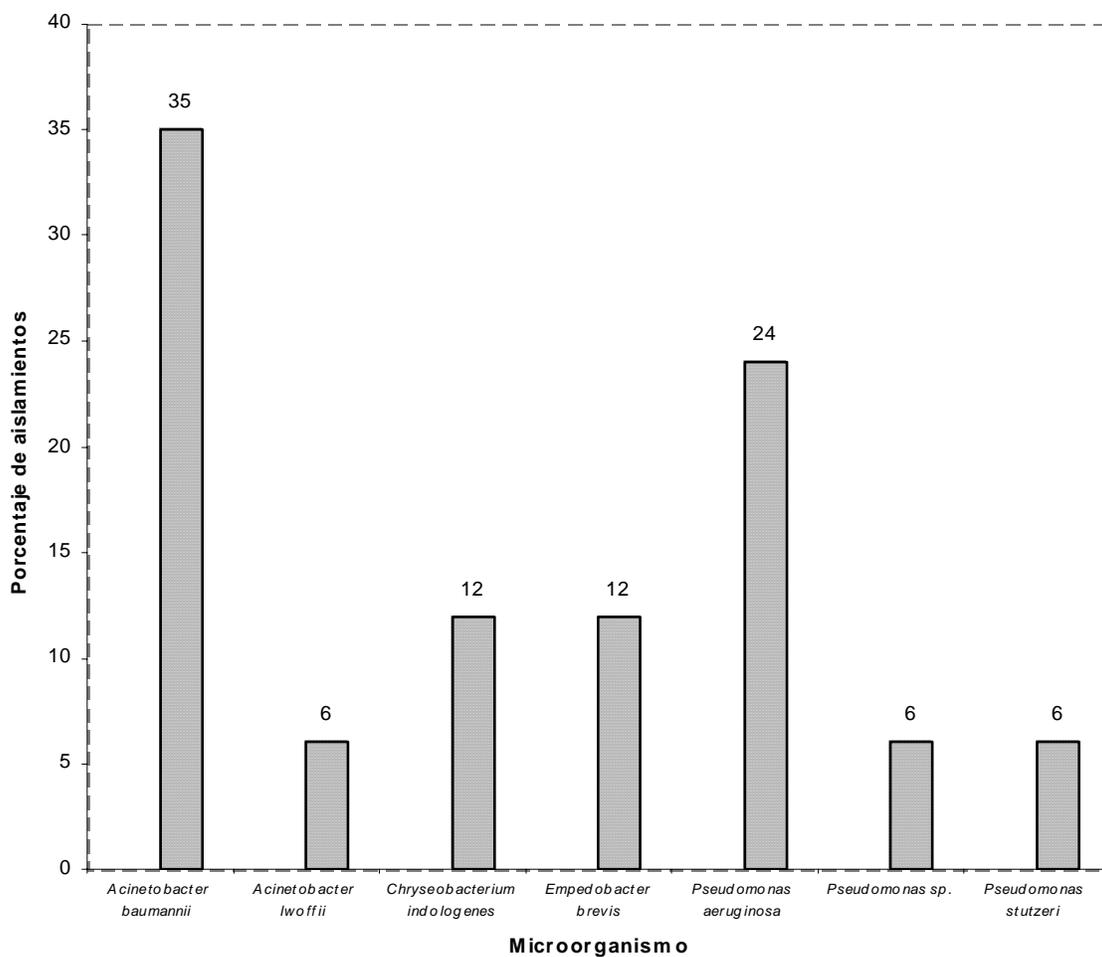
Gráfica 3 Frecuencia de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en heridas en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales.

En la Gráfica 4 se observa que en las muestras provenientes de catéteres, el bacilo Gramnegativo no fermentador que con mayor frecuencia se aisló es *Acinetobacter baumannii*.

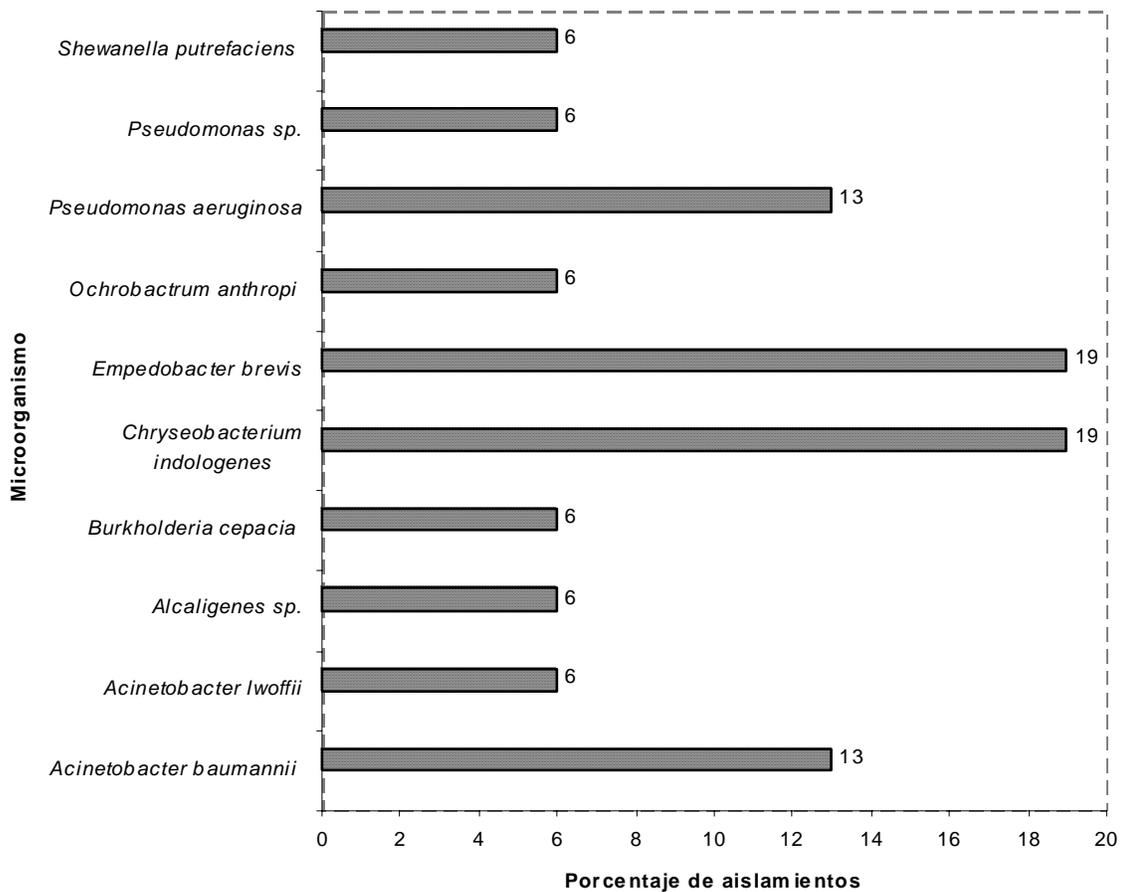
Gráfica 4 Frecuencia de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en catéteres en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

La Gráfica 5 muestra que los bacilos Gramnegativo no fermentadores más frecuentemente aislados en muestras de sangre son *Empedobacter brevis* y *Chryseobacterium indologenes*.

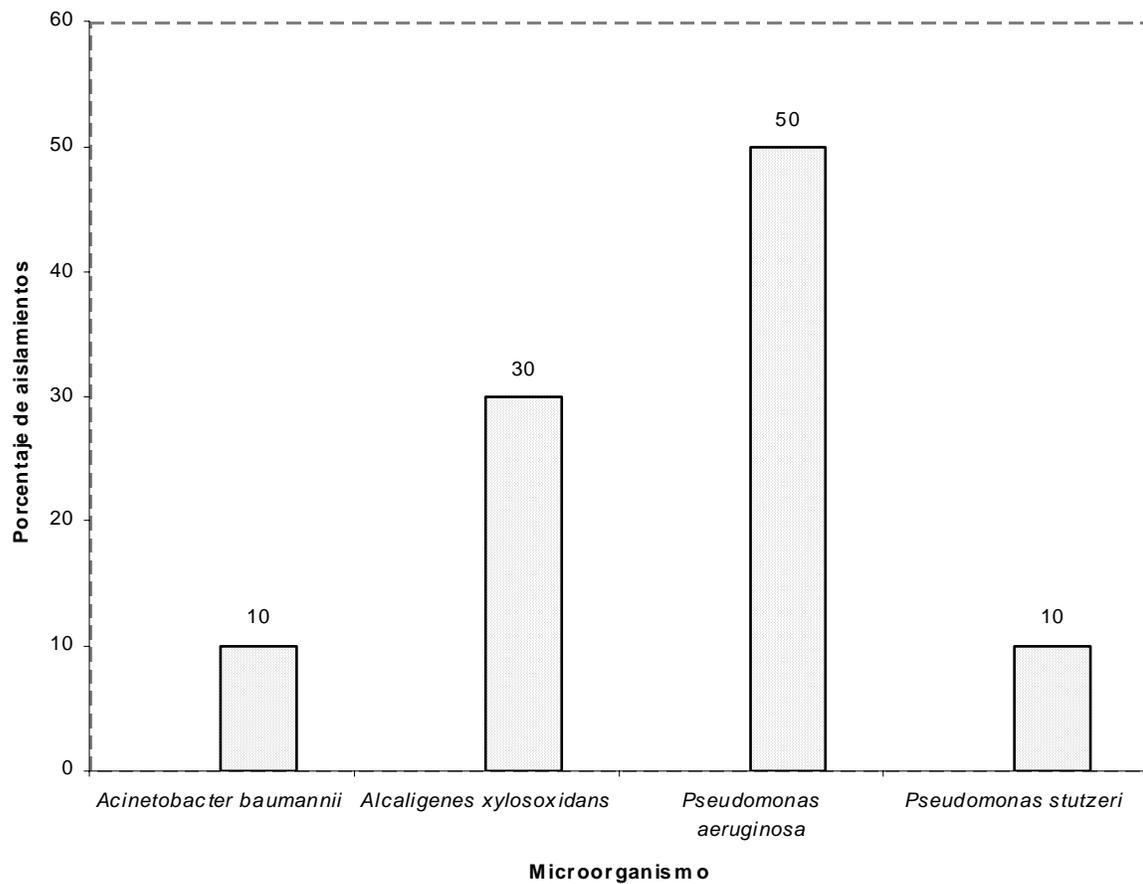
Gráfica 5 Frecuencia de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en sangre en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 6 se observa que en muestras provenientes de aspirados traqueales, *Pseudomonas aeruginosa* es el bacilo Gramnegativo no fermentador aislado con mayor frecuencia seguido de *Alcaligenes xylosoxidans*.

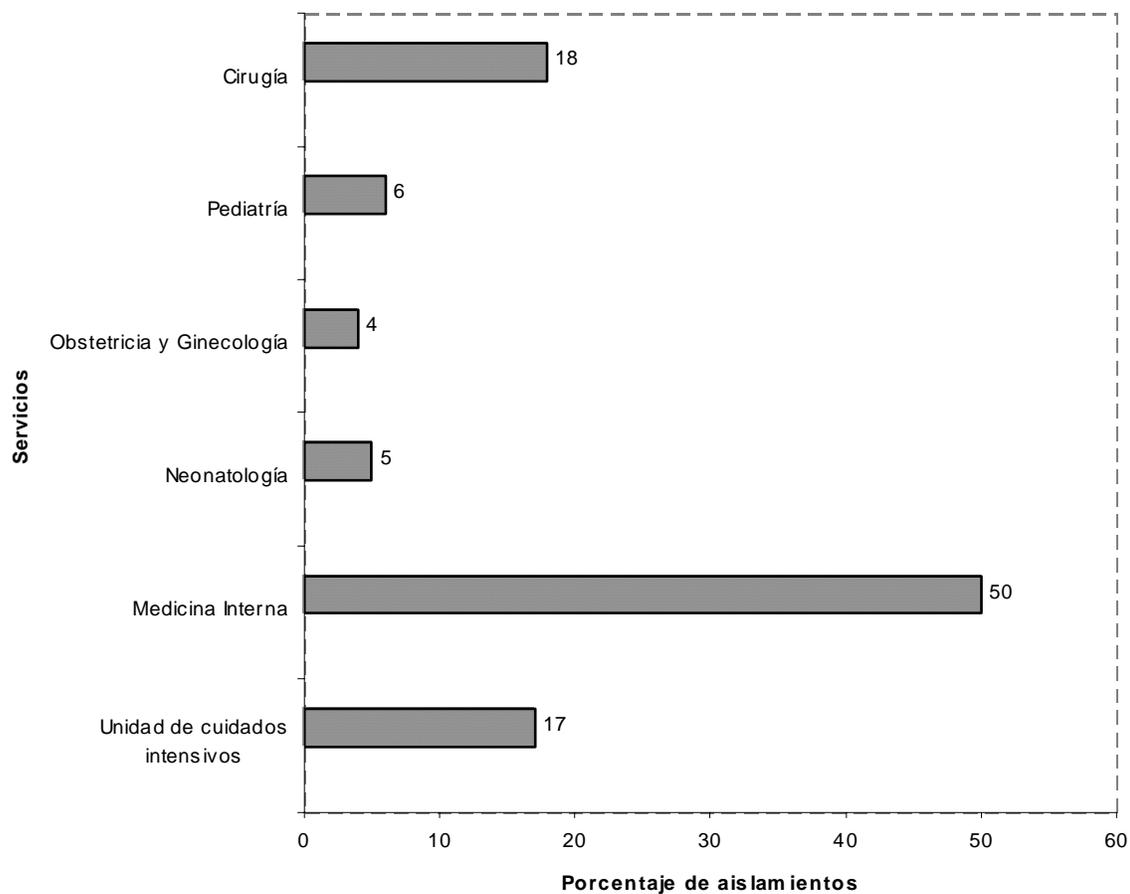
Gráfica 6 Frecuencia de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en aspirados traqueales en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 7 se observa que en el servicio del Hospital de donde provinieron la mayoría de aislamientos fue el servicio de Medicina Interna, seguido de la Cirugía y de la Unidad de Cuidados Intensivos.

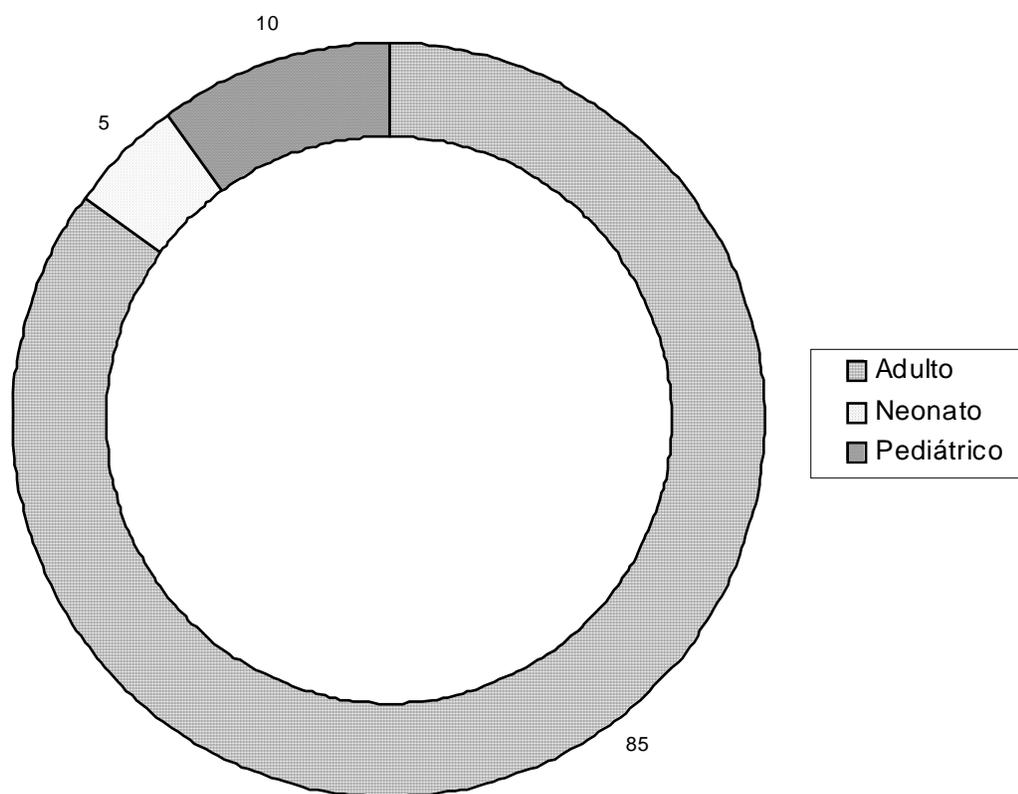
Gráfica 7 Porcentaje de aislamientos de bacilos Gram negativo no fermentadores según los servicios en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 8 se observa que la mayoría de aislamientos se obtuvieron de pacientes adultos, en comparación con pacientes pediátricos y neonatos.

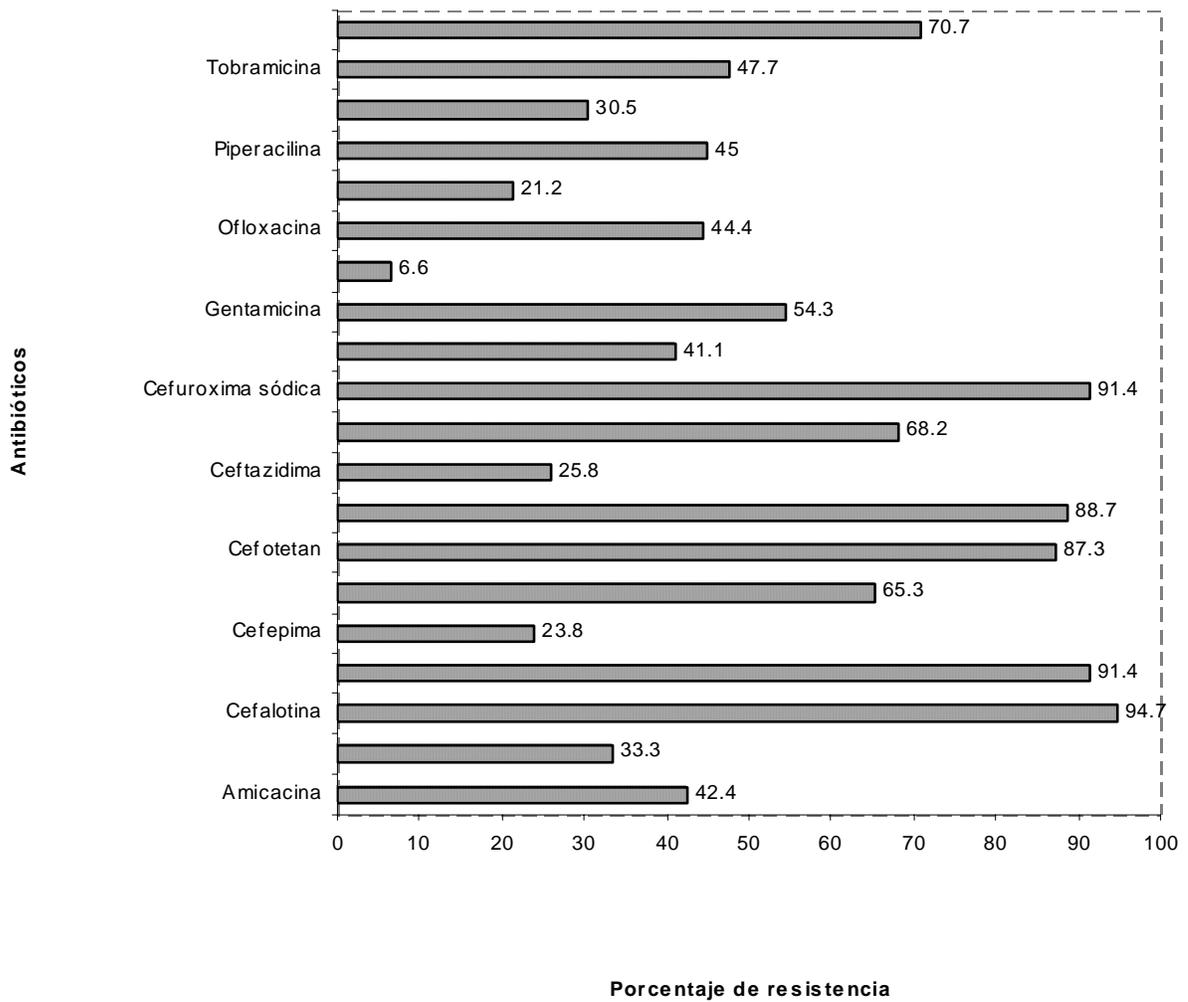
Gráfica 8 Porcentaje de aislamiento de bacilos Gramnegativo no fermentadores según el tipo de paciente en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 9 se observa que el antibiótico para el cual existe mayor resistencia antibiótica por parte de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados es cefalotina, seguido de cefazolina, cefuroxima sódica, cefpodoxima y cefotetán.

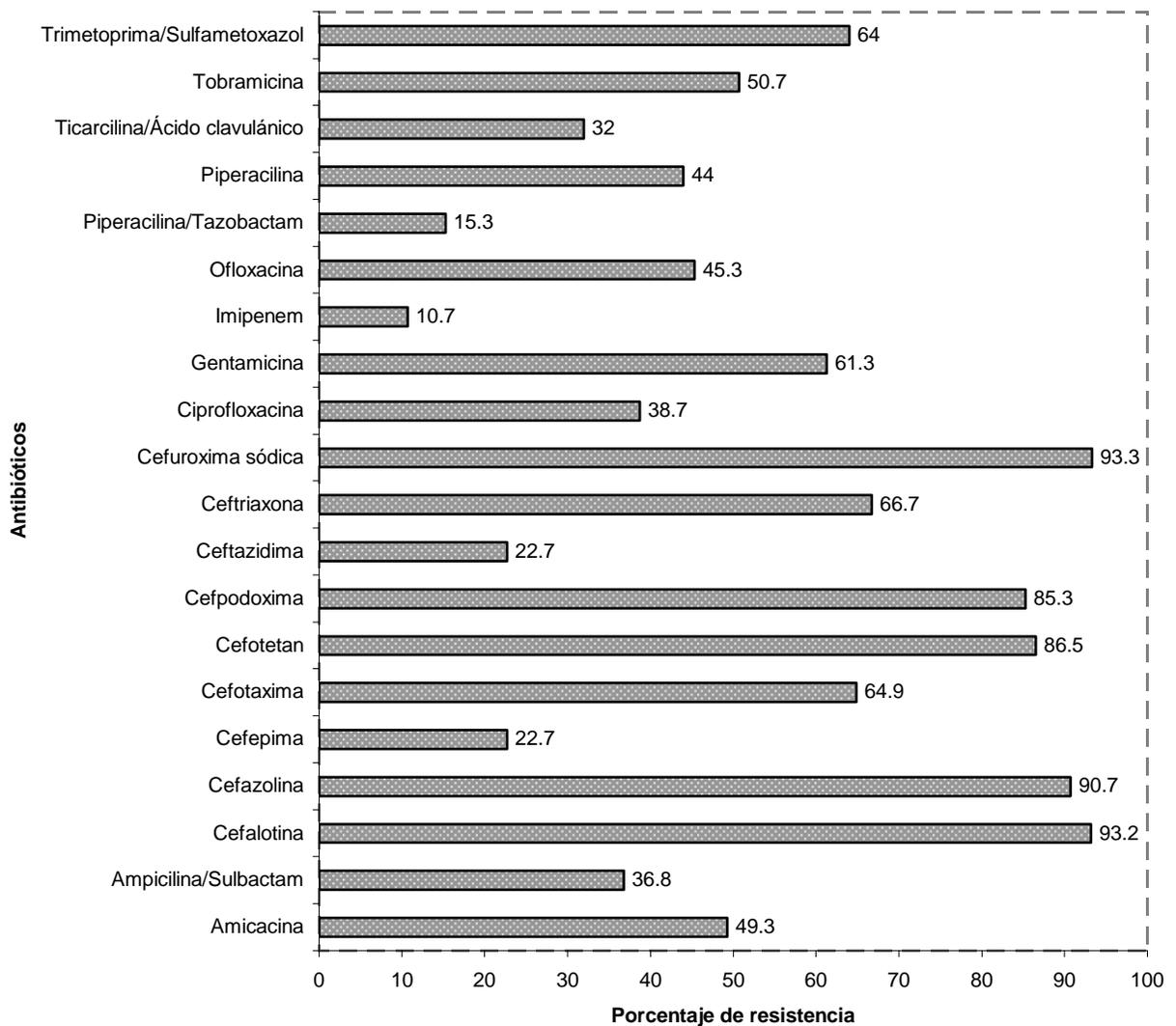
Gráfica 9 Porcentaje de resistencia a antibióticos de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 10 se observa que en el servicio de Medicina Interna el mayor porcentaje de resistencia corresponde al antibiótico cefuroxima sódica, seguido de cefalotina, cefazolina, cefotetán y cefpodoxima.

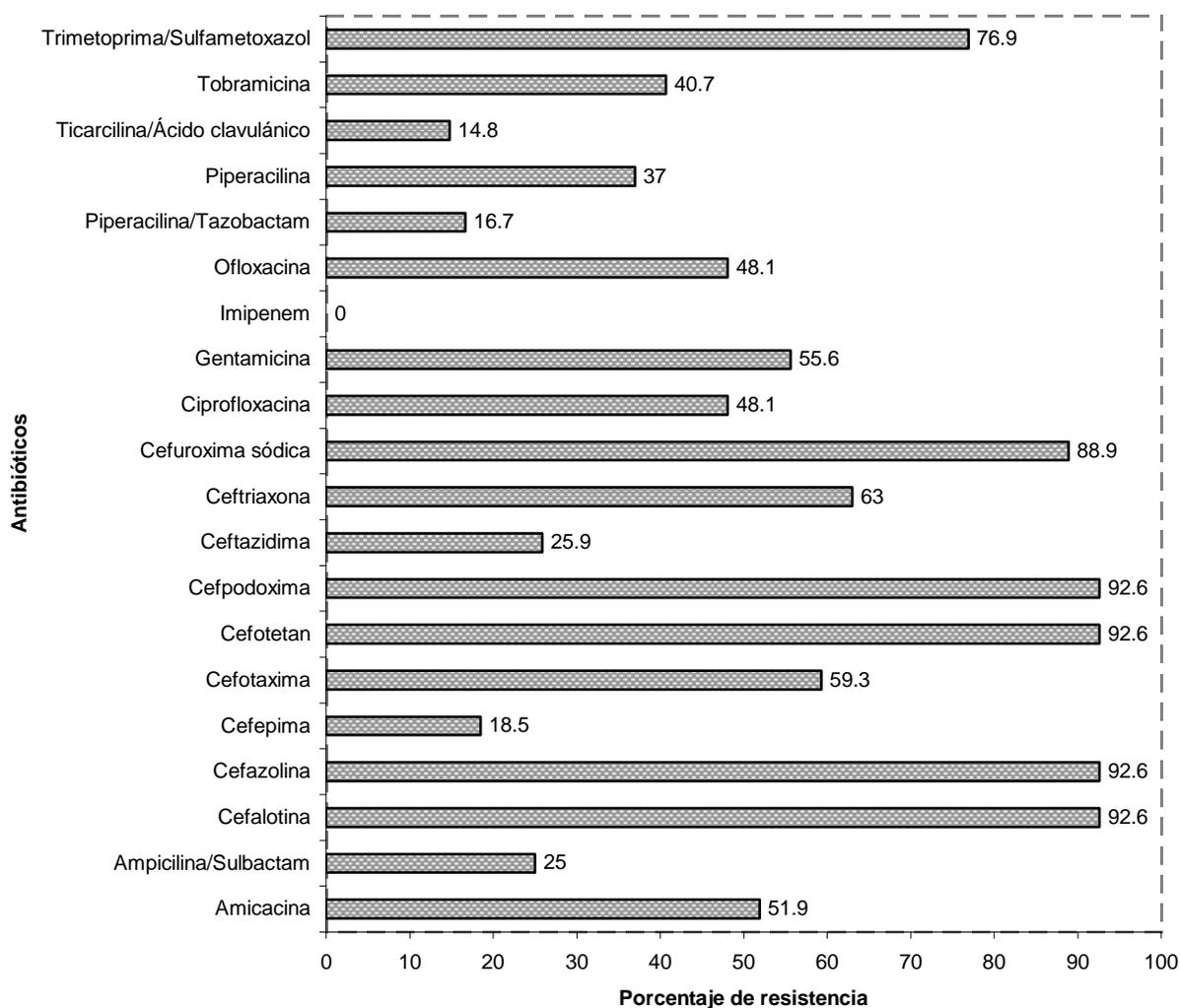
Gráfica 10 Porcentaje de resistencia antibiótica de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en el servicio de Medicina Interna del Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 11 se observa que en el servicio de Cirugía los mayores porcentajes de resistencia los presentan los antibióticos cefalotina, cefazolina, cefpodoxima y cefotetán que muestran el mismo valor, seguidos de cefuroxima sódica y trimetoprim/sulfametoxazol.

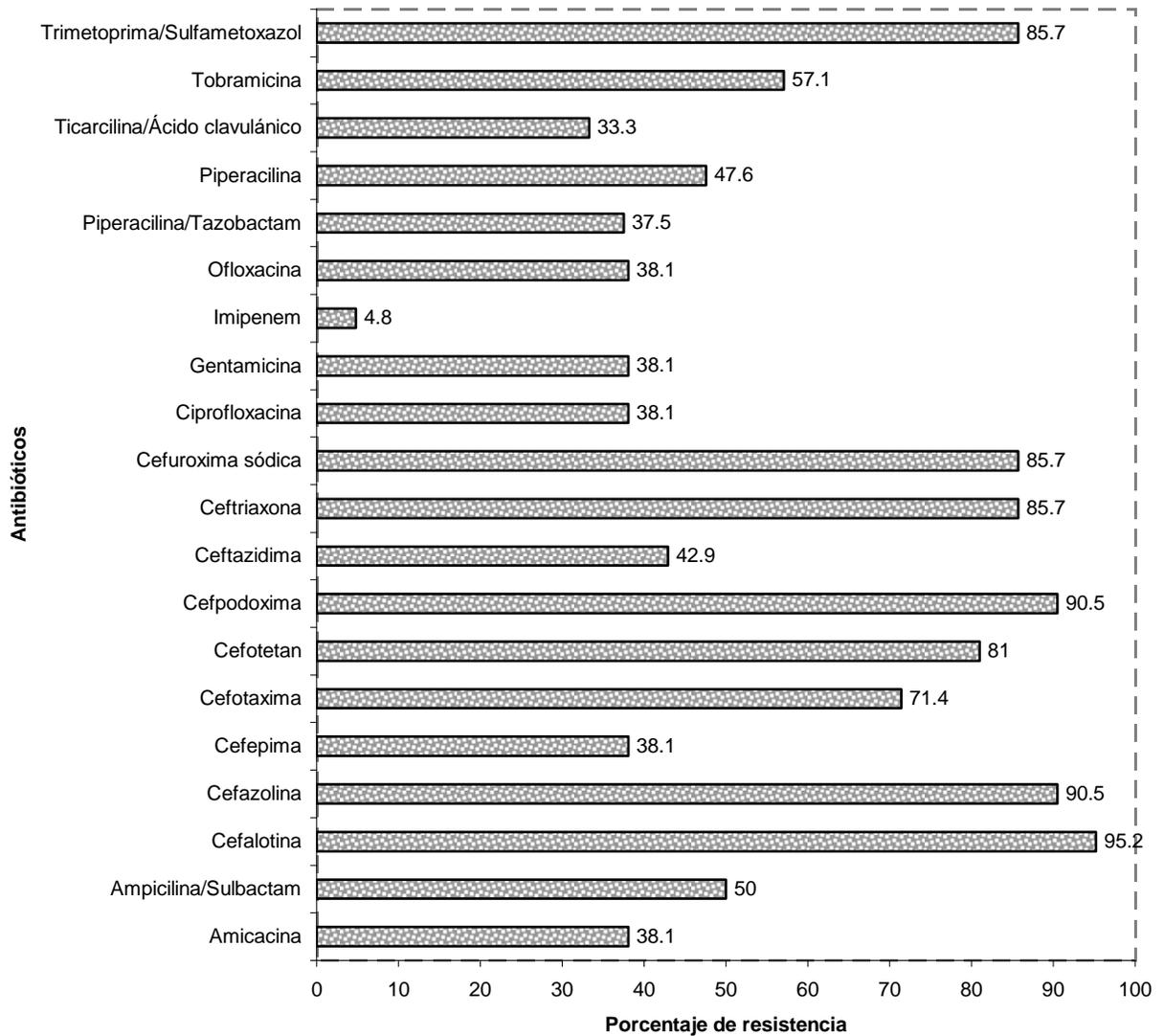
Gráfica 11 Porcentaje de resistencia antibiótica de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados del servicio de Cirugía del Hospital Regional de Occidenta San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

La Gráfica 12 muestra que en la Unidad de Cuidados Intensivos, la mayor resistencia corresponde a la cefalotina, seguido de cefazolina y cefpodoxima, ceftriaxona, cefuroxima sódica y trimetoprim/sulfametoxazol.

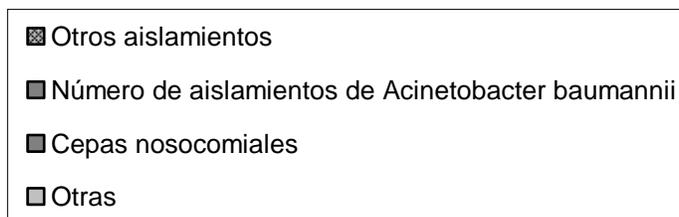
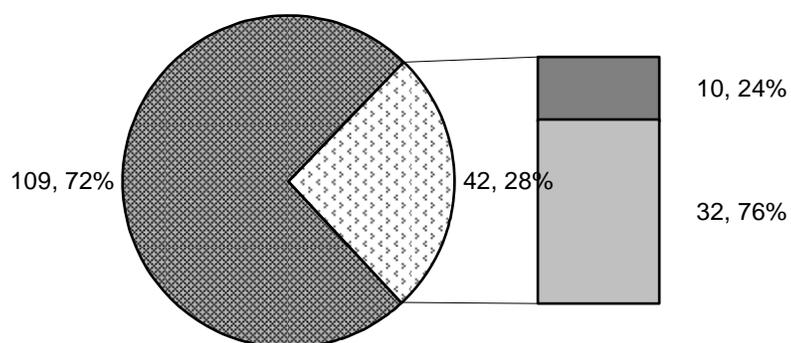
Gráfica 12 Porcentaje de resistencia antibiótica de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 13 se observa el porcentaje de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* dentro de la población analizada, y a la vez puede observarse el porcentaje de cepas nosocomiales que existen dentro de dichos aislamientos.

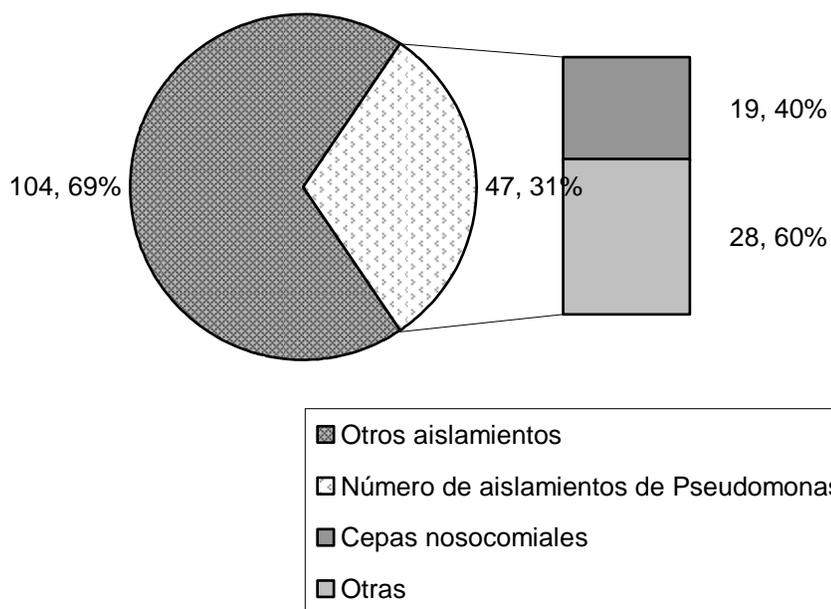
Gráfica 13 Porcentaje de cepas nosocomiales de *Acinetobacter baumannii* aisladas en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 14 muestra el porcentaje de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* dentro de la población analizada, y a la vez se observa el porcentaje de cepas nosocomiales que existen dentro de dichos aislamientos.

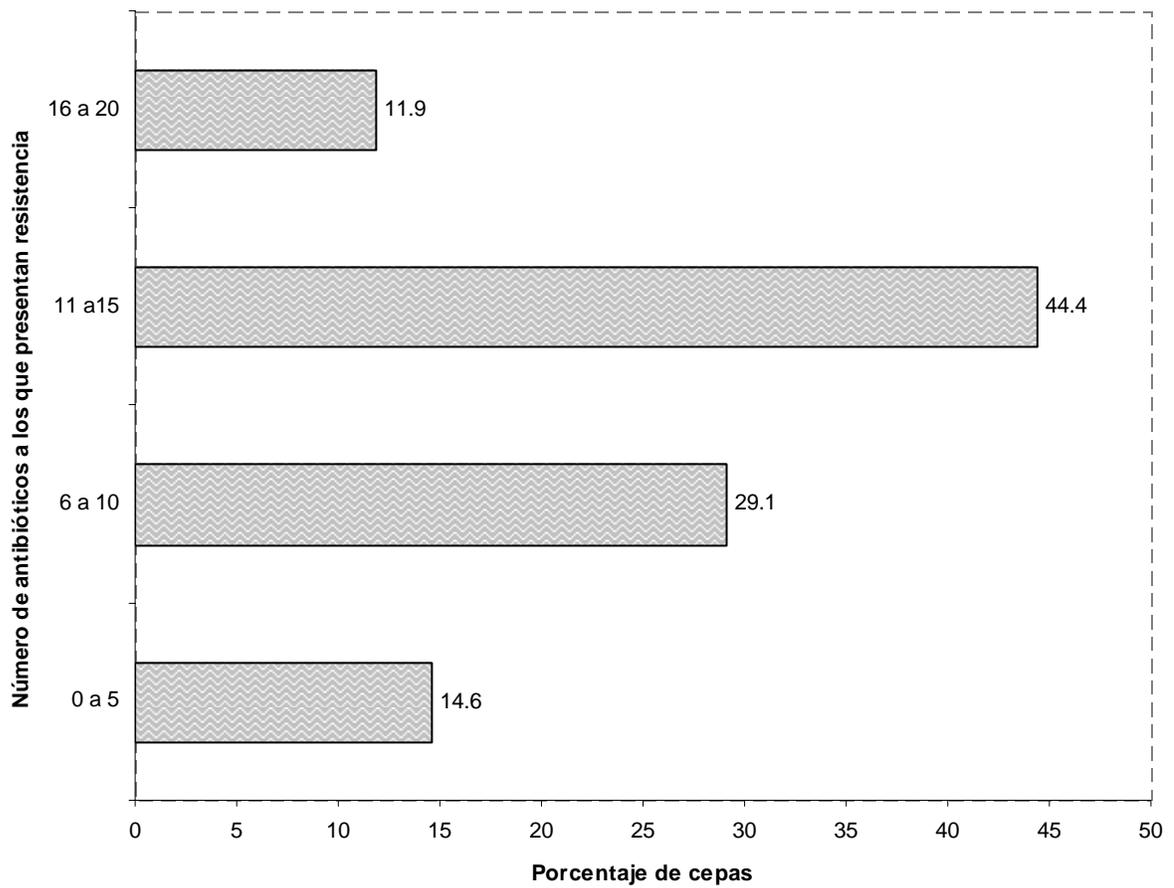
Gráfica 14 Porcentaje de cepas nosocomiales de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

La Gráfica 15 muestra los porcentajes de cepas resistentes aisladas, según el número de antibióticos evaluados.

Gráfica No. 15 Porcentaje de cepas multirresistentes aisladas en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios, Quetzaltenango.



Fuente: Datos experimentales

En la Tabla 1 se observa que de todos los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados, *Pseudomonas aeruginosa* fue la bacteria más frecuentemente aislada, ya que de 151 cultivos positivos para este tipo de bacterias, en 47 cultivos se aisló *P. aeruginosa*; también se puede observar que presenta un alto porcentaje de resistencia hacia las cefalosporinas: cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefuroxima y a la cefamicina cefotetán.

Se observa también que *A. baumannii* fue el segundo bacilo más aislado con 42 cultivos positivos, presentando una alta resistencia a cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefotetán, cefuroxima y trimetoprim/sulfametoxazol.

En la Tabla 2 se observan los porcentajes de no susceptibilidad de los bacilos Gramnegativo no fermentadores siendo para *P. aeruginosa* los más altos los correspondientes a cefalotina, cefazolina, cefotetán, cefpodoxima, cefuroxima, ceftriaxona, cefotaxima y trimetoprim/sulfametoxazol en orden descendente. *A. baumannii* presentó un alto porcentaje de no susceptibilidad a cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefotetán, cefuroxima, ceftriaxona, piperacilina, cefotaxima, trimetoprim/sulfametoxazol y amicacina, también en orden descendente.

En la Tabla 3 se presentan los porcentajes de susceptibilidad de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados, siendo para *Pseudomonas aeruginosa* el imipenem, piperacilina/tazobactam, piperacilina, ciprofloxacina y ticarcilina/ácido clavulánico los antibióticos a los que presenta una mayor susceptibilidad. Para *Acinetobacter baumannii* el imipenem y ampicilina/sulbactam son los antibióticos en donde se obtuvo un mayor porcentaje de susceptibilidad.

Tabla 1 Porcentaje de Resistencia de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en el HROSJD¹, Quetzaltenango

Microorganismo	No. de aisl.	AMK %R	SAM %R	CEP %R	CZO %R	FEP %R	CTX %R	CTT %R	CPD %R	CAZ %R	CRO %R	CXM %R	CIP %R	GEN %R	IPM %R	OFX %R	TZP %R	PIP %R	TCC %R	TOB %R	SXT %R
<i>Acinetobacter baumannii</i>	42	74	33	100	100	29	88	98	100	31	86	98	76	81	0	76	71	76	38	60	93
<i>Alcaligenes sp.</i>	2	0	-	50	50	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	50	100
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	6	0	-	67	50	0	0	0	17	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	17
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	6	83	-	100	83	67	83	83	83	33	83	100	83	83	33	67	33	33	17	100	67
<i>Empedobacter brevis</i>	14	21	-	93	93	7	64	86	79	7	71	93	57	86	0	57	36	79	29	93	64
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	5	100	-	100	100	80	60	80	80	20	80	100	0	80	60	0	0	40	80	80	0
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	3	67	-	67	67	33	67	100	100	0	67	100	33	100	0	33	33	67	67	100	33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47	17	-	100	100	15	60	100	100	23	70	100	15	26	4	26	11	19	21	17	78
<i>Burkholderia cepacia</i>	3	67	-	100	100	67	100	100	100	67	67	100	0	67	0	0	0	33	67	67	33
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	0	-	100	100	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100	0	100
<i>Pseudomonas sp.</i>	11	18	-	82	64	27	46	64	64	55	36	73	27	27	27	27	18	27	46	36	36
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	7	86	-	100	100	14	83	100	100	29	100	100	86	71	0	86	57	86	0	71	100
<i>Shewanella putrefaciens</i>	2	0	-	50	0	0	0	0	50	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Weeksella virosa</i>	1	0	-	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0	100	0	100	0	0	0	100	0

¹Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios

AMK=Amikacina, SAM=Ampicilina-Sulbactam, AMP=Ampicilina, CEP=Cefalotina, CZO=Cefazolina, FEP=Cefepima, CTX=Cefotaxima, CTT=Cefotetan, CPD=Cefpodoxima, CAZ=Ceftazidima, CRO=Ceftriaxona, CXM=Cefuroxima, CIP=Ciprofloxacina, GEN=Gentamicina, IPM=Imipenem, OFX=Ofloxacina, TZP=Piperacilina-Tazobactam, PIP=Piperacilina, TCC=Ticarclina-ácido clavulánico, TOB=Tobramicina, SXT=Trimetoprim-sulfametoxazol.

Fuente: Datos experimentales

Tabla 2 Porcentaje de No susceptibilidad (%R +%I) de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en el HROSJD¹, Quetzaltenango

Microorganismo	No. de aisl.	AMK %NS	SAM %NS	CEP %NS	CZO %NS	FEP %NS	CTX %NS	CTT %NS	CPD %NS	CAZ %NS	CRO %NS	CXM %NS	CIP %NS	GEN %NS	IPM %NS	OFX %NS	TZP %NS	PIP %NS	TCC %NS	TOB %NS	SXT %NS
<i>Acinetobacter baumannii</i>	42	91	41	100	100	52	95	98	100	50	98	98	79	81	2	81	71	95	71	62	93
<i>Alcaligenes sp.</i>	2	0	-	50	50	0	0	0	50	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	50	100
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	6	0	-	67	67	0	0	0	33	0	0	0	0	17	0	0	0	33	0	0	17
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	6	100	-	100	100	100	83	83	83	50	100	100	83	83	50	83	67	50	33	100	67
<i>Empedobacter brevis</i>	14	64	-	93	93	57	79	86	93	36	79	93	57	86	0	57	79	79	79	93	64
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	5	100	-	100	100	80	80	100	100	20	80	100	60	100	80	80	0	80	80	100	0
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	3	67	-	100	100	67	100	100	100	33	100	100	33	100	67	67	67	100	67	100	33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47	28	-	100	100	34	92	100	100	34	96	100	21	38	6	30	11	19	21	23	78
<i>Burkholderia cepacia</i>	3	67	-	100	100	67	100	100	100	100	100	100	0	67	67	33	0	33	100	67	33
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	0	-	100	100	0	100	100	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100	0	100
<i>Pseudomonas sp.</i>	11	27	-	91	82	36	55	73	73	55	55	91	36	36	36	46	18	36	73	64	36
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	7	100	-	100	100	43	100	100	100	57	100	100	86	71	0	86	71	100	100	71	100
<i>Shewanella putrefaciens</i>	2	0	-	50	0	50	50	50	50	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Weeksella virosa</i>	1	100	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0	0	0	100	0

¹Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios

AMK=Amikacina, SAM=Ampicilina-Sulbactam, AMP=Ampicilina, CEP=Cefalotina, CZO=Cefazolina, FEP=Cefepima, CTX=Cefotaxima, CTT=Cefotetan, CPD=Cefpodoxima, CAZ=Ceftazidima, CRO=Ceftriaxona, CXM=Cefuroxima, CIP=Ciprofloxacina, GEN=Gentamicina, IPM=Imipenem, OFX=Ofloxacina, TZP=Piperacilina-Tazobactam, PIP=Piperacilina, TCC=Ticarclina-ácido clavulánico, TOB=Tobramicina, SXT=Trimetoprim-sulfametoxazol.

Fuente: Datos experimentales

Tabla 3 Porcentaje de susceptibilidad de los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en el HROSJD¹, Quetzaltenango

Microorganismo	No. de aisl.	AMK %S	SAM %S	CEP %S	CZO %S	FEP %S	CTX %S	CTT %S	CPD %S	CAZ %S	CRO %S	CXM %S	CIP %S	GEN %S	IPM %S	OFX %S	TZP %S	PIP %S	TCC %S	TOB %S	SXT %S	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	42	10	59	0	0	48	5	2	0	50	2	2	21	19	98	19	29	5	29	38	7	
<i>Alcaligenes sp.</i>	2	100	-	50	50	100	100	100	50	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100	100	50	0
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	6	100	-	33	33	100	100	100	67	100	100	100	100	83	100	100	100	67	100	100	100	83
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	6	0	-	0	0	0	17	17	17	50	0	0	17	17	50	17	33	50	67	0	33	
<i>Empedobacter brevis</i>	14	36	-	7	7	43	21	14	7	64	21	7	43	14	100	43	21	21	21	7	36	
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	5	0	-	0	0	20	20	0	0	80	20	0	40	0	20	20	100	20	20	0	100	
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	3	33	-	0	0	33	0	0	0	67	0	0	67	0	33	33	33	0	33	0	67	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47	72	-	0	0	66	9	0	0	66	4	0	79	62	94	70	89	81	79	77	22	
<i>Burkholderia cepacia</i>	3	33	-	0	0	33	0	0	0	0	0	0	100	33	33	67	100	67	0	33	67	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	100	-	0	0	100	0	0	0	100	100	0	100	100	100	100	100	100	0	100	0	
<i>Pseudomonas sp.</i>	11	73	-	9	18	64	46	27	27	46	46	9	64	64	64	55	82	64	27	36	64	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	7	0	-	0	0	57	0	0	0	43	0	0	14	29	100	14	29	0	0	29	0	
<i>Shewanella putrefaciens</i>	2	100	-	50	100	50	50	50	50	100	100	50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
<i>Weeksella virosa</i>	1	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	100	100	100	0	100	

¹Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios

AMK=Amikacina, SAM=Ampicilina-Sulbactam, AMP=Ampicilina, CEP=Cefalotina, CZO=Cefazolina, FEP=Cefepima, CTX=Cefotaxima, CTT=Cefotetan, CPD=Cefpodoxima, CAZ=Ceftazidima, CRO=Ceftriaxona, CXM=Cefuroxima, CIP=Ciprofloxacina, GEN=Gentamicina, IPM=Imipenem, OFX=Ofloxacina, TZP=Piperacilina-Tazobactam, PIP=Piperacilina, TCC=Ticarcilina-ácido clavulánico, TOB=Tobramicina, SXT=Trimetoprim-sulfametoxazol.

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El uso y abuso de los antibióticos en las últimas décadas y la presión que ello ha ejercido sobre los procesos de selección, ha ocasionado la emergencia de un buen número de bacterias resistentes. Al mismo tiempo los avances de la medicina han permitido el aumento de pacientes inmunocomprometidos que hoy en día se ven afectados por infecciones por agentes antes inofensivos; de esta forma, actualmente en los hospitales de todo el mundo están muriendo enfermos infectados por bacterias resistentes a la mayor parte de los antibióticos conocidos.

En el presente estudio se analizaron un total de 151 cultivos, positivos para bacilos Gramnegativo no fermentadores provenientes de diversas muestras, tomadas de pacientes internos en el Hospital Regional de Occidente San Juan de Dios ubicado en el departamento de Quetzaltenango; el análisis se realizó con el fin de identificar las cepas aisladas y determinar los patrones de susceptibilidad antibiótica de las mismas.

Como se observa en la Gráfica 1, del total de bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados, el 31% de los aislamientos corresponde a *Pseudomonas aeruginosa*, seguida de *Acinetobacter baumannii* con 28%; ambas bacterias se han convertido actualmente en patógenos intrahospitalarios importantes (13).

En la Gráfica 2 se observa que, según el tipo de muestra el 50% de aislamientos se obtuvo de heridas, seguido por muestras de sangre (11%), muestras de catéteres (11%) y aspirados traqueales (7%).

Con respecto a los aislamientos obtenidos de heridas, en la Gráfica 3 se observa que el mayor porcentaje corresponde a *Acinetobacter baumannii*; en el presente se reconoce que este microorganismo tiene un papel importante en la colonización e infección de pacientes hospitalizados y es la bacteria más frecuentemente responsable de las infecciones adquiridas en el hospital (2).

En muestras provenientes de catéteres (Gráfica 4), el bacilo Gramnegativo no fermentador aislado con mayor frecuencia vuelve a ser *Acinetobacter baumannii*, junto con *Pseudomonas aeruginosa*. De estos resultados puede inferirse la existencia de un incumplimiento de las normas básicas de higiene y bioseguridad (especialmente el lavado de manos) por parte del personal de salud al momento de efectuar procesos invasivos como la inserción de catéteres. Este es un factor de gran importancia en la transmisión de bacterias intrahospitalarias causantes de infecciones nosocomiales que deterioran aún más la salud del paciente inmunocomprometido.

En los aislamientos obtenidos de muestras de sangre, que se muestran en la Gráfica 5, predominan los aislamientos de los géneros *Empedobacter* y *Chryseobacterium*. Dichos géneros se encuentran en el ambiente hospitalario en los sistemas de agua y en superficies húmedas; *C. indologenes* en la especie aislada con mayor frecuencia a partir de muestras clínicas humanas y *E. brevis* se recupera en raras oportunidades a partir de materiales clínicos y se conoce poco acerca de su participación en enfermedades clínicas (3,5).

La Gráfica 6 muestra los bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados de aspirados traqueales, donde *Pseudomonas aeruginosa* es el más frecuentemente aislado con un 50%, seguido de *Alcaligenes xylosoxidans* subespecie *xylosoxidans* con un 30%. *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria con necesidades nutricionales mínimas, por lo que vive perfectamente en el suelo de los pasillos y salas de hospital (7). Suelen constituirse como importantes reservorios de esta bacteria, el equipo de asistencia respiratoria, humidificadores, sueros salinos, líquido de diálisis, agua del grifo, material de cura y diagnóstico, prótesis, e incluso es capaz de reproducirse en desinfectantes. Cualquier medio donde exista humedad, puede ser fuente de *Pseudomonas* en el hospital. Ello junto con la inmunosupresión de los pacientes hospitalizados, la convierten en un patógeno oportunista por excelencia (5,6).

Por su parte *Alcaligenes xylosoxidans* subesp. *xylosoxidans* se aísla con más frecuencia de muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo, lavados bronquiales, orina, entre otras; también puede ser un patógeno oportunista responsable de infecciones

nosocomiales, tales como neumonía, bacteremia y meningitis en pacientes con enfermedades subyacentes (2).

De los servicios del hospital sometidos al análisis, en la Gráfica 7 se observa que en los servicios de Medicina Interna, Cirugía y la Unidad de Cuidados Intensivos fue donde se obtuvieron los porcentajes más altos de aislamiento, 50%, 18% y 17%, respectivamente, lo que evidencia que además de los procesos infecciosos provocados por los bacilos Gramnegativo no fermentadores, existe un alto grado de contaminación de paciente a paciente y del personal de salud hacia el paciente, lo que tiene origen en diversos factores tales como falta de supervisión, de capacitación y de educación con respecto a las normas de higiene que deben tomarse en cuenta al momento de realizar cualquier tipo de procedimiento en el paciente. Otro factor de gran importancia que contribuye a la diseminación de las infecciones es el hacinamiento, larga estancia y la falta de recursos materiales en el hospital para la adecuada atención del paciente, lo cual obedece a factores de mayor magnitud y más difíciles de resolver pues tienen que ver con la calidad de los servicios de salud del país en general, que se encuentra desde hace tiempo en una permanente situación precaria por la insuficiencia de los recursos económicos asignados.

En la Gráfica 8 se observa que el tipo de paciente en el que más se aislaron bacilos Gramnegativo no fermentadores fue en adultos con un 85%, seguido de niños con 10% y neonatos con 85%, lo cual refleja la población interna en el hospital al momento de realizado el estudio; los datos son similares a los de otros estudios realizados durante el mismo período (24,25).

Con respecto a los patrones de susceptibilidad antibiótica encontrados, en la Gráfica 9 se observó un alto porcentaje de resistencia de los bacilos Gramnegativo no fermentadores hacia la cefalotina (94.7%), cefazolina (91.4%) y cefuroxima (91.4%), lo que concuerda con la literatura, pues las bacterias Gramnegativo han aprendido a sintetizar beta lactamasas que destruyen a los antimicrobianos que clásicamente eran eficaces contra los bacilos Gramnegativo, como aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureido penicilinas, así como cefalosporinas de primera y segunda generación; lo que obligó al desarrollo de las cefalosporinas de tercera generación, de monobactams y de carbapenems con la idea de contrarrestar dicha resistencia (13).

En las gráficas 10, 11 y 12 se observan los porcentajes de resistencia en los servicios de Medicina Interna, Cirugía y Unidad de Cuidados Intensivos; los menores porcentajes de resistencia los tienen los antibióticos: imipenem, piperacilina/tazobactam, cefepime, ceftazidima, y ticarcilina/ácido clavulánico, por lo que deben tomarse en cuenta en el tratamiento de estos microorganismos, recordando que al utilizarlos se requiere de un adecuado conocimiento de las características y potencialidad de cada uno y de un preciso criterio clínico para utilizarlos sólo en aquellos casos en que están indicados y en caso de tomar la decisión de usarlos, aplicarlos en dosis adecuadas y por el tiempo suficiente.

Además, se observa que los mayores porcentajes de resistencia los presentan los antibióticos: cefalotina, cefazolina, cefuroxima, cefpodoxima, cefotetán entre otros; lo que puede atribuirse a que en estos servicios existen ciertos factores tales como: ventilación de pacientes, utilización de procesos invasivos como intervenciones quirúrgicas, inserción de catéteres vasculares, administración de soluciones endovenosas, y otros como manipulación de material quirúrgico contaminado, administración masiva de antibióticos para la prevención de infecciones, alto contacto del paciente con el personal en procesos de curación, etc. que favorecen el desarrollo de resistencias y la posterior aparición de infecciones nosocomiales en los pacientes.

En las gráficas 13 y 14 se observan los altos porcentajes de cepas nosocomiales de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, los dos bacilos Gramnegativo no fermentadores que se aislaron con mayor frecuencia de las muestras. Estas cepas presentan un patrón de susceptibilidad antibiótica idéntico, probablemente desarrollado dentro del hospital y debido forma de utilización de los antibióticos disponibles.

En la Gráfica 15 se observa el desarrollo de la multirresistencia por parte de las bacterias; son pocas las que presentan resistencia a cinco o menos antibióticos, la mayoría son resistentes a entre once y quince antibióticos; las bacterias no conocen las fronteras, conservan su universalidad transmitiendo a su descendencia la resistencia adquirida como consecuencia de mutaciones o de intercambios, incluso entre diferentes especies, de genes de resistencia, siendo las alternativas de tratamiento cada vez más escasas y costosas (12).

Con respecto al porcentaje de resistencia encontrado en la bacteria más frecuentemente aislada (*Pseudomonas aeruginosa*), en la Tabla 1 se observa que esta bacteria es resistente en un 100% a cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefuroxima y cefotetán; en la Tabla 2 se puede observar que se encontró un alto porcentaje de susceptibilidad a imipenem (94%), piperacilina/tazobactam (89%), piperacilina (81%), ciprofloxacina (79%) y ticarcilina/ácido clavulánico (79%), datos similares a los obtenidos en estudios realizados anteriormente en el Hospital (23).

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo que presenta resistencia intrínseca a varios grupos de antimicrobianos. Durante años se ha invocado la baja permeabilidad de su membrana externa como el elemento clave para explicar esta resistencia natural. Casi la totalidad de los aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* expresan una β -lactamasa cromosómica de clase C (AmpC, no inhibible por los inhibidores de las β -lactamasas habituales, como el ácido clavulánico) que contribuye a la resistencia a muchos de los β -lactámicos de uso clínico, incluyendo las penicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cefamicinas y muchas de las cefalosporinas de tercera generación. Todo ello reduce notablemente las opciones terapéuticas frente a las infecciones causada por este agente (22).

Acinetobacter baumannii presentó un alto porcentaje de resistencia a cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefotetán, cefuroxima y trimetoprim/sulfametoxazol, lo que concuerda con estudios que demuestran que es la especie de *Acinetobacter* más resistente a los antibióticos. Cada vez es más frecuente encontrar una resistencia combinada a todos los β -lactámicos, a todos los aminoglucósidos y a las quinolonas. La resistencia a los β -lactámicos es debida a la presencia de diferentes β -lactamasas: TEM-1, TEM-2, CARB-5, cefalosporinasas de pl 8,5 y ceftazidimasas. Esta especie presentó los mayores porcentajes de susceptibilidad a imipenem (98%) y a ampicilina/sulbactam (59%); los porcentajes de susceptibilidad para los demás antibióticos se encuentran por debajo del 50%. En los últimos brotes epidémicos no es raro encontrar cepas resistentes al imipenem; dicha resistencia viene dada por una disminución de la permeabilidad de la membrana externa, una alteración de las PBPs y por la producción de una carbapenemasa (10).

Es importante notar que en la mayoría de aislamientos el porcentaje de no susceptibilidad hacia un antibiótico (que consiste en la suma del porcentaje de resistencia y el porcentaje de susceptibilidad intermedia), es en muchos casos más alto que el porcentaje de resistencia, lo que se traduce en que existe un aumento progresivo de la resistencia pues la categoría “intermedio” involucra concentraciones más elevadas del antibiótico para lograr que el microorganismo sea inhibido.

Los estudios de resistencia como el presente son de importancia epidemiológica, pues constituyen una ayuda en la selección de los regímenes antibióticos y pueden ser la base para una estrategia de contención que contrarreste el impacto que el fenómeno de la resistencia representa en términos de costos en una red hospitalaria afectada por la falta de recursos económicos y en donde las consecuencias nefastas que puede tener la indiferencia ante la situación aún no se visualizan claramente. La comprensión de la necesidad del uso adecuado y racional de los antibióticos que aun nos son útiles se convierte entonces en tarea de todos: pacientes y personal de salud.

X. CONCLUSIONES

1. Con respecto a los patrones de susceptibilidad antibiótica encontrados, se halló un alto porcentaje de resistencia de los bacilos Gramnegativo no fermentadores hacia la cefalotina, cefazolina y cefuroxima; los menores porcentajes de resistencia correspondieron a imipenem, piperacilina/tazobactam, cefepime, ceftazidima, y ticarcilina/ácido clavulánico.
2. El bacilo Gramnegativo no fermentador aislado con mayor frecuencia fue *Pseudomonas aeruginosa*, seguida de *Acinetobacter baumannii*.
3. *Pseudomonas aeruginosa*, presentó un alto porcentaje de resistencia hacia los antibióticos cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefuroxima y cefotetán; mientras que aun es altamente susceptible a imipenem, piperacilina/tazobactam, piperacilina, ciprofloxacina y ticarcilina/ácido clavulánico.
4. *Acinetobacter baumannii* presentó un alto porcentaje de resistencia a cefalotina, cefazolina, cefpodoxima, cefotetán, cefuroxima y trimetoprim/sulfametoxazol; y los más altos porcentajes de susceptibilidad a imipenem y ampicilina/sulbactam.
5. En los servicios de Medicina Interna, Cirugía y Unidad de Cuidados Intensivos se registraron los mayores porcentajes de aislamiento de bacilos Gramnegativo no fermentadores; en estos servicios, los menores porcentajes de resistencia los obtuvieron los antibióticos: imipenem, piperacilina/tazobactam, cefepime, ceftazidima, y ticarcilina/ácido clavulánico; por otra parte, se observó que los mayores porcentajes de resistencia los presentan los antibióticos: cefalotina, cefazolina, cefuroxima, y cefpodoxima.

6. Existen altos porcentajes de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* con idénticos patrones de susceptibilidad antibiótica que se han constituido en cepas nosocomiales como producto de la forma de utilización de los antibióticos disponibles.
7. Se observó una multiresistencia de los bacilos Gramnegativo no fermentadores hacia el panel de antibióticos disponible en el Hospital Regional de Occidente; el mayor porcentaje de cepas multiresistentes no es susceptible a entre once y quince antibióticos.
8. Los porcentajes de no susceptibilidad son mayores que los porcentajes de resistencia, lo que es indicador de un aumento progresivo de la resistencia antibiótica.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar una adecuada toma de muestra; si este procedimiento es deficiente puede producirse la contaminación del espécimen lo que impide la obtención de resultados confiables y de beneficio para el paciente.
2. Racionalizar y reducir el uso de antibióticos; los médicos deben evitar el uso masivo e indiscriminado de los antibióticos en los servicios del hospital, procurando utilizarlos solamente en los casos en los que sean necesarios, por el tiempo que sean necesarios y efectuando una rotación de los mismos.
3. Los médicos deben informar a sus pacientes sobre el tratamiento antibiótico, los riesgos y beneficios, la importancia del cumplimiento del régimen prescrito y el problema de la resistencia antibiótica.
4. El gobierno debe prohibir la adquisición de medicamentos sin una prescripción que haya sido otorgada por un profesional de la salud, propiciar la educación al público sobre el uso adecuado de los antibióticos y difundir el problema de la resistencia bacteriana.
5. Crear programas de educación continua para el personal que labora en los hospitales sobre precauciones universales y normas básicas de higiene y bioseguridad, pues es el paciente el principal reservorio y fuente de contagio de bacterias resistentes y la transferencia de los mismos se realiza a través de las manos del personal.
6. Crear comités de vigilancia epidemiológica activos y eficientes que sean capaces de detectar en forma precoz a pacientes infectados o colonizados por microorganismos multirresistentes y que pongan en marcha las medidas adecuadas de aislamiento.
7. Crear un comité de farmacoterapia orientado a la elaboración de protocolos de tratamiento que sean revisados con frecuencia y que se adecuen a las

necesidades de los servicios del hospital, tomando en cuenta la información que el Laboratorio Clínico pueda proporcionarle.

8. Llevar a cabo estudios similares al presente periódicamente para registrar los cambios que puedan darse en los patrones de susceptibilidad de los microorganismos.

XII. REFERENCIAS

1. Brock T., *et al.* Microbiología. 4ª ed. México. Editorial Prentice-Hall Hispanoamericana, 1990. 906 p. (119-120; 146-147)
2. Koneman EW., Diagnóstico Microbiológico. 5ª ed. Estados Unidos. Editorial Médica Panamericana, 1999. 1359p. (252-308 ; 764-832)
3. Volk W., Microbiología Básica. 7ª ed. México. Editorial Harla, 1996. 819p. (101-116)
4. Horton R., Bioquímica. 2ª ed. México. Editorial Prentice-Hall Hispanoamericana, 1995. 1536 p. (12.2-12.26)
5. Dulbecco D., Tratado de Microbiología. 2ª ed. Barcelona. Editorial Salvat, 1978. 1491p. (808-811).
6. Jawetz E., Manual de Microbiología Médica. 3ª ed. México: El Manual Moderno, 1990 589p. (265-271).
7. Murray P. *et al.* Microbiología Médica. Trad. Servicios integrales de edición. España. Mosby, 1995. 725p. (119-126).
8. Linton AH., General Microbiology and immunity. 8ª ed. Gran Bretaña. Vol. 2. 683p. (256-269).
9. Cazali I., *et al.* Resistencia de gérmenes Gramnegativo en un hospital de referencia de Guatemala. RECCAVIR. 2001; Vol I: 13-17.
10. Marcos Ma., *Acinetobacter baumannii*. Depto. De Microbiología y Parasitología. Hospital Clínico. Universidad de Barcelona. España. www.seimc.org/contrl/revi_Bacte/acinetobacter.htm. Agosto 2000.
11. Hernández S., *et al.* Evolución de la susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos de *Acinetobacter baumannii* (1995-1997). Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de La Princesa. España. www.seq.es/revista/0400/or5.htm. Septiembre 2000.
12. Sánchez C., ¿Retorno a la época pre-antibiótica?. Instituto de Virología y Enfermedades Infecciosas. Universidad El Bosque. Chile. www.endotelio.com/preantibiotica.htm. Noviembre 2001.
13. Sossa K., Estudian el aumento de la resistencia a antibióticos. Laboratorio de antibióticos de la facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Chile. www.udec.cl/panorama.htm. Septiembre 2000.

14. Conn M., & Gebhart G., Principios de Farmacología. 2ª ed. México. El Manual Moderno, 1991. 591 p. (387-420)
15. Biblioteca de consulta Encarta 2003. © Microsoft Corporation.
16. Koneman EW., Color Atlas and textbook of diagnostic Microbiology. 4a ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company, 1992. 1115p. (405-422).
17. Torres M., Manual práctico de bacteriología médica. 2ª ed. Guatemala. Editorial Serviprensa C. A., 1999. 223p. (177 – 192).
18. De la Bellacasa J., Las plagas del siglo XXI. La Paz. Chile. www.ciencia.vanguardia.es/ciencia/portada/p551.html. Octubre 2000.
19. De Souza E., Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. Depto. De Biología General, Universidad Federal de Minas Gerais. Brasil. www.cienciahoy.org/hoy50/bacterias.htm. Enero 1999.
20. Nagel R., La resistencia de las bacterias a los antibióticos ¿un camino sin retorno?. Centro de estudios farmacológicos y botánicos CONICET. México. www.cienciahoy.org/hoy59/bacterias.htm. Octubre 2000.
21. Pérez S., et al. Patrón de resistencia antimicrobiana de enterobacterias y bacilos Gramnegativo no fermentadores aislados en hemocultivos pediátricos en el Hospital Infantil “Manual de Jesús Rivera”, La Mascota, Managua, Nicaragua. RECCAVIR. 2001; Vol I: 53-57.
22. Martínez L., & Pascual A., Mecanismos de resistencia a las carbapenemas en *Pseudomonas aeruginosa*. Depto. De Microbiología. Facultad de Medicina. Hospital Universitario Virgen Macarena. Universidad de Sevilla. España. www.seimc.org/control/revi_Bacte/psaeru.htm. Octubre 2001.
23. Ramos Zepeda GA., Resistencia Bacteriana en Medicina Interna. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas de Quetzaltenango) 2001. 89p.
24. Pérez Juárez VA., Identificación y determinación de patrones de susceptibilidad antibiótica de Enterobacterias, aisladas de muestras clínicas de pacientes internos en el Hospital Regional de Occidente. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 78 p.
25. Ayala Muralles A., Identificación de patrones de resistencia a los antibióticos de cepas de estafilococos aisladas en el Hospital Regional de Occidente. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 82 p.

XIII. ANEXOS

● Anexo 1 No fermentadores de importancia médica (2).

Móviles con flagelos polares
Familia *Pseudomonaceae*
Grupo I de rRNA
Grupo II de rRNA
Grupo III de rRNA
Grupo IV de rRNA
Grupo V de rRNA
Homología de ácidos nucleicos desconocida
Familia *Methylococcaceae*
Género *Methylobacterium*
Microorganismos de posición taxonómica dudosa
Género *Roseomonas*
Género *Balneatrix*
Móviles con flagelos peritricos
Familia *Alcaligenaceae*
Género *Alcaligenes*
Género *Bordetella*
Familia *Rhizobiaceae*
Género *Agrobacterium*
Microorganismos de posición taxonómica dudosa
Género *Achromobacter*
Ochrobactrum anthropi
Oligella ureolytica
Grupo Ivc.2 de los CDC
Inmóviles, oxidasa positivos
Familia *Flavobacteriaceae*
Género *Flavobacterium*, *Chryseobacterium*
Empedobacter
Género *Weeksella*, *Bergeyella*
Microorganismos de posición taxonómica dudosa
Género *Sphingobacterium*
Género *Moraxella*
Oligella urethralis
Grupos EO-2, EO-3 de los CDC y *Psychrobacter immobilis*
Grupo I de bacilos de Gilardi
Inmóviles, oxidasa negativos
Género *Acinetobacter*
Grupo NO-1 de los CDC
Bordetella holmesii (grupo NO-2 de los CDC)

● Anexo 2 Características claves del grupo fluorescente (7).

Prueba	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P.putida</i>
Piocianina	+	-	-
Pioverdina	+	+	+
Reducción de NO ₃	V	V	-
Desarrollo a 42°C	+	-	-
Hidrólisis de la gelatina	V	+	-
Kanamicina	R	S	S
Carbenicilina	S	R	R

● Anexo 3 Clasificación de los antibióticos (2).

Clase	Grupo	Ejemplos
Betalactámicos	Penicilinas naturales	Penicilina G, Penicilina V
	Penicilinas resistentes a la penicilinasasa (PRP)	Nafcilina, meticilina
	PRP: isoxazolil penicilinas	Oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina
	Aminopenicilinas	Ampicilina, amoxicilina
	Carboxipenicilinas	Carbenicilina, ticarcilina
	Ureidopenicilinas	Piperacilina, azlocilina, mezlocilina
	Cefalosporinas de primera generación	Cefalotina, cefazolina, cefradina, cefapirina
	Cefalosporinas de segunda generación	Cefamandol, cefuroxima, cefonicida, cefaclor
	Cefamicinas	Cefoxitina, cefotetán, cefmetazol
	Cefalosporinas de tercera generación	Ceftriaxona, cefotaxima, ceftizoxima, cefoperazona, cefpiroma
	Monobactámicos	Aztreonam
	Carbapenémicos	Imipenem, meropenem
Inhibidores de la β -lactamasa	Clavulanato, sulbactam, tazobactam	
Aminoglucósidos		Estreptomina, gentamicina, tobramicina, netilmicina, kanamicina, amikacina
Macrólidos		Eritromicina, claritromicina, azitromicina
Lincosamidas		Lincomicina, clindamicina
Glucopéptidos		Vancomicina, teicoplanina
Quinolonas		Norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina

● **Anexo 4 Pruebas de susceptibilidad antibiótica (5).**

Procedimiento	Definición	Muestras	Indicaciones
Concentración inhibitoria mínima (CIM, caldo o agar)	Mínima concentración del antibiótico que inhibe el desarrollo visible.	Aislamiento microbiano	Susceptibilidad de los aislamientos a los antimicrobianos, si se ha establecido el papel etiológico y la susceptibilidad no es pronosticable.
Difusión con discos		Aislamiento microbiano	Método simplificado para estimar la CIM, con correlatos interpretativos.
Concentración bactericida mínima	Concentración mínima de antibiótico que extermina el 99% del inóculo	Aislamiento microbiano	Endocarditis estreptocócica; potencialmente para osteomielitis; aislamientos posiblemente tolerantes si no responde al tratamiento.
Niveles de antimicrobianos	Concentración del antibiótico en suero ($\mu\text{g/ml}$)	Suero de nivel máximo Suero de nivel terminal	Niveles máximos impredecibles o peligro de toxicidad.
Títulos bactericidas del suero	Dilución de suero que mata el 99.9% del inóculo	Suero de nivel máximo Suero de nivel terminal Aislamiento microbiano	Endocarditis bacteriana, osteomielitis, sepsis por Gramnegativos en pacientes inmunosuprimidos.
Pruebas de sinergia	Actividad sinérgica de varios antibióticos	Aislamiento microbiano	Procedimiento de investigación para el desarrollo de regímenes terapéuticos; raramente, confirmación de sinergia contra aislamientos individuales.


Anexo 5 Mecanismos de resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos (14).

Mecanismo	Grupo antibiótico	Ejemplos
Inactivación enzimática	Betalactámicos	β -lactamasas: penicilinasas, cefalosporinasa, carbapenemasas
	Aminoglicósidos	Enzimas modificadoras de aminoglicósidos de bacterias Gramnegativo y Grampositivo.
Receptores alterados	Betalactámicos	Proteínas fijadoras de penicilina alteradas en bacterias Gramnegativo y Grampositivo.
	Alteraciones ribosómicas	Tetraciclinas, eritromicina, aminoglicósidos.
	Alteraciones de la ADN girasa	Quinolonas
	Enzimas bacterianas alteradas	Sulfametoxazol, trimetoprim
Transporte alterado del antibiótico	Alteraciones en las proteínas de la membrana externa (porinas)	Bacterias Gramnegativo; flujo hacia el interior disminuído.
	Fuerza motora protónica disminuída	Aminoglicósidos y bacterias Gramnegativo; flujo hacia el interior disminuído
	Transporte activo desde la célula bacteriana	Tetraciclinas; eritromicina, flujo hacia el exterior activo.

