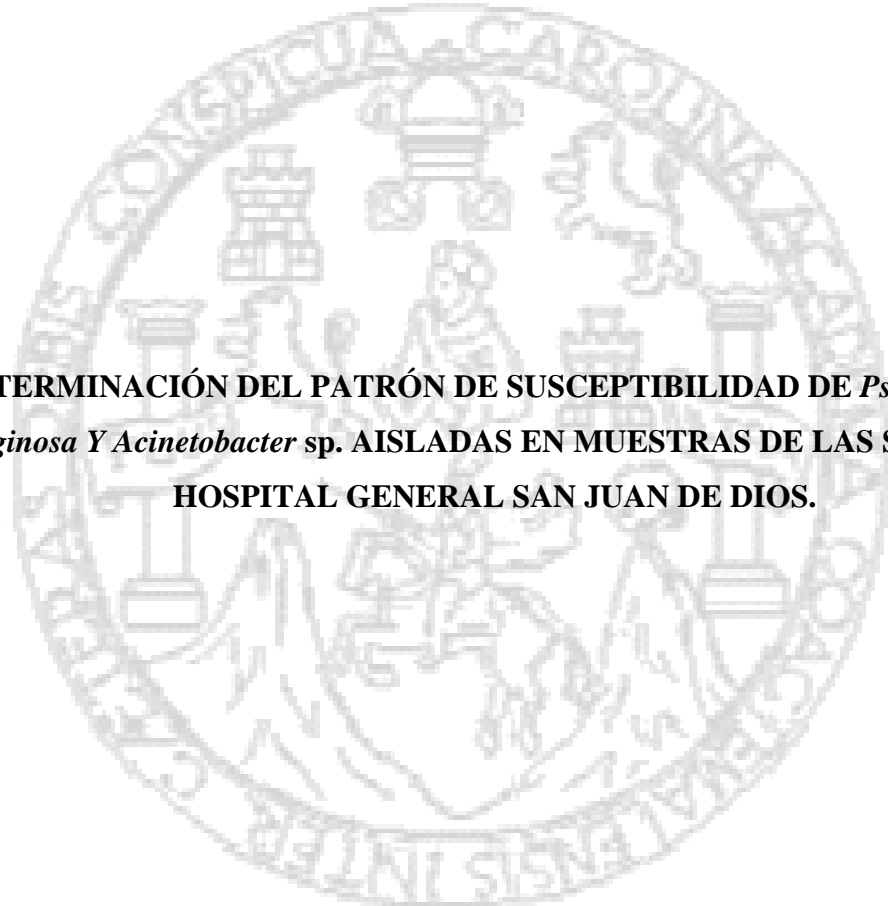


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



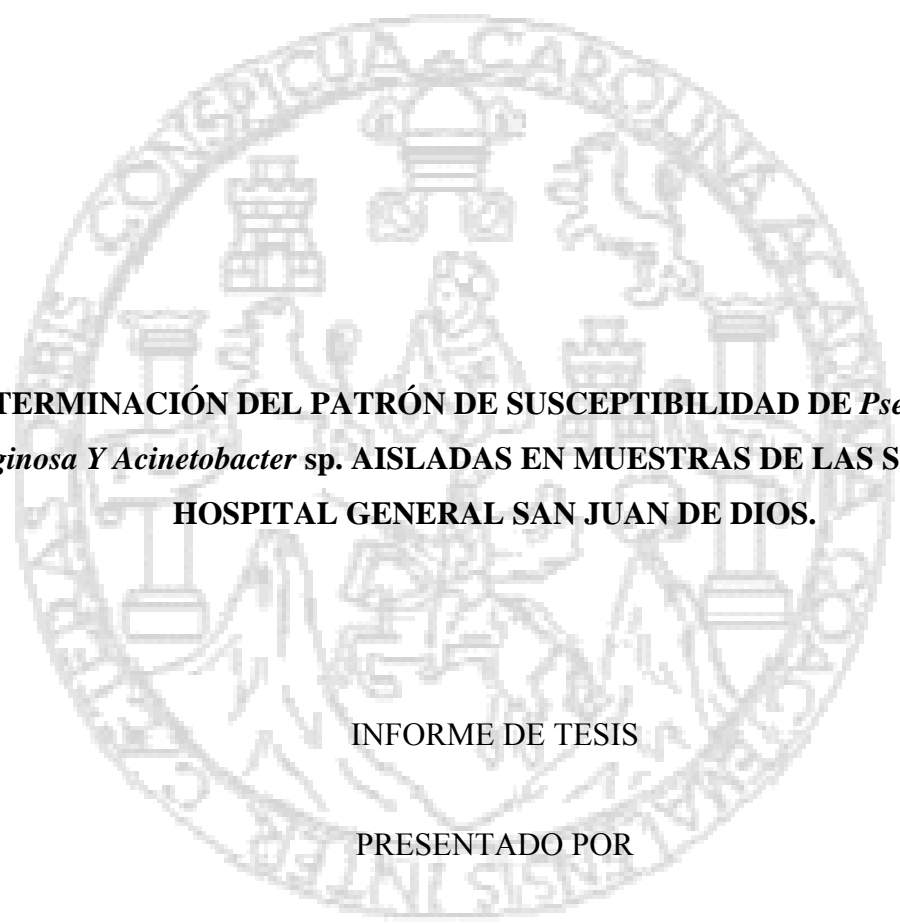
DETERMINACIÓN DEL PATRÓN DE SUSCEPTIBILIDAD DE *Pseudomonas aeruginosa* Y *Acinetobacter* sp. AISLADAS EN MUESTRAS DE LAS SALAS DEL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS.

MARINÉS ROSALES GUZMÁN

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2005.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS



DETERMINACIÓN DEL PATRÓN DE SUSCEPTIBILIDAD DE *Pseudomonas aeruginosa* Y *Acinetobacter* sp. AISLADAS EN MUESTRAS DE LAS SALAS DEL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS.

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

MARINÉS ROSALES GUZMÁN

Para optar al Título de

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2005

JUNTA DIRECTIVA

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán	Decano
Licda. Janette Sandoval Madrid de Cardona	Secretaria
Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Juan Francisco Carrascoza Mayén	Vocal IV
Br. Susana Elizabeth Aguilar Castro	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A Dios por ser mi fortaleza y el proveedor de la sabiduría.

A mis padres José Rodolfo y María Victoria, por su amor incomparable, apoyo y sostenimiento durante mi vida.

A mis hermanos Luis Rodolfo y Veralucía, por el amor y los hermosos momentos que hemos compartido.

A mi esposo José Rolando por su apoyo en mi carrera, y por el amor que me demuestra.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por brindarme la oportunidad de desarrollarme profesionalmente.

A los Catedráticos de esta Facultad por el conocimiento y experiencias compartidas a lo largo de la carrera.

A mis asesores Lic. Jorge Matheu y Licda. Tamara Velásquez por su tiempo, conocimientos y confianza depositados en mí, para la realización de esta investigación.

A mis revisores de Tesis, Licda. Kenia Caballeros, Licda. Irma Juárez y Licda. Alba Marina de García, por el tiempo invertido en la revisión de esta investigación.

A mis amigas Beatriz, Adriana y Claudia, con quienes compartimos momentos inolvidables.

INDICE

I. Resumen	1
II. Introducción	3
III. Antecedentes	4
A. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
B. <i>Acinetobacter</i>	6
C. Antibióticos	8
D. Resistencia Bacteriana	12
E. Estudios Relacionados	15
IV. Justificación	18
V. Objetivos	19
VI. Hipótesis	20
VII. Materiales y Métodos	21
VIII. Resultados	25
IX. Discusión de Resultados	31
X. Conclusiones	35
XI. Recomendaciones	37
XII. Referencias	38

I. RESUMEN

Cada día las infecciones nosocomiales están cobrando más vidas en Guatemala. El personal de salud puede colaborar para que esta situación disminuya, haciendo bien su trabajo y aprovechando al máximo los recursos disponibles.

P. aeruginosa y *Acinetobacter* sp. son microorganismos, que frecuentemente están involucrados en los brotes nosocomiales; son bacilos Gram negativo, no fermentadores, capaces de crecer sobre casi cualquier superficie, lo que facilita su propagación. Además resisten condiciones adversas y lo más perjudicial es que han desarrollado diversos mecanismos de resistencia antimicrobiana, lo cual dificulta el tratamiento del paciente.

Es importante conocer el comportamiento de los microorganismos para enfrentarlos de la manera idónea. Este estudio se realizó con el objetivo de determinar el patrón de susceptibilidad para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* sp. y con ello, analizar la resistencia que presentan, frente a los antibióticos que son comúnmente utilizados para su tratamiento.

El estudio se llevó a cabo recolectando los aislamientos de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* sp. en el Hospital General San Juan de Dios. Al finalizar el muestreo, que comprendió los meses de mayo a octubre de 2004, se realizó el antibiograma por el Método de Difusión con Disco, según la técnica de Bauer-Kirby y según las normas del National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Los datos obtenidos se analizaron utilizando el programa WHONET.

Los resultados obtenidos revelaron que *P. aeruginosa* tiene 19 por ciento de resistencia frente a ceftazidima, 22 por ciento a cefepime, 23 por ciento a piperacilina/tazobactam y 25 por ciento a imipenem. *P. aeruginosa* predomina en las salas de cirugía y medicina de adultos y en la Unidad de cuidados intensivos de neonatos (UCIN).

Es poco usual que se presente mayor resistencia a los antibióticos en pacientes internados en otras salas distintas de las de cuidados intensivos. Esto puede deberse al abuso

en la administración de antibióticos o bien en interrupciones del tratamiento, lo que conduce a falla en el tratamiento y peor aún al desarrollo de mecanismos de resistencia por parte de los microorganismos.

Para *Acinetobacter* sp. 60 por ciento de los aislamientos son susceptibles a imipenem, los demás antibióticos tienen porcentajes menores al 30 por ciento. Las salas más afectadas son UCIN y Unidad de terapia intensiva de pediatría (UTP), donde además se acentúa la multiresistencia.

El estudio indica que *P. aeruginosa* está distribuida en todas las salas del Hospital General San Juan de Dios y es importante evitar que la resistencia continúe aumentando. El estudio también demuestra que *Acinetobacter* sp. es un peligro para la salud de los pacientes, al observar la elevada resistencia que presenta a la mayoría de los antibióticos.

Lo anterior demuestra que es imperioso implementar un comité de vigilancia para:

- 1) Controlar periódicamente los cambios en los patrones de susceptibilidad de los microorganismos y notificar a las autoridades pertinentes dichos cambios, para implementar las acciones adecuadas.
- 2) Controlar los protocolos de tratamiento de infecciones nosocomiales en la Institución.

II. INTRODUCCIÓN

Las infecciones por *Pseudomonas* sp. y *Acinetobacter* sp. representan una de las principales causas de infecciones nosocomiales, debido a que son saprófitos del ambiente, además resisten, entre otros, amplios rangos de temperatura y humedad. Están implicados principalmente en las Unidades de cuidados intensivos (UCI). Sus espectros de actividad antimicrobiana varían según el país, región e incluso el entorno y fuente de infección, presentan alta resistencia frente a los antimicrobianos comunes.

En Guatemala y en todo el mundo la resistencia a antibióticos es una consecuencia inevitable ocasionada por la utilización incontrolada de agentes antimicrobianos. Por un lado se han creado nuevos mecanismos de resistencia a antibióticos por parte de las bacterias y por otro lado, se han vuelto tolerantes a ellos, lo que implica en muchas ocasiones, un fracaso de la terapia antibiótica.

En nuestro país no existen datos registrados de patrones de resistencia a las cepas predominantes, esto obliga a consultar datos extranjeros que, posiblemente, no son reales para la población, incurriendo en errores en el protocolo de trabajo de los antibiogramas.

La implementación y el mantenimiento de un sistema de monitoreo, permite a los especialistas llevar un registro de las tendencias de los patrones de susceptibilidad y tomar medidas pertinentes de los cambios drásticos en el espectro de susceptibilidad en diferentes especies bacterianas. A la fecha en el Hospital General San Juan de Dios no existe un sistema de monitoreo por lo que el presente estudio tiene como objetivo determinar el patrón de susceptibilidad para *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp., esto dejará un precedente de las cepas que predominan en esta institución.

El antibiograma para evaluar la susceptibilidad se realizará por el método de difusión con discos según la técnica de Bauer-Kirby.

III. ANTECEDENTES

En el ambiente hospitalario predominan bacterias Gram negativo, como *Pseudomonas* sp. y *Acinetobacter* sp., que son bacterias implicadas en la mayoría de infecciones nosocomiales. En Guatemala, los médicos, al detectar que un paciente padece una infección nosocomial, frecuentemente administran altas dosis de antibióticos de amplio espectro, sin haber identificado el agente causal de dicha infección, principalmente en UCI.

La mayoría de fracasos en los tratamientos antimicrobianos, prescritos para las infecciones mencionadas, no se deben a los medicamentos. La investigación usualmente revela que tales fracasos se originaron por diagnósticos incorrectos, por estados de inmunocompromiso, por falta de adherencia, o por tratamiento auxiliar inadecuado (1).

A. *Pseudomonas aeruginosa*:

1. Generalidades

Pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*; es una bacteria Gram negativo, aeróbica, móvil por medio de un flagelo único polar, aunque algunas cepas pueden tener dos o tres flagelos; no presenta cápsula; los aislamientos clínicos usualmente presentan pili, que puede ser antifagocítico y colaborar en el ataque bacteriano, promoviendo la colonización; mide 0.5 a 0.8 μm por 1.5 a 3.0 μm y posee buena adaptabilidad ambiental. Algunas producen pigmentos hidrosolubles que se difunden en el agar o medio de cultivo, como la fluoresceína que puede ser vista bajo luz ultravioleta. Un pigmento azul (piocianina) puede ser visto en lesiones patológicas. La mayoría de especies crecen entre 25 y 42°C, pero algunas, que son psicrófilas crecen entre 5 y 10°C. Sus diferentes especies se pueden diferenciar por pruebas bioquímicas o por pruebas de hibridación de ADN. Es una bacteria aeróbica, no fermentativa, aunque puede crecer en ausencia de oxígeno una vez haya NO_3 en el medio, como aceptor de electrones. La detección de esta bacteria es importante, por su capacidad de causar enfermedad en individuos susceptibles, y por su resistencia a los antibióticos (2,3).

2. Epidemiología

Su versatilidad permite su crecimiento en suelo, pantanos, y hábitat marinos costeros, así como en los tejidos finos de plantas y animales (4).

Desde finales del siglo pasado, *Pseudomonas aeruginosa* se ha erigido como una de las bacterias Gram negativo más problemáticas en el ambiente hospitalario. Afecta a pacientes en estado crítico, y causa infecciones serias y fatales que van, desde una enfermedad sistémica aguda en quemados y pacientes neutropénicos, hasta infecciones crónicas del tracto respiratorio en pacientes con fibrosis quística del páncreas. Generalmente afecta a pacientes con terapia de antibióticos de amplio espectro, corticosteroides o antimetabólicos, o por inserción de catéteres urinarios o tubos endotraqueales (5-7).

P. aeruginosa es un patógeno oportunista capaz de causar infecciones urinarias, infecciones del sistema respiratorio, dermatitis, infecciones suaves del tejido fino, bacteremia y una variedad de infecciones sistémicas, particularmente en pacientes con las quemaduras severas, y en pacientes inmunosuprimidos con cáncer y SIDA (4).

3. Resistencia:

Aunque es considerada un patógeno oportunista por excelencia, hace poco se han descrito formas más agresivas, que son capaces de infectar individuos virtualmente sanos. Ejemplo de esto lo son las afecciones de la córnea, en especial en personas que usan lentes de contacto.

Esta bacteria es naturalmente resistente a una gran cantidad de antibióticos, por su impermeabilidad conferida por la membrana externa de lipopolisacáridos (LPS). Por vivir en suelo con bacilos y actinomicetos, ha adquirido resistencia a variedad de antibióticos naturales, además de la resistencia transmitida por plásmidos a través de la conjugación y transducción. Es resistente a una amplia variedad de agentes antibacterianos que van desde antibióticos β -lactámicos, aminoglucósidos y más recientemente, las nuevas quinolonas, imipenem y cilostina (8-10).

Según los Centros de Control de Enfermedades (CDC) por sus siglas en inglés, la incidencia total de infecciones por *P. aeruginosa*, en hospitales de los Estados Unidos, es cerca de un 0.4 por ciento, pero si limitamos la incidencia a infecciones específicas como infecciones del tracto respiratorio, keratitis, fibrosis quística, infecciones urinarias, infecciones en UCI, diferentes estudios en Norteamérica y Taiwán indican porcentajes de 16 a 20 por ciento, además de participar en brotes de *P. aeruginosa* multirresistentes (10-13).

4. Diagnóstico

Puede ser cultivada en medios comunes de cultivo, creciendo tres tipos diferentes de colonias. Las aisladas del suelo o agua típicamente son pequeñas y ásperas. Las aisladas de muestras clínicas dan los dos tipos siguientes: el primero con aspecto de huevo frito, grande lisa con bordes planos y aspecto elevado, el segundo, obtenido con frecuencia de secreciones de tracto respiratorio o urinario, son colonias planas, mucoides con apariencia de vidrio esmerilado, usualmente emiten un olor característico a tortilla mohosa. Muchas cepas aisladas en agar sangre son hemolíticas, pero la característica que mejor la identifica es su pigmento azulverdoso. Para ser identificada son necesarias pruebas bioquímicas tales como: la prueba de oxidasa que es positiva; oxidación de glucosa en medio de Hugh y Leifson (OF); reducción de nitratos a nitritos; crecimiento en agar cetrimida y degradación de malonato (10,14-17).

B. *Acinetobacter*

1. Generalidades

Las bacterias del género *Acinetobacter* son bacilos o cocobacilos Gram negativo, muchas veces dispuestos en parejas. No fermentan la glucosa y son aerobios estrictos, inmóviles, catalasa positivo y oxidasa negativo. Crecen bien en todos los medios de cultivo de rutina, su temperatura óptima de crecimiento de 33 a 35°C.

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, *A. baumannii* es la más frecuentemente aislada y con mayor importancia clínica.

2. Epidemiología

A. baumannii puede ser hallado en múltiples medios animados e inanimados, 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. Se le ha aislado en equipo 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 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 infecciones nosocomiales (18).

En los últimos años se han incrementado las infecciones nosocomiales por *A. baumannii*, algunas de estas 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 (18).

3. Resistencia

Los mecanismos que presenta son similares a los de *P. aeruginosa*. Los más importantes son: escasa penetración del antimicrobiano (mutación de porinas o bombas de eflujo) y/o hidrólisis por β -lactamasas. Una variante alélica *bla*_{IMP} que pone en código a IMP-2, fue descubierta en un *A. baumannii* en Italia. Una nueva familia de la clase B de metalo- β -lactamasas, la familia de VIM (VIM-1 a VIM-3 enzimas), se describió para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* aisladas en Europa. La resistencia a los β -lactámicos es debida a la presencia de diferentes β -lactamasas: TEM-1, TEM-2, CARB-5, cefalosporinasas de pI 8,5 y ceftazidimasas, y a la producción de enzimas inactivantes. Frecuentemente es hallada la amoniglucósido-3'-fosfotransferasa VI, que inactiva la amikacina (18,19).

Recientemente, se ha comprobado que la resistencia a las quinolonas es debida a mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*. 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 (18).

C. Antibióticos

1. Generalidades

El primer antibiótico en ser descubierto fue la penicilina. Alexander Fleming estaba cultivando una bacteria en una placa de agar, una contaminación accidental de hongos, advirtió que el medio de cultivo alrededor del moho estaba libre de bacteria. Debido a que el hongo era del género *Penicillium*, denominó al producto penicilina (20).

La elección de uno u otro antibiótico en el tratamiento de una infección depende del microorganismo, de la sensibilidad del microorganismo, la gravedad de la enfermedad, la toxicidad, los antecedentes de alergia del paciente y el costo. La vía de administración puede ser oral, tópica o inyectable. Las infecciones graves suelen requerir la vía intravenosa (21).

Los antibióticos actúan a través de dos mecanismos principales: matando los microorganismos existentes (acción bactericida), e impidiendo su reproducción (acción bacteriostática).

Su mecanismo de acción predominante los divide en 2 grandes grupos:

Tabla 1. Clasificación según su mecanismo de acción

Bactericidas	Bacteriostáticos
β -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas)	Macrólidos (Eritromicina)
Glicopéptidos (Vancomicina, teicoplanina)	Tetraciclinas
Aminoglicósidos (estreptomina)	Cloranfenicol
Quinolonas (norfloxacina)	Sulfamidas
Polimixinas	Clindamicina, lincomicina

Fuente: Antibióticos <www.tuotromedico.com>

2. Clasificación

Por el funcionamiento y efecto que producen en la bacteria, los antibióticos se pueden clasificar en: inhibidores de la biosíntesis de la pared celular; los que actúan sobre la membrana celular; los que inhiben síntesis de proteínas; y, los que actúan sobre la síntesis de ácidos nucleicos.

a. Inhibidores de la biosíntesis de la pared celular

Entre estos encontramos: cicloserina, fosfomicina, vancomicina, bacitracina-A, ristocetina y β -lactámicos.

Los β -lactámicos contienen un anillo característico, el anillo β -lactámico. Todos los subgrupos de β -lactámicos se pueden considerar derivados de un núcleo químico en el que, además del anillo lactámico, puede existir un heterociclo conjugado. Ver Tabla 2.

Tabla 2 Subgrupos β -lactámicos

Núcleo	Ejemplos
Penám	Penicilinas
Cefén	Cefalosporinas
Carbapenem	Tienamicina
Oxacefén	Moxalactam
Clavám	Clavulánico
Monobactam	Aztreonam

Fuente: Iáñez P. Enrique (22).

- i. Penicilina: El grupo común a todas las penicilinas es el ácido 6-aminopenicilánico (6-APA). Un grupo importante de penicilinas semi-sintéticas son las penicilinas anti-*Pseudomonas*, ejemplo de estas son carbenicilinas y piperacilina. Las penicilinas tienen como dianas a una serie de autolisinas llamadas proteínas de unión a la penicilina (PBPs, de penicillin binding proteins). Las PBPs son proteínas implicadas en las últimas fases de la síntesis y maduración del peptidoglucano, mediante la unión a la penicilina ya no pueden seguir catalizando la reacción de la transpeptidasa (21-23).

- ii. Cefalosporinas y Cefamicinas: antibióticos sintéticos, se introdujeron en principio, para uso en pacientes alérgicos a las penicilinas. Algunas de ellas combinan la ventaja de tener un amplio espectro y el de ser resistentes a las β -lactamasas de muchas bacterias Gram negativo. Se clasifican por generaciones, según el tipo de bacterias que ataquen:
 - a. De 1ª generación: cefadroxilo, cefalexina, cefalotina, cefazolina.
 - b. De 2ª generación: cefaclor, cefuroxima, cefamandol.
 - c. De 3ª generación: cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefixima (21,22).

- iii. Monobactámicos: El derivado semisintético aztreonam se puede usar contra bacterias Gram-negativo aerobias como *Pseudomonas*. Su espectro de acción estrecho es útil, ya que su administración vía oral "respeto" mejor la microbiota intestinal del paciente.

- iv. Carbapenémicos: las tienamicinas (como el imipenem), poseen un espectro muy amplio, con actividad intensa contra casi todas las bacterias de interés médico, incluyendo a las resistentes a otros antibióticos β -lactámicos como *Pseudomonas*.

- v. Inhibidores de β -lactamasas: ejemplo típico es el ácido clavulánico (una oxa- β -lactama): tiene poca actividad como antibiótico, pero se une a las β -lactamasas, inactivándolas irreversiblemente. Actualmente los médicos lo recetan con frecuencia en combinación con alguna ampicilina dando un efecto sinérgico (22,24).

b. Antibióticos que actúan sobre la membrana celular

A diferencia de los antibióticos que actúan a nivel de pared, los que interfieren con la membrana celular ejercen sus efectos independientemente de que el microorganismo esté o no creciendo. Un defecto es la carencia de especificidad, lo que puede resultar tóxico para mamíferos. Ejemplos: Polipeptídicos, ionóforos, poliénicos. Son de poca utilidad clínica (22).

c. Antibióticos que interfieren en la síntesis de proteínas

Los antibióticos que interfieren en la síntesis de proteínas son muy variados y abundantes, y la mayoría de ellos funcionan interfiriendo con el ribosoma, sobre todo los que se unen a proteínas ribosómicas y/o a alguno de los ARN ribosómicos.

Entre estos hay diferentes tipos, dependiendo del método por el que interfieren:

- i. Inhibidores de la fase inicial de elongación: las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, actúan como bacteriostáticos cuando la bacteria está en crecimiento activo, esto se debe a su carácter hidrofóbico que facilita su difusión a través de membranas. Provocan que la unión del aa-ARNt al sitio A del ribosoma sea inestable y esté distorsionada, con lo cual se evita la elongación de la cadena.
- ii. Inductores de errores en la lectura del ARNm: Los aminoglicósidos son un grupo amplio y variado de antibióticos producidos por diversas especies de *Streptomyces*. Ejemplo de ellos son, estreptomycin, kanamicina, amikacina, neomicina y gentamicina.
- iii. Inhibidores de la formación del enlace peptídico: interfieren con el centro peptidil-transferasa de la subunidad grande del ribosoma. El cloranfenicol actualmente es más barato fabricarlo por síntesis química. Su mecanismo de acción consiste en la unión a varios lugares de la subunidad 50S, entre los cuales el más importante es la proteína L16, que forma parte del centro peptidil-transferasa, cerca del sitio del ribosoma donde encaja el extremo aminoacil del ARNt, en el sitio A. La lincomicina y clindamicina, poseen el mismo mecanismo pero además interfieren en la colocación del pp-ARNt en el sitio P.
- iv. Inhibidores de la Translocación: El macrólido eritromicina es buen ejemplo, bloquea el paso de translocación, interfiriendo específicamente con la liberación del ARNt desacilado, lo cual detiene la síntesis de proteínas (22).

d. Antibióticos que interfieren en la síntesis de ácidos nucleicos

- i. Inhibidores de la función del ADN: Pocos de los antibióticos que interfieren con las funciones del ADN son útiles en clínica, ya que no pueden discriminar entre ADN de procariotas y eucariotas. Sin embargo, han sido muy valiosos para estudiar diversos aspectos de la biología molecular del ADN.

- ii. Inhibidores de la Transcripción: Rifamicina, su mecanismo de acción estriba en la inhibición del inicio de la transcripción (22).

D. Resistencia Bacteriana

Los genes para el mecanismo de resistencia pueden estar, tanto en el cromosoma, como en el plásmido, elemento extracromosómico, circular de ADN que actúa independientemente del cromosoma (15).

1. Mecanismos de Resistencia

Pseudomonas presenta tres mecanismos comunes de resistencia: β -lactamasas o enzimas modificadoras de aminoglucósidos; ADN girasa alterada; difusión deficiente o porinas alteradas.

- a. **Inactivación enzimática**: los antibióticos que presentan este mecanismo son β -lactámicos y aminoglucósidos. Ejemplo β -lactamasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos (15).

TEM-1, TEM-2 y SHV-1 son las β -lactamasas mediadas por plásmidos predominantes en los bacilos Gram negativo y se clasifican en el grupo 2b de la clasificación de Bush. Tienen una alta afinidad por ampicilina y amoxicilina y las modifica rápidamente, cefamicinas (cefoxitin, cefmetazol, cefotetan), cefalosporinas aminotiazólicas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), monobactam (Aztreonam) y carbapenem (Imipenem) son más estables frente a estas enzimas (25,26).

Estas β -lactamasas de amplio espectro (BLEAs) son enzimas que se han originado desde las enzimas TEM-1, TEM-2 o SHV-1 tras sufrir diversas mutaciones. Tienen de uno a cuatro sustituciones de aminoácidos comparado con las enzimas originales. La mayoría de los aislamientos clínicos que producen BLEAs emparentadas con TEM o SHV son de pacientes hospitalizados y causan con cierta frecuencia brotes nosocomiales (25).

La epidemiología de aquellas cepas que producen β -lactamasas de amplio espectro no difiere de la del resto de las enterobacterias. El principal reservorio es el tracto digestivo y las manos la ruta de transmisión. La infección se desarrolla en el 50 % de los pacientes colonizados, siendo la mitad infección del tracto urinario. Los factores de riesgo para la colonización o infección son la duración del tiempo de exposición a una cepa epidémica y la frecuencia del contacto con personal sanitario (27).

Estas β -lactamasas de amplio espectro pueden no detectarse si el inóculo es muy elevado y/o si la producción de β -lactamasa se asocia con otro mecanismo de resistencia, como hiperproducción de cefalosporinasa de Bush tipo 1 (no se produce inhibición por ácido clavulánico) o una disminución de la permeabilidad de la membrana al paso del antibiótico. En este último caso el estudio debe realizarse de nuevo situándose los discos a 10 mm. También puede deberse a la presencia de una β -lactamasa de amplio espectro resistente a inhibidores, como algunas cefamicinasas (p. ej. MIR-1) (28).

Las metalo- β -lactamasas pueden inhibirse experimentalmente con quelantes de metal como EDTA y los compuestos basados en tiol. El uso de β -lactámicos como ceftazidime e imipenem en combinación con EDTA o ácido 2-mercaptopropiónico (MPA) con técnicas proximales de difusión en disco se ha descrito para el descubrimiento de metalo- β -lactamasas (19).

b. **Receptores alterados:** existe modificación de los receptores, esto sucede con las proteínas fijadoras de penicilina, alteraciones ribosómicas, alteraciones de la ADN girasa.

c. **Trasporte alterado del antibiótico:** hay una alteración de la permeabilidad del antibiótico. Esto mediante alteración de las proteínas de la membrana externa (porinas), disminución de la fuerza motora protónica, transporte activo desde la célula bacteriana (eflujo).

i. **Porinas:** Las porinas principales de *Pseudomonas* generalmente no permiten el ingreso de antibióticos como el imipenem, sino es a través de una proteína (D2) de transporte específica, además de la presencia de una β -lactamasa clase C cromosómica (15).

Las bacterias Gram negativo poseen una membrana plasmática interna y una membrana celular externa, entre ellas hay una capa delgada de peptidoglucano. La permeabilidad de las membranas y el transporte a través de las barreras es el mayor problema en las Gram negativo, ya que incluso las sustancias muy hidrófobas no atraviesan la bicapa lipídica eficientemente. Los antibióticos con moléculas cargadas positivamente y negativamente equilibradas (zwitteriones) atraviesan la membrana con mayor rapidez que las cargadas negativamente (15).

ii. **Eflujo:** Un mecanismo importante es la eliminación activa de antibióticos de la célula, de modo que las concentraciones intracelulares nunca alcanzan el nivel suficiente para actuar como antimicrobiano eficaz. Este mecanismo de eflujo es dependiente de energía en contra de tetraciclinas y macrólidos, que actúan al nivel de inhibición de síntesis proteica en ribosomas. En el casos de *P. aeruginosa*, lo hace con la proteína de membrana externa (OprK), involucrada en la secreción de sideróforos. Un exceso de esta proteína confiere resistencia a múltiples antibióticos, como ciprofloxacina, ácido nalidíxico, tetraciclinas y cloranfenicol (15).

E. Estudios Relacionados

En Colombia, Quintero, *et al*, llevó a cabo un estudio para evaluar la eficacia de la Piperacilina/Tazobactam, en el tratamiento de la infección intraabdominal. La respuesta clínica favorable ocurrió en 91% de los casos después de tratamiento con duración entre 6 y 14 días. De los 71 aislamientos hubo tres cepas resistentes in vitro, entre ellas *P. aeruginosa* (29).

Bertrand X, *et al*, estudiaron la endemicidad de *Pseudomonas* en las UCI francesas, encontraron que *P. aeruginosa* constituye la tercera causa de infección nosocomial, el patógeno prevalente en UCI y la primera causa de neumonía asociada a ventilación mecánica (30).

En Londres, Livermore, D, estudió las β -lactamasas de *Pseudomonas* sp. y *Acinetobacter* sp. descubriendo que, durante un tratamiento antipseudomonal con antibióticos lábiles poco inductores, se puede dar selección parcial o total en mutantes derreprimidos. Otros mecanismos de resistencia son, impermeabilidad, eflujo, alteración del blanco de DNA girasa, hiperproducción de cefalosporinasas, modificación de PBP (26).

En Argentina, Bantar C. *et al*, crearon un programa Nacional de Vigilancia para evaluar la resistencia bacteriana en ese país. La susceptibilidad se probó por el método de difusión en disco, según normas de la NCCLS. Encontraron que la resistencia al Imipenem (antimicrobiano potente y eficaz contra no fermentadores) en *Acinetobacter* sp. y *P. aeruginosa* fue de 9% y 21%, respectivamente (31).

Arakawa Y, reportó en el año 2000 que *P. aeruginosa* adquiere fácilmente resistencia a agentes antimicrobianos, pues en varios aislamientos, ha adquirido multiresistencia a carbapenemes, fluoroquinolonas y recientemente aminoglicosidos como la amikacina, por esto se le designa como patógeno clase cuatro, en la nueva “Ley para la prevención de enfermedades infecciosas y cuidado médico para estos pacientes” (32).

En Taiwán el meropenem se ha encontrado más efectivo contra *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, en comparación con otros antibióticos de amplio espectro como cefalosporinas,

aztreonam, imipenem y ciprofloxacina. En otro estudio se encontró que 14% de las cepas *Pseudomonas* eran resistentes a imipenem y 11.1% a meropenem (33,34).

La resistencia es más evidente en los β -lactámicos, por ser las drogas más frecuentemente prescritas, la alteración de las PBP y los mecanismos de eflujo son los más importantes. La inducción de β -lactamasas ocurre con frecuencia durante la terapia de infecciones con *P. aeruginosa* (35).

En las UCI de un Hospital de Estados Unidos, un brote de *P. aeruginosa* multirresistente durante el estudio, ilustró la utilidad de vigilancia enfocada en la intervención y contención temprana. La susceptibilidad era mucho menor en las muestras aisladas de UCI que de las provenientes del Hospital en general. El objetivo del estudio era estudiar la epidemiología bacteriana en cada una de las unidades del Hospital, en lugar de confiar en datos globales del hospital en general (13).

En Guatemala, en el año 2003, en el Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Cuellar, M,E. realizó un estudio de la susceptibilidad de los microorganismos no fermentadores, la frecuencia en aislamientos, en orden descendente, fue *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *Empedobacter brevis*. De los antibióticos probados, imipenem demostró mayor susceptibilidad (94%), piperacilina (81%) y piperacilina/tazobactam (79%), esto frente a *P. aeruginosa*. Con *A. baumannii* imipenem mostró 98% de susceptibilidad, la resistencia a Cefotaxima fue del 31% y a Cefepime 29% (36).

En 1988, Barrios, M,A encontró que el procedimiento quirúrgico es la causa más frecuente de infección en el Hospital General San Juan de Dios, y los microorganismos implicados son *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Enterobacter* (37).

En el 2003, Rios, G,S determinó que *P. aeruginosa* es el microorganismo predominante en la sala de operaciones del Hospital General San Juan de Dios, además que presentó multirresistencia (38).

En 2002 Hernández, C,V realizó un estudio en las unidades de intensivo pediátrico del Hospital General San Juan de Dios, encontrando que un 3.6 % de los *A. baumannii* aislados tienen resistencia a aminoglucósidos, y 10% a cefalosporinas (no fue probado imipenem) (39).

En Estados Unidos se llevó a cabo un estudio de vigilancia de 1998 al 2001, encontrando que más del 90% de los aislamientos de *P. aeruginosa* fueron susceptibles a amikacina y peperacilina/tazobactam, 80 a 90% fueron susceptibles a ceftazidima, imipenem y meropenem. Para *A. baumannii* más del 90% de aislamientos fueron susceptibles a imipenem y meropenem; *P. aeruginosa* ha presentado gran incremento en la resistencia a fluoroquinolonas y ceftazidima (40).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones nosocomiales, son un problema latente en Guatemala y comprometen la vida del paciente.

Aunque se conocen los microorganismos causantes de estas infecciones, no existe una base de datos, en la que se registre su patrón de susceptibilidad. Esta base de datos sería de gran ayuda al personal médico, para decidir una terapia antimicrobiana adecuada y eficaz.

Pseudomonas sp. y *Acinetobacter* sp. representan una de las principales causas de infecciones nosocomiales, ya que son saprófitos del ambiente, además de resistir, entre otros factores, amplios rangos de temperatura y humedad. Lo anterior ratifica la importancia de conocer su comportamiento frente a los antimicrobianos disponibles en nuestro medio.

En el presente estudio se pretende determinar el patrón de susceptibilidad para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* sp., los datos obtenidos podrán ser una base para el monitoreo y vigilancia epidemiológica en el Hospital General San Juan de Dios.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Determinar el patrón de susceptibilidad para *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp., en el Hospital General San Juan de Dios.

B. Objetivos Específicos

1. Determinar el patrón de susceptibilidad antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp. en muestras procedentes de pacientes del Hospital General San Juan de Dios.
2. Analizar resultados según tipo de muestra, sitio anatómico y sala de procedencia.

VI. HIPÓTESIS

Por ser un estudio prospectivo, descriptivo no se formula hipótesis

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y Muestra

1. **Universo:** Muestras de pacientes para cultivo y diagnóstico, en el área de Microbiología, del Laboratorio Clínico, del Hospital General San Juan de Dios.
2. **Muestra:** Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp., aisladas de las salas del Hospital General San Juan de Dios.

B. Recursos

1. Humanos

Marinés Rosales Guzmán	Tesista
Lic. Jorge Matheu Alvarez	Asesor
Licda. Tamara Velásquez	Co-Asesora

2. Físicos

a. Equipo

- Balanza analítica
- Turbidímetro
- Gradillas
- Incubadora
- Refrigerador
- Congelador
- Caliper (medidor de halos)
- Termómetro
- Potenciómetro
- Pinzas
- Mechero o incinerador
- Asas bacteriológicas
- Viales para transporte de muestra

b. Reactivos

- Agua destilada
- Solución salina 0.85% estéril
- Metanol grado reactivo
- Soluciones buffer pH 6 y/o 8
- Estándar 0.5 de MacFarland
- Agar Tripticasa soya
- Caldo Tripticasa Soya
- Glicerol
- Agar Chocolate
- Agar Mueller Hinton
- Agar Citrato
- MIO
- Medio OF
- Agar o Caldo Urea
- Reactivo de oxidasa
- Agar ceftrimida
- Caldo de malonato
- Discos para susceptibilidad antimicrobiana (amikacina, aztreonam, ticarcilina-clavulánico, tobramicina, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, piperacilina-tazobactam, imipenem, piperacilina, ciprofloxacina).

c. Cristalería

- Beaker (50mL)
- Varillas de agitación
- Erlenmeyer (500mL, 250mL, 50mL)
- Probetas (1000 mL, 500mL, 100 mL)
- Cajas de Petri descartables 0.90mm
- Tubos con tapón de rosca para batería
- Viales para transporte de cepas

d. Otros

- Computadora
- Fólderes con gancho
- Fotocopias
- Gasolina
- Hojas
- Impresora
- Internet
- Tinta
- Hisopos estériles

C. Procedimientos

1. Se revisaron los aislamientos positivos para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* sp.
2. Obtención de muestra
 - a. Se reaislaron las cepas de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* sp. en un medio nutritivo.
3. Manejo y traslado de la muestra
 - a. Se inocularon las cepas en tubos con medio de transporte.
 - b. Se trasladaron los tubos en hielera, hacia el Laboratorio Nacional de Salud.
4. Procesamiento de muestras
 - a. Se identificaron las cepas con pruebas bioquímicas
 - b. Se realizó el antibiograma por el método de Difusión de Discos (técnica de Bauer-Kirby), en las muestras y adicionalmente se realizó control de calidad, utilizando la cepa de *P. aeruginosa* ATCC # 27853).
 - i. Se preparó agar Mueller-Hinton, controlando los factores: pH entre 7.2 y 7.4 a temperatura ambiente; concentración de cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} (20 a 35 μg /litro y 50 a 100 μg /litro, respectivamente); atmósfera con aire ambiental no con CO_2 ; temperatura de 35°C.
 - ii. Se preparó el inóculo tomando del cultivo puro, colonias de aspecto similar, luego se ajustó la densidad de la suspensión en alrededor de 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro, comparando su turbidez con el estándar 0.5 de McFarland de BaSO_4 , en turbidímetro.

- iii. Se inoculó con hisopo estéril sobre la placa de agar Mueller-Hinton y se colocaron los discos de antibióticos para bacterias no fermentadoras.
- iv. Se incubaron las placas a 35°C entre 18 y 24 horas.
- v. Se procedió a la lectura e interpretación de los halos de inhibición. Utilizando criterios de susceptible, intermedio o resistente.
- vi. Se analizaron los datos en el programa WHONET, utilizando listados, histogramas, patrones de resistencia.

D. Tipo de estudio

Según el tipo de ocurrencia de los hechos y registros de la información: Prospectivo

Según el período y secuencia del estudio: Transversal

Según el análisis y alcance de los resultados: Descriptivo

1. Tipo de muestreo

Por conveniencia, se analizaron 638 muestras, 380 de *P. aeruginosa* y 258 de *Acinetobacter* sp. aisladas entre los meses de mayo a octubre de 2004.

E. Análisis de datos

Las cepas aisladas en todas las salas del Hospital General San Juan de Dios, se confirmaron en el Laboratorio Nacional de Salud, y se les realizó el patrón de susceptibilidad. Los datos se tabularon y analizaron en el Programa WHONET, que es una base de datos para el manejo de los datos de laboratorio microbiológico, en el análisis de datos de susceptibilidad antimicrobiana.

VIII. RESULTADOS

Se analizaron 638 muestras entre los meses de Mayo a Octubre del año 2004. De estas, 60% corresponden a *Pseudomonas aeruginosa* y 40% a *Acinetobacter* sp.

En la Tabla 1 se presentan los datos del patrón de susceptibilidad para *P. aeruginosa*.

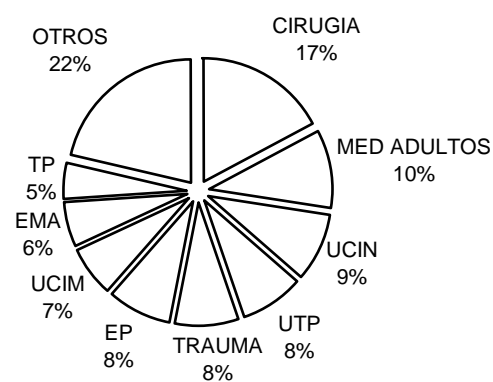
Tabla 1. Patrón de Susceptibilidad para *P. aeruginosa*.

Antibiótico	Número aislamientos	Resistente (%)	Susceptible (%)
Amikacina	380	37	57
Atreonam	86	21	46
Cefepime	380	22	66
Cefotaxima	380	48	4
Ceftazidima	380	19	72
Ciprofloxacina	380	43	48
Imipenem	380	25	69
Meropenem	58	25	68
Piperacilina	380	30	70
Piperazilina/tazocabtam	380	23	77
Ticarcilina/clavulánico	380	29	71
Tobramicina	380	46	52

Fuente: Datos experimentales

En la gráfica 1 se detalla el porcentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* de acuerdo a las áreas físicas del Hospital General San Juan de Dios.

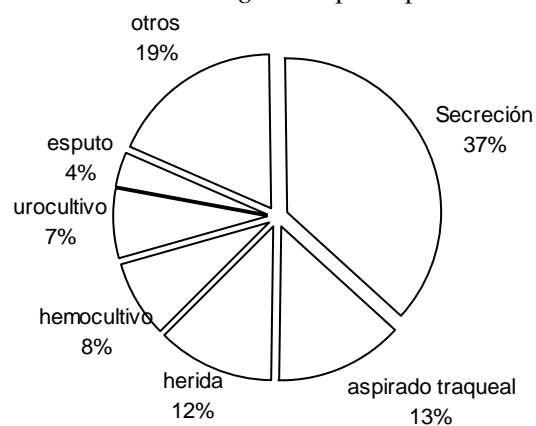
Gráfica 1. Distribución de *P. aeruginosa* por Salas



TP: trauma pediatria; EMA: emergencia de adultos; UCIM: Unidad de cuidados intermedios; EP: emergencia pediatria; UTP: Unidad de terapia intensiva de pediatria; UCIN: Unidad de cuidados intensivos de neonatos. Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 2 se observa el porcentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* por tipo de muestra.

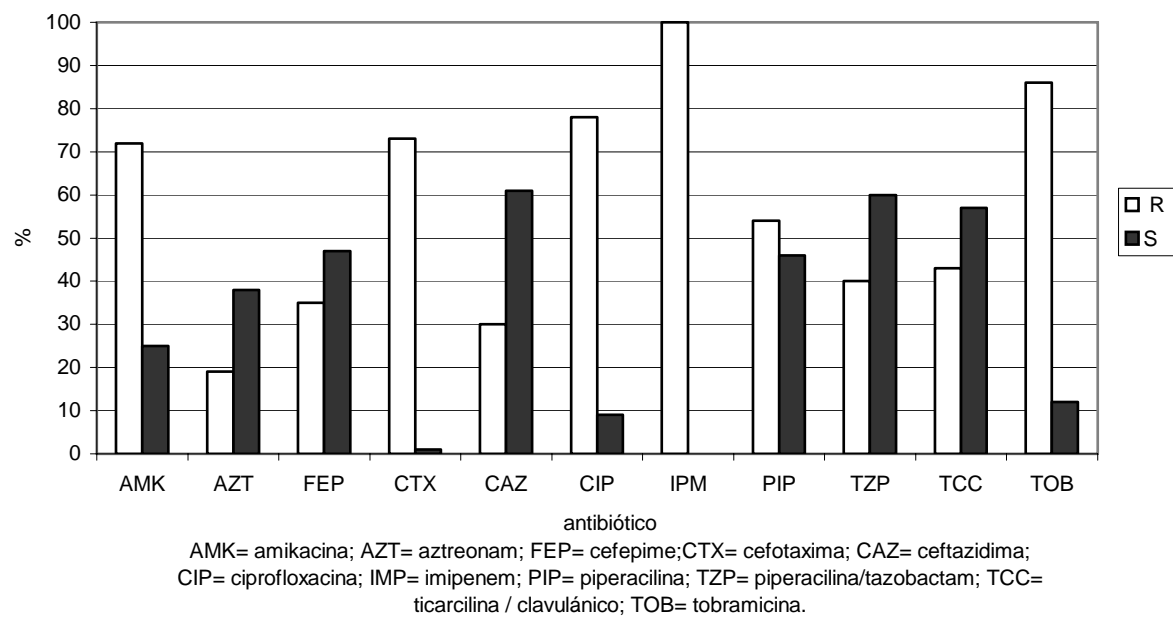
Gráfica 2. *P. aeruginosa* por Tipo de Muestra



Fuente: Datos experimentales

En la gráfica 3, se visualiza con claridad la diferencia marcada de susceptibilidad a otros antibióticos, cuando *P. aeruginosa* es resistente a imipenem. Por ello el énfasis de analizar los aislamientos respecto a su actividad frente a imipenem.

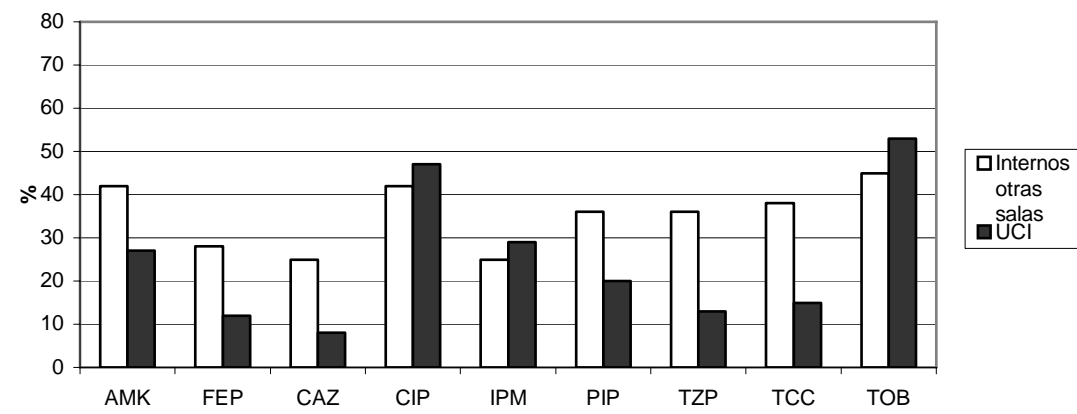
Gráfica 3. Patrón de *P. aeruginosa* Imipenem Resistente



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 4 se presentan los aislamientos de *P. aeruginosa*, divididos según el tipo de sala de origen, los de UCI y los internos en otras salas. De estos se compara la resistencia a los diferentes antibióticos.

Gráfica 4. Comparación de resistencia de *P. aeruginosa* en aislamientos de pacientes internos en otras Salas y pacientes de UCI



Fuente: Datos experimentales

En la Tabla 2 se presentan los datos del patrón de susceptibilidad para *Acinetobacter* sp.

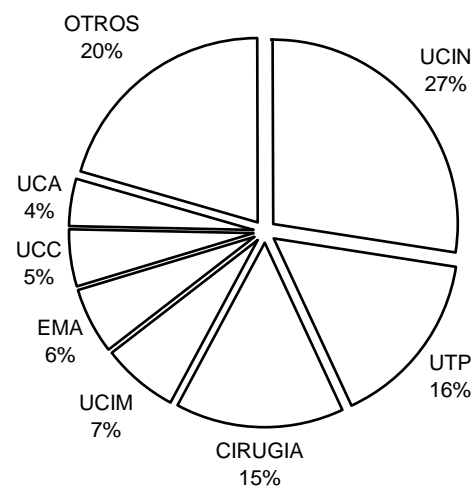
Tabla 2. Patrón de susceptibilidad para *Acinetobacter* sp.

Antibiótico	Número aislamientos	Resistentes (%)	Susceptibles (%)
Amikacina	258	84	14
Aztreonam	58	76	5
Cefepime	258	57	30
Cefotaxima	258	72	5
Ceftazidima	258	53	29
Ciprofloxacina	258	84	15
Imipenem	258	26	60
Piperacilina	258	87	9
Piperacilina/Tazobactam	258	100	0
Ticarcilina/clavulánico	258	79	13
Tobramicina	258	78	20

Fuente: Datos experimentales.

En la Gráfica 5 se aprecia la distribución de *Acinetobacter* sp. en las diferentes unidades del Hospital General San Juan de Dios.

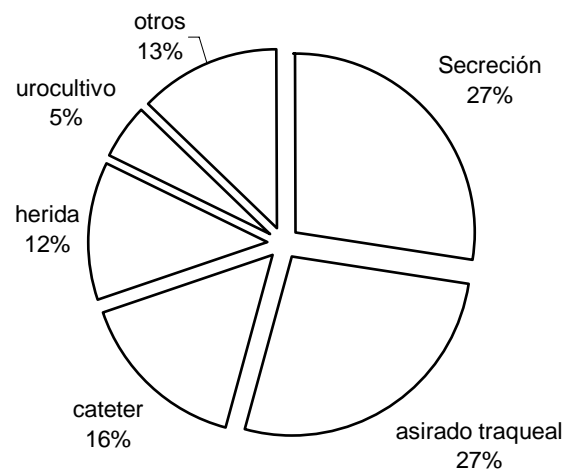
Gráfica 5. Distribución de *Acinetobacter* sp. por Salas



UCA: Unidad de cuidados intensivos adultos; UCC: Unidad de cuidados coronarios; EMA: emergencia de adultos; UCIM: Unidad de cuidados intermedios; UTP: Unidad de terapia intensiva de pediatría; UCIN: Unidad de cuidados intensivos de neonatos. Fuente: Datos experimentales

Observamos en la Gráfica 6 los aislamientos de *Acinetobacter* sp. según el tipo de muestra.

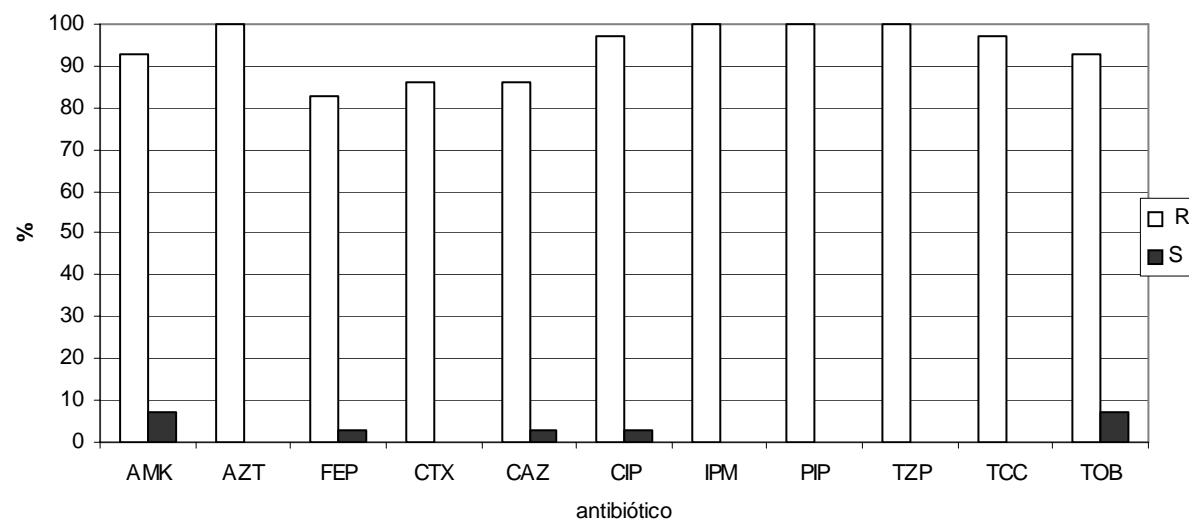
Gráfica 6. Porcentaje de aislamientos de *Acinetobacter* sp. por Tipo de Muestra



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 7 se visualiza la diferencia en los patrones de susceptibilidad, cuando las cepas de *Acinetobacter* sp. están resistentes a imipenem.

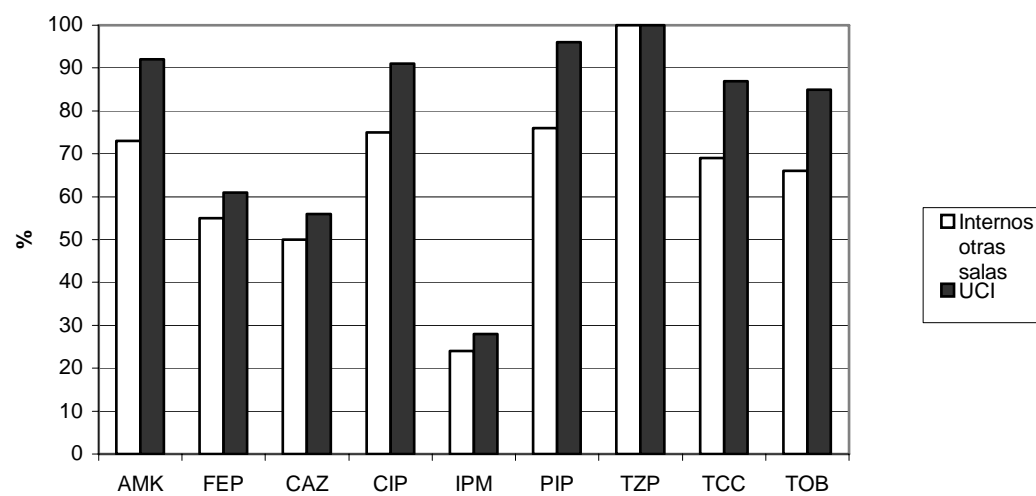
Gráfica 7. Patrón de *Acinetobacter* sp. Imipenem Resistente



Fuente: Datos experimentales

En la Gráfica 8 se presentan los aislamientos de *Acinetobacter* sp., divididos según el tipo de sala de origen (UCI y los internos en otras salas). De estos se compara la resistencia a los diferentes antibióticos.

Gráfica 8. Comparación de resistencia de *Acinetobacter* sp. en aislamientos de pacientes internos en otras Salas y pacientes de UCI



Fuente: Datos experimentales

Para validar los resultados se realizó control de calidad a los discos de imipenem y meropenem con la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron 380 aislamientos de *P. aeruginosa* y 258 aislamientos de *Acinetobacter* sp.

Los resultados para *P. aeruginosa* demuestran que entre 70 y 80% de los aislamientos fueron susceptibles a ceftazidima, piperacilina, piperacilina/tazobactam y ticarcilina/ácido clavulánico. La susceptibilidad a la ticarcilina/ácido clavulánico no se puede interpretar como tal, ya que *P. aeruginosa* puede tener una resistencia inducida por el clavulánico y tener una mala respuesta *in vivo*. Entre 60 y 70% de los aislamientos fueron susceptibles a cefepime e imipenem y 46 a 60% fueron susceptibles a amikacina, aztreonam, ciprofloxacina y tobramicina, como está indicado en la tabla 1 (41).

Los resultados obtenidos al compararse con estudios realizados en Estados Unidos, evidencian que la susceptibilidad frente a los antibióticos usados en el Hospital General San Juan de Dios es mucho menor (20% menos), el primer estudio se llevó a cabo de 1998 a 2001 en diferentes laboratorios de Estados Unidos y demostró más del 90% de susceptibilidad a amikacina y piperacilina/tazobactam y de 80 a 90% para imipenem, cefepime, meropenem y ceftazidima. En Quetzaltenango se reportó una susceptibilidad de 94% para imipenem y 79% para piperacilina/tazobactam. En Argentina la resistencia a imipenem es de 21%, comparado con 25% para el Hospital San Juan de Dios (31,36,40).

Dentro de los antibióticos β -lactámicos hay resistencia natural a ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de primera, segunda generación, aminopenicilinas y a los inhibidores de β -lactamasas (amoxicilina/ácido clavulánico), la resistencia adquirida puede afectar a β -lactámicos como las cefalosporinas de tercera generación y aztreonam. Es interesante resaltar la alta susceptibilidad frente a ceftazidima (72%) cefalosporina de tercera generación, respecto a la de imipenem (69%) que es un β -lactámico de la familia de los carbapenemes, esto puede reflejar poca utilización de ceftazidima o bien abuso de los antibióticos de última elección como imipenem y meropenem. Esto suele suceder en los Hospitales, al utilizar con mucha

frecuencia un antibiótico, las bacterias van adquiriendo resistencia al mismo, también se observa en ciprofloxacina y amikacina.

Las salas del Hospital General más afectadas con *P. aeruginosa* fueron cirugía de adultos 17%, medicina de adultos 10% y UCIN 9%, como se muestra en la gráfica 1, aunque cada unidad de adultos esté dividida en varias salas se agruparon porque el personal médico que realiza visitas y los atiende son los mismos; la tercera es la unidad de cuidados intensivos de neonatos, esto debe ponernos en alerta, porque estos pacientes tienen un sistema inmunológico débil y además puede estar siendo causado por el personal médico y paramédico, al no seguir correctamente las buenas prácticas de higiene (38).

Es importante resaltar que *P. aeruginosa* está diseminada en todas las salas del hospital en estudio, este hecho merece especial atención porque significa que la vigilancia debe instituirse de inmediato para evitar que continúe diseminándose y afectando a los pacientes que ingresan a este hospital. El área de pediatría está ubicada en un edificio aparte del área de adultos, sin embargo *P. aeruginosa* se aisló en ambos edificios. Esta ubicuidad de *P. aeruginosa* puede causar brotes en cualquiera de las salas del hospital y esto redundará en incremento de la morbi-mortalidad, así como de los costos para el Hospital General San Juan de Dios, debido a que las cepas han adquirido resistencia a diversos antibióticos, debiendo utilizar antibióticos más fuertes y por lo tanto más costosos.

Por el tipo de muestra donde se aísla, *P. aeruginosa* predominó en las secreciones y en los aspirados traqueales (36% y 13% respectivamente), como se aprecia en la gráfica 2. Esto concuerda con la literatura que indica que los aislamientos de *P. aeruginosa* más frecuentes son en fluidos del tracto respiratorio. En las secreciones van incluidas de úlceras, de extremidades superiores e inferiores, ojos, oído; pues muchas veces las boletas de solicitud no especifican el origen de la secreción. Otro tipo de muestra son las heridas que ocupan 12%. Las condiciones físicas y ambientales en los tubos de respiración artificial, favorecen el crecimiento de este tipo de bacterias, el paciente generalmente está inmunosuprimido y con terapias de antibióticos de amplio espectro, pero generalmente *P. aeruginosa* posee resistencia natural a estos antibióticos (amoxicilina, cefalosporinas de primera y segunda

generación), favoreciendo su crecimiento y además induciendo mecanismos de resistencia, como producción de β -lactamasas, impermeabilidad y producción de PBP's (5,6,8,10,12,13,42).

En la gráfica 4 se presentan los aislamientos estratificados por tipo de sala, de esta manera se aprecia la diferencia entre los pacientes de las UCI y los internos en otras unidades. Se aprecia que la resistencia está presente en todas las salas del hospital, afectando más a pacientes internos en otras salas. En los pacientes de UCI, el antibiótico con mayor resistencia es la ciprofloxacina que es una quinolona, la tobramicina que es un aminoglucósido y el imipenem, se sugiere su elevada resistencia al uso indiscriminado de estos. Los mecanismos involucrados pueden ser inhibición de la actividad de la DNA- girasa, β -lactamasas y eflujo. La ceftazidima tiene bajo porcentaje de resistencia, dato que deben tomar en cuenta los médicos del Hospital General San Juan de Dios (15,18,19).

Las cepas de *P. aeruginosa* aisladas en pacientes internos en otras salas, presentan una mayor resistencia a amikacina, tobramicina y ciprofloxacina, esto puede ser causado por el uso indiscriminado de estos antibióticos, principalmente de amikacina.

La elevación en la resistencia a quinolonas supone que el tratamiento con estos agentes no será efectivo en el futuro, debido a la rápida propagación de la resistencia a estos, y que son los antibióticos frecuentemente utilizados en este tipo de infección. Este problema se está desarrollando en varios países, ya que se reporta este mismo incremento de la resistencia en Estados Unidos, Europa y Japón (32,40,43).

Los resultados para *Acinetobacter* sp. demuestran que 60% de los aislamientos fueron susceptibles a imipenem y 20 a 30% susceptibles a ceftazidima, cefepime y tobramicina, como se presenta en la tabla 2.

Comparado con estudios realizados en Estados Unidos la susceptibilidad frente a los antibióticos en el Hospital General San Juan de Dios es más baja (>30%). El estudio se llevó a cabo de 1998 a 2001 en diferentes laboratorios de Estados Unidos y demostró más del 90% de

susceptibilidad frente a imipenem y meropenem y 70 a 80% de susceptibilidad frente a amikacina. Los resultados reflejan que los carbapenemes parecen ser la única opción para el tratamiento de infecciones por *Acinetobacter* sp. (40).

Las salas del Hospital General más afectadas con *Acinetobacter* sp. fueron UCIN con 27% y UTP con 16%, ambas de UCI del área de pediatría como se presenta en la gráfica 5, durante los meses de investigación se reportaron varias defunciones en la sala UCIN, en las que estuvo involucrado *Acinetobacter* sp. No se debe permitir que esta situación continúe, y es difícil de detener si la resistencia a imipenem sigue aumentando.

A diferencia de *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* sp. está distribuida en mayor porcentaje en las UCI (>60%), esto se debe al estado inmunológico de los pacientes y al equipo médico que tienen conectado. La vigilancia debe de instituirse de inmediato para evitar su propagación.

Por el tipo de muestra donde se aísla, *Acinetobacter* sp. predominó en las secreciones y en los aspirados traqueales (28% y 27% respectivamente). Esto concuerda con la literatura que indica que los aislamientos de *Acinetobacter* sp. son frecuentes en pacientes con ventilación mecánica artificial. Otro tipo son muestras obtenidas de catéter 16%, observado en la gráfica 6. Las condiciones físicas y ambientales en los tubos de respiración artificial, favorecen el crecimiento de este tipo de bacterias, el paciente generalmente está inmunosuprimido y con terapias de antibióticos de amplio espectro, induciendo mecanismos de resistencia, como producción de β -lactamasas, impermeabilidad y producción de PBP's (12,13,18).

En la gráfica 7 se observa que cuando *Acinetobacter* sp. es resistente a carbapenemes, las opciones de tratamiento son casi nulas.

En la gráfica 8 se presentan los aislamientos de *Acinetobacter* sp. estratificados por tipo de sala, de esta manera se aprecia la diferencia entre los pacientes de las UCI y los internos en otras unidades. Se observa que la resistencia está presente en todas las salas del Hospital, afectando más a pacientes de UCI, en la cual las cepas son multirresistentes, siendo el único antibiótico a disposición para tratamiento el imipenem.

X. CONCLUSIONES

1. De los microorganismos estudiados, el que frecuentemente se aísla es *P. aeruginosa*, (60%).
2. El patrón de susceptibilidad antibiótica en el Hospital General San Juan de Dios, para *P. aeruginosa* es más bajo (20% menos) con relación a otros países. Los antibióticos β -lactámicos ceftazidima, cefepime e imipenem son los que presentan mayor actividad.
3. *P. aeruginosa* está distribuida en todas las salas del Hospital General San Juan de Dios. Las salas con mayor frecuencia de aislamientos son cirugía, medicina de adultos y Unidad de cuidados intensivos de neonatos.
4. El tipo de muestra donde se aísla con frecuencia *P. aeruginosa* es secreciones y aspirados traqueales.
5. Los antibióticos con mayor resistencia frente a *P. aeruginosa* son cefalosporinas de tercera generación y quinolonas y cuando existe resistencia a carbapenemes presenta multirresistencia.
6. Se aislaron cepas resistentes a carbapenemes en todas las salas del Hospital General San Juan de Dios.
7. Existe mayor resistencia antibiótica para *P. aeruginosa* en aislamientos de pacientes internos en salas que no son de Cuidado Intensivo (12 % más respecto a las UCI).
8. Existe baja susceptibilidad de todos los antibióticos (<60%) frente a *Acinetobacter* sp.
9. Las salas más afectadas con *Acinetobacter* sp. son Unidad de cuidados intensivos de neonatos y Unidad de terapia intensiva de pediatría.

10. El tipo de muestra donde se aísla con frecuencia *Acinetobacter* sp. es secreciones y aspirados traqueales.
11. *Acinetobacter* sp. es un microorganismo que presenta multirresistencia, y esta se acentúa cuando hay resistencia a carbapenemes.
12. Los aislamientos de *Acinetobacter* sp. de las Unidades de cuidados intensivos presentan mayor resistencia antibiótica (15 % más respecto a los de otras salas).
13. Los estudios del patrón de susceptibilidad permiten monitorear el comportamiento de las cepas bacterianas, y elegir una terapia antibiótica correcta.

XI. RECOMENDACIONES

1. Establecer un Programa de Vigilancia que analice continuamente los aislamientos, para poder tomar medidas que eviten brotes y/o elevación de la resistencia antimicrobiana, y que esté coordinado conjuntamente con el Laboratorio y el Comité de Vigilancia epidemiológica del Hospital General San Juan de Dios.
2. Dentro del Programa debe existir un comité encargado de educar al personal del laboratorio, médico y paramédico, acerca de medidas de seguridad, y actualización de nuevas cepas y nuevos antibióticos efectivos.
3. Seguimiento de la terapia antibiótica por parte del personal médico, así como aplicación adecuada de dosis, según el informe del antibiograma y la concentración inhibitoria mínima, evitando el uso indiscriminado de los antibióticos.

VIII. REFERENCIAS

1. Jones RN, Low DE, Pfaller MA. Epidemiologic trends in nosocomial and community-acquired infections due to antibiotic-resistant gram-positive bacteria: the role of streptogramins and other newer compounds. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;33(2):101-120.
2. Barbara H. Iglewski Departamento de Microbiología y Parasitología. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona.
3. Ross, Frederick C. *Introductory Microbiology*. Columbus, Ohio: Charles E. Merrill Publishing Company, 1983. (p.405-406).
4. Pseudomonas Genome Project. Disponible en: <<http://www.pseudomonas.com>> Fecha de consulta: enero 2003.
5. De Vos D, *et al*, Direct detection and identification of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples such as skin biopsy specimen and expectoration by multiplex PCR bases in outer membrane lipoprotein genes, Opr I and Opr L. *J Clin Microbiol* 1997; 35(6):1295-1298.
6. Speijer H, Sovelkoul P, Boten M, Stobberingh E, Tjhie J. Application of different genotyping methods for *Pseudomonas aeruginosa*, a setting of endemicity in an intensive care unit. *J Clin Microbiol* 1997;37(11):3654-61
7. Yu H, Boucher JC, Hibler NS, Deretic V. Virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* lacking the extreme stress sigma factor Alg U (sE). *Inf Immun* 1996;64(7):2774-81.
8. Hsuch PR, *et al*, Persistence of multidrug-resistance *Pseudomonas aeruginosa* clones in an intensive care burn unit. *J Clin Microbiol* 1998;36(5):1347-51

9. Nikae T. Multiantibiotic Resistance Caused by Active Drug Resistance Extrusion in *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative Bacteria. *Microbiol Sem* 1997;13:273-84
10. Kenneth Todar, *Pseudomonas aeruginosa*. Madison: Universidad de Wisconsin 2002. (p330).
11. Alexandrakis G. *et al*, Shifting trends in bacterial keratitis in south Florida and emerging resistance to fluoroquinolones. *Ophthalmology* 2000; 107(8):1497-502.
12. Birawska I. *et al*, Evaluation of in vitro susceptibility of hospital bacterial isolates to piperacillin and tazocin (piperacillin/tazobactam). *Med Dosw Mikrobiol* 1998;50(1-2):41-6.
13. Bryce E.A. *et al*, Focused microbiological surveillance and gram-negative beta-lactamase— mediated resistance in an intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16(6):331-4.
14. Bailey Robert, Scott Elvyn, *Diagnostic microbiology*. Third edition. The C.V Mosby Company Saint Louis. 1970. (p161-163).
15. Koneman, M,D, *et al*, *Diagnostic Microbiology*. Fifth ed. Lippicott-Raven Publishers. Philadelphia, N.Y. 1997. (p266-267, 785-847).
16. Forbes, B. *et al*, *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Tenth ed. Mosby Inc. USA 1998;1074.
17. MacFaddin, J.F. *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Trad. Irma Lorenzo. Editorial Médica Panamericana, S.A. México 1997.

18. Marcos, María Ángeles, *Acinetobacter Baumanii*. España: Universidad de Barcelona. Departamento de Microbiología y Parasitología. Hospital Clínico.
19. Walsh, Timothy. *et al.* evaluation of a New Etest for Detecting Metallo-beta-lactamases in Routine Clinical Testing. *J of Clinic Microbiol* August 2002;40(8):p2755-2759.
20. Enciclopedia Libre Universal en Español <<http://enciclopedia.us.es/wiki.phtml>> Fecha de consulta: enero 2003.
21. Antibióticos Disponible en: <<http://www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm>> fecha de consulta: enero 2003.
22. Iáñez Pareja, Enrique. Curso de Microbiología General. 1998. Disponible en: <http://fai.une.edu.ar/biologia/microgeneral/20_micro.htm> Fecha de consulta: enero 2003.
23. Zagaceta Ríos, Mónica. Antibióticos. Disponible en: <<http://www.lafacu.com/apuntes/biologia/antibioticos/default.htm>> Fecha de consulta: enero 2003.
24. Abraham, E. P. Antibióticos beta-lactámicos. *Inv y Ciencia* 59(1981 agosto):30-41
25. Navarro, Ferran. El significado clínico de las beta-lactamasas de espectro extendido. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21:69-71. Disponible en: <<http://www.microbiologiaclinica.com/beta-lactamasas2.htm>>
26. Livermore, David, β -Lactamasas in Laboratory and Clinical Resistance, *Clin Microbiol Rev.* Oct. 1995;8(4): 557-569.
27. Laucet, J. C. *Patho Biolo. París* (1998, April);46(4):235-243.
28. Moland, Smith. *J Clin Microbiol* (1998);36:2575-2579.

29. Gustavo A. Quintero, *et al*, Eficacia y seguridad de la Piperacilina/Tazobactam en el tratamiento de la infección intraabdominal en Colombia. Sociedad Colombiana de Cirugía
30. Bertrand X, *et al*, Endemicity molecular diversity and colonization routes of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units. *Intensive Care Med.* 2001; 27:1263-1268.
31. Bantar C. *et al*, Three-year surveillance study of nosocomial bacterial resistance in Argentina. The Antimicrobial Committee; and the National Surveillance Program (SIR) Participants Group. *Int J Infect Dis* 2000;4(2):85-90.
32. Arakawa Y. Gene examination methods (detection and genotyping of resistant genes)—multiple-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Rinsho Byori* 2000;Suppl111:100-8.
33. Chang S.C. *et al*, In vitro activity of meropenem against common pathogenic bacteria isolated in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;32(4): 273-9.
34. Giamarellos-Bourboulis E.J. *et al*, Comparative in vitro killing activity of meropenem versus imipenem against multiresistant nosocomial *Pseudomonas aeruginosa*. *J Chemother* 1995;7(3):179-83.
35. Bedenic B. Development of beta-lactam antibiotic resistance in gram-negative bacteria and the impact of resistance on therapy. *Lijec Vjesn* 1999; 121(7-8):249-57.
36. Cuéllar, M.E. 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. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 87p.

37. Barrios, M,A. Estudio de las infecciones intrahospitalarias del Hospital General San Juan de Dios. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1988 110p.
38. Rios, G,S. Posibles fuentes de infecciones nosocomiales y microorganismos implicados en las salas de operaciones del Hospital General San Juan de Dios. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 74p.
39. Hernández, C,V. Uso de coprocultivos y cultivos oro-traqueales como indicadores tempranos de colonización en pacientes de unidades de intensivo pediátrico del Hospital General San Juan de Dios. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 55p.
40. Karlowsky, James, et al, Surveillance for Antimicrobial Susceptibility among clinical *P. aeruginosa* isolates of *P. aeruginosa* y *A. baumannii* from Hospitalized Patients in the United Etates, 1998 to 2001, Antimicrob. Agents Chemother. 2003;47(5):1681-1688.
41. Moreno, Rafael C, Puesta al Día en Métodos Microbiológicos para el Diagnóstico Clínico, Enferm Infecc Microbiol Clin 2002;20(4):176-86.
42. Crowe M, et al, Bacteraemia in the adult intensive care unit of a teaching hospital in Nottingham, UK,1985-1996. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998;17(6):377-384.
43. Kresken M, et al, Drug resistance among clinical isolates of frequently encountered bacterial species in central Europe during 1975-1995, Infection 1999;27(2)S2-8:160.