

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIA QUIMICAS Y FARMACIA**

**DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE COLISTÍN EN
AISLAMIENTOS DE *Acinetobacter* spp. Y *Pseudomonas* spp.
MULTIRRESISTENTES REFERIDOS DEL HOSPITAL ROOSEVELT DE
GUATEMALA AL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD (LNS).**

INFORME DE TESIS

Presentado por

Laura Rosalina Valenzuela Acevedo

**Para optar el título de
Química Bióloga**

Guatemala, Julio 2010

INDICE

I.	RESUMEN.....	3-4
II.	INTRODUCCIÓN.....	5
III.	ANTECEDENTES	
	A. <i>Acinetobacter</i> spp.....	6-14
	B. <i>Pseudomonas</i> spp.....	14-20
	C. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE <i>Acinetobacter</i> spp. Y <i>Pseudomonas</i> spp.....	21-27
	D. ANTIBIÓTICOS ACTIVOS FRENTE A <i>Acinetobacter</i> spp. Y <i>Pseudomonas</i> spp. MULTIRRESISTENTES.....	27-30
	E. NUEVAS ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS FRENTE A <i>Acinetobacter</i> spp. Y <i>Pseudomonas</i> spp. MULTIRRESISTENTES...	30-41
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	42
V.	OBJETIVOS.....	43
VI.	HIPÓTESIS.....	44
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	45-48
VIII.	RESULTADOS.....	49-53
IX.	DISCUSIÓN.....	54-57
X.	CONCLUSIONES.....	58
XI.	RECOMENDACIONES.....	59
XII.	REFERENCIAS.....	60-63
XIII.	ANEXOS.....	64-65

I. RESUMEN

El colistín es un antimicrobiano que pertenece al grupo de las polimixinas, cuya función es destruir las membranas celulares de las bacterias e incrementar la permeabilidad de las mismas. Aunque se comercializó a partir de 1947 se suspendió su utilización en los años 80 debido a su nefrotoxicidad y neurotoxicidad. Se conoce que produce cierto grado de toxicidad renal relativamente frecuente, pero reversible, con una dosificación adecuada y controlada.

Se ha reportado su eficacia en el tratamiento de infecciones intrahospitalarias producidas por microorganismos multirresistentes, principalmente *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. Debido a su acción antimicrobiana se realizó la determinación de la susceptibilidad a colistín en cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes, aisladas en el Hospital Roosevelt de la ciudad de Guatemala, con el fin de obtener una nueva opción terapéutica para estas infecciones, a pesar de los efectos secundarios no deseados que pueda presentar.

La muestra se obtuvo de manera no probabilística y a conveniencia, obteniendo 70 aislamientos multirresistentes (48 de *Acinetobacter* spp. y 22 de *Pseudomonas* spp.) provenientes del Hospital Roosevelt de Guatemala y referidas al Laboratorio Nacional de Salud (LNS) a partir de enero a julio del año 2007. A todos los aislamientos se les confirmó la susceptibilidad con el método de difusión con disco, cumpliendo con las normas de la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), utilizando discos con amikacina (AMK), cefepime (FEP), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), ciprofoloxacina (CIP), gentamicina (GEN), imipenem (IMP), meropenem (MEM), piperacilina (PIP) y piperacilina tazobactam (TZP). Posteriormente se les determinó la susceptibilidad a colistín (10 ug) por el mismo método. Los resultados se analizaron por medio del programa WHONET 5.4 y se presentaron en forma de descriptiva.

De los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. con multirresistencia, el 90% presentaron susceptibilidad a colistín. La multirresistencia se confirmó a partir de la resistencia a imipenem y meropenem con un 91.7% y 79.2% correspondiente a *Acinetobacter* spp.; y 100% y 77.3% correspondiente a *Pseudomonas* spp. El 7% (5) de aislamientos presentaron resistencia a colistín, el principal tipo de muestra de donde se obtuvieron los aislamientos fueron las muestras de sangre y las principales unidades de servicio fueron la Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría y la Unidad de Cirugía. *Acinetobacter* spp. multirresistente presentó mayor porcentaje de resistencia en comparación con *Pseudomonas* spp. multirresistente en los aislamientos susceptibles a colistín.

La alta susceptibilidad a colistín encontrada en los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes en este estudio, permitirá ampliar las opciones de tratamiento para las infecciones producidas por estas bacterias. Sin embargo, es necesario seguir realizando investigaciones referentes a la susceptibilidad de colistín en cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes de las diferentes regiones del país, para obtener su patrón de resistencia.

II. INTRODUCCION

Las infecciones intrahospitalarias están asociadas a microorganismos multirresistentes que limitan seriamente las posibilidades de mejoría clínica y obligan a utilizar costosos antimicrobianos (1-3). El ámbito de infecciones producidas por bacilos Gram-negativo no fermentadores (BNF), como *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. es relevante, debido a que ocupan un lugar central en estas infecciones, ya que participan en bacteriemias, neumonía asociada a ventilación mecánica, infección del sitio quirúrgico o infecciones del sistema nervioso central (SNC) (1).

El incremento de la incidencia en la multirresistencia de estas cepas por todo el mundo, incluyendo los carbapenemes que se utilizan como última opción, ha hecho que la comunidad médica evalúe el uso de viejos antimicrobianos como el colistín (2). Esta polimixina fue usada hace dos décadas; sin embargo, el reporte frecuente de nefrotoxicidad y neurotoxicidad hizo que su utilización se suspendiera. Un estudio realizado por Muñoz y García en el 2005, concluyó que la reutilización de colistín ha sido de importancia significativa como opción terapéutica para las infecciones intrahospitalarias en España, causadas por bacterias multirresistentes (4).

Actualmente, existen estudios realizados en países latinoamericanos sobre la evaluación de la susceptibilidad de colistín en bacterias multirresistentes, con el fin de obtener una opción terapéutica contra éstas. Un estudio realizado por Heijden en Brasil (2007), reportó un 100% de susceptibilidad a colistín, a pesar de su amplia utilización (5).

En el presente trabajo se determinó la susceptibilidad de colistín en cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes aisladas en el Hospital Roosevelt de la ciudad de Guatemala, con el fin de determinar su eficacia como agente antimicrobiano.

III. ANTECEDENTES

Las infecciones producidas por *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. multirresistentes han ido incrementándose rápidamente en el mundo entero, siendo actualmente un problema con impacto serio en mortalidad, morbilidad y costos de salud (4). Un estudio realizado por Pérez en Estados Unidos (2007), reportó aproximadamente un 30% de mortalidad relacionada a infecciones producidas por *Pseudomonas* y *Acinetobacter* multirresistentes.

La deficiencia del desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos para el combate de estas infecciones, ha hecho que la comunidad médica evalúe el uso de polymixinas, viejos antibióticos que habían sido abandonados (4).

A. ACINETOBACTER SPP.

1. MICROBIOLOGIA

Acinetobacter spp. comprende cocobacilos Gram-negativos no fermentadores, oxidasa negativos, no esporulados y aerobios estrictos. Se encuentran ampliamente dispersos en la naturaleza, mayoritariamente en agua y suelo. Se han aislado en personas sanas a partir de la piel, faringe y otras localizaciones (2, 6).

El género *Acinetobacter* se clasificaba antiguamente bajo unos quince nombres diferentes incluyendo *Bacterium anitratum*, *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus calcoaceticus*, B5W, *Moraxella glucidolytica* y *Moraxella iwoffi*. En 1954, Brisou y Prévot determinaron el género como *Acinetobacter*, con dos especies, *A. calcoaceticus* y *A. iwoffi*.

Sobre la base de recientes estudios genéticos se han identificado 19 especies diferentes, pero sólo 7 cuentan con nombre específico (*A. calcoaceticus*, *A.*

baumannii, *A. haemolyticus*, *A. junii*, *A. johnsonii*, *A. iwoffii*, *A. radioresistens*). Existe una estrecha relación entre el genoma de *A. calcoaceticus* y *A. baumannii*, de manera tal que a veces se les menciona como complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* (2).

2. EPIDEMIOLOGIA

a. Fuentes ambientales

Las especies de *Acinetobacter* pueden ser encontradas en objetos animados e inanimados debido a su gran adversidad y notable resistencia a la desecación. Crecen bajo condiciones de sequedad o humedad según el medio y pueden subsistir durante periodos de tiempo más prolongados que otros BNF (2, 6, 7).

Se ha reportado que *A. iwoffii* pueden sobrevivir en superficies secas más de 7 días, *A. baumannii* más de 25 días y *A. calcoaceticus* hasta 13 días en superficies de fórmica. La persistencia de las especies de *Acinetobacter* en las superficies es su característica más distintiva entre los patógenos nosocomiales, explicando su mayor patogenicidad entre pacientes hospitalizados (2).

En el medio hospitalario, estos BNF han sido aislados de humidificadores, equipos de ventilación, soluciones antisépticas o detergentes, en la piel del personal de salud, colchones, cojines y equipamientos (2).

b. Portación humana

Acinetobacter es parte de la microbiota cutánea (2, 8). Se ha estimado que hasta un 25% de la población normal puede tener colonización cutánea y hasta

un 7% están colonizados a nivel faríngeo (9). Un estudio realizado por Diomedi en el 2005, reportó que el 31% del personal de salud en Chile es portador de bacilos Gram-negativo en sus manos. Los microorganismos más comúnmente aislados de este personal fueron *Enterobacter* sp. (16,5%) y *Acinetobacter* sp. (7,5%). Sin embargo, el personal de salud tiende a tener menos colonización por *Acinetobacter* sp. que la población normal (2).

En otro estudio, un tercio de los trabajadores sanitarios (enfermeras y cirujanos) presentaron colonización transitoria por *A. calcoaceticus* en sus manos. Sin embargo, la faringe, la vagina y recto fueron sitios excepcionales de colonización. Tanto la persistencia sobre superficies secas como su presencia en la piel del personal sanitario, contribuyen a la transmisión cruzada entre pacientes. De esta manera, para prevenir o minimizar potenciales brotes, es esencial el cumplimiento de las medidas de óptimo control de infecciones (2).

La combinación de su medio ambiente y su amplia resistencia hace que sea un éxito como patógeno intrahospitalario (10).

c. Factores de riesgo

Las especies de *Acinetobacter* se consideran generalmente microorganismos de baja patogenicidad, salvo en pacientes críticamente enfermos o inmunocomprometidos. Estos microorganismos se asocian más a menudo con infecciones intrahospitalarias que comunitarias. Sin embargo, en regiones tropicales, se han reportado con alguna frecuencia, neumonías adquiridas en la comunidad, que comúnmente se presentan en meses húmedos y cálidos (2, 6, 8, 11).

La identificación de factores de riesgo es importante para el desarrollo de medidas de prevención de colonización e infección (2). Los múltiples factores

identificados para la adquisición de infecciones por *Acinetobacter* incluyen: enfermedad grave, infección o sepsis previa, cirugías recientes, ventilación mecánica prolongada, mal uso de antimicrobianos, colonización previa y estadía prolongada en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) (2, 8, 11, 12).

La ventilación prolongada y la estadía en la UCI, no serían específicos para *Acinetobacter* sino que estarían relacionados con la enfermedad subyacente del paciente (2). Por otro lado, las infecciones en las Unidades de Cuidados Intensivo, están asociadas frecuentemente a *A. baumannii* y las causas implicadas son la ventilación por neumonía (VAP), las infecciones del tracto urinario y las bacteriemias (6, 8, 10).

Los factores de riesgo para infecciones del torrente sanguíneo producidas por *Acinetobacter* son indistinguibles de los asociados con bacteriemias debidas a otros bacilos Gram-negativo. Cuando se comparan otros factores de riesgo para bacteriemias por bacilos Gram-negativo y *Acinetobacter* tales como presencia de dispositivos intravasculares, nutrición parenteral o neutropenia, no se encuentran diferencias significativas (2).

d. Brotes intrahospitalarios

Las primeras descripciones de brotes endémicos y epidémicos datan de los años 1,970 (9). En la actualidad se han reportado numerosos brotes intrahospitalarios causados por *Acinetobacter* siendo las especies principales *A. baumannii* y *A. iwoffi* con un pequeño número. El resto de especies distintas a *A. baumannii* son menos frecuentes como causas de infecciones intrahospitalarias y son más sensibles a antimicrobianos (9).

Estos brotes pueden ser en forma de brotes epidémicos o bien endémicos (9). Los brotes epidémicos han sido asociados con la expansión de la

contaminación ambiental, equipos de ventilación, colchones, cojines, contaminación cruzada, cuidado de heridas y con el abuso de antimicrobianos específicos (2, 13). Mientras que los endémicos no pueden relacionarse con reservorios específicos (9).

Un estudio realizado por Wilks en España (2006), reportó un reciente brote epidémico producido por *Acinetobacter* multirresistente en infecciones adquiridas por contaminación ambiental en camillas, agarraderas de las puertas, cortinas, llaves, trapeadores y bisturíes (11).

La contaminación cruzada es producida principalmente por el personal médico, que pueden infectar o colonizar a los pacientes y contaminar objetos (6, 8). Además, generalmente son portadores de cepas epidémicas, que una vez introducidas al hospital frecuentemente pueden ser modelos epidemiológicos o producir brotes con cepas multirresistentes. Estas cepas epidemiológicas se pueden volver endémicas sobresaliendo alguna en cualquier momento con multirresistencia (6, 9).

A menudo estos brotes exhiben diferentes patrones de multirresistencia, lo que hace muy dificultosa su erradicación desde el paciente y desde el medioambiente (2, 9). Los patrones de resistencia varían de región en región, en algunas áreas se reporta susceptibilidad exclusiva a carbapenémicos, mientras que en otras la resistencia comprende todos los antimicrobianos comercialmente disponibles. En los años recientes la incidencia mundial de *A. baumannii* resistente a carbapenémicos ha aumentado paulatinamente (2).

3. VIGILANCIA

Las infecciones por *A. baumannii* están documentadas mundialmente, convirtiéndose actualmente en causa de numerosos brotes. Además, su susceptibilidad antimicrobiana varía de país en país, mostrando un incremento del 40% de resistencia según el antimicrobiano (2, 6).

El estudio realizado por Diomedi en Chile (2005), reportó una disminución de susceptibilidad de imipenem para *A. baumannii* de 91.2 % desde el año 1997 hasta un 74% para el 2004. Además, comparó la susceptibilidad a imipenem y polimixina-B entre Europa, Norteamérica y Latinoamérica, concluyendo que Europa posee un porcentaje menor de susceptibilidad que América (2, 10).

La importación de cepas multirresistentes de zonas con altas tasas a las zonas con tasas históricamente bajas, se ha documentado recientemente (10). Hay informes de *A. baumannii* multirresistente en hospitales de Europa, América del Norte, Argentina, Brasil, China, Taiwán, Hong Kong, Japón, Corea y de zonas tan remota como Tahití en el Pacífico Sur (Pérez y Huger 2007). Estas cepas a menudo tienden a causar brotes en ciudades enteras, países y continentes (10).

El incremento de incidencia de *A. baumannii* multirresistente en el personal militar herido en Iraq, Kuwait, y Afganistán ha sido reportado (8, 10). La mayoría de los heridos han tenido heridas traumáticas en el campo (8). Las infecciones producidas por *A. baumannii* fueron diagnosticadas luego de que el personal fuera transferido a hospitales militares en Europa Occidental (8).

Investigadores frecuentemente reportan una interrupción en la transmisión de infecciones después de un reforzamiento en los estándares de control y prevención. El lavado de manos, las barreras de protección, la limpieza y

desinfección meticulosa del ambiente son los principales procedimientos estándares (7).

Se ha asociado que el uso previo de antimicrobianos (cefalosporinas de 3ra generación, fluoroquinolonas y carbapenemes) conjuntamente con la colonización o infección por *Acinetobacter* sp. producen cepas multirresistentes, situación que refuerza la necesidad de un uso prudente de los antimicrobianos (2, 6).

Varios factores trabajan conjuntamente para mantener la presencia de *Acinetobacter* y *Pseudomonas* multirresistentes en los diferentes centros de salud, incluyendo la presencia de susceptibilidad en pacientes, la colonización o infección en pacientes, la presión selectiva por el uso de antimicrobianos y la incompleta conformidad en el proceso de control de infecciones (13).

4. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia antimicrobiana entre las especies de *Acinetobacter* spp. se ha incrementado substancialmente desde la pasada década (7). Un microorganismo es resistente cuando su crecimiento *in vitro* no es inhibido por el antimicrobiano que es asociado a su erradicación *in vivo* (8).

Las causas de resistencia varían, pero son frecuentemente asociadas a la inapropiada terapia antimicrobiana, incluyendo la administración de dosis de antimicrobianos con una terapéutica baja, drogas de utilización continua, abreviación o interrupción del curso del tratamiento y una pobre penetración del tejido por el agente antimicrobiano (8).

La capacidad de extender esta resistencia puede deberse en parte al organismo, como por ejemplo que posea una membrana externa impermeable y

por otra parte, que el ambiente sea adecuado para la transmisión de genes de resistencia (7, 8).

La definición de *Acinetobacter* multirresistente según la especie varia, según su característica fenotípica y genotípica. Dos de las más comunes definiciones comprenden la multirresistencia hacia carbapenemes o la resistencia a tres tipos de antimicrobianos. Algunas colonias son susceptibles únicamente a polimixinas (antibióticos peptídicos) que no son utilizados rutinariamente debido a los reportes de toxicidad, haciendo el tratamiento de estas infecciones extremadamente dificultosas y hasta en algunos casos imposibles (7).

a. Resistencia Intrínseca

La resistencia intrínseca primaria que muestra *Acinetobacter* spp. a los antimicrobianos le viene conferida por 1) la membrana externa con escaso número de porinas de poro pequeño que la hace relativamente impermeable (8, 9). 2) niveles bajos de uno o varios sistemas de expulsión activa que contribuye a la resistencia intrínseca basal que presenta *A. baumannii* a diversos agentes antimicrobianos (8). Y 3) además podría existir un mecanismo de “down regulation” al igual que otros BNF, que disminuye el número de porinas en presencia de antimicrobianos (9).

b. Resistencia Adquirida

Debido a que *Acinetobacter* presenta una resistencia elevada a la desecación, tiene la capacidad de supervivencia en el ambiente durante varios días. Esta resistencia le permite adquirir material genético de otras bacterias con las que puede coincidir.

Los patrones de sensibilidad pueden variar en función de factores ambientales, del tiempo de evolución de la endemia o epidemia y de las distintas políticas de uso de antimicrobianos en los hospitales.

Diversos reportes han comunicado altas tasas de resistencia antimicrobiana en *Acinetobacter*, sus patrones de resistencias varían según especies aisladas y zona geográfica. Se ha reportado que *A. baumannii* es generalmente más resistente que *A. iwoffi* (2).

Actualmente, en lugares endémicos, la mayoría de las cepas de *Acinetobacter baumannii* son resistentes a los aminoglucósidos, ureidopenicilinas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación y fluoroquinolonas. Por otro lado, *Acinetobacter iwoffi* es más susceptible a los betalactámicos y *Acinetobacter haemolyticus* es altamente resistente a los aminoglucósidos (2).

B. PSEUDOMONAS SPP.

1. MICROBIOLOGIA

Pseudomonas spp. comprende a bacilos Gram-negativos no fermentadores, oxidasa negativos y aerobios estrictos. Es móvil, posee flagelos monótricos polares, produce pigmentos fluorescentes y algunas cepas pueden producir pigmento rojo oscuro o negro. Es un organismo saprofítico, se encuentra en ambientes húmedos, particularmente en aguas, tierra, plantas y cloacas (6, 14, 15).

Dentro del género de *Pseudomonas* se encuentran especies como *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, *P. alcaligenes* y *P. aeruginosa*, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (16). Se pueden aislar de muestras de suelo, aguas estancadas y contaminadas, así como de plantas y animales (14, 16).

2. EPIDEMIOLOGIA

a. Fuentes ambientales

Las especies de *Pseudomonas* al igual que *Acinetobacter* crecen bajo condiciones de humedad principalmente. Poseen la habilidad de sobrevivir en materiales inertes, sin embargo no tienen gran resistencia a la desecación por lo que no pueden subsistir durante periodos largos de tiempo (2, 6). Se ha reportado que *Pseudomonas aeruginosa* no puede sobrevivir en superficies secas más 24 horas (2).

El contacto diario con *Pseudomonas* spp., debido a que se encuentra en bajas cantidades en alimentos y artículos de limpieza, representa una amenaza para la salud de personas inmunocomprometidas (16). *P. aeruginosa* representa un problema importante especialmente cuando se trata de pacientes con cáncer o quemados (16). En el medio hospitalario, se ha aislado de equipos de ventilación mecánica, soluciones de limpieza, medicamentos desinfectantes, fregaderos, estropajos, entre otros (14).

Un estudio realizado por Soberón en México (2004), incluyó el reporte de aislamientos de *P. aeruginosa* de ambientes tan inhóspitos como el combustible de avión, soluciones de clorhexidina y el jabón (16).

b. Portación humana

Pseudomonas aeruginosa ocasionalmente puede formar parte de la flora habitual del ser humano. La colonización humana ocurre en sitios húmedos como el periné, axilas y oídos (14). Un estudio realizado por Brito en Venezuela (2000), reportó tasas representativas de colonización específica en sitios como la piel (0-2%), mucosa nasal (0-3,3%), y heces (2,6-24%) (14).

c. Factores de riesgo

Pseudomonas es un patógeno oportunista; rara vez causa enfermedad en personas sanas. La preferencia de colonización en personas no comprometidas en la comunidad es relativamente baja. Sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos, las tasas de infección por este microorganismo puede exceder el 50%, y la colonización a menudo presagia una infección invasora, sobre todo en los pacientes con quemaduras graves, pacientes con ventilación, pacientes con carcinoma que reciben quimioterapia, pacientes que reciben antibioticoterapia, etc (14).

La enfermedad humana extrahospitalaria causada *P. aeruginosa* se asocia con reservorios relacionados con agua fuera de hospitales, como: piscinas, bañeras, soluciones para lentes de contacto, entre otras. Al igual, la enfermedad humana hospitalaria se relaciona con reservorios húmedos, factor crítico, como: equipos de ventilación mecánica, soluciones de limpieza, medicamentos desinfectantes, fregaderos, estropajos, entre otros (14).

El número de potenciales factores de virulencia que produce *P. aeruginosa* y el amplio espectro de enfermedades que causa, sugiere que la patogenia de estas infecciones es multifactorial. Deben asumirse múltiples mecanismos patogénicos en enfermedades tan diversas como las septicemias por *P. aeruginosa* en pacientes neurotrópicos, infecciones pulmonares crónicas, en pacientes con fibrosis quística, endocarditis en adictos a la heroína, dermatitis en personas que usan baños calientes y otitis externa en diabéticos ancianos (14).

d. Brotes intrahospitalarios

Pseudomonas aeruginosa es una causa frecuente de brotes epidémicos en hospitales, representa el 11-13.8% de todas las que se producen en ese ámbito

(15). Un estudio realizado por Driscoll en México (2007), reportó que *P. aeruginosa* en las UCI es responsable de un porcentaje aún más alto de infecciones, con tasas de 13.2-22.6% (15).

Este microorganismo se identificó como la segunda causa más común de neumonía adquirida en la comunidad (NAC), neumonía asociada con la atención médica y neumonía asociada con el respirador (NAR), superada en frecuencia por *Staphylococcus aureus* (15).

En las UCI pediátricas, *P. aeruginosa* es la causa más frecuente de neumonía intrahospitalaria. Es un patógeno importante en los pacientes quemados, cuya frecuencia de colonización aumenta significativamente durante la primera semana de internación. También es responsable de un 6% de los casos de infecciones de la herida quirúrgica, del 9% de las infecciones urinarias (IU) intrahospitalarias y de hasta el 16.3% de las IU en las UCI (17).

Se informaron bacteriemias por *P. aeruginosa* en el 4-6% de los casos, con tasas más altas (14-20%) en los pacientes quemados, internados en la UCI. También es un patógeno importante en personas con inmunodeficiencias primarias y adquiridas. Los receptores de trasplantes de órganos sólidos y de médula ósea tienen tasas aumentadas de bacteriemia por *P. aeruginosa* en comparación con la población general hospitalaria, al igual que los pacientes con infección por el VIH (tasas 10 veces más altas) (17).

Pseudomonas aeruginosa es una causa importante de infección en los casos de interrupciones de la barrera cutánea, como en los pacientes quemados y en aquellos con necrólisis epidérmica tóxica. Además, esta bacteria suele aislarse de pacientes con lesiones de pie diabético y cumple un papel importante en las personas con fibrosis quística (FQ), en las cuales son frecuentes las infecciones crónicas y recurrentes del tracto sinusopulmonar (15).

3. VIGILANCIA

La vigilancia de los aislamientos de *P. aeruginosa* de pacientes internados mostró tendencias crecientes de resistencia antimicrobiana. Los datos del 2003 demostraron tasas de resistencia a imipenem (21.1%), fluoroquinolonas (29.5%) y cefalosporinas de tercera generación (31.9%) más altas que las informadas entre 1998 y 2002 (17).

Los aislamientos multirresistentes de *P. aeruginosa* son bastante comunes en las UCI. Los programas de vigilancia indicaron que, entre 1997 y 2002, en el 10.4% de los hemocultivos se aisló *P. aeruginosa* con multirresistencia (resistencia a ceftazidima, piperacilina, gentamicina y ciprofloxacina) (Driscoll y Brody 2007).

Un estudio realizado por Driscoll en México (2007), reportó que las tasas de multirresistencia fueron más elevadas en Europa y Latinoamérica en comparación con América del Norte. Es motivo de preocupación el aislamiento frecuente de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos, una clase de antimicrobianos indicados con frecuencia frente a la resistencia a las fluoroquinolonas y a las cefalosporinas (15).

4. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La influencia de la exposición frecuente antibacteriana a *Pseudomonas* spp., ha desarrollado la capacidad de desarrollar resistencia a cualquier agente antimicrobiano (16). El riesgo de aparición de resistencia antimicrobiana como consecuencia de la exposición a antimicrobianos varía según el fármaco empleado, pero se ha asociado en especial a la exposición con ciprofloxacina y con imipenem/cilastatina (15).

Los mecanismos generales de resistencia antibacteriana comprenden el bloqueo del ingreso y la salida activa de la célula, la degradación enzimática y la alteración de la estructura blanco (15).

a. Resistencia Intrínseca

La baja permeabilidad de las porinas de la membrana externa de *P. aeruginosa* tiene un papel importante en el alto nivel de resistencia intrínseca a los antimicrobianos (16). La resistencia intrínseca como la adquirida, dependen principalmente de la presencia de un gran número de transportadores que secretan al exterior de la célula. El mayor número de estos transportadores se agrupan según su parecido estructural, una de ellas está formada por los sistemas llamados bomba de eflujo (16).

Pseudomonas aeruginosa es intrínsecamente resistente a diversos antimicrobianos, como los betalactámicos, macrólidos, tetraciclinas, trimetoprima/sulfametoxazol, cloranfenicol, cotrimoxazol, y la mayoría de las fluoroquinolonas (15, 17). La resistencia intrínseca a éstos antimicrobianos se le atribuye al sistema de bombas de eflujo, siendo el sistema AcrAB/MexAB el que más contribuye. Éste sistema es capaz de transportar una amplia variedad de antimicrobianos y solventes orgánicos (16).

b. Resistencia Adquirida

Pseudomonas aeruginosa presenta diversos mecanismos de resistencia, así como la capacidad para adquirir nuevos mecanismos, ya sea por medio de

mutaciones o genes que le confiere resistencia a antimicrobianos habitualmente activos (17, 18).

No posee resistencia intrínseca a carboxipenicilinas (ticarcilina), ureidopenicilinas (piperacilina), betalactámicos más inhibidores de las betalactamasas (piperacilina/tazobactam y ticarcilina/ácido clavulánico) (15).

Además de las cefalosporinas de cuarta generación y algunas de tercera generación cefepima, ceftazidima y cefoperazona), aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina y amikacina), monobactámicos (aztreonam), algunas fluoroquinolonas (levofloxacin y ciprofloxacina), carbapenémicos (imipinem/cilastatina, meropenem y ertapenem) y las polimixinas (colistina) (15).

Sin embargo, puede adquirir resistencia a cualquiera de éstos, por medio de mecanismos como las betalactamasas de amplio espectro, oxacilinasas, carbenicilinasas, cefamicinasas, carbamepenemasas, mutación de porinas, modificación enzimática plasmídica, mutación DNA-girasas, inactivación enzimática plasmídica y alteraciones de la permeabilidad, entre otras (17).

Un estudio realizado por García en Chile (2003), publicó que los mecanismos de resistencia que se han demostrado en *P. aeruginosa* para los betalactámicos incluyendo carbapenemes, aminoglucósidos y fluoroquinolonas son los siguientes: betalactamasas comunes, disminución de la permeabilidad a betalactámicos, carbapenemasas, betalactamasas de espectro extendido (ESBL), enzimas modificantes de aminoglucósidos, alteración en la ADN girasa y la presencia de bombas de eflujo las cuales juegan el rol más importante en la resistencia intrínseca y adquirida de *P. aeruginosa* (19).

C. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *ACINETOBACTER* SPP. Y *PSEUDOMONAS* SPP.

Los mecanismos de resistencia para las especies de *Acinetobacter* son similares a las de las especies de *Pseudomonas*. Sin embargo, los mecanismos de resistencia en *Acinetobacter* no han sido estudiadas extensivamente (10). Los mecanismos de resistencia generalmente caen en tres categorías:

- 1) Inactivación de antimicrobianos por enzimas
- 2) Reducción del acceso al sitio blanco bacteriano
- 3) Mutaciones o cambios en el sitio blanco o funciones celulares.

1. INACTIVACIÓN DE ANTIMICROBIANOS POR ENZIMAS

Para la primera categoría, las especies de *Acinetobacter* y *Pseudomonas* poseen una amplia cantidad de betalactamasas que hidrolizan y confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes (16).

Las betalactamasas se dividen en tres grupos: clase A de Ambler (penicilinasas), clase B de Ambler (metaloenzimas) y clase D de Ambler (oxacilinasas). Estas enzimas hidrolizan, al menos parcialmente, carbapenémicos y otros betalactámicos (10).

a. Las betalactamasas de clase A

Se han reportado raramente en *Acinetobacter* spp. (2). Aunque se han encontrado betalactamasas TEM-1 en *A. baumannii*. Un estudio realizado por Pérez en Estados Unidos (2006), reportó cepas de *A. baumannii* con

betalactamasas de espectro extendido (ESBL) tipo PER-1, las cuales dan resistencia en un nivel alto a penicilinas y cefalosporinas (ceftazidima), pero afortunadamente no confiere resistencia a carbapenemes (10). Estas ESBL se han aislado de cepas en Turquía y Corea y recientemente en Estados Unidos, además han sido reportadas en organismos en Francia, Bélgica y Bolivia (10). Otras ESBL como VEB-1 y SHV-12 han causado brotes en Francia, Bélgica y Japón.

b. Las betalactamasas clase B

Son enzimas dependientes de zinc cuya actividad es inhibida por EDTA, pero no por carbapenémicos o inhibidores de betalactamasas como el ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam (2).

Entre las enzimas tipo B, se encuentran las metalobetalactamasas (MBLs), éstas son una amenaza significativa porque están localizadas en elementos genéticos móviles que pueden transferirse fácilmente entre bacterias (7). Muchas variantes existen, y ambas IMP y VIM han sido encontradas mundialmente en un amplio conjunto de especies bacterianas, incluyendo las de *Acinetobacter* (7, 20, 21).

Algunas colonias de *Acinetobacter* y *Pseudomonas* expresan (MBLs) como las VIM y IMP, las cuales hidrolizan un amplio rango de agentes antimicrobianos incluyendo los carbapenemes con la excepción de aztreonam (2, 10, 21). Estas fueron reportadas inicialmente en Hong Kong, Japón y seguidamente en Brasil. Las MBLs IMP fueron encontradas en *P. aeruginosa* por primera vez en 1988 en Japón (10).

c. Las cefalosporinas Amp C

Estas son cromosómicamente codificadas y confieren resistencia a una amplia gama de cefalosporinas exceptuando carbapenemes y cefepime. La inducción de la betalactamasa Amp C puede provocar la resistencia tanto al agente inductor como a otros betalactámicos. No todos los betalactámicos son inductores igualmente eficaces de la betalactamasa Amp C cromosómica. (7, 10, 14).

Pseudomonas aeruginosa tiene una beta lactamasa Amp C cromosómica y su expresión puede ser inducida por la exposición a los betalactámicos. El imipenem es un inductor conocido, mientras que las cefalosporinas de tercera y cuarta generación son inductores débiles. La resistencia adquirida a los betalactámicos suele ser consecuencia de la represión de la Amp C cromosómica o de la adquisición de un plásmido que codifica betalactamasas (15).

d. Las betalactamasas de clase D

Las oxacilinasas, también se encuentran en especies de *Acinetobacter*; existen múltiples subtipos que tienen diversos patrones de hidrólisis pero, en general, las oxacilinasas hidrolizan débilmente a carbapenémicos (imipenem y meropenem) y no hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido ni aztreonam. Su acción hidrolítica es inhibida por ácido clavulánico (2, 10).

La primera descripción de OXA carbapenemasa fue OXA-23 en *A. baumannii* fue obtenido de un aislamiento clínico en Escocia en 1985 antes de la introducción de los carbapenemes. Recientemente, un largo número de clases enzimas D OXA-type, contra actividades de carbapenemes, fueron caracterizadas en lugares incluyendo Escocia, España, Francia Japón, Singapur, China, Brasil, Cuba y Kuwait (7, 10, 21).

2. REDUCCIÓN DEL ACCESO AL SITIO BLANCO BACTERIANO

El transporte de la membrana externa esta mediado por porinas, que producen canales llenos de agua que transportan por difusión de moléculas hidrofílicas, estos son importantes para el transporte de agentes antimicrobianos entre las células para adquirir acceso a los sitios blancos bacterianos (por ej.: betalactámicos, carbapenémicos) (2, 12).

Algunos reportes sugieren que la mutación de porinas o la expresión reducida, están asociadas a resistencia a carbapenémicos en las especies de *Acinetobacter* (2). Esto se traduce principalmente en la pérdida de las uniones de proteínas de los canales desde la membrana externa (2). Es probable que las betalactamasas y otras alteraciones de la membrana externa trabajen conjuntamente para conferir resistencia hacia los agentes betalactámicos (2).

En la permeabilidad de la membrana externa de *A. baumannii* se detecta que el coeficiente de permeabilidad a las cefalosporinas es de 2 a 7 veces menor que el que presenta *P. aeruginosa* para los mismos betalactámicos. Por todo ello, se sugiere que una causa de la resistencia intrínseca que presenta *A. baumannii* a los antimicrobianos puede ser atribuida a la presencia de un escaso número de porinas que además poseen un tamaño de poro pequeño (2).

3. MUTACIONES O CAMBIOS EN EL SITIO BLANCO O FUNCIONES CELULARES

La tercera categoría de mecanismos de resistencia envuelve las mutaciones que alteran los sitios blancos o funciones disminuyendo la afinidad de agentes antimicrobianos o elevan regulación de las funciones celulares, como la producción de bombas de eflujo u otras proteínas (2).

a. Mutaciones en el sitio blanco

Este tipo de mecanismos también se ve en la resistencia a las quinolonas por mutaciones en los sitios blancos bacterianos por las enzimas topoisomerasas tipos gyr A y par C. Estas pertenecen a las topoisomerasas ADN-girasa que está compuesta de dos subunidades, codificadas por los genes *gyr A* y *gyr B*; y por la topo-isomerasa IV que está codificada por los genes *par C* y *par E*. Esta última es un blanco secundario de las fluoroquinolonas (2, 14).

En los aislados de *A. baumannii* con una o ambas mutaciones, ciprofloxacina ha reducido susceptibilidad comparada con gatifloxacina, gemifloxacina, levofloxacina, moxifloxacina y trovafloxacina (10).

b. Cambios en las funciones celulares

OprD es una porina de membrana externa específica para los carbapenémicos. La disminución o la ausencia de la expresión de OprD constituye un mecanismo primario de resistencia a los carbapenémicos en los aislamientos clínicos y de laboratorio de *P. aeruginosa* (15).

c. Producción de bombas de eflujo

Los mecanismos de bombas de eflujo ejemplifican un fenómeno único en la producción de resistencia contra diferentes clases de antimicrobianos (10). La actividad de las bombas de eflujo consiste en disminuir la concentración del antimicrobiano dentro de la célula bacteriana (10). Las bombas de eflujo se denominan por sus componentes proteicos y se caracterizaron 4 (MexA-MexB-

OprM; MexC-MexD-OprJ; MexE-MexF-OprN y MexX-MexY-OprM) (15). Estas bombas pueden expresarse constitutivamente a bajos niveles o sobreexpresarse cuando hay mutaciones de los genes represores (15).

Las especies de *Acinetobacter* al igual que *Pseudomonas aeruginosa* poseen bombas de eflujo que son capaces de eliminar la actividad de un amplio rango de agentes antimicrobianos. El genoma de *P. aeruginosa* contiene al menos 10 operones distintos del sistema de bombas. La terapia antibiótica ejerce una presión adicional para la selección de cepas de *P. aeruginosa* con sobreexpresión de las bombas de salida, un fenómeno que puede ser un problema, en especial con las fluoroquinolonas (15).

La resistencia a colistín se piensa es mediada por cambios en las células de la membrana bacteriana, esto interfiere con la habilidad de unirse a los sitios blancos (8).

Estos tres mecanismos no son mutuamente exclusivos y comúnmente funcionan conjuntamente para desarrollar resistencia y expandirla entre las especies (8).

Tanto las especies de *Acinetobacter* como las de *Pseudomonas* pueden adquirir resistencia a partir de genes de otros organismos, desarrollar resistencia por mutaciones inducidas ó pueden emerger cepas dominantes-resistentes a partir de someter a presión selectiva sub-poblaciones con resistencia preexistente (8, 10).

La emergencia de especies de *Acinetobacter* multirresistente se debe a la combinación de presión selectiva por el uso de antimicrobianos de amplio espectro y por la transmisión de cepas entre pacientes, aunque la contribución de estos mecanismos no se conocen aún (7).

Un estudio realizado en 2008 comparó genómicamente una cepa de *Acinetobacter* multirresistente, la cual que produjo una epidemia en Francia, encontrándose que contiene 45 genes de resistencia que aparentemente fueron adquiridas de los géneros de *Pseudomonas*, *Salmonella* o *Escherichia* (7).

D. ANTIBIOTICOS ACTIVOS FRENTE A *ACINETOBACTER* SPP. Y *PSEUDOMONAS* SPP. MULTIRRESISTENTES

El tratamiento empírico de las infecciones por *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. reviste a veces un grave problema debido a la frecuente y cambiante aparición de resistencias, y además por la gravedad clínica y el bajo índice de sospecha (10).

1. AMINOGLUCÓSIDOS

Los aminoglucoSIDOS, como la tobramicina y la amikacina, son opciones terapéuticas para las infecciones producidas por *Acinetobacter* spp. multirresistentes. Estos son usualmente utilizados en conjunto con otros agentes antimicrobianos. Estudios recientes han demostrado que las combinaciones de sulbactam con aminoglucoSIDOS, rifampicina, azitromicina has sido efectiva. Muchas cepas de *Acinetobacter* spp. multirresistentes tienen susceptibilidad intermedia a amikacina o tobramicina (10).

Un estudio realizado por Berlana en España (2005), concluyó la eficacia de tobramicina en aerosol administrado como profilaxis en pacientes colonizados por *P. aeruginosa*, incluyendo pacientes con fibrosis quística (22). Sin embargo, el

incremento de resistencia para tobramicina ha sido documentada (22). Los mecanismos de resistencia asociados son modificaciones de enzimas o bombas de eflujo (7).

2. CARBAPENEMES

Los carbapenemes (imipenem y meropenem) continúan siendo el tratamiento de elección para las infecciones en que se sospeche *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes. Se ha demostrado que imipenem posee un efecto post-antimicrobiano prolongado a nivel pulmonar, lo que hace que se mantengan las concentraciones tisulares por encima de la concentración mínima inhibitoria (9).

Aunque las tasas de resistencias a los dos carbapenemes son similares y se registran grandes oscilaciones de un hospital a otro, en general, el imipenem mantiene mejores tasas de sensibilidad y se considera el tratamiento de elección de estas infecciones, quizás con la excepción de las infecciones del sistema nervioso central, en las que se debe emplear meropenem (9).

Diversos mecanismos han sido descritos para explicar la aparición de resistencias de *Acinetobacter* spp. al imipenem. Entre ellos se encuentran betalactamasas, alteraciones de la proteína ligadora de penicilina o alteraciones de las porinas (14).

Mientras que para *Pseudomonas aeruginosa* la resistencia a los carbapenémicos se relaciona sobre todo con la disminución en la expresión de la porina OprD; las bombas de eflujo y las B-lactamasas, las cuales cumplen casi siempre un papel secundario, en especial en mediar la resistencia al meropenem (15).

3. SULBACTAM

Sulbactam es una sulfona del ácido penicilánico. Es un inhibidor de betalactamasas de más amplio espectro que el ácido clavulánico pero menos potente. No induce aparición de betalactamasas. Además de ser un inhibidor de las betalactamasas, el sulbactam es bactericida frente a *Acinetobacter baumannii* (15).

Su vida media es de una hora. Se excreta por riñón y se recupera en orina el 70-80% de las dosis. La excreción biliar es mínima. Su penetración tisular es excelente, pero es pobre en las meninges inflamadas (23).

El sulbactam puede presentar reacciones de anafilaxia graves pero su frecuencia es inferior al 1%. Puede provocar disfunción hepática, por lo que, se debe monitorizar las enzimas hepáticas (24).

El sulbactam (administrado solo o en combinación con ampicilina si no se dispone de la presentación única) se ha demostrado una alternativa eficaz para el tratamiento de las infecciones graves por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes (16). Recientemente, un estudio retrospectivo demostró que el sulbactam es tan eficaz como el imipenem-cilastatina en el tratamiento de neumonías asociada a ventilación mecánica por *Acinetobacter baumannii* (15). De igual modo y a pesar de su escasa penetración en meninges, se ha comprobado que el sulbactam es una opción válida para el tratamiento de meningitis hospitalarias por *Acinetobacter baumannii* (18).

4. TETRACICLINAS

Las tetraciclinas son agentes bacteriostáticos que se han utilizado recientemente en el tratamiento de infecciones por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. Estos agentes pueden ser efectivos frente a este patógeno, si bien

las tasas de sensibilidad varían ampliamente entre los hospitales y no suelen ser muy elevadas. Otro problema añadido es que las cepas resistentes a imipenem suelen ser casi de forma constante resistentes también a tetraciclinas (25).

Un estudio experimental en un modelo murino de neumonía por *Acinetobacter baumannii*, demostró que la asociación de doxiciclina más amikacina era una opción terapéutica tan válida como el imipenem-cilastatina (24, 26).

5. RIFAMPICINA

En estudios *in vitro* y en modelos animales se ha demostrado que la rifampicina es bactericida frente a *Acinetobacter baumannii*. Además, se ha comprobado que la combinación de rifampicina con imipenem y colistina tiene un efecto sinérgico que no se observa cuando se combina con sulbactam. No obstante, no existen estudios en humanos que hayan comprobado el comportamiento de la rifampicina en infecciones graves (26).

E. NUEVAS ALTERNATIVAS TERAPEUTICAS FRENTE A ACINETOBACTER SPP. Y PSEUDOMONAS SPP. MULTIRRESISTENTES

1. TIGECICLINA.

Es un agente bacteriostático de amplio espectro de uso parenteral contra *Acinetobacter* spp. multirresistentes, sin embargo no posee actividad contra infecciones producidas por *P. aeruginosa* (8, 27). Es utilizado para tratamientos de complicaciones e infecciones en la piel e infecciones intra-abdominales causados por organismos sensibles. La efectividad clínica indica que se necesitan un mínimo de 2 ug/ml de tigeciclina para inhibir el crecimiento del 90% *in vitro*.

Los mecanismos de acción envuelven la unión ribosomal de la subunidad 30S y bloquea la síntesis de proteínas (8).

La tigeciclina tiene una dosificación de 7 a 9 L / kg volumen de distribución y una vida media de aproximadamente 42 horas. A la carga dosis de 100 mg se recomienda una dosis de mantenimiento de 50 mg cada 12 horas. No hay ajuste de la dosis para pacientes con insuficiencia renal o deterioro leve a moderada insuficiencia hepática. Efectos secundarios incluyen náuseas, vómitos y diarrea (8).

El alto nivel de resistencia a la tigeciclina se ha detectado en aislamientos de *Acinetobacter* spp. multirresistente. Se ha reportado que esta multirresistencia se debe a resistencia adquirida por cromosomas y por la sobre-expresión de bombas de eflujo (7, 10).

2. POLIMIXINAS

Dado las limitadas opciones terapéuticas, los médicos han retornado al uso de las polimixinas. La polimixina B y la E (colistín) son las utilizadas clínicamente para la mayoría de infecciones producidas por bacilos Gram-negativos, incluyendo *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes (7, 28). El colistín posee muchas características que favorecen su utilización en pacientes con infecciones producidas por éstos dos microorganismos, e incluyen una actividad bactericida rápida, no desarrolla resistencia rápido y son de amplio espectro (29).

a. Colistín (Polimixina E)

Las polimixinas son decapeptidos catiónicos, ramificados y cíclicos. Su estructura está compuesta mayormente por cadenas de heptapeptidos cíclicos y posee terminaciones N-acetilos con ácidos grasos (21, 27).

Las polimixinas A, B, C, D y E se aislaron en 1947 en Japón, a partir de diferentes cepas de *Bacillus polymyxa*. La mayoría de ellas (A, C y D) eran demasiado tóxicas para su uso terapéutico, de forma que al principio, sólo la polimixina B alcanzó una cierta importancia (18, 26, 29). Actualmente se utiliza para infecciones producidas por *P. aeruginosa* (23).

El colistín fue descubierto en 1947 y fue sintetizado por *Bacillus polymyxa* subespecie *colistinus* (28). Es un multicomponente polipéptido, compuesto por el colistín A (Polimixina E₁) y el colistín B (polimixina E₂), siendo éste el mayor de los componentes. Estos componentes tienen el mismo aminoácido pero diferente ácido graso (6- ácido metil-octanoico y 6- ácido metil-heptanoico, respectivamente) (29, 30). Tiene un peso de 1750 Da. Los componentes aminoácidos en la molécula de colistín son d-leucina, L-treonina y L- α γ -ácido diaminobutírico (28).

Desde 1959, se comercializaron las dos formas disponibles de colistín, para el tratamiento de las infecciones bacterianas. El colistín sulfato, referido como colistín (polimixina E), y el colistín metanosulfonato sódico (CMS), debido a su mejor tolerancia (30, 31). Éste es producido por la reacción del colistín con el formaldehído y sulfito sódico. No obstante, esta modificación también supuso una reducción de la actividad antibacteriana (26, 29 ,30).

i. Efecto antibacteriano

El colistín actúa interviniendo en la función y estructura de las membranas celulares de las bacterias. Para los bacilos Gram-negativos, la actividad antimicrobiana envuelve dos pasos; inicia interaccionando con los lipopolisacáridos y fosfolípidos de la membrana externa y sigue con la interferencia electrostática para desplegar los divalentes catiónicos (calcio y magnesio) de los grupos fosfato (cargas negativas) de la membrana lipídica. El resultado es el daño

en la barrera osmótica, debido al incremento de la permeabilidad, produciendo finalmente la filtración del contenido intracelular (7, 29, 31).

Un estudio realizado por Li en Australia (2006), concluyó que la estructura del colistín posee un fuerte efecto catiónico que le da una actividad antibacteriana mucho mayor que el colistín metanosulfonato (32).

El colistín es eficaz frente a muchos bacilos Gram-negativos, como *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. Es un bactericida efectivo contra *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. multirresistente (7).

Un estudio realizado por Maragakis en Estados Unidos (2008), reportó que la eficacia del tratamiento con colistín en pacientes con infecciones por *Acinetobacter* spp. multirresistentes fue del 77%; incluyendo afecciones como neumonía, bacteremias, sepsis, infecciones intra-abdominales e infecciones del sistema nervioso central (SNC) (7).

ii. Propiedades farmacocinéticas

El colistín se puede administrar por vía tópica o por vía intravenosa o intramuscular, y el colistín metanosulfonato por vía parenteral; ambos pueden administrarse por inhalación para el tratamiento de infecciones crónicas producidas por bacilos Gram-negativos multirresistentes (22, 29). Además el colistín puede administrarse por vía intracraneal combinado con CMS (22). El CMS es menos tóxico que el colistín administrado por vía parenteral (31).

El conocimiento de la farmacocinética y farmacodinámica de colistín es limitado, y la dosificación clínica está basada en la experiencia obtenida hace 30 años (32). La mayoría de datos de farmacocinética en personas son obtenidos por

concentraciones del antimicrobiano medidos en plasma y orina por ensayos microbiológicos (31).

La pauta de administración de colistín para pacientes con una función renal normal es de 2,5 a 5,0 mg/kg de peso corporal al día por vía intravenosa. La dosis diaria se distribuye en dos a cuatro dosis individuales, cada seis a doce horas. Las concentraciones máximas en suero se sitúan por encima de 10 mg/l, y disminuyen con una semivida de dos a tres horas, alcanzando valores de alrededor de 1 mg/l al cabo de seis horas. Las concentraciones en orina se sitúan en aproximadamente 270mg/dl a las dos horas de la inyección y a sólo 15 mg/l seis horas más tarde (18).

En pacientes con función renal anormal, se reduce la dosis diaria de colistín. En pacientes con una concentración de creatinina plasmática de 1,6 a 2,5 mg/dl o bien con un aclaramiento de la creatinina de 5 a 20 ml/min, sólo se administra la mitad de la dosis diaria habitual (18). En pacientes con sobrepeso, el cálculo de la dosis debe basarse en el peso ideal (26).

Su eliminación es preferentemente por vía urinaria. El tiempo de semivida plasmática está entre 2 y 4,5 horas (25).

Un estudio realizado en Australia (2003), concluyó que la farmacocinética y la farmacodinámica entre el colistín y el colistín metanosulfonato son diferentes (30).

Por otro lado, Li (2001), concluyó que el Colistín metanosulfonato muestra menor eficacia que el colistín en cepas de *Pseudomonas* spp., demostrando que al igualar las concentraciones mínimas inhibitorias para la eliminación de la bacteria según el tiempo, éste último fue mayor (29). Sin embargo, estudios recientes concluyen que colistín metanosulfonato,

antimicrobiano derivado de colistín, según sus características farmacocinéticas es inactivo contra *Pseudomonas aeruginosa* (31).

Métodos recientes han medido concentraciones de suero de colistín y han sido incapaces de distinguir las concentraciones adecuadas (7). Esto ha sido inconsistente para los productores, ya que no consideran las dosis adecuadas (7). Informes sugieren que las dosis recomendadas pueden ser mandadas por los niveles de colistín medidos por la concentración mínima inhibitoria (MIC) para infecciones de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. (7), por lo que este problema es importante y necesita estudios de farmacocinética, de la formulación y dosificación clínica y su investigación (7).

iii. Eficacia terapéutica

No existen estudios clínicos amplios para el colistín, como es habitual hoy en día en los antibióticos de reciente aparición. Por ello, sólo puede hacerse una estimación de la eficacia a partir de algunos análisis retrospectivos (26).

El colistín había sido retirado del arsenal terapéutico en los años 80, pero a finales de los 90 fue nuevamente utilizado debido a su excelente actividad frente a diversos Gram-negativos multirresistentes, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* (25).

Un estudio retrospectivo puso de manifiesto que las tasas de curación de infecciones graves por estos dos patógenos eran del 58%, siendo los resultados peores en el caso de las neumonías (25). Un estudio más reciente en Estados Unidos reportó que el colistín tiene actividad escasa en el pulmón y sus resultados clínicos varían según el tipo de infecciones (7).

Otros estudios han reportado baja respuesta en pacientes que padecen de neumonía producida por bacilos Gram-negativos multirresistentes, tratados con colistín parenteral. En teoría, debido al elevado tamaño de su molécula, la penetración del colistín en parénquima pulmonar es pobre (1). Sin embargo, estudios recientes demostraron una efectividad del 56-61% en pacientes con neumonía asociados a ventilación mecánica producida por *Acinetobacter* spp. multirresistente (24).

Existen indicios de que las polimixinas se acumulan en los tejidos, especialmente en el tejido renal y el cerebro, pero no se dispone de datos exactos sobre la afinidad tisular (18, 26). Dado que el colistín atraviesa la barrera hematoencefálica con dificultad, se ha empleado por vía intratecal para el tratamiento de meningitis nosocomiales por *Acinetobacter baumannii* multirresistente (25).

Una reciente publicación por Maragakis (2008), reportó una eficacia del 80% en pacientes que padecían meningitis producida por bacterias Gram-negativo multirresistentes y un 91 % con meningitis producida por *Acinetobacter* spp. en Estados Unidos (7). No obstante, también se ha comunicado el tratamiento con éxito de meningitis por *Acinetobacter baumannii* con colistín intravenoso, comprobándose además que los niveles en líquido cefalorraquídeo alcanzaban concentraciones bactericidas (22, 25).

El colistín se ha empleado también por vía inhalatoria con éxito para el tratamiento de infecciones pulmonares en caso de fibrosis quística y su uso por vía inhalatoria se ha comunicado en casos de neumonía por bacilos Gram-negativos multirresistentes (25, 33). Además ha sido efectivo en pacientes con VIH que padecen de neumonía producida por *Pseudomonas aeruginosa* (33).

En años recientes éste ha sido utilizado para la prevención o complementario en el tratamiento para colonizaciones del tracto respiratorio por *P. aeruginosa* multirresistente en pacientes con fibrosis quística (33).

iv. Combinación con otros antibióticos

Existen pocos estudios experimentales y clínicos en la literatura en cuanto a la actividad sinérgica de colistín con otros antimicrobianos (28). La necesidad de evaluar clínicamente la combinación de antibióticos, es evidente (27). Estudios *in vitro*, han demostrado que la combinación de colistín con rifampicina o imipenem, o ambos de estos antibióticos pueden representar un acercamiento razonable para el tratamiento de infecciones producidas por Gram-negativos multirresistentes (27). La combinación de colistín, rifampicina, y amikacina *in vitro*, condujo al éxito de tratamiento en un paciente inmunosuprimido con múltiples abscesos de los pulmones, el perineo, y glúteos debido a *P. aeruginosa* multirresistente (28).

Un informe de Roma (Italia) describe el tratamiento intravenoso con una combinación de colistina y rifampicina en pacientes con infecciones producidas cepas de *A. baumannii* resistentes al carbapenem, obteniendo el 64% de efectividad (18). En ensayos *in vitro* realizados con anterioridad, ésta combinación ha demostrado ser sinérgicamente eficaz en la mayor parte de las cepas (18).

Además se ha determinado la eficacia de combinaciones de colistín con un agente antipseudomonal (azlocillin, piperacillin, aztreonam, ceftazidime, imipenem, o ciprofloxacina) en pacientes con fibrosis quística producida por *P. aeruginosa* multirresistente, concluyendo que la combinación de colistín con otro antimicrobiano antipseudomonal era más eficaz que la monoterapia colistín (28).

v. Efectos adversos

La terapia antimicrobiana con polimixinas en la mayoría de pacientes es de administración sistémica o local (7). Se empleó en la década de los años 70 y 80 por vía sistémica, pero se abandonó por su elevada toxicidad, sobre todo renal y en sistema nervioso periférico, donde causaba debilidad generalizada por bloqueo de conducción neuro-muscular (22, 25).

Los primeros reportes publicados de toxicidad neurológica fueron antes de 1970, y las manifestaciones más comunes fueron mareos, debilidad, parestesias faciales y periféricas, vértigo, confusión, síntomas visuales, ataxia, bloqueo neuromuscular e irritación meníngea, la cual era reversible y dependía aparentemente de la dosis (7, 21). La incidencia de neurotoxicidad asociada a colistín y reportada en 1970 fue del 20.20% y en literatura más reciente fue del 7%, constituido por parestesia y otros eventos adversos neurotóxicos (28).

Datos más recientes sugieren que los estudios sobre la toxicidad, previos a los años 1980, fue sobrevalorada como consecuencia de un diseño también sobrevalorado, probablemente por un mal diseño de los estudios y una mala selección y seguimiento de los pacientes (25).

Un estudio realizado Falagas en Estados Unidos (2005), concluyó que el desarrollo de acontecimientos neurotóxicos relacionados con la terapia de colistín, parece ocurrir más con frecuencia en pacientes con fibrosis quística (el 29 % de los pacientes experimentó parestesias, ataxia, o ambos) (28).

A pesar de las insuficientes evidencias respecto a la eficacia, seguridad, o propiedades farmacocinéticas de colistín para el tratamiento de infecciones del sistema nervioso central, sigue teniendo importancia como una opción terapéutica de salvamento (7).

Las polimixinas presentan un potencial nefrotóxico importante (necrosis tubular aguda) (23). Parece ser que el aminoácido D y las cadenas de ácidos grasos de la estructura de las polimixinas, han sido asociados con el desarrollo de nefrotoxicidad (34).

El colistín parece ser menos nefrotóxico que la polimixina B; sin embargo, al precisar una dosis superior, ésta aumenta, al menos en parte. Por tanto, cabe esperar una nefrotoxicidad similar en la práctica clínica. Actualmente no se dispone de suficientes datos sobre la nefrotoxicidad de ambos antimicrobianos (18, 23, 26, 28).

Se ha descrito insuficiencia renal en 14% de 60 pacientes que fueron tratados con polimixina B en Nueva York en el año 2005. Médicos en Grecia describieron, el mismo año, una clara nefrotoxicidad en la mayoría de los pacientes en los que ya existía insuficiencia renal antes de iniciarse el tratamiento, aunque en los pacientes con función renal normal, no se produjo tal efecto (26).

Falagas (2007), en Estados Unidos, concluyó que la polimixina B debe ser administrada únicamente como terapia de salvamento (28).

Montero, en el año 2004, reportó que de 60 pacientes tratados con colistín el 27% de los pacientes con función renal normal presentaron disfunción renal transitoria. El fracaso renal no fue tampoco motivo de abandono del tratamiento en ningún caso (25).

Por último, un estudio publicado Montefour en Estados Unidos (2008), concluyó que en su mayoría los pacientes tratados con colistín en una situación crítica, presentan cierto grado de toxicidad renal relativamente frecuente, la elevación de la creatinina no suele ser excesiva y prácticamente siempre revierte al

final del tratamiento; y la neurotoxicidad es muy infrecuente o nula, siempre que se respeten las dosificaciones y se controlen adecuadamente sus concentraciones (8).

Por lo tanto, la toxicidad renal como la neurológica, se consideran dependiente de la dosis y por lo general reversible después de interrupción de terapia con colistín. Sin embargo, hay informes escasos publicados de nefrotoxicidad irreversible después del cese de tratamiento con colistín (28).

Además, existen otras reacciones adversas que también han sido atribuidas con el empleo de colistín; las cuales incluyen: reacciones de hipersensibilidad, erupción de la piel, urticaria, picadura generalizada, fiebre, y desórdenes (trastornos) suaves gastrointestinales (28). La incidencia de reacciones alérgicas debido al empleo de colistín publicada ha sido del 2 % (28).

vi. Resistencia

Se ha reportado resistencia a las polimixinas en los bacilos Gram-negativos producida por alteraciones en la membrana externa o mecanismos de bombas de eflujo (7, 18). La resistencia a colistín se piensa es mediada por cambios en las células de la membrana bacteriana. Este mecanismo se lleva a cabo por una proteína de la membrana externa denominada OprH-1, que interfiere con unión de los lipopolisacáridos de la pared al sitio de ligamiento aniónico de las polimixinas (2, 20, 28). Este mecanismo de resistencia también afecta a los aminoglucósidos y EDTA (20, 35).

En las especies de *Proteus* spp., *Providencia* spp. y *S. marcescens* se ha reportado resistencia a polimixinas, mientras que la sensibilidad de *B. fragilis* es variable (18, 25). En cepas de *P. aeruginosa* se ha reportado resistencia a polimixinas en aislamientos de pacientes con fibrosis quística, sin embargo, los

datos sobre la resistencia adquirida a polimixinas por en *Pseudomonas* spp. son escasos (23).

Heijden en Brasil (2007), reportó un 100% de sensibilidad a colistín, a pesar de su amplia utilización. Sin embargo, se ha reportado resistencia a otras polimixinas, como para la polimixina B en un 2% (5). Otros estudios recientes en los hospitales de Nueva York mostraron resultados similares (23).

Por lo tanto, es crucial que para la administración de colistín, los regímenes de dosificación presenten la mayor actividad y el mínimo potencial para evitar el desarrollo de resistencia (32).

IV. JUSTIFICACION

Las infecciones intrahospitalarias son una consecuencia de problemas derivados de la baja calidad de atención, la falta de supervisión y de capacitación del personal de salud (2). Esta deficiencia, ocasiona el uso de antimicrobianos de alto costo para tratar este tipo de infecciones, provocando así un incremento en la resistencia de estos microorganismos, principalmente de *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. (30).

Según el Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos para el año 2004, publicó que para Guatemala los microorganismos de origen hospitalario como *Acinetobacter* spp. muestran un porcentaje de resistencia mayor del 40% para la mayoría de antimicrobianos utilizados como tratamiento. También se encontró en *P. aeruginosa* una resistencia del 45% (36).

Por lo tanto, los centros hospitalarios se han visto en la necesidad de buscar antimicrobianos que puedan combatir la multiresistencia bacteriana, intensificando la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Ante la resistencia bacteriana encontrada a nivel nacional es fundamental evaluar el re-establecimiento de ciertos compuestos abandonados, como el colistín, el cual todavía es efectivo en la terapia contra bacilos Gram-negativos multiresistentes (2).

En Guatemala no existen estudios sobre la eficacia de colistín como agente antimicrobiano. El presente trabajo evaluó la sensibilidad de colistín en cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multiresistentes aisladas en el Hospital Roosevelt de Guatemala, con el fin de determinar su eficacia para que sea un elemento de terapia de afecciones bacterianas multiresistentes.

V.OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Determinar la susceptibilidad de colistín en aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes referidos del Hospital Roosevelt de Guatemala al Laboratorio Nacional de Salud (LNS).

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comprobar la multirresistencia de los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. obtenidos del Hospital Roosevelt de Guatemala referidos al Laboratorio Nacional de Salud (LNS), con el método de susceptibilidad antibiótica Difusión en Disco.
2. Determinar el principal tipo de muestra y Unidad de Servicio del Hospital Roosevelt, donde se presenta el mayor número de aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes, con el mayor porcentaje de resistencia a colistín.
3. Comparar los porcentajes de resistencia de las cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con susceptibilidad a colistín.

VI. HIPOTESIS

Debido a que es una investigación de tipo descriptivo transversal no presenta hipótesis.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. UNIVERSO

Se incluyeron las cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes recolectadas en el banco de cepas multirresistentes del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de Guatemala.

B. MUESTRA

Se incluyeron por conveniencia un total de 70 cepas multirresistentes, que corresponden a 48 cepas de *Acinetobacter* spp. y 22 de *Pseudomonas* spp. provenientes del Hospital Roosevelt de Guatemala, preservadas en el banco de cepas multirresistentes del LNS, entre enero y julio del año 2007.

C. METODOLOGIA

Investigación de Tipo Descriptiva Transversal

D. RECURSOS

1. RECURSOS HUMANOS

a. **Tesista:** Laura R. Valenzuela

b. **Asesores:** Lic. Jorge Matheu

2. RECURSOS INSTITUCIONALES

a. Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala (LNS)

3. RECURSOS MATERIALES

a. EQUIPO

- i.** Incubadora 35°C
- ii.** Congelador – 20°C
- iii.** Termómetro °C
- iv.** Turbidímetro
- v.** Pinza
- vi.** Regla
- vii.** Bolsa de hisopos
- viii.** Bolsas de desecho
- ix.** Cajas de Petri
- x.** Tubos de vidrio

b. REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

- i.** Tiras de oxidasa
- ii.** Agar Sangre placa (AS)
- iii.** Tripticasa soya, caldo en tubo
- iv.** Agar Mueller Hinton (MH), placa
- v.** Agar Mac Conkey (MK)
- vi.** Discos de Sensibilidad antibiótica: amikacina (AMK), cefepime (FEP), ceftazidime (CAZ), ciprofoloxacina (CIP), gentamicina (GEN), imipenem (IMP), meropenem (MEM, piperacilina (PIP), piperacilina tazobactam (TZP) y colistín (COL).

E. PROCEDIMIENTO

El procedimiento de la metodología consistió en lo siguiente:

1. Las cepas fueron seleccionadas del banco de cepas multirresistentes del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de Guatemala, las cuales habían sido previamente identificadas con género y especie en el LNS.
2. Éstas se reactivaron sembrando cada cepa en un medio enriquecido (agar sangre) y selectivo (agar Mac Conkey), y se incubaron a 24 hrs. a 35°C.
3. A estas cepas se les confirmó el patrón de resistencia por pruebas de susceptibilidad con el método de difusión con disco, cumpliendo con las normas de la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).
4. Este método consistió en la determinación de la susceptibilidad a los antimicrobianos utilizando la técnica de Kirby Bauer, la cual consistió en la inoculación de una suspensión de la bacteria en un tubo con solución salina 0.85% hasta la obtención de una turbidez del 0.5 de concentración, según la técnica de McFarland, utilizando un turbidímetro (37). Seguidamente se sembró en el agar Mueller Hinton en placa; se le colocaron los siguientes antimicrobianos: AK, FEP, CAZ, CIP, GN, IMP, MEM, PIP y TZP, seguidamente se incubó 24 hrs. a 35°C para determinar la sensibilidad antimicrobiana, cumpliendo con las normas CLSI.
5. A las cepas confirmadas con multirresistencia, se les determinó la sensibilidad a los discos de colistín (10 ug), utilizando el método de Difusión en Disco descrita anteriormente y cumpliendo con las normas antes mencionadas.
6. El análisis descriptivo de los resultados se realizó a partir de frecuencias y porcentajes obtenidos de una base de datos creada en el programa estadístico WHONET 5.4. en el que se analizó la susceptibilidad a colistín y

el porcentaje de resistencia de ambos microorganismos en tablas y gráficas, según el tipo de muestra (secreción, sangre, aspirado traqueal y catéter) y Unidades de Servicio (Pediatria, Unidad de Cuidados Intensivos, Intensivo de Pediatria, Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatria y Medicina de Adultos).

VIII. RESULTADOS

Se analizaron 70 aislamientos de *Acinetobacter* spp. (n=48) y *Pseudomonas* spp. multirresistentes (n=22), las cuales fueron obtenidas de muestras provenientes del Hospital Roosevelt de Guatemala referidas al Laboratorio Nacional de Salud a partir de enero a julio del año 2007. De estas, el 63(90%) de los aislamientos presentaron susceptibilidad a colistín, 5(7%) presentó resistencia y por último un 2(3%) fue intermedio, como se observa en la tabla 1.

TABLA 1 Frecuencia y porcentaje de colistín susceptible en aislamientos de *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. multirresistentes

Microorganismo	Aislamientos n=70		Susceptibilidad de Colistín					
	(n)	%	Resistencia		Intermedio		Susceptibilidad	
			(n)	%	(n)	%	(n)	%
<i>Acinetobacter</i> spp.	48	68.6	4	5.6	1	1.5	43	61.4
<i>Pseudomonas</i> spp.	22	31.4	1	1.4	1	1.5	20	28.6
Total	70	100	5	7	2	3	63	90

Fuente: Datos experimentales

De los 48 aislamientos de *Acinetobacter* spp. se observó que los antimicrobianos que mostraron mayor resistencia fueron imipenem con un 91.7%, piperacilina 89.6% seguido de amikacina con un 83.3% y meropenem mostró 79.2%. Mientras que piperacilina tazobactam 72.9%, cefepime 66.7%, gentamicina 64.6%, ciprofloxacina 60.4% y ceftazidime 52.1%, mostraron una resistencia mayor al 50%, como se evidencia en la tabla 2 (ver anexo A).

De los 22 aislamientos de *Pseudomonas* spp. se observó que el antimicrobiano que mostró mayor resistencia fue imipenem con un 100%. Mientras que gentamicina y meropenem 77.3%, ceftazidime y piperacilina 59.1%, amikacina 54.4% y ciprofloxacina y piperacilina tazobactam 50%, los cuales mostraron una resistencia mayor o igual al 50%. Por último el porcentaje más bajo fue cefepime 40.9%, como se detalla en la tabla 2 (ver anexo B).

Tabla 2. Porcentaje de Resistencia Antimicrobiana en los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp.

Antimicrobiano	Porcentaje de Resistencia (%)	
	<i>Acinetobacter</i> spp. (n=48)	<i>Pseudomonas</i> spp. (n=22)
Amikacina	83.3	54.5
Cefepime	66.7	40.9
Ceftazidime	52.1	59.1
Ciprofloxacina	60.4	50.0
Gentamicina	64.6	77.3
Imipenem	91.7	100.0
Meropenem	79.2	77.3
Piperacilina	89.6	59.1
Piperacilina Tazobactam	72.9	50.0

Fuente: Datos experimentales

En la tabla 3, se visualiza el tipo de muestra donde se obtuvieron aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con resistencia a colistín (n=5), de los cuales 4 aislamientos proceden de muestras de sangre y 1 aislamiento de muestras de secreciones.

Tabla 3. Frecuencia del principal tipo de muestra donde se obtuvieron aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con resistencia a colistín (n=5).

Tipo de muestra	Frecuencia (n=5)
Sangre	4
Secreción	1
Total	5

Fuente: Datos experimentales

En la tabla 4, se visualiza la unidad de servicio con la mayor frecuencia de resistencia a colistín en los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes (n=5), de los cuales 2 aislamientos proceden de la Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría (UCIP), 2 a la Unidad de Cirugía y 1 a la Unidad de Medicina de Adultos (MED).

Tabla 4. Frecuencia de la principal Unidad de Servicio donde se obtuvieron aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con resistencia a colistín (n=5).

Unidad de Servicio	Frecuencia (n=5)
UCIP	2
CIRUGIA	2
MED	1
Total	5

UCIP: Unidad de cuidados intensivos de pediatría,
 CIRUGIA: Unidad de cirugía y MED: Medicina de adultos
 Fuentes: Datos experimentales

En cuanto al 90% de los aislamientos multirresistentes con susceptibilidad a colistín (n=63), *Acinetobacter* spp. (n=43) y *Pseudomonas* spp. (n=20), 95.3% y 60% fueron resistentes para piperacilina respectivamente; para amikacina 83.7% y 55%; cefepime, 65.1% y 40%; ciprofloxacina, 65.1% y 50%; piperacilina tazobactam, 79.1% y 50%, y meropenem con 76.7% y 75% respectivamente. Se observó que *Acinetobacter* spp. muestra mayor porcentaje de resistencia a dichos antimicrobianos que *Pseudomonas* spp., mientras que *Pseudomonas* spp. mostró mayor resistencia con ceftazidime en 60% y 48.8%, en gentamicina con 75% y 60.5% e imipenem con 100% y 97.7% respectivamente. Los resultados del porcentaje de resistencia a estos antimicrobianos se muestran en la tabla 5 (ver anexo C).

Tabla 5. Comparación del porcentaje de Resistencia Antimicrobiana en los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. con susceptibilidad a colistín.

Antimicrobiano	Porcentaje de Resistencia (%)	
	<i>Acinetobacter</i> spp. (n=43)	<i>Pseudomonas</i> spp. (n=20)
Amikacina	83.7	55.0
Cefepime	65.1	40.0
Ceftazidime	48.8	60.0
Ciprofloxacina	65.1	50.0
Gentamicina	60.5	75.0
Imipenem	97.7	100.0
Meropenem	76.7	75.0
Piperacilina	95.3	60.0
Piperacilina Tazobactam	79.1	50.0

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La falta de eficacia en el tratamiento de infecciones intrahospitalarias producidas por *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. multirresistentes, ha inducido la búsqueda de nuevos antimicrobianos a nivel mundial, tal es el caso de colistín, que ha reportado tener eficacia en el tratamiento de éstas infecciones (4, 8). Sin embargo, en Guatemala no existen estudios sobre la eficacia de nuevos agentes antimicrobianos para la terapia contra estas infecciones.

En el presente estudio se analizaron 48 aislamientos de *Acinetobacter* spp. y 22 aislamientos de *Pseudomonas* spp. multirresistentes con la finalidad de determinar su susceptibilidad a colistín provenientes del Hospital Roosevelt de Guatemala. Los resultados obtenidos mostraron que el 90% (63) de los aislamientos de *Acinetobacter* spp. (n=43) y *Pseudomonas* spp. (n=20) multirresistentes mostraron susceptibilidad a colistín como se observa en la tabla 1, lo que concuerda con estudios realizados por Heijden en Brasil (2007) y Maragakis en Estados Unidos (2008). Ambos concluyen que este antimicrobiano es una opción terapéutica contra infecciones intrahospitalarias asociadas a estos microorganismos multirresistentes que limitan seriamente las posibilidades de mejoría clínica y obligan a utilizar costosos antimicrobianos (1).

A pesar que la resistencia a colistín es aún mínima y que no se conocen con exactitud los mecanismos asociados, se cree que la resistencia está relacionada con alteraciones en la membrana externa adquiridas en *Acinetobacter* spp. multirresistente. En *Pseudomonas* spp. los datos sobre la resistencia adquirida son escasos, sin embargo se asocian a cambios en las células de la membrana bacteriana (2, 8, 23).

La terapia antimicrobiana equivocada, conjuntamente con los métodos de resistencia, han provocado una presión adicional para la selección de cepas de *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. con multirresistencia (2). Tal es el caso de la resistencia a imipenem y meropenem, antimicrobianos que se utilizan como última opción terapéutica y que la resistencia a alguno de estos carbapenemes

define a *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. como multirresistentes (7). En este estudio, los 48 aislamientos de *Acinetobacter* spp. mostraron una resistencia a imipenem del 91.7% y para meropenem del 79.2%, mientras que de los 22 aislamientos de *Pseudomonas* spp., imipenem presentó un 100% y meropenem un 77.3%, mostrando resultados similares para ambos antimicrobianos (tabla No. 2). Los mecanismos asociados a esta resistencia pueden ser simultáneos como el cierre de porinas junto con la producción de betalactamasas (metaloenzimas) (15).

Si bien la selección de cepas de *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. multirresistentes, incluyendo la resistencia a carbamenemes, sólo pertenece a un centro hospitalario del país, no deja de ser un problema con un impacto serio en mortalidad y morbilidad; sobre todo de riesgo en otros centros de salud del país.

De los 5 aislamientos resistentes a colistín en las cepas de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. obtenidos en el estudio, 4 procedían de muestras de sangre y 1 de secreciones (tabla 3). Esto debido a que su característica innata de crecer con mayor facilidad en áreas húmedas, conjuntamente con las técnicas invasivas en estados críticos del paciente, incrementan los factores de riesgo para adquirir infecciones en el torrente sanguíneo producidas por estos microorganismos (2, 8).

Los resultados indican que las principales unidades de servicio donde se obtuvo aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con mayor frecuencia de resistencia a colistín fueron la Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría, conjuntamente con la Unidad de Cirugía del Hospital Roosevelt de Guatemala (tabla 4). Esto se debe al estado crítico del paciente, que lo obliga a una estadía prolongada principalmente en áreas de cuidados intensivos. Las estadías prolongadas en estas áreas conllevan procedimientos mecánicos, invasivos, usos de antimicrobianos y procedimientos quirúrgicos, los cuales por su mala realización y utilización, incrementan la vulnerabilidad del paciente para adquirir infecciones por estos microorganismos. Los factores que se asocian son la contaminación cruzada de paciente a paciente además de la contaminación en soluciones antisépticas, de limpieza, equipos de ventilación, colchones, cojines y equipamientos entre otros (2, 11).

Dado que el uso excesivo de antimicrobianos de amplio espectro es la principal causa de la aparición de brotes de infección intrahospitalaria con alta morbilidad y mortalidad; obliga al control de estas infecciones para limitar los brotes epidémicos, por lo que se debe conocer el porcentaje de resistencia, mecanismos de las mismas así como nuevas alternativas (37).

Del 90% (63) de aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con susceptibilidad a colistín, *Acinetobacter* spp. mostró un porcentaje de resistencia más elevado que *Pseudomonas* spp., como se observó con amikacina, piperacilina, piperacilina tazobactam, cefepime, ciprofloxacina y meropenem, mientras que *Pseudomonas* spp. sólo mostró una resistencia mayor frente a ceftazidime, gentamicina e imipenem. Estos datos concuerdan con el Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos para el año 2004, la cual publicó que *Acinetobacter* spp. mostraba un porcentaje de resistencia más elevado que para *P. aeruginosa* (36).

En el estudio se observó además que las cefalosporinas de tercera generación (ceftazidime) y cuarta generación (cefepime) presentaron un porcentaje de resistencia más bajo, menor al 50% en *Pseudomonas* spp. en comparación a los demás grupos de antimicrobianos; mientras que en *Acinetobacter* spp. la resistencia más baja se observó en ceftazidime y gentamicina con un 60% (tabla 5). Es debido a que *Acinetobacter* spp. puede desarrollar más fácilmente resistencia por la adquisición de material genético de otras bacterias por medio de plásmidos y además tiene la capacidad de reducir los poros de la membrana al tener contacto con antimicrobianos (2, 9).

A pesar de esto, ambas cepas mostraron un porcentaje de resistencia similar a imipenem con más del 95% y meropenem con un 75% (tabla 5), esto se debe a que pueden adquirir también mecanismos de resistencia como las betalactamasas comunes, carbapenemasas, betalactamasas de espectro extendido (ESBL), las cuales con otros mecanismos de resistencia juegan el rol más importante en la resistencia intrínseca y adquirida principalmente en *Pseudomonas* spp. (19,38). Debido a que los porcentajes de resistencia se han incrementado en el transcurso de los años, se

recomienda al Hospital Roosevelt de Guatemala la identificación de factores de riesgo para desarrollar medidas de prevención y así evitar la colonización e infección en pacientes de las diferentes unidades de servicio. Además se sugiere evaluar los protocolos de tratamiento antimicrobianos con el fin de evitar la resistencia adquirida por el mal uso de los antimicrobianos y contaminación cruzada, así como referir las cepas multirresistentes al Laboratorio Nacional de Salud para su debida confirmación y estudio de mecanismos de resistencia.

Con la obtención de estos datos, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social a través del Laboratorio Nacional de Salud, podrá evaluar la reestructuración de los protocolos de tratamiento antimicrobiano con el fin de incluir a colistín como una opción para el tratamiento de infecciones producidas por *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes, con las recomendaciones y actualizaciones necesarias para su debida utilización en todos los hospitales del país.

X. CONCLUSIONES

1. El 90% de los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. con multirresistencia antimicrobiana presentaron susceptibilidad a colistín.
2. En las muestras de sangre se obtuvo el mayor porcentaje de aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. con resistencia a colistín.
3. La Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría y la Unidad de Cirugía presentaron el mayor porcentaje de resistencia a colistín en *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes.
4. *Acinetobacter* spp. multirresistente presentó mayor porcentaje de resistencia antimicrobiana en comparación con *Pseudomonas* spp. multirresistentes en los aislamientos susceptibles a colistín.
5. El uso excesivo de los antimicrobianos y la contaminación cruzada se reflejaron en el incremento de los porcentajes de resistencia en los aislamientos de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. susceptibles a colistín en comparación con lo reportado en la literatura.

XI. RECOMENDACIONES

- 1.** Dar seguimiento al sistema de vigilancia antimicrobiana por parte del Hospital Roosevelt de Guatemala, que permita la detección y confirmación de mecanismos de resistencia de las cepas multirresistentes.
- 2.** Continuar con investigaciones relacionadas a la susceptibilidad de colistín en los diferentes microorganismos multirresistentes aislados de los diferentes hospitales públicos y privados.
- 3.** Continuar con investigaciones relacionadas con nuevas alternativas terapéuticas que puedan combatir las infecciones intrahospitalarias producidas por microorganismos multirresistentes evitando los brotes epidémicos.
- 4.** Restablecer el sistema de vigilancia antimicrobiana en todos los hospitales del país que investiga sobre los diferentes patrones de resistencia y los mecanismos asociados a cepas multirresistentes originadas en los diferentes hospitales del país.

XII. REFERENCIAS

1. Fica C, Céspedes I. Colistín en infecciones nosocomiales por bacilos Gram-negativos pan-resistentes, Rev Chil Infect 2007; 24 (5): 360-367
2. Diomedi A. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. Revista Chile Infectología 2005; 22 (4): 298-320
3. Pagniez G, Radice M. Prevalencia de metalo- β -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapanemes en un Hospital Universitario de Buenos Aires, Rev Argent Microbiol 2006; 38 (1) 15-23
4. Muñoz J, García J. COLIMESTATO: Un Viejo antimicrobiano recuperado por nuevas evidencias científicas Rev Española de Quimioterapia 2005; 18 (1): 11-13
5. Heijden I *et al.* Comparison of disc diffusion, Etest and broth microdilution for testing susceptibility of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* to polymyxins Ann Clin Microbiol Antimicrob 2007; 6:8
6. Munoz-Price S, Weinstein A. *Acinetobacter* Infection. N Engl J Med 2008; 358:1271-81
7. Maragakis L, Perl M. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. Baltimore, Estados Unidos, Clinical Infectious Diseases 2008; 46:1254-63
8. Montefour K, Frieden F, Hurst S. *Acinetobacter baumannii*: An Emerging Multidrug-Resistant Pathogen in Critical Care. Criticalcare nurse Feb 2008; 2: 1
9. Suárez J, Kattan J. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control, Acta Medicina Colombia Sep 2007; 32(3): 1-3

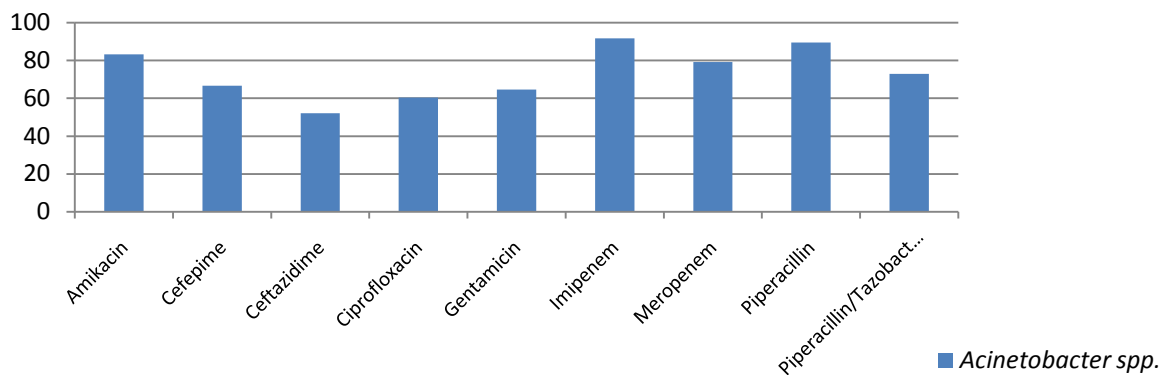
10. Perez F, Hujer M. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Oct 2007; 51 (10): 3471–3484
11. Wilks M *et al.* Control of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*—calcoaceticus colonization and infection in an intensive care unit (ICU) without closing the ICU or placing patients in isolation. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:654–8
12. Fournier P, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42:692–9
13. Zanetti G *et al.* Importation of *Acinetobacter baumannii* into a burn unit: a recurrent outbreak of infection associated with widespread environmental contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28:723–5
14. Brito A *et al.* Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a la gentamicina, tobramicina amikacina en Venezuela *Rev Sociedad Venezolana de Microbiología Caracas* Ene 2000; 20:1
15. Driscoll J, Brody S, Kollef M. Epidemiología, Mecanismos de Infección, Virulencia, Resistencia y Tratamiento de las Infecciones por *P. aeruginosa*. *Drugs* 2007; 67(3):351-368
16. Soberón G. *Pseudomonas aeruginosa* *Rev Clin Microbiología Méx* Ene 2004; 6:1
17. Gamero A, García A. Sensibilidad y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos *Rev Esp Quimioterap, España* 2007; 20(2): 230-233
18. Lode H, Stahlmann R. Colistina (Polimixina E) y polimixina B aumenta su importancia como antibiótico de Reserva. *Revista Zeitschrift für Chemotherapie Steinplatz Berlin* 2005; 1: 1-3
19. García P. Resistencia bacteriana en Chile *Rev Chil Infect* 2003; 20(1): 11- 23

20. Richet H, Fournier P. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: A major Threat Worldwide. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:645-646
21. Cornaglia G, Akova M, Amicosante G. Metallo- β -lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues *International Journal of Antimicrobial Agents* 2007; 29: 380–388
22. Berlana D *et al.* Use of colistín in the treatment of multiple-drug-resistant gram-negative infections *Am J Health-Syst Pharm.* 2005; 62:39-47
23. Sosa N. Are there any new antibiotics. *Acta Med Colomb Bogotá* Sept 2007; 32(3)
24. Linden P, Paterson D. Parenteral and inhaled colistin for treatment of ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis* 2006; 43(2):89-94
25. Montero J. Tratamiento antibiótico de las infecciones graves por *Acinetobacter* spp. *Revista de Medicina Intensiva* 2004; 6:1
26. Rodríguez C, Pautaso J. Sensibilidad a colistín: evaluación de los puntos de corte disponibles en el antibiograma por difusión *Rev Argent Microbiol* 2004; 36(3):125-129
27. Falagas M, Bliziotis I. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? *International Journal of Antimicrobial Agents* 2007; 29:630–636
28. Falagas M, Kasiakou S. Colistín: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Boston, Massachusetts Clinical Infectious Diseases* 2005; 40:1333–41
29. Li J, Turnidge J, Milne R. In Vitro Pharmacodynamic Properties of Colistin and Colistin Methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Patients with Cystic Fibrosis *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Mar 2001; 45(3):781–785

30. Li J *et al.* Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003, 52 (6):987–992
31. Bergen P *et al.* Colistin Methanesulfonate Is an Inactive Prodrug of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, June 2006; 50 (6):1953–1958
32. Li J *et al.* Heteroresistance to Colistin in Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Sept 2006; 50(9):2946–2950
33. Hamer D. Treatment of Nosocomial Pneumonia and Tracheobronchitis Caused by Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* with Aerosolized Colistin Boston, Massachusetts *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:328–330
34. Falagas M *et al.* The Use of Intravenous and Aerosolized Polymyxins for the Treatment of Infections in Critically Ill Patients: A Review of the Recent Literature. *Clinical Medicine & Research* 2006; 4(2): 138-146
35. Yen T, Yong L. Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006; 58, 864–867
36. Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos -2004- Organización Panamericana de la Salud, Brasil 2005, OPS/HDM/CD/A/408/06
37. Gamazo C *et al.* Manual de Practicas de Microbiología. 3ª. Edición Elsevier España, 2005. pp 231
38. Gobernado M. Beta-lactamasas de espectro extendido. *Rev Esp Quimioterapia*, 2005; 18:115-117.

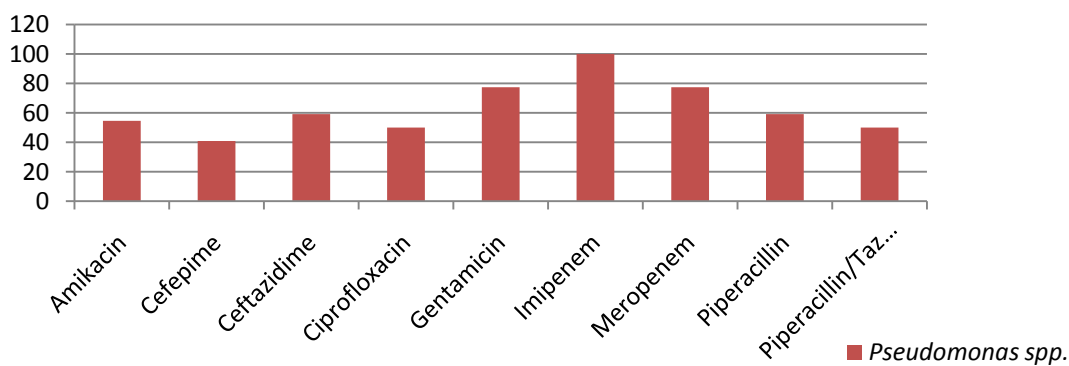
XIII. ANEXOS

ANEXO A. Porcentaje de Resistencia en el total de aislamientos de *Acinetobacter* spp.



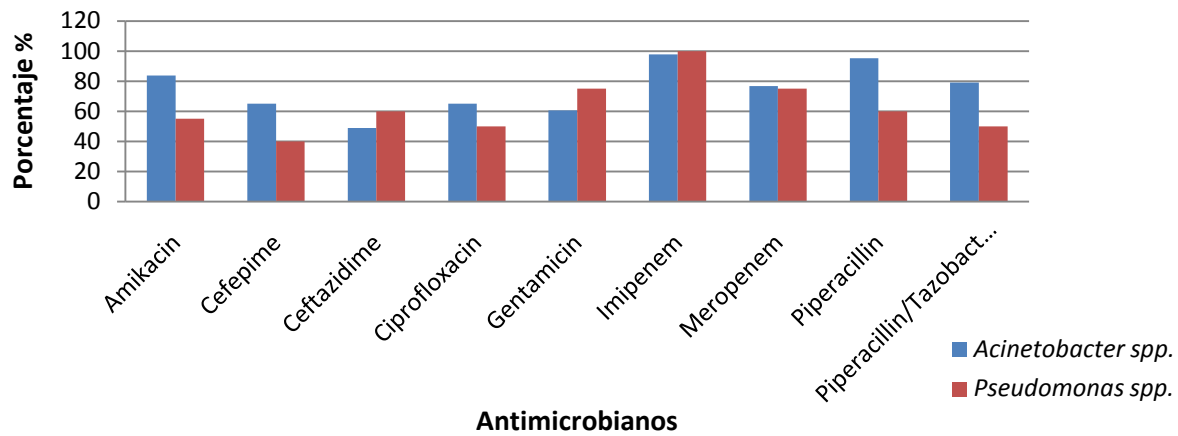
Fuente: Datos experimentales

ANEXO B. Porcentaje de Resistencia en el total de aislamientos de *Pseudomonas* spp.



Fuente: Datos experimentales

ANEXO C. Comparación de los porcentajes de resistencia de *Acinetobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. multirresistentes con susceptibilidad a colistín.



Fuentes: Datos experimentales

Laura Rosalina Valenzuela Acevedo
Autora

Licenciado Jorge Matheu
Asesor

Lic. Martín Gil
Revisor

Dr. Roberto Flores
Revisor

MSc. Vivian Matta
Directora

Lic. Óscar Cobar Pinto, Ph.D.
Decano

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. María Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V

DEDICATORIA

A Dios

Por darme la vida, la inteligencia, por ser mi fortaleza y mi refugio durante toda mi vida y ante todo por darme la oportunidad de culminar mis y poder compartirlo con mi familia y amigos. Gracias Diosito.

A mis padres

Jorge y Rosalina, por su amor, su cuidado, entrega y esfuerzo. Gracias por ser un ejemplo para mí, con todo mi amor les dedico este logro que es suyo.

A mis hermanos

María Fernanda, Heinz y María del Carmen por ser mi motivación para seguir adelante. Los quiero mucho.

A mis abuelitas

Betty gracias por sus oraciones. A mi abuelita Esther gracias por su amor, su ejemplo, sus consejos y sus oraciones. Gracias abue te quiero mucho.

A mis tios

Mariether, Marilu, Sealtiel, Dalila y en especial a mi tía Maricarmen gracias por todo su amor y apoyo incondicional. A mi tío Victor, mi tía Victoria y familia gracias por su apoyo durante toda mi carrera.

A mis primos

A todos los quiero mucho, gracias por su comprensión, apoyo y su cariño. En especial a Hary.

A mis amigos

Carmen, Poly, Ericka, María José, Oscar, Maria Alejandra, Hilda, Claudia, Lilian, Marilyn, Elizabeth. Patty, Luz y Gloria gracias por su amistad sincera, por ser en algún momento esa fuerza para seguir adelante. Y en especial a Julio Madrazo, su familia y amigos gracias por brindarme su apoyo, estoy infinitamente agradecida. Los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

Universidad de San Carlos de Guatemala

Por permitirme estudiar y formarme como profesional en esta magnífica casa de estudios.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Por todos los conocimientos y experiencias que me brindó para poder llegar a ser profesional.

Escuela de Química Biológica

Por permitirme pertenecer a esta escuela y formarme como profesional.

A mi asesor

Lic. Jorge Matheu, por su valioso tiempo y por transmitirme su experiencia y conocimiento. Muchas gracias.

A mis revisores

Lic. Martin Gil y Dr. Roberto Flores por brindarme su ayuda, sus consejos y conocimiento. Gracias.

Laboratorio Nacional de Salud

En especial al Área de Diagnóstico por permitirme realizar esta investigación.

A mis catedráticos y compañeros de promoción

Por sus conocimientos y experiencias, por su paciencia y apoyo. A todos muchas gracias.