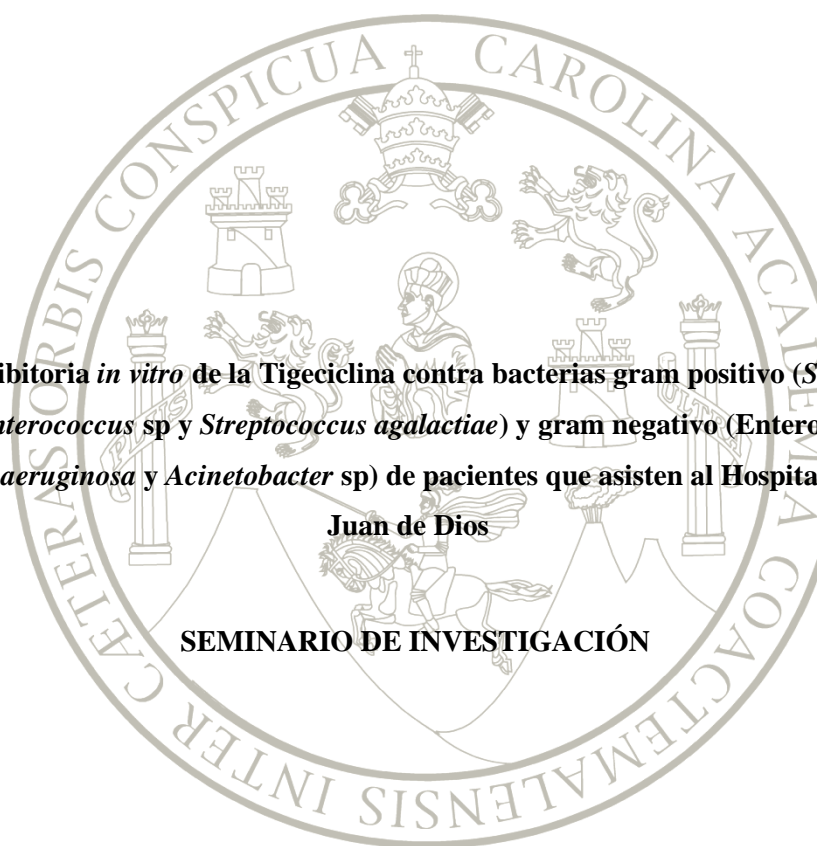


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Actividad inhibitoria *in vitro* de la Tigeciclina contra bacterias gram positivo (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp y *Streptococcus agalactiae*) y gram negativo (*Enterobacterias*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp) de pacientes que asisten al Hospital General San Juan de Dios

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR:

Lucía Soledad Sánchez Recinos

Saulo José Luis Pérez Juárez

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, Noviembre de 2014

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M. A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Fayver Manuel de León Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela Córdova Audón	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por darnos la fortaleza y sabiduría para culminar una de las metas de nuestra vida profesional.

A NUESTROS PADRES:

Por su amor incondicional, apoyo y comprensión que nos han brindado desde siempre

A UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, en especial a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Por brindarnos los conocimientos y enseñanzas necesarias para nuestra formación académica.

A MSc. MARIA EUGENIA PAREDES, MSc. OSBERTH MORALES, MSc. Martin Gil, Lic. CARLOS PEREZ, Dr. LUIS PATZÁN y Lic. FEDERICO NAVE.

Por darnos la orientación y asesoría para el desarrollo de la investigación.

A EL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA Y AL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS

Por permitir y proporcionar la ayuda necesaria para el desarrollo de la investigación.

DEDICATORIA

Dedicamos ésta investigación a todas las personas que nos apoyaron durante ésta investigación. A nuestra familia, amigos, colegas que nos apoyaron en nuestra carrera. Muy especialmente a la universidad San Carlos de Guatemala, por abrirnos sus puertas y permitirnos convertirnos en profesionales de bien.

INDICE

Contenido	Página
I. Ámbito de la Investigación	1
II. Resumen	2
III. Antecedentes.....	4
A. Generalidades	4
B. Resistencia bacteriana	5
C. Historia	6
D. Microorganismos Patógenos.....	7
E. Nuevas terapias contra microorganismos multirresistentes	20
F. Generalidades de la tetraciclinas	21
G. Resistencia	25
H. Prueba de CIM (Concentración Mínima Inhibitoria) como un método de estudio de sensibilidad antibiótica	27
I. Estudios en Guatemala	29
IV. Justificación	33
V. Objetivos.....	34
VI. Materiales y Métodos.....	35
A. Universo	35
B. Muestra	35
C. Recursos Humanos.....	35
D. Recursos Institucionales	36
E. Materiales.....	36
F. Procedimientos.....	39
G. Diseño Estadístico	42
VII. Resultados	44

VIII. Discusión de Resultados.....	56
IX. Conclusiones	60
X. Recomendaciones	61
XI. Referencias Bibliográficas.....	62
XII. Anexos	71

I. ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN

El Hospital General San Juan de Dios (HGSDD) es un centro asistencial público que atiende a personas de la ciudad capital de Guatemala y el resto del país, así como aquellas que refieren de los hospitales departamentales y regionales. Además, cuenta con aproximadamente 3 mil empleados que constituyen una cantidad importante de trabajadores (Fong, 2013).

El HGSDD es un lugar idóneo para empezar a realizar investigaciones sobre actividades inhibitorias de nuevos antibióticos, debido a la presencia de pacientes provenientes de distintos lugares del país. Por lo anterior, existe la posibilidad de obtener una amplia gama de géneros bacterianos que presentan variedad de perfiles de resistencia, lo que permite tener una perspectiva más completa del comportamiento de los nuevos antibióticos en el tratamiento de infecciones.

En esta investigación se propuso determinar la actividad *in vitro* de la tigeciclina en nueve especies de bacterias gram positivo y gram negativo aisladas de pacientes adultos que asisten al Hospital General San Juan de Dios. Para realizar dicha determinación, se aislaron cepas de cultivos de pacientes a las que se les realizó un antibiograma, utilizando la técnica de Concentración Mínima Inhibitoria (CIM). Luego se comparó cuantitativamente la actividad inhibitoria de la tigeciclina con el resto de antibióticos ensayados, para definir los géneros bacterianos que son más susceptibles a éste antibiótico.

II. RESUMEN

La Tigeciclina es un antimicrobiano que pertenece a la familia de las gliciliclinas, cuyo mecanismo de acción es similar al de las tetraciclinas, ya que inhibe la traducción de las proteínas al unirse reversiblemente a los ribosomas bacterianos, lo que impide la incorporación de aminoácidos y la posterior elongación de las cadenas peptídicas. Se unen a los ribosomas con una efectividad cinco veces mayor que las tetraciclinas, lo cual influye en la capacidad de superar las resistencias a las tetraciclinas basadas en la protección del ribosoma.

El propósito de este estudio fue determinar la actividad inhibitoria *in vitro* de la tigeciclina sobre nueve especies bacterianas gram positivo y gram negativo, que son los principales agentes causales de enfermedades infecciosas en el Hospital General San Juan de Dios, las cuales fueron aisladas de pacientes adultos que asisten a esta institución.

Para la evaluación de la actividad inhibitoria *in vitro* se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria, CIM₅₀ y CIM₉₀ para cada especie bacteriana y se comparó con la actividad de otros antibióticos de amplio espectro. Además, se compararon los porcentajes de susceptibilidad de la tigeciclina para determinar contra qué microorganismos es más efectiva. Como resultado se obtuvo que *Staphylococcus aureus* presentó un 90.7% de susceptibilidad a tigeciclina con una CIM₉₀ de 0.5 mcg/ml, *Enterococcus* sp. y *S. agalactiae* un 100% de susceptibilidad con una CIM₉₀ de 4 mcg/ml y 0.25 mcg/ml, respectivamente. En cuanto a bacterias gram negativo se obtuvo que *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Klebsiella pneumoniae* y *Serratia marcescens* presentaron un porcentaje de susceptibilidad a tigeciclina de 60-75% con una CIM₉₀ de 2 mcg/ml. En bacterias no fermentadoras como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* se obtuvo una CIM₅₀ y CIM₉₀ de 2 y 16 mcg/ml respectivamente. La tigeciclina presentó una mayor actividad que las penicilinas, cefalosporinas y quinolonas ensayadas, tanto para bacterias gram positivo como para bacterias gram negativo, mientras que fue igual o menos activa

que meropenem, vancomicina y linezolid para bacterias gram positivo; así como meropenem, ampicilina y piperacilina/tazobactam para las bacterias gram negativo.

Con estos resultados se establecen las bases para futuros estudios sobre la actividad inhibitoria de la tigeciclina, por lo que se recomienda evaluar dicho antibiótico en bacterias aisladas de otros centros asistenciales, así como en bacterias que presenten mecanismos de multirresistencia.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades

Dos descubrimientos importantes señalaron el comienzo de una nueva era en la quimioterapia y revolucionaron el tratamiento de las enfermedades infecciosas: 1) En 1935, los efectos curativos del colorante Rojo de Prontosil en las infecciones por estreptococos, fue el precursor de las sulfonamidas y 2) El inicio de la antibioticoterapia con el hallazgo de la penicilina y su posterior desarrollo. Ésta última fue descubierta por Fleming en 1929, y, en 1940 Florey, Chain y colaboradores demostraron y publicaron un informe acerca de su enorme potencial y la posibilidad de su extracción de los sobrenadantes del cultivo del hongo *Penicillium notatum* (Seija y Vignoli, 2008).

Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico que ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica, actúan en bajas concentraciones con toxicidad selectiva y con mínima toxicidad para las células del organismo humano. De acuerdo con la interacción microorganismo-antibiótico, estos fármacos pueden dividirse en: a) bactericidas, cuya acción es letal, ya que llevan a la lisis bacteriana y b) bacteriostática, las concentraciones que alcanza en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana pero sin llegar a destruir las células. De hecho cuando se retira el antibiótico, el microorganismo se puede multiplicar de nuevo (Seija y Vignoli, 2008).

El conocimiento actual sobre los mecanismos de replicación de la bacteria y sobre los mecanismos de resistencia, hace esperar que cada vez más los nuevos antimicrobianos sean sustancias puramente sintéticas con gran especificidad por un sitio de acción previamente elegido y con la capacidad de evadir la inactivación por los mecanismos de resistencia antibiótica (Seija y Vignoli, 2008).

B. Resistencia bacteriana

En general, cuando los pacientes hospitalizados tienen una infección severa, se realizan cultivos y antibiogramas para determinar el tratamiento adecuado, aunque la mayoría de las veces, la terapia con antibióticos de amplio espectro se inicia antes de que el resultado del laboratorio esté disponible. La elección para la terapia inicial es crucial y, si esta es inadecuada, puede conllevar a consecuencias adversas para el paciente (Noskin, 2005).

La resistencia a los antibióticos actualmente disponibles aumenta a un paso alarmante. Al mismo tiempo, el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos para tratar infecciones bacterianas serias está en disminución (Pankey, 2005).

Alarmantemente, la magnitud de la resistencia antibiótica encontrada en patógenos bacterianos aislados de la comunidad, se ha vuelto similar a los reportados en estudios hospitalarios (Pankey, 2005).

El cambio de los patrones entre la resistencia antimicrobiana de bacterias que comúnmente causan infecciones serias, presentan dificultades para los clínicos, ya que a menudo requieren del uso de agentes nuevos y de amplio espectro, especialmente cuando son prescritos para el tratamiento inicial o empírico en pacientes gravemente enfermos (Noskin, 2005).

La resistencia puede ser natural o adquirida. La adquirida se produce por evolución vertical (mutaciones espontáneas en el cromosoma que son transmitidos a la descendencia) u horizontal (transmisión de genes de resistencia por conjugación, transducción y transformación). La rapidez de desarrollo de las bacterias, su elevada concentración en el ambiente y los procesos genéticos determinan la posibilidad de adición de mecanismos de resistencia con facilidad (Gobernado, 2006).

En la actualidad hay más de veinte especies bacterianas habituales en la población, cuya resistencia tiene un efecto negativo en la salud humana en términos

de morbilidad, mortalidad y repercusión económica. Son de especial preocupación *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii* (Gobernado, 2006).

Específicamente, *S. aureus* meticilino resistente (MRSA), enterococos vancomicina-resistente, *S. pneumoniae* penicilino-resistente y bacterias gram negativo multi-drogo-resistentes que contienen beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), encontradas comúnmente en hospitales, han limitado severamente el número de agentes antimicrobianos disponibles (Pankey, 2005).

C. Historia

En 1956 se introdujo la meticilina para tratamiento de infecciones por *S. aureus*. Al poco tiempo de su lanzamiento se detectaron cepas resistentes que se extendieron de forma rápida por Europa y Estados Unidos. Para el tratamiento de estas cepas quedó el recurso de los glicopéptidos, pero en 1996 comenzaron a aparecer cepas con sensibilidad intermedia a la vancomicina (VISA) y a partir de 2002, con resistencia total a la vancomicina (VRSA). Algunas de estas cepas ya no son exclusivas de las infecciones hospitalarias, si no que también lo son de la comunidad, asociándose a mayor mortalidad en la población (Gobernado, 2006).

Las primeras formas de resistencia de *S. pneumoniae* a la penicilina empezaron a detectarse en Sudáfrica en el año 1967. Desde entonces han pasado a ser un problema mundial, ya que los genes que codifican esta resistencia son fácilmente difundibles de manera horizontal de unos países a otros, incluso entre continentes (Gobernado, 2006).

Las tetraciclinas fueron introducidas en la práctica clínica por primera vez en la década de 1940, luego de su descubrimiento; exhibían un amplio rango de actividad contra bacterias gram positivo y gram negativo. Para el año 1953, la primera bacteria resistente a tetraciclina fue aislada y desde entonces, la resistencia ha incrementado

substantialmente, de manera que ahora ocurre en un número significativo de bacterias (Pankey, 2005).

El amplio uso de la vancomicina como profiláctico hizo que aparecieran cepas de enterococos resistentes a la vancomicina y la teicoplanina (Gobernado, 2006).

El Programa de Vigilancia de Resistencia Bacteriana SENTRY, ha publicado datos de susceptibilidad y resistencia de alrededor de 20,000 aislamientos clínicos provenientes de 6 países de Latinoamérica (Brasil, Argentina, Chile, Colombia, México, y Uruguay) que datan de entre 1997 y 2001. Los principales problemas de resistencia comunicados fueron en bacilos gram negativo no fermentadores, que fueron resistentes a múltiples drogas, entre ellas especies de *Acinetobacter* y *P. aeruginosa*, enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y *S. aureus* resistente a Meticilina (Curcio e Istúriz, 2006).

D. Microorganismos patógenos

1. Enterobacterias

Las enterobacterias constituyen una amplia familia de bacilos gram negativo, aerobios y anaerobios facultativos, relacionados por sus propiedades bioquímicas y genómicas, algunos de cuyos miembros son huéspedes habituales del tubo digestivo del hombre y de los animales (Koneman, et al., 2008).

Con relación con su patogenicidad, puede distinguirse un grupo reducido de especies que se consideran patógenos estrictos (capaces de producir cuadros patológicos en huéspedes). La gran mayoría se comportan como patógenos potenciales (capaces de expresar su acción patógena sólo cuando las condiciones ecológicas del huésped se encuentran modificadas). En este sentido, las enterobacterias se cuentan como el origen de gran número de infecciones oportunistas, y junto con los bacilos gram negativo no fermentadores, constituyen la causa más importante de infecciones hospitalarias (Brooks, Botel y Morse, 2005).

Los microorganismos gram negativo son la causa más importante de infecciones sanguíneas, particularmente cuando la fuente de la infección son las vías urinarias, respiratorias o gastrointestinales (Rodríguez-Baño, et al., 2010).

a. *Escherichia coli*

Son bacterias gram negativo que se encuentra principalmente en el tracto digestivo como comensales, pero también se ha relacionado con varias enfermedades intestinales y extra-intestinales. La bacteremia ocasionada por *E. coli* representa un importante problemas endémico, ya que involucra la pérdida de cientos de miles de vidas y el gasto de cantidades de dinero cada año en todo el mundo (Lefort, et al., 2011)

La producción de Beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) es una de las mayores fuentes de resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en enterobacterias. En años recientes, la cantidad de enterobacterias productoras de BLEE, particularmente *E. coli*, ha aumentado en varios países. Se han descrito brotes de *E. coli* productoras de BLEE y la proporción de las mismas está aumentando rápidamente tanto en infecciones nosocomiales como en las adquiridas en la comunidad (Oteo, et al., 2006).

Las BLEE le confieren resistencia a penicilinas y cefalosporinas y se asocian frecuentemente con la resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y trimetoprim sulfametoxazol. Los microorganismos productores de BLEE frecuentemente son multi-drogo-resistentes (Rodríguez-Baño, et al., 2010).

b. *Klebsiella* spp.

El género *Klebsiella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Recibió su nombre en honor al patólogo alemán Theodor Albrecht Edwin Klebs. Este género comprende bacilos gram negativo, oxidasa negativo e inmóviles. Las especies más conocidas son *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. Las bacterias de este género son una de las principales causas de infecciones oportunistas nosocomiales, así como neumonías, bacteriemias, meningitis, infecciones del tracto urinario, enteritis severas e infecciones de tejidos blandos como en los casos de uveítis anterior aguda, peritonitis y peritonitis bacteriana espontánea, entre otros (Barrientos, Ruy, Solano y Vasquez-López, 2010).

La permanencia de *K. pneumoniae* en el ambiente hospitalario se debe a diferentes propiedades y características de esta bacteria, entre las que se encuentran la capacidad de resistir a la desecación del medio y sobrevivir en la piel debido a su cápsula hidrófila. Dicha cápsula la protege además de la fagocitosis por polimorfonucleares y macrófagos, así como de diversos factores bactericidas del hospedero (Echeverri, Lina y Catano, 2010).

Los principales reservorios que influyen en su transmisión son el tracto gastrointestinal y las manos del personal de los hospitales. El género *Klebsiella* tiene una amplia distribución en la naturaleza (agua potable, residual y de fábricas textiles, vegetales, suelos, etc.), de lo que se deriva que la especie *K. pneumoniae* sea un huésped habitual saprófito del hombre y los animales. Forman parte del 40–80% de la microbiota intestinal, sobre todo en el intestino grueso y en ocasiones también de la piel (Alcama, 2000). Por su habilidad para difundirse rápidamente en el ambiente hospitalario, esta bacteria tiende a causar brotes nosocomiales (Lincopan, McCulloch & Reinert, 2005).

El 95% de los aislamientos clínicos de *Klebsiella*, lo constituye *K. pneumoniae* mientras que *K. oxytoca* constituye el 5% restante. Ambos microorganismos causan

enteritis grave en infantes, neumonía, septicemia, meningitis, infecciones en heridas, peritonitis y más frecuentemente infecciones en las vías urinarias. El período de incubación en ambos microorganismos oscila entre 6–36 horas, dependiendo de la dosis infectiva (Alcamo, 2000).

Como patógeno oportunista, *Klebsiella* spp., ataca a individuos inmunocomprometidos que se encuentran hospitalizados y sufren de severas enfermedades crónicas como diabetes mellitus u obstrucción pulmonar crónica. La mayoría de infecciones nosocomiales por *Klebsiella*, son causadas por *K. pneumoniae* (Lincopan, et al., 2005).

Es importante señalar que la tasa de colonización se incrementa hasta tres veces en el ambiente hospitalario, en forma directamente proporcional a la duración de la estancia, especialmente, a la presión selectiva que ejercen los antibióticos sobre la microbiota comensal. La alta frecuencia de colonización intrahospitalaria definitivamente está asociada con el uso de antibióticos de amplio espectro, más que con factores asociados al cuidado de la salud. La alta resistencia a los antibióticos beta lactámicos, se debe principalmente a la producción de beta-lactamasas, entre las cuales las de mayor interés son las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas (Echeverri, et al., 2010).

El mayor problema con respecto a estas infecciones es que las cepas productoras de BLEE en aislamientos de *Klebsiella* son comunes en países de América Latina (Lincopan, et al., 2005).

c. *Serratia marcescens*

S. marcescens es un bacilo gram negativo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y era considerado un microorganismo no patógeno saprofítico del agua hasta finales del siglo veinte. La patogenicidad en los humanos fue descubierta en 1913, sin embargo la prevalencia de *S. marcescens* en enfermedades humanas

fue subestimada hasta el primer brote nosocomial ocurrido en 1951. Desde 1960 se ha reportado un aumento de infecciones causadas por esta bacteria (Su, et al., 2003).

Puede encontrarse en la microbiota intestinal del hombre y animales, en el ambiente, en reservorios pobres en nutrientes como el agua potable, cañerías y llaves, así como también en insumos hospitalarios como jabones, antisépticos, etc. (Dossi, et al., 2002).

La adquisición es mayoritariamente nosocomial, especialmente en unidades de cuidados intensivos. Las secreciones respiratorias, heridas y orina son los sitios frecuentes de colonización (Dossi, et al., 2002).

S. marcescens ahora se reconoce como un prominente patógeno oportunista que causa una cantidad significativa de brotes nosocomiales, como infecciones de tracto urinario, infecciones respiratorias, bacteremias, conjuntivitis, endocarditis, meningitis e infecciones en heridas (Su, et al., 2003).

Existen reportes de brotes epidémicos de *S. marcescens* que señalan como potenciales fuentes de transmisión los equipos de ventilación mecánica, desinfectantes, jabones y manos (Dossi, et al., 2002).

En años recientes, han emergido brotes asociados a cepas de *S. marcescens* con BLEE o resistentes a imipenem y se consideran como un problema importante en el control de infecciones (Su, et al., 2003).

d. *Enterobacter* spp.

El género *Enterobacter* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y puede distinguirse de *Klebsiella* por su movilidad, así como porque descarboxila la ornitina y es ureasa negativo (Sanders & Sanders, 1997).

Existen 14 especies de *Enterobacter* spp., aunque no todos están implicados como causa de enfermedades en humanos. Entre las especies patógenas, las mayormente aisladas son *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. agglomerans* y *E. sakazakii*. Por el contrario, *E. taylorae*, *E. gergoviae*, *E. asburiae* y *E. amnigenus* raramente se aíslan de especímenes clínicos (Sanders & Sanders, 1997).

Enterobacter spp., se están convirtiendo en patógenos nosocomiales de gran importancia. En 1970 se estableció que podía ser un patógeno nosocomial, aunque los aislamientos eran menos comunes que los de *E. coli* y *Klebsiella* spp. (Sanders & Sanders, 1997).

E. cloacae pueden producir infecciones en víctimas con quemaduras, pacientes inmunocomprometidos o con enfermedades malignas. El sistema urinario y pulmonar es el que más se coloniza en este tipo de pacientes (Muslin, Jensen, Schilling, Ashdown & Tyler, 2010).

Algunos brotes de *E. cloacae* se han ligado a la contaminación de fluidos intravenosos, soluciones parenterales, alimentos enterales, formulas infantiles, soluciones cardioplégicas y productos sanguíneos. Otros reservorios potenciales para la bacteremia nosocomial son las soluciones líquidas de heparina utilizadas para irrigar ciertos equipos extravasculares continuamente. Menos común ha sido el surgimiento de algunos brotes ligados a la colonización de equipos como catéteres (Muslin, et al., 2010).

Se ha comprobado que en *E. cloacae* las BLEE no son muy comunes. Por el contrario, en esta especie el mecanismo más importante de resistencia a cefalosporinas de amplio espectro es la sobreproducción de AmpC cromosomal. Sin embargo, las *E. cloacae* productoras de BLEE están aumentando (Manzur, Tubau, Pujol, Catayud, Peña, Sora & Gudiol, 2007). Adicionalmente, la mayoría de *Enterobacter* spp., son resistentes a cefalotinas y cefoxitin mientras que *Klebsiella* spp., usualmente son susceptibles a estos agentes (Sanders & Sanders, 1997).

2. *Acinetobacter* spp.

Acinetobacter es un género constituido por cocobacilos gram negativo, oxidasa negativo, no fermentadores, no esporuladores y aerobios estrictos. Se encuentra ampliamente disperso en la naturaleza, mayoritariamente en agua y suelo. Se ha aislado en personas sanas a partir de la piel, faringe y varias otras localizaciones. Actualmente han emergido como patógenos altamente problemáticos asociados a hospitales (Adams, Paterson & Peleg, 2007).

Las especies de *Acinetobacter* spp., se consideran generalmente de baja virulencia, salvo en pacientes enfermos críticamente o inmunocomprometidos. Estos microorganismos se asocian más a menudo a infecciones nosocomiales que a comunitarias (Adams, et al., 2007). Causan un amplio rango de complicaciones clínicas como neumonías, septicemias, infecciones del trato urinario, infecciones de heridas y meningitis, especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Bou, Cervero, Domínguez, Quereda, & Martínez-Beltran, 2000).

La colonización también se ha asociado con el uso previo de antimicrobianos e infección por *Acinetobacter* spp. Esta situación refuerza la necesidad del uso prudente de los antimicrobianos. Otros factores de riesgo, como la ventilación prolongada y la estadía en unidad de cuidados intensivos, no serían específicos para el aislamiento de *Acinetobacter* spp., sino que más bien estarían relacionados con el hallazgo de la enfermedad subyacente del paciente (Adams, et al., 2007).

La mayoría de especies se han encontrado en muestras clínicas y, aunque no todas se han considerado clínicamente significativas, la mayoría han tenido al menos alguna significancia como patógenos humanos (Torres, Vásquez, Yagüet y Gómez, 2010).

A. baumannii se ha descrito como un microorganismo propio del suelo, pero probablemente los *Acinetobacter* aislados en el suelo y en el agua correspondan a otras especies no identificadas y no a *A. baumannii*. De hecho, hay poca evidencia de

que *A. baumannii* sea un residente típico del suelo. Todos estos datos indican que *A. baumannii* tiene una baja prevalencia en la comunidad y que su presencia en el ambiente es escasa (Torres, et al., 2010).

La característica más importante de *A. baumannii* es la aparición de cepas multirresistentes endémicas y epidémicas (Torres, et al., 2010).

El tratamiento antimicrobiano de éstas infecciones, particularmente de aquellas causadas por cepas de *A. baumannii*, pueden comprometerse por la multirresistencia de los aislamientos a beta-lactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Bou, et al., 2000).

Los mecanismos de resistencia contemplan alteraciones de las proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), disminución de la permeabilidad de la membrana externa, mutaciones de los sitios blanco e inactivación por enzimas modificantes. Dado que *Acinetobacter*, es gram negativo, posee una membrana externa adicional que actúa como barrera de permeabilidad (Diomedí, 2005). El transporte a través de la membrana externa está mediado por porinas que producen canales llenos de agua por difusión de moléculas hidrofílicas. Algunos reportes sugieren que la expresión reducida o mutación de porinas estarían asociadas a resistencia a carbapenémicos (Adams, et al., 2007).

Ya que *A. baumannii* puede sobrevivir en superficies secas, las cepas epidémicas suelen introducirse al hospital por un paciente colonizado, a partir del cual la cepa puede extenderse a otros pacientes y al ambiente (Torres *et al.*, 2010).

Durante la última década, se han registrado infecciones adquiridas en hospitales que involucran aislamientos de *A. baumannii* multirresistentes, los cuales se han asociado frecuentemente con contaminación del equipo del hospital y contaminación cruzada por la colonización de manos del personal que atiende a los pacientes (Bou, et al., 2000).

3. *Pseudomonas aeruginosa*

El género *Pseudomonas* pertenece a la familia *Pseudomonaceae* y está constituido por bacilos gram negativo no fermentadores, aerobios, no esporulados y móviles. *P. aeruginosa* es el patógeno más importante que causa varios tipos de infección, las cuales raramente ocurren en personas inmunocompetentes. Infecta a menudo heridas quirúrgicas, úlceras de decúbito, abscesos, quemaduras, fístulas con drenajes, infecciones del oído y pulmones de pacientes tratados con antibióticos (Llop-Hernandez, Valdés-Dapena y Zuazo, 2001).

P. aeruginosa es intrínsecamente resistente a penicilinas de espectro restringido, cefalosporinas de primera y segunda generación, trimetoprim y sulfonamidas. La resistencia de *P. aeruginosa* a los beta-lactámicos se debe a una combinación de beta-lactamasas, bombas de eflujo, cambios en las proteínas de la membrana externa (barreras de permeabilidad) y cambios en las proteínas de unión a la penicilina. La resistencia a cefotaxima, ceftriaxona y otras cefalosporinas de espectro extendido usualmente se debe a la beta-lactamasa del tipo 1 (AmpC) (Cavalieri, Harbeck y McCarter, 2005).

Los carbapenemes usualmente no se inactivan por las beta-lactamasas (AmpC) producidas por la *P. aeruginosa*, pero puede ocurrir una desactivación con enzimas únicas que hidrolizan el carbapenem. De todos los beta-lactámicos, los carbapenemes tienen el espectro más amplio de actividad contra *P. aeruginosa* (Cavalieri, et al., 2005).

P. aeruginosa puede volverse resistente a gentamicina, tobramicina y amikacina de varias maneras: 1) por falta de permeabilidad de la membrana externa (resistencia a bajos niveles de aminoglucósidos), 2) enzimas modificadoras de aminoglucósidos (resistencia a altos niveles de aminoglucósidos) y 3) impermeabilidad y presencia de enzimas modificadoras de aminoglucósidos. La resistencia solo a amikacina (pero no a gentamicina o tobramicina) es muy inusual (Cavalieri, et al., 2005).

La ciprofloxacina se mantiene como la fluoroquinolona más activa contra *P. aeruginosa*. La resistencia a las fluoroquinolonas se debe a impermeabilidad, bombas de eflujo o mutaciones que afectan las enzimas ADN girasa y topoisomerasa (Cavalieri, et al., 2005).

4. Microorganismos patógenos gram positivo

a. *Staphylococcus aureus*

Los miembros del género *Staphylococcus* son cocos gram positivo dispuestos en forma de racimos, inmóviles, no esporulados, anaerobios facultativos y pueden crecer por medio de respiración aeróbica o por fermentación. Son catalasa positivo y oxidasa negativo, generalmente producen una microcápsula de naturaleza polisacárida y es tolerante a altas concentraciones de sal y ha demostrado resistencia al calor (Foster, Harris & Richards, 2002).

Los principales factores de virulencia de estos microorganismos se basan en los componentes de la pared bacteriana, en la gran cantidad de enzimas y toxinas que producen y su capacidad de supervivencia intracelular, en determinadas circunstancias (Gil, 2000).

La resistencia de *S. aureus* a meticilina se debe a la presencia del gen *mec-A*. Este gen codifica la síntesis de una nueva proteína fijadora del complemento PBP2a, que le confiere resistencia a todos los betalactámicos incluyendo cefalosporinas, carbapenemes y monobactames. La resistencia a meticilina puede ser heterogénea u homogénea (Gil, 2000).

Las cepas de *S. aureus* Meticilino Resistente (SARM) suelen ser en general resistentes a otros antimicrobianos no beta-lactámicos, como aminoglucósidos, quinolonas, macrólidos y tetraciclinas. La observación de cepas multirresistentes a estos antimicrobianos hace sospechar que la cepa sea resistente a meticilina (Gil, 2000).

S. aureus puede ser resistente a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas mediante: 1) modificación de la diana (ARNr 23S) por la acción de una metilasa codificada por genes *erm*; 2) Expulsión activa del antimicrobiano; 3) inactivación del antimicrobiano; y 4) modificación de la diana por mutación del ARNr 23S o de proteínas ribosomales. En SARM, el mecanismo más frecuente de resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLS) es el codificado por los genes *erm(A)*, cuyo origen está en trasposones (Rodríguez-Baño, Cisneros, Moreno, Salas, Pascual, 2004).

En 1997 se reportó el aislamiento en Japón de una cepa SARM en un paciente de 4 meses de edad quien recibió 29 días de terapia con vancomicina (45 mg/kg/día) sin respuesta. La cepa MRSA aislada, denominada Mu50, tenía una CIM para vancomicina de 8 µg/mL determinada por microdilución en caldo (Hiramatsu, Hanaki, Ino, Yabuta, Oguri & Tenover, 1997).

Posteriormente se han aislado cepas similares en numerosos países. A estos aislamientos se les conoce con el nombre de *S. aureus* Vancomicina-Intermedio (VISA) o *S. aureus* Glicopéptido-Intermedio (GISA). Se han descrito 2 tipos de expresión de resistencia a glicopéptidos en *S. aureus*: 1) homogénea (CIM a vancomicina de 8-16 mg/l) y 2) heterogénea (CIM a vancomicina 1-4 mg/l). El mecanismo de resistencia consiste en la alteración de la estructura del peptidoglicano que determina el secuestro de las moléculas de glicopéptidos e impiden la unión a la diana. Finalmente, en EEUU se han descrito cepas de SARM con resistencia de alto nivel a glicopéptidos por adquisición del gen *vanA*, posiblemente a partir de cepas de enterococos resistentes a vancomicina. La diseminación de este gen en cepas de SARM podría limitar las escasas opciones terapéuticas disponibles (Rodríguez-Baño, et al., 2004).

b. *Enterococcus* spp.

Los enterococos son cocos gram positivo que aparecen en pares o en cadenas cortas en medio líquido, sin cápsula, sin endosporas y anaerobios facultativos. Poseen requerimientos nutricionales complejos. La prueba de la catalasa es negativa (aunque algunas cepas de *E. faecalis* pueden dar la prueba positiva debido a la producción de pseudocatalasa cuando crecen en medios que contienen sangre). Fermentan una amplia variedad de carbohidratos con elaboración de ácido láctico sin producción de gas. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C (Cavaliere, *et al.*, 2005).

Los enterococos forman parte de la microbiota normal intestinal en humanos y en animales, por lo tanto se encuentran en ambientes contaminados con material fecal (Kühn, 2005).

En la mayoría de individuos inmunocompetentes el microorganismo no causa infecciones serias, a menos que invada las válvulas cardíacas y cause endocarditis (Llop- Hernández, *et al.*, 2001). También constituyen una de las principales causas de infecciones del tracto urinario (ITU). Cerca de 10% de las ITU son nosocomiales, especialmente en pacientes con malformaciones estructurales y pacientes sometidos a manipulación genitourinaria (Sander, 2002).

Aunque existen cerca de 17 diferentes especies de enterococos, solamente dos son responsables de la mayoría de las infecciones en humanos: *E. faecalis* y *E. faecium* (Pavalencino, 2001).

Los enterococos son intrínsecamente resistentes a varios grupos de agentes antimicrobianos, como las cefalosporinas, aminoglucósidos (excepto en altas concentraciones), clindamicina y cotrimoxazol. Por lo tanto, éstos no deben probarse o informarse porque pueden ser susceptibles *in vitro*, pero clínicamente resistentes (Pavalencino, 2001).

La resistencia de enterococos a ampicilina y penicilina es fundamentalmente debida a cambios en las proteínas de unión de penicilina (PBPs) que disminuyen la afinidad de las proteínas blanco por los antibióticos beta-lactámicos. Las cepas de *E. faecalis* son típicamente susceptibles a ampicilina y penicilina, mientras que *E. faecium* por lo general resistente. La resistencia que se debe a la producción de beta-lactamasa es poco común (Llop- Hernández, et al., 2001).

La resistencia intrínseca de bajo nivel a vancomicina en los enterococos usualmente se debe a la presencia de genes *vanC*. Estos genes inhiben la unión de la vancomicina con el microorganismo. La resistencia intrínseca es poco probable que se disemina de paciente a paciente y usualmente no constituye una preocupación para el personal de control de infecciones (Llop- Hernández, et al., 2001).

c. *Streptococcus agalactiae*

S. agalactiae, está conformado por cocos gram positivos que se disponen formando cadenas. Son anaerobios facultativos, catalasa y oxidasa negativo. Se desarrollan en medios simples, aunque en aquellos suplementados con sangre crecen en colonias que presentan un halo de beta hemólisis. La observación de beta hemólisis a veces requiere de 48 horas de incubación y hasta un 3% de los aislamientos no la presenta (Llop- Hernández, et al., 2001).

Actualmente *S. agalactiae* es la principal causa de sepsis neonatal. Su incidencia es de aproximadamente 3 casos por cada mil nacidos vivos (entre el 1 y el 2% de los recién nacidos muestran colonización por el *S. agalactiae*). Aunque la existencia de factores obstétricos de riesgo aumenta la probabilidad de infección en el recién nacido, sólo la mitad aproximada de los que presentan sepsis neonatal se identifica algún factor de riesgo (Llop- Hernández, et al., 2001).

S. agalactiae también es una causa importante de infecciones en gestantes y puérperas, entre ellas, corioamnionitis, endometritis postparto, infección de la herida quirúrgica tras cesárea e infección del tracto urinario (Cavalieri, et al., 2005).

En adultos, fuera del período postparto, las infecciones por *S. agalactiae* se presentan generalmente como formas que complican otras patologías; en particular, diabetes, hepatopatías, cáncer, alteraciones neurológicas e insuficiencia cardíaca o renal. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemia sin foco séptico evidente, endocarditis, infecciones del tracto urinario, meningitis e infecciones osteoarticulares (Llop- Hernández, et al., 2001).

E. Nuevas terapias contra microorganismos multirresistentes

La emergencia y la diseminación de mecanismos de resistencia en los patógenos comunes han generado la necesidad crítica de desarrollar nuevos antibióticos que no sean afectados por los mecanismos habituales de resistencia. Sin embargo, son pocas las drogas aprobadas en el último lustro por la USA's Food and Drug Administration (FDA) y no todos están disponibles en América Latina (Curcio e Istúriz, 2006).

Idealmente, un solo agente antimicrobiano que confiera amplio espectro, con una actividad potente contra los microorganismos patógenos resistentes; sería una importante adición al armamento terapéutico (Ortiz, et al., 2009).

Son pocos los fármacos desarrollados últimamente para combatir bacterias resistentes, porque en general las compañías farmacéuticas no apuestan por su búsqueda debido al largo proceso de investigación, problemas de precio y menor rentabilidad que los fármacos dirigidos a otras indicaciones, sobre todo enfermedades crónicas. De hecho, el desarrollo y la aprobación de nuevos antibacterianos ha tenido un decremento de más del 60% en los últimos 20 años. Los pocos fármacos nuevos están indicados principalmente para infecciones por bacterias gram positivo, entre ellos quinupristina-dalfopristina, linezolid y daptomicina que son útiles frente a *S. aureus* MRSA y enterococos resistentes a la vancomicina, pero no están exentos de efectos secundarios, aunque también pueden ser amenazados por la aparición de cepas resistentes (Gobernado, 2006).

El linezolid, que está disponible desde 2001 tiene actividad frente a bacterias gram positivo. El cefditoren y el ertapenem fueron aprobados en 2002 e incluyen dentro de su espectro bacterias nosocomiales. La gemifloxacina y telitromicina están disponibles desde 2003 y 2004, aunque no están indicados en infecciones severas o causadas por microorganismos multi-resistentes. La daptomicina aprobada en 2003 es activa frente a bacterias gram positivo y su efectividad ha sido comprobada solo en infecciones de la piel (Curcio e Istúriz, 2006).

F. Generalidades de las tetraciclinas

Las tetraciclinas se caracterizan por la presencia de un esqueleto básico de perhidronaftaceno y varios sustituyentes en las posiciones 5, 6 y 7. Los derivados difieren en sus propiedades físico-químicas y farmacocinéticas; sin embargo, mantienen un espectro antibacteriano similar y resistencia cruzada. En general, las tetraciclinas de uso clínico son bacteriostáticas e inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal. El mecanismo molecular típico descrito corresponde a la unión reversible entre la tetraciclina y el sitio A de la fracción 30S del ribosoma bacteriano que evita la introducción de nuevos aminoácidos a la cadena peptídica en desarrollo (Mella y Muñoz, 2009).

Dentro de esta familia de antibacterianos, un grupo de especial importancia son las denominadas glicilciclinas, que químicamente contienen el sustituyente N, N-dimetilglicilamido (DMG) en la posición 9 de minociclina o de 6-demetil-6-deoxitetraciclina (Mella y Muñoz, 2009).

Las glicilciclinas han sido desarrolladas para superar específicamente mecanismos de resistencia bacteriana. Las glicilciclinas exhiben una potente actividad contra un amplio espectro de bacterias gram positivo y gram negativo, incluyendo cepas cuyos mecanismos de resistencia están formados por bombas de flujo de fármacos y translocación de ribosomas (Noskin, 2005).

El último antibiótico que fue desarrollado para combatir los problemas de resistencia antimicrobiana fue la tigeciclina y fue aprobada por la USA's Food and Drug Administration (FDA) en junio del 2005 (Gobernado, 2006). Ésta fue la primer gliciliciclina en ser lanzada al mercado y también la primer análoga de la tetraciclina, desde la introducción de la minociclina hace 30 años (Livermore, 2005).

La tigeciclina es muy activa contra bacterias resistentes a otras clases de antibióticos, incluyendo quinolonas y β -lactámicos. Adicionalmente resiste la desactivación por todos los mecanismos de resistencia a tetraciclinas. Su uso ha sido establecido para infecciones serias en pacientes con infecciones de piel complicadas, infecciones intra-abdominales y neumonía (Pankey, 2005).

1. Tigeciclina

a. Estructura

Las gliciliciclinas son agentes antimicrobianos modificados que poseen el esqueleto de cuatro anillos carboxílicos centrales que son esenciales para su actividad antibacteriana. La tigeciclina surge de la incorporación del radical t-butilglicilamido en la posición 9 de la minociclina, una modificación estructural que mejora su espectro y le proporciona un mejor perfil de antirresistencias. La fórmula de la tigeciclina es $C_{29}H_{39}N_5O_8$, y su peso molecular es de 585.65 Da. (Noskin, 2005).

b. Mecanismos de acción

El mecanismo de acción es igual al de las tetraciclinas: inhibe la traducción de las proteínas al unirse reversiblemente a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. Esta unión bloquea la entrada del aminoacil t-RNA al sitio A del ribosoma e impide la incorporación de aminoácidos y la posterior elongación de las cadenas peptídicas. Las gliciliciclinas se unen con una efectividad cinco veces mayor que las tetraciclinas, lo que puede influir en su capacidad para superar las resistencias a las tetraciclinas basadas en la protección del ribosoma. Es más, parece que el modo de interacción

de la tigeciclina con el ribosoma es distinto al de las tetraciclinas. De forma general, se considera que es un agente bacteriostático, aunque se ha demostrado actividad bactericida frente a ciertos microorganismos en determinadas condiciones (Bosó-Ribelles, Romá-Sánchez, Salavert-Lletí, Hernández-Martí, Póveda-Andrés, 2007).

c. Mecanismos de acción sobre microorganismos aerobios gram positivo y gram negativo

La tigeciclina es muy activa frente a los microorganismos aerobios gram positivo implicados en las infecciones de la piel y los tejidos blandos, así como en las infecciones intra abdominales. El punto de corte que la CLSI (Institución Estándar de Laboratorios Clínicos) estableció para la tigeciclina contra la mayoría de microorganismos gram positivo es de $\leq 0.25-0.5$ mg/l. Los valores de CIM₉₀ oscilan entre 0,12 y 0,5 mg/l para SARM (*S. aureus* resistente a meticilina), *S. aureus* con sensibilidad intermedia a la vancomicina, enterococos resistentes a la vancomicina y *S. pneumoniae* resistente a la penicilina, otros betalactámicos y los macrólidos (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Estos datos sugieren que la tigeciclina puede ser una opción terapéutica para tratar *S. aureus* multirresistente, incluyendo cepas con resistencia intermedia a los glucopéptidos (Pankey, 2005).

En el programa TEST (Estudio de Evaluación y Vigilancia de Tigeciclina), del 99% al 100% de los aislamientos de *E. faecalis* son sensibles a la vancomicina, *S. aureus* son sensibles a la Meticilina (SASM), SARM y *S. agalactiae* fueron sensibles a la tigeciclina. La CIM₉₀ (0,12 a 0,5 mg/L) de *E. faecalis* resistente a la vancomicina es muy similar a la que presenta para los que son sensibles (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Estudios señalan que la actividad de la tigeciclina es igual entre *E. faecium* y *E. faecalis*. Éste es el antibiótico más potente probado contra enterococos vancomicina-susceptible y vancomicina-resistente, presentando un rango de CIM₉₀ de 0.25 a 0.5 mg/L. De la misma forma se demostró, utilizando enterococos

resistentes a la vancomicina, que no existe ninguna sinergia o antagonismo entre la tigeciclina y el quinupristin/dalfopristin en combinación. Además, exhibe una actividad potente contra bacterias de aislamientos clínicos resistentes o susceptibles a tetraciclinas (Pankey, 2005).

La tigeciclina puede ser una alternativa razonable para pacientes alérgicos a la penicilina y su utilidad está en aumento debido a la amplia diseminación de las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) entre las enterobacterias endógenas que provocan infecciones (Livermore, 2005).

La CLSI estableció como punto de corte para la tigeciclina 2 mg/l, para las la mayoría de bacterias gram negativo. El 91% al 100% de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* (productoras y no productoras de BLEE), *K. oxytoca* y *E. cloacae* fueron sensibles a la tigeciclina en el programa TEST, con unos valores de CIM₉₀ de 0,5 mg/l para *E. coli* y 2 mg/l para *K. pneumoniae*. *Acinetobacter* spp., y *Sternotrofomona maltophilia*, bacilos no fermentadores gram negativo, tienen una CIM de tigeciclina más baja. Algunos trabajos asignan una CIM₉₀ de 2 mg/l para *Acinetobacter* spp. y una sensibilidad de alrededor del 90%, mientras que en un estudio se observó que el fármaco con mayor actividad frente a *A. baumannii*, después de la polimixina B, era la tigeciclina (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Acinetobacter spp. es uno de los grupos multirresistentes donde la actividad de la tigeciclina se está investigando, especialmente al incrementarse el número de aislamientos de éste género que son resistentes a los carbapenemes y los productores de metalo- β -lactamasas (Livermore, 2005).

El 90% de las cepas de *P. aeruginosa* podrían considerarse resistentes a la tigeciclina (CIM \geq 4 mg/l) (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

d. Mecanismo de acción sobre otros microorganismos

La actividad de la tigeciclina frente a las micobacterias de crecimiento rápido, incluidas *Mycobacterium chelonae*, *M. abscessus* y el grupo de *M. fortuitum*, con CIM₉₀ ≤0,12-0,25 mg/l (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Los valores de CIM varían un poco con respecto al medio, de los cuales el de menor dilución en medio Iso-Sensitest comparándolo con el caldo Mueller-Hinton. Si lo anterior tiene impacto en la categorización de susceptibilidad, dependerá de los puntos de corte que adopte la Institución Estándar de Laboratorios Clínicos (CLSI) y el Comité Europeo en Ensayos de Susceptibilidad Antimicrobiana (EUCAST por sus siglas en inglés). Como las tetraciclinas clásicas, la tigeciclina es propensa a oxidación. Los valores de CIM pueden elevarse si se agrega caldo que ha sido oxigenado durante el almacenamiento (Livermore, 2005).

G. Resistencia

La resistencia bacteriana a las tetraciclinas puede estar mediada por varios mecanismos, entre otros, la actividad de bombas de eflujo que disminuyen la concentración intracelular del antibiótico, la traslocación ribosomal y modificaciones químicas. La tigeciclina consigue evitar éstos dos primeros mecanismos de resistencia. El impedimento estérico que produce el sustituyente en la posición 9 es lo que le permite esta evasión (Curcio e Istúriz, 2006).

La tigeciclina elude las bombas de flujo de salida Tet (subgrupos A y E), que son las causantes de la mayoría de los casos de resistencia adquirida a la tetraciclina y la minociclina en enterobacterias y bacilos gram negativo no fermentadores como *Acinetobacter* spp. También evita las bombas Tet(K), que son muy frecuentes en los estafilococos y confieren resistencia a la tetraciclina, no así a la minociclina y la doxiciclina (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Este mecanismo suprime la actividad de todas las tetraciclinas disponibles y es frecuente en los cocos gram positivo y en *Neisseria* spp. La evasión de la bomba de flujo Tet(M) se debe a que la tigeciclina se une a los ribosomas en una orientación diferente a la que lo hacen las tetraciclinas clásicas (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Las cepas de *S. aureus* con fenotipo tet(M) son más resistentes que aquellas que poseen el fenotipo tet(K). Ésta diferencia no se observa con la tigeciclina. Para los aislamientos que expresan tet(M) y tet(K) la CIM₉₀ de la tigeciclina fue de 0.25-0.5 µg/mL y de 0.12-2 µg/mL mientras que para minociclina fue de 4-32 µg/mL y 0.06-8 µg/mL, respectivamente (Curcio e Istúriz, 2006).

En general, la tigeciclina no se ve afectada por ninguno de los mecanismos principales de resistencia a las tetraciclinas, sin embargo, la presencia de la bomba de eflujo AcrAB y su homóloga AcrEF resultan en un incremento de 4 veces del CIM. En este sentido, la tigeciclina no es activa frente a las bombas de eflujo sintetizadas cromosómicamente por bacterias de las familias *Proteae* y *Pseudomonadaceae* (bombas mediadas por genes AcrAB y MexAB-OprM) (Curcio e Istúriz, 2006).

La tigeciclina sigue siendo vulnerable a las bombas de flujo de salida de múltiples fármacos que son codificadas por los cromosomas de *Proteus* spp. y *P. aeruginosa* (sistema de flujo MexXY-OprM y a la Tet(X)), mediada por una monooxigenasa que degrada las tetraciclinas y se encuentra en ocasiones en *Bacteroides* spp. (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Los microorganismos de la familia *Proteae* (*Proteus* spp., *Providencia* spp. y *Morganella* spp.) generalmente son menos sensibles a la tigeciclina que otras enterobacterias. Así mismo, se ha detectado cierto grado de resistencia plasmídica en *K. pneumoniae*, *E. aerogenes* y *E. cloacae* (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

La disminución de la sensibilidad en ambos grupos se ha atribuido a la sobreexpresión de la bomba de expulsión multifármacos no específica AcrAB. También se ha notificado reducida sensibilidad a la tigeciclina en *A. baumannii* (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Otro hecho importante es que mecanismos de resistencia tales como betalactamasas (incluyendo BLEE), metalobetalactamasas y carbapenemasas, modificaciones de proteínas de la membrana celular, bombas de expulsión de macrólidos o alteraciones de las topoisomerasas no afectan a la tigeciclina y no se ha observado resistencia cruzada con otros antibióticos de similar estructura molecular como las tetraciclinas (Bosó-Ribelles, et al., 2007).

Muchas bacterias mutantes generadas en el laboratorio, han exhibido únicamente diferencias marginales en la susceptibilidad a la tigeciclina. Por esto, se cree que la resistencia no se elevará por mutaciones triviales, de existir algún tipo de resistencia (Noskin, 2005).

H. Prueba de CIM (Concentración Mínima Inhibitoria) como un método de estudio de sensibilidad antibiótica

CIM se define como la mínima concentración de antibiótico que en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (Taroco, Seija, y Vignoli, 2008).

La CIM de un agente antimicrobiano es la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba (Taroco, et al., 2008).

Se determina en el laboratorio incubando una cantidad conocida de bacterias a diferentes concentraciones de antimicrobiano, donde la primera concentración será la mitad de la siguiente y se observa el crecimiento de los microorganismos para luego definir la CIM (Cavalieri, et al., 2005).

La prueba de CIM puede ser realizada usando como medios de cultivo ya sea caldo o agar. La microdilución en caldo es el método más utilizado en los laboratorios clínicos. Varias compañías fabrican paneles de CIM que contienen diluciones de uno o múltiples antimicrobianos en un formato de microdilución en caldo (Cavalieri, et al., 2005).

La CIM corresponde a la mínima concentración de antibiótico en donde no se observa desarrollo de la bacteria (turbidez) y se expresa en $\mu\text{g/mL}$. El valor de CIM obtenido para esa bacteria se busca en las tablas establecidas por la CLSI para definir si las mismas son sensibles, intermedias o resistentes a un determinado antibiótico (Taroco, et al., 2008).

1. CIM₅₀ y CIM₉₀

La concentración inhibitoria mínima a la cual el 50% y 90% de las cepas detienen su crecimiento (CIM₅₀ y CIM₉₀ respectivamente) es una forma de presentar sensibilidades antibióticas de una forma más conveniente, especialmente si se trata de reportar y evaluar la distribución de susceptibilidad de varios antibióticos en una bacteria. La CIM₅₀ demostrará que el 50% de los organismos estarán por debajo de una CIM específica. Por ejemplo, una CIM₅₀ de 32 indica que el 50% de los microorganismos tienen una CIM de 32 o menos. De la misma forma la CIM₉₀ demostrará que el 90% de los microorganismos están por debajo del valor que ésta CIM indique (Taroco, et al., 2008).

2. Panel de microdilución en caldo (CIM)

La prueba de microdilución en caldo para CIM se realiza en una placa de poliestireno que contiene aproximadamente 96 celdillas. Una placa puede contener de 7 a 8 diluciones de 12 diferentes agentes antimicrobianos. Una celdilla sirve como control positivo (caldo más inóculo), y otro sirve como control negativo (sólo caldo). La

mayoría de los sistemas tienen un volumen de 0.1 mL en cada celdilla. Para facilitar el uso de agentes antimicrobianos apropiados contra cepas específicas, se utiliza un tipo de placa para bacterias gram positivo y otro para bacterias gram-negativo (Cavalieri, et al., 2005).

El caldo Mueller-Hinton se recomienda como el medio preferido para efectuar pruebas de susceptibilidad de organismos comúnmente aislados, aeróbicos o facultativos de rápido crecimiento. El caldo debe tener el contenido apropiado de cationes suministrado por el fabricante (Ca^{++} y Mg^{++}). Para organismos fastidiosos como *S. pneumoniae* el caldo Mueller-Hinton puede ser suplementado con 2-5% de sangre de caballo lisada (Cavalieri, et al., 2005).

La lectura de las placas se basa en el principio de turbidimetría. Existen diferentes métodos de lectura. Las placas Opti Scan™ se leen manualmente colocando la placa sobre un fondo negro. Actualmente se han desarrollado equipos automatizados tales como MicroScan que realizan ésta lectura junto con la identificación del microorganismo (Taroco, et al., 2008).

I. Estudios en Guatemala

1. Perfiles de resistencia de bacterias aisladas en el Hospital General San Juan de Dios

Estudios realizados en el Hospital General San Juan de Dios indicaron que la prevalencia de *E. coli* con BLEE es del 5% y la mayoría de cepas fueron aisladas en muestras de orina, seguido de secreciones varias y hemocultivos, principalmente en los servicios de Pediatría y Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (Mazariegos, 2007).

La resistencia hacia antibióticos no betalactámicos de *E. coli* con BLEE está dirigida hacia dos familias de antibióticos: aminoglucósidos (gentamicina, amikacina y tobramicina) y trimetoprim sulfametoxazol. Entre los aminoglucósidos, el que presenta mayor resistencia es la tobramicina, luego gentamicina y por último la amikacina. Las quinolonas son los antibióticos que presentan niveles de resistencia más disminuido por parte de *E. coli* con presencia BLEE (Mazariegos, 2007).

P. aeruginosa ha presentado un 19% de resistencia frente a ceftazidima, 22% a cefepima, 23% a piperacilina/tazobactam y 25% a imipenem, predominando en salas de cirugía, medicina de adultos y unidad de cuidados intensivos neonatales (Rosales, 2005).

En un estudio realizado en el 2010, no se encontraron metaloenzimas en los aislamientos de *P. aeruginosa* ensayados. De un total de 362 aislamientos, se encontraron 78 resistentes a imipenem (22%). Éstos fueron obtenidos principalmente en las áreas de Cuidados Intensivos del hospital. Todos los aislamientos fueron resistentes a amoxicilina/ácido clavulónico y a nitrofurantoina (Felipe, 2010)

Para *Acinetobacter* spp., el 60% de aislamientos presentaron susceptibilidad a imipenem. Los demás antibióticos presentaron porcentajes menores a 30% de susceptibilidad (amikacina 14%, ceftazidima 29%, cefotaxima 5%, ciprofloxacina 15%, piperacilina/tazobactam 13%). *Acinetobacter* spp., se encontró distribuido principalmente en unidad de cuidados intensivos en un 60%, predominando en secreciones y aspiraciones orotraqueales. Cuando este es resistente a carbapenemes, las opciones de tratamiento son casi nulas (Rosales, 2005).

Otro estudio indicó que de un total de 106 aislamientos de *Acinetobacter* spp., el 26% (28 aislamientos) presentaron MBL (metalo-beta lactamasas). De los aislamientos con MLB, el 60.7% correspondían a secreciones varias, 21.4% a catéter y 10.7% a orina. La única especie que pudo ser identificada fue *A. baumannii* (Marroquin, 2009).

A. baumannii con MLB presentó un patrón de resistencia con un aumento en el número de antibióticos, mostrando 100% de resistencia a cefoxitina, ticarcilina/ac. clavulónico, meropenem y amoxicilina/ac. clavulónico. El 96.4% presentó resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol, el 92.9% a cefuroxima sódica y un 34.3% a aztreonam (Marroquin, 2009).

Para *K. pneumoniae* un 69.6% produjeron BLEE, encontrándose mayormente distribuidas en unidad de terapia intensiva pediátrica en aspiraciones orotraqueales y muestras de orina. Estas cepas presentaron un 88% de resistencia a gentamicina, 63% a ciprofloxacina, 50% a ofloxacina, y 31% a amikacina (Itzep, 2005).

Se determinó que un 19% de los aislamientos de *E. cloacae*, y el 3% de aislamientos de *S. marcescens* han presentado el mecanismo Amp-C derreprimido, principalmente en las salas de unidad de terapia intensiva pediátrica y unidad de cuidados intensivos neonatales. Para los aminoglucósidos se tiene que la mayoría de esta familia posee una resistencia menor del 50%. Los carbapenemes son los antibióticos que presentan mayor susceptibilidad *in vitro* ante las cepas estudiadas, seguido de aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Espinoza, 2007).

En el año 2004, se encontró que *S. aureus* presentó un 83% de resistencia a la oxacilina, mientras que solo el 4% presentó resistencia específica a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLS). La mayoría fueron aislados de secreciones, catéteres y heridas quirúrgicas con 35%, 19% y 14% respectivamente. El perfil de resistencia encontrado con mayor frecuencia es el siguiente: resistencia a eritromicina, clindamicina, cloranfenicol, gentamicina, penicilina y oxacilina, presentándose en un 35% de todos los aislamientos (Paz, 2005).

S. aureus no presentó resistencia a rifampicina y vancomicina. Solo el 6% de todos los aislamientos presento resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol y fue en el servicio de cirugía (Paz, 2005).

En Guatemala aún no se han realizados estudios para determinar la actividad *in vitro* de la tigeciclina, sin embargo, éstos ensayos son importantes ya que muestran el comportamiento de éste antibiótico frente a distintos géneros bacterianos.

IV. JUSTIFICACIÓN

La resistencia antimicrobiana de las bacterias es un problema actual que aumenta cada día y el uso indiscriminado de antibióticos, favorecen la diseminación de cepas multirresistentes. La tigeciclina es un antibiótico de amplio espectro que fue aprobado en el año 2005, por la FDA (US Food and Drug Administration) y por la EMEA (European Medicines Agency), y que en estudios recientes se ha encontrado que es efectiva contra bacterias gram positivo y gram negativo, ya que se unen con una efectividad cinco veces mayor que las tetraciclinas, superando las resistencias basadas en la protección del ribosoma. Además que no se ve afectada por otros mecanismos de resistencia.

Debido al corto periodo de tiempo que lleva en el mercado, en Guatemala no se ha realizado ningún tipo de estudio relacionado a su actividad inhibitoria *in vitro* sobre cepas bacterianas aisladas de pacientes del país.

Por esta razón, se describió la actividad inhibitoria *in vitro* de la tigeciclina en bacterias aisladas en pacientes adultos que asistieron al Hospital General San Juan de Dios.

Es importante además, documentar la actividad de la tigeciclina frente a los microorganismos causantes de infecciones en Guatemala, y la presente investigación inició con la recopilación de información acerca del tema, creando una base para dar soporte a futuras investigaciones.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la actividad inhibitoria *in vitro* de la tigeciclina sobre bacterias gram positivo (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp. y *Streptococcus agalactiae*) y gram negativo (*Enterobacterias*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp.) aisladas de pacientes adultos que asistieron al Hospital General San Juan de Dios durante el período de junio a julio del año 2013.

B. Específicos

1. Determinar la actividad inhibitoria *in vitro* de la tigeciclina mediante el cálculo de CIM₅₀ y CIM₉₀ de las bacterias seleccionadas.
2. Definir la efectividad de la actividad inhibitoria *in vitro* de la tigeciclina contra las bacterias aisladas, a través de la determinación de la susceptibilidad de las mismas.
3. Comparar la actividad inhibitoria de la tigeciclina con la de otros antibióticos de amplio espectro en las bacterias estudiadas.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Aislamientos de bacterias provenientes de pacientes adultos que asistieron a la consulta externa y que fueron internados en el Hospital General San Juan de Dios.

B. Muestra

Cuatrocientos aislamientos de bacterias recolectadas durante el período comprendido del 27 de mayo al 15 de julio del año 2013, en un horario de lunes a sábado de 13:00 a 19:00 horas y domingos de 8:00 a 12:00. Los aislamientos fueron distribuidos de la siguiente forma:

- 130 de gram positivo, como se detalla a continuación:
 - 80 *Staphylococcus aureus*
 - 40 *Enterococcus* spp.
 - 10 *Streptococcus agalactiae*

- 270 de gram negativo, como se describe a continuación:
 - 54 *Pseudomonas aeruginosa*
 - 54 *Acinetobacter* spp.
 - 54 *Escherichia coli*
 - 54 *Klebsiella* spp.
 - 41 *Enterobacter* spp.
 - 13 *Serratia* spp.

C. Recursos Humanos

Investigadores:

- Br. Lucía Soledad Sánchez Recinos

- Br. Saulo José Luis Pérez Juárez

Asesores de investigación:

- Lic. Martin Gil
- Lic. Carlos Pérez de León
- Dr. Luis González Patzan

D. Recursos Institucionales

- Instalaciones del Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios.
- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

E. Materiales

1. Bioseguridad

- Cabina de bioseguridad nivel II
- Bata blanca de protección
- Guantes descartables de látex
- Mascarillas

2. Equipo

- Mechero de gas
- Incinerador
- Incubadora
- Gradillas para tubos
- Asas bacteriológicas
- Turbidímetro
- Vortex
- Pipeta automática de 5-50 μL
- Pipeta automática multicanal de 10-100 μL
- Tips estériles

3. Materiales para antibiograma

Los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de las bacterias, fueron adquiridos en la empresa ACAR. El material para realizar los antibiogramas, fue donado.

- Placas de Petri con agar sangre de carnero al 5% y agar chocolate
- Kit de Placas OptiScan™ que incluye:
 - Tubos con 5 mL de agua estéril desmineralizada ya preparados.
 - Tubos con 11 mL de caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador (CAMHBT por sus siglas en inglés) ya preparados.
 - Tubos con 5 mL de Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador (CAMHBT por sus siglas en inglés) ya preparados.
 - Tubos con 11 mL de CAMHBT (Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador) + sangre lisada de caballo (LHB) ya preparados.
 - Placas OptiScan™ para patógenos gram negativo. Incluye los siguientes antibióticos en sus diferentes concentraciones:

Amoxicilina/Ácido Clávulánico	0.12/0.06 – 32/16 mcg/mL
Piperacilina/Tazobactam	0.06/4 – 0.12/4- 0.25/4 – 128/4 mcg/mL
Levofloxacin	0.008 – 0.015 y 0.03 – 8 mcg/mL
Ceftriaxona	0.06 – 0.25 y 0.5 – 64 mcg/mL
Cefepima	0.5 – 4 y 8 – 32 mcg/mL
Ampicilina	0.5 – 32 mcg/mL
Amikacina	0.5 – 1 y 2 – 64 mcg/mL
Minociclina	0.5 – 16 mcg/mL
Ceftazidima	8 – 32 mcg/mL
Tigeciclina	0.008 – 2 y 4 – 16 mcg/mL
Meropenem	0.06 -16 mcg/mL

- Placas OptiScan™ para patógenos y gram positivo. Incluye los siguientes antibióticos en sus diferentes concentraciones:

Amoxicilina/Ácido Clávulánico	0.03/0.015 – 8/4 mcg/mL
Piperacilina/Tazobactam	0.25/4 – 0.5/4 y 1/4 – 16/4 mcg/mL
Levofloxacin	0.06 – 4 y 8 – 32 mcg/mL
Ceftriaxona	0.03 – 0.8 y 16 – 64 mcg/mL
Linezolid	0.5 – 4 mcg/mL
Minociclina	0.25 – 2 y 4 – 8 mcg/mL
Vancomicina	0.12 – 32 mcg/mL
Ampicilina	0.06 y 0.12 – 16 mcg/mL
Penicilina	0.06 – 0.5 y 1 – 8 mcg/mL
Tigeciclina	0.008 – 1 y 2 – 16 mcg/mL
Meropenem	0.12 – 16 mcg/mL

- Sellos de plástico adhesivo para las placas.
- Tubos con caldo tripticasa soya con tioglicolato.
- Tubos con agar chocolate en slant.

4. Control de Calidad

a. Cepas ATCC

- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 como control de los resultados de las placas para gram positivo. Se utilizaron las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 como control los resultados de las placas gram negativos. Se realizó una placa con *S. aureus* ATCC 29213 por cada 25 placas inoculadas. Se utilizó una placa con *Escherichia coli* ATCC 25922 y una con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 por cada 50 placas inoculadas. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 se utilizó para controlar los aislamientos de de *P. aeruginosa* que se obtuvieron.

5. Material adicional

- Computadora e impresora.
- Software Whonet Version 5.6.
- Formulario para información de aislamientos recolectados para bacterias gram positivo y gram negativo (Anexos 1 y 2).

F. Procedimientos

Las actividades de recolección, reaislamiento y antibiogramas se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios. La metodología para la inoculación y lectura de Placas OptiScan™ para gram positivo y Placas OptiScan™ para gram negativo, se realizó de acuerdo a lo establecido en el inserto de las mismas (Wyeth Pharmaceuticals, 2008).

1. Obtención de Cepas

- Se recolectaron las cajas madre de cepas bacterianas previamente identificadas por el Equipo MicroScan WalkAway que cumplían con los requisitos descritos en la sección G.3.
- Los formularios de recolección de aislamientos se llenaron con la información requerida: nombre del paciente, sexo, y sala en la que se encontraba, tipo de infección y la fecha de recolección.
- Las cepas se reaislaron en placas de petri con agar sangre, incubándolas por 24 horas a 37°C.
- La información del formulario fue ingresada a una base de datos elaborada en el programa Whonet Versión 5.6.

2. Preparación del Inóculo

a. Para microorganismos aerobios no exigentes

- Se seleccionaron de 3 – 5 colonias morfológicamente similares, bien aisladas en agar sangre de carnero al 5%.
- Las colonias fueron suspendidas en tubos con 5 mL de agua desmineralizada ajustando la turbidez (con turbidímetro) a la de un estándar de McFarland 0.5. Se agitó en vortex.
- 10 μ L de la suspensión anterior fueron transferidos a un tubo con 11 mL de caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador (CAMHBT) para obtener un inóculo de 5×10^5 UFC/mL (este cálculo lo proporciona el inserto del kit).
- Los tubos fueron tapados y agitados, invirtiendo el tubo de unas 8 a 10 veces y se inoculó como se describe en la sección F.3.

b. Para *S. agalactiae*

- Se seleccionaron de 3 a 5 colonias de una placa de agar sangre (incubada en una atmósfera con 5% de CO₂) y fueron transferidas a un tubo con caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador (CAMHBT) ajustando la turbidez equivalente a la del estándar de McFarland 0.5.
- Se transfirieron 10 μ L de la suspensión anterior a un tubo de 11 mL de CAMHBT + sangre lisada de caballo (LHB) para dar un inóculo de 5×10^5 UFC/mL (éste cálculo lo proporciona el inserto del kit).
- Los tubos se taparon y agitarlo invirtiendo el tubo de unas 8 a 10 veces y se inoculó como se describe en la sección F.3.

3. Inoculación

- Se transfirieron 100 μ L de caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador CAMHBT (para bacterias no fastidiosas) y caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes con amortiguador CAMHBT + sangre lisada de caballo (para *Streptococcus pneumoniae*) previamente inoculado, en cada pozo de la Placa OptiScan™ utilizando una pipeta automática multicanal.
- Sobre la placa se colocó un sello de plástico luego de completar la inoculación.
- Los paneles fueron incubados 35°C sin CO₂, por un período de 20 a 24 horas para microorganismos gram positivo y de 16 a 20 horas para gram negativo.

4. Lectura de las Placas OptiScan™

- Se sacaron los paneles de la incubadora y se limpió el fondo del panel con una toalla de papel para eliminar la condensación.
- El sello de plástico fue retirado del panel antes de la lectura, la placa se colocó sobre un fondo negro y se realizó la lectura del panel visualmente. El resultado se consideró válido solamente si en el panel se observó turbidez el pozo de control positivo.
- La Concentración Mínima Inhibitoria para cada antibiótico se evaluó como el último pozo que evidenció inhibición del crecimiento bacteriano, iniciando desde la concentración más alta de antibiótico. Los resultados se registraron en el Formulario de Recolección de datos (Anexo 1 y 2).
- Cuando se observó crecimiento bacteriano en todas las concentraciones de un antibiótico, la CIM se registró como mayor que (>) la concentración más alta del mismo incluida en el panel.
- Cuando no se observó crecimiento en ninguna de las concentraciones del antibiótico, la CIM se registró como menor o igual que (\leq) la concentración más baja del mismo incluida en el panel.

G. Diseño Estadístico

1. Tipo de Estudio

Estudio prospectivo, descriptivo.

2. Muestreo

Fue un muestreo por conveniencia, debido a que se tenía como limitante el número de pruebas con las que se contaba. Se tenía un total de 130 pruebas para bacterias gram positivo y 270 para gram negativo. La distribución de la cantidad de aislamientos para cada género de bacterias se realizó en proporción a la frecuencia de los mismos en el Hospital General San Juan de Dios.

3. Criterios de Inclusión

- Las bacterias fueron aisladas de pacientes mayores de 18 años, y fueron seleccionados de los cultivos solicitados al laboratorio del Hospital General San Juan de Dios.
- El 75% de las muestras fueron de pacientes hospitalizados en alguna de las siguientes salas: Emergencia, Traumatología, Medicina Interna, Cirugía, Nefrología, Unidad de Cuidados Intensivos, Ginecología y Obstetricia, Unidad de Cuidados Progresivos, Post-Anestésico y Neurología.
- Se incluyeron un 25% (100 aislamientos) de bacterias aisladas de pacientes de la consulta externa.
- Las bacterias fueron previamente identificada por el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios, utilizando el equipo MicroScan Walk Away.
- Las bacterias se aislaron en un medio enriquecido como agar sangre de carnero al 5%, para favorecer su crecimiento y no debían sobrepasar las 72 horas de haber sido sembradas.

4. Análisis estadístico

- Se realizó un análisis descriptivo de los porcentajes de susceptibilidad y resistencia de las bacterias a los antibióticos en estudio; utilizando el software WHONET 5.6, se determinó la CIM₅₀ y la CIM₉₀ de cada antibiótico utilizado contra cada especie de bacteria estudiada.
- Para determinar los géneros bacterianos contra los que la actividad inhibitoria *in vitro* de la tigeciclina es más efectiva, se hizo una comparación de los porcentajes de susceptibilidad.
- Utilizando diagramas de dispersión, se hizo una comparación de la susceptibilidad a la tigeciclina de las bacterias estudiadas, con la de otros antibióticos de amplio espectro. En el eje "X" se colocaron los datos respecto a la tigeciclina y en el eje "Y" los datos obtenidos con respecto al antibiótico en comparación.
- Se complementó el estudio, con información general de los aislamientos que se tengan como: tipo de muestras, género del paciente y sala del hospital.

VII. RESULTADOS

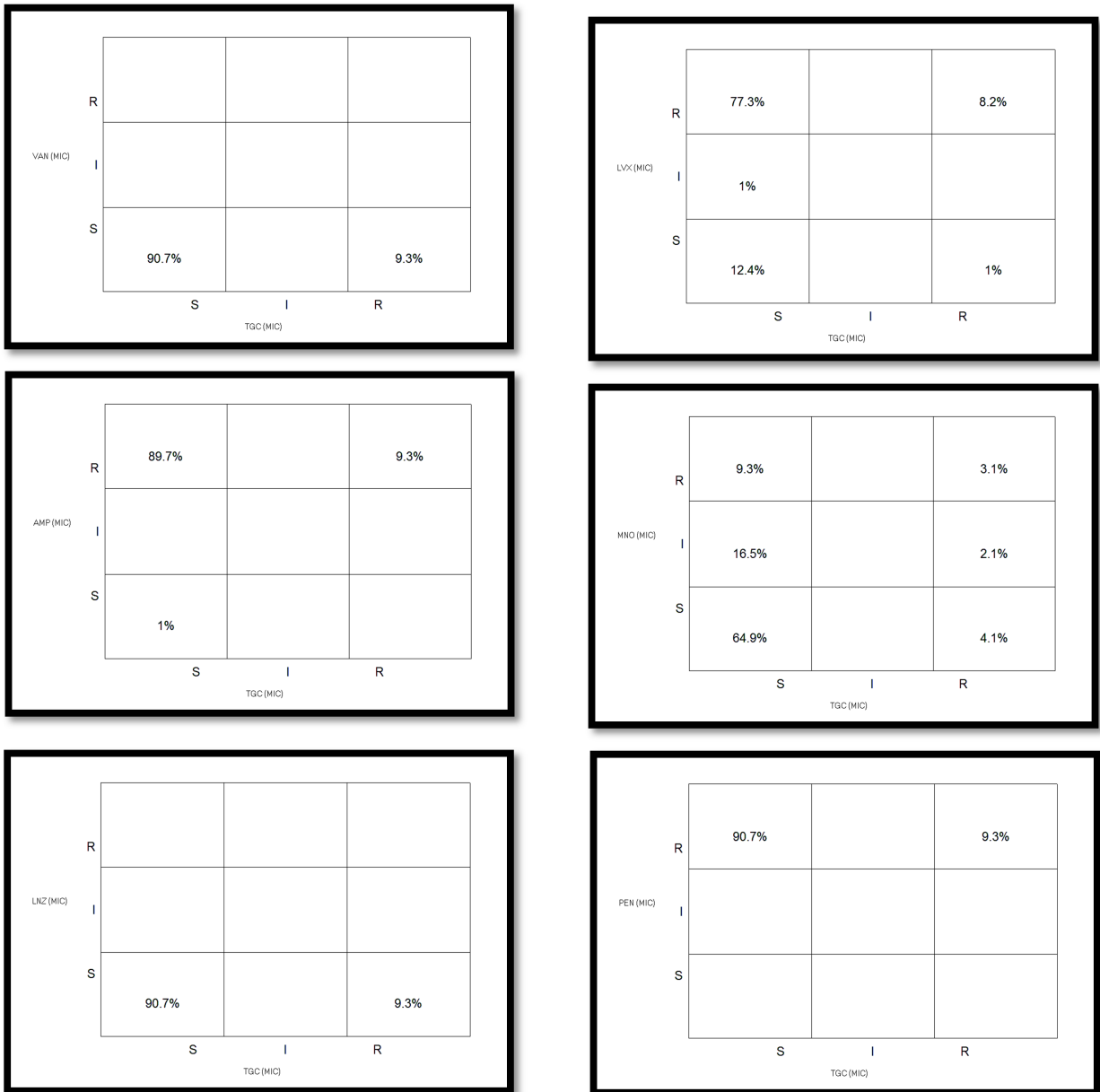
Para el estudio se obtuvieron 400 cepas, aisladas de pacientes adultos que asistieron al Hospital General San Juan de Dios, de ellos 241 (60.25%) fueron del género masculino y 159 (39.75%) del género femenino. Así mismo, 130 aislamientos correspondieron a cocos gram positivo y 270 a bacilos gram negativo. El 30.5% fueron provenientes de la sala de medicina general, 21.5% de cirugías, 16.25% de la unidad de cuidados intensivos y 12.25% de la sala de emergencias (Anexo 3).

En los anexos 4 al 12, se detalla la actividad *in vitro* de la tigeciclina y los antibióticos evaluados comparativamente para los cocos gram positivo y bacilos gram negativo ensayados, expresada en términos de frecuencias, porcentajes de susceptibilidad, intermedia y resistencia (%S, %I y %R), CIM₅₀ y CIM₉₀ y puntos de corte establecidos.

Para *S. aureus* (n=70) se obtuvo un 90.7 % de susceptibilidad a tigeciclina, con una CIM₅₀ y CIM₉₀ de 0.25 y 0.5 mcg/mL, respectivamente. El 100% de los aislamientos fueron resistentes a ampicilina y el 100% fue resistente a la penicilina. El 85.6% fue susceptible a la levofloxacin, el 69.1% lo fue a la minociclina y el 52.6% lo fue al meropenem. El 100% de los aislamientos fue susceptible a linezolid y vancomicina (Anexo 4).

En la gráfica 1, se pueden observar los diagramas de dispersión de la tigeciclina comparada con otros antibióticos. Se muestra que el 89.7% de los aislamientos de *S. aureus* fueron susceptibles a la tigeciclina y resistentes a la ampicilina. Para la levofloxacin, el 77.3% fue resistente, pero susceptible a la tigeciclina. El 9.3% mostró resistencia a minociclina pero fue susceptible a la tigeciclina y el 64.9% fue susceptible para ambos antibióticos. De los aislamientos resistentes a la penicilina, el 90.7% fue susceptible a la tigeciclina. De los aislamientos susceptibles a linezolid y vancomicina, el 9.3 % fue resistente a la tigeciclina.

Gráfica 1. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *S. aureus*

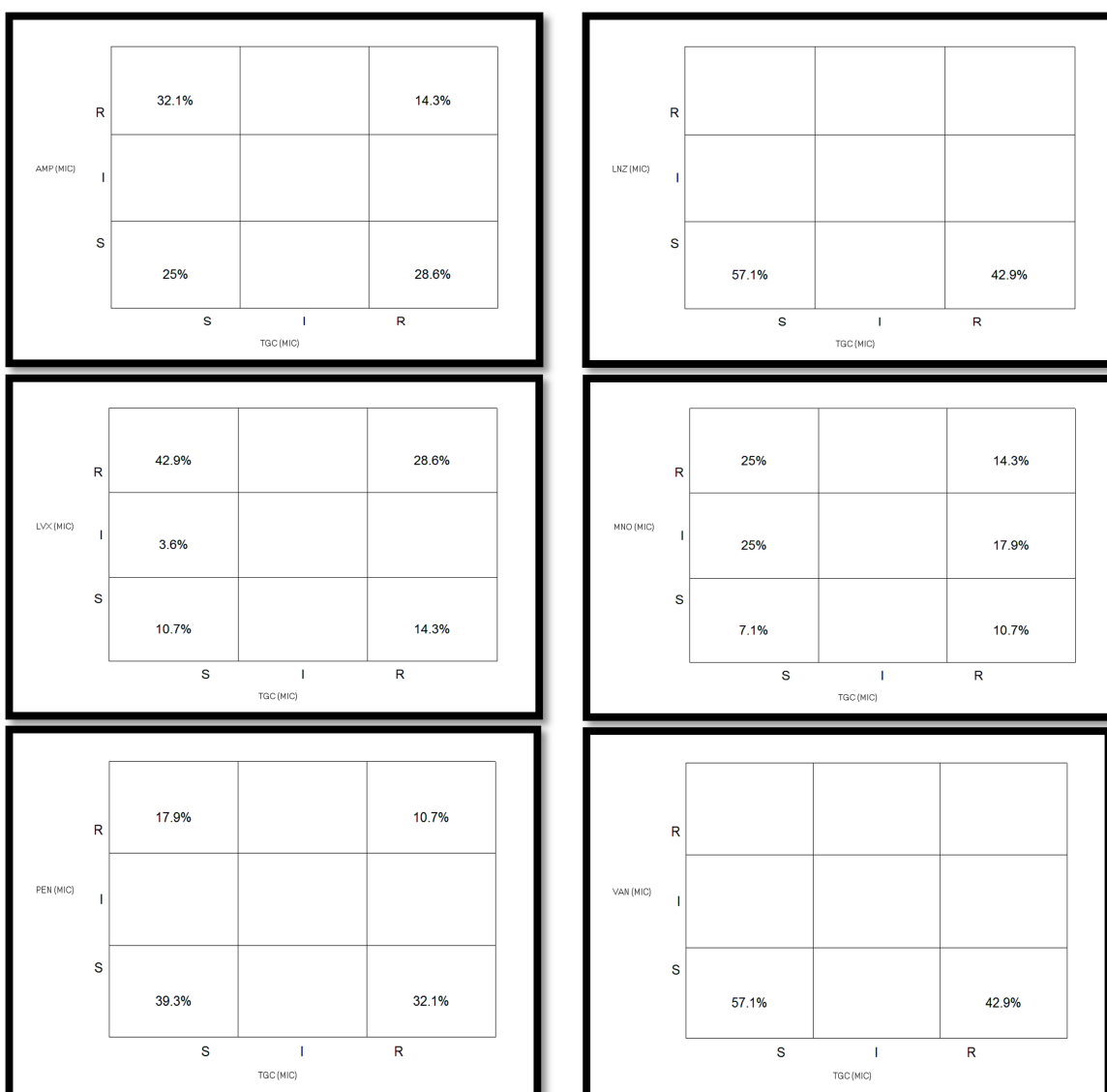


TGC: tigeciclina, AMP: ampicilina, LVX: levofloxacina, LNZ: linezolid; MNO: minociclina, PEN: penicilina, VAN: vancomicina,

Para el grupo *Enterococcus* spp (n=40), el 100% fue susceptible a la tigeciclina, con un CIM₉₀ de 4 mcg/mL. El 46.4% fue resistente a la ampicilina y el 71.4% lo fue a levofloxacina. El 17.9% presentó sensibilidad a la minociclina, el 71.4% presentó sensibilidad a la penicilina y el 100% fue susceptible a linezolid y vancomicina (Anexo 5).

En la gráfica 2 se puede observar que el 25% fue susceptible a ampicilina y tigeciclina. El 42.9% fue resistente a linezolid pero susceptible a tigeciclina. El 57.1% fue susceptible tanto a tigeciclina como a levofloxacina, mientras que el 42.9% fue resistente para levofloxacina, pero susceptible a tigeciclina. El 50% de los aislamientos fueron resistentes a la minociclina pero susceptibles a la tigeciclina. El 17.9% presentó resistencia a la penicilina con sensibilidad a tigeciclina. El 17.9% presentó resistencia a la penicilina con sensibilidad a tigeciclina.

Gráfica 2. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *Enterococcus spp*



TGC: tigeciclina, AMP: ampicilina, LVX: levofloxacina, LNZ: linezolid; MNO: minociclina, PEN: penicilina, VAN: vancomicina

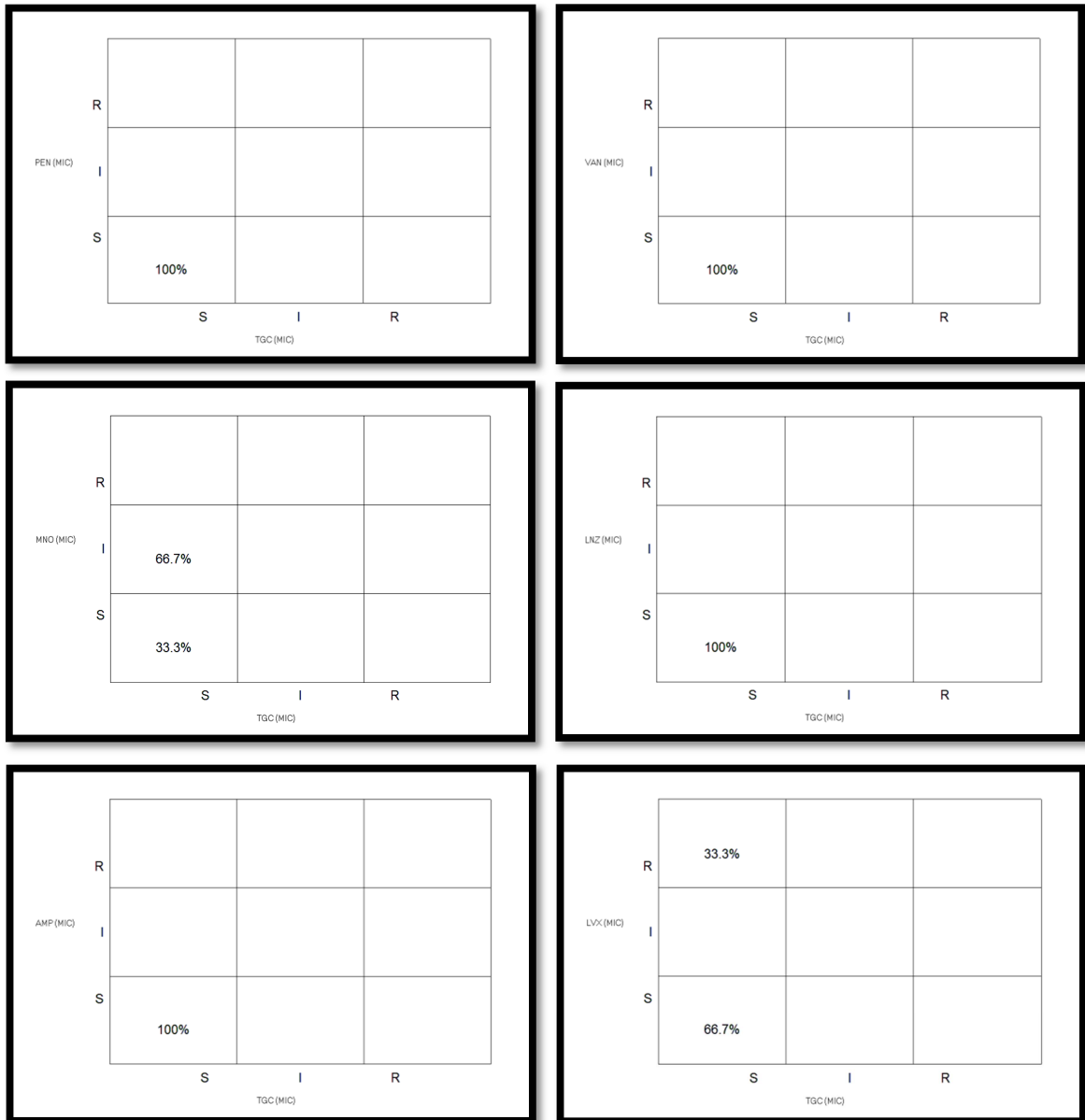
Para *S. agalactiae* (n=10), el 100% de los aislamientos fue susceptible a la tigeciclina, con CIM₅₀, CIM₉₀ de 0.25 y 0.25 mcg/mL respectivamente. De estos el 66.7% lo fue para levofloxacina y 33.3% para minociclina. Para penicilina, ampicilina, vancomicina y linezolid el 100% fue susceptible (Anexo 6). No se han establecido puntos de corte para amoxicilina/ácido clavulánico debido a que aún no se ha reportado resistencia a las penicilinas. Los estreptococos susceptibles a penicilina pueden considerarse susceptibles a otros agentes beta-lactámicos, entre ellos la amoxicilina/ácido clavulánico (Cavalieri, *et al.*, 2005)

En la gráfica 3 se puede observar que el 100% de los aislamientos fueron susceptibles tanto para tigeciclina como para vancomicina, penicilina, linezolid y ampicilina. El 33% fue susceptible tanto para tigeciclina como para minociclina, y el 66.7% lo fue tanto para levofloxacina como para tigeciclina.

De los 270 aislamientos de bacilos gram negativo, *E. coli* (n=54) presentó un 87% de susceptibilidad a tigeciclina, con una CIM₅₀ de 1 mcg/mL y CIM₉₀ de 4 mcg/mL. El 91.8 % fue susceptible a amikacina, el 45.9% lo fue a la levofloxacina y el 100% fue susceptible a meropenem. El 47.5% fue resistente a amoxicilina/ácido clavulánico, el 42.6% fue resistente a minociclina y el 70.5% lo fue para la ceftriaxona (Anexo 7).

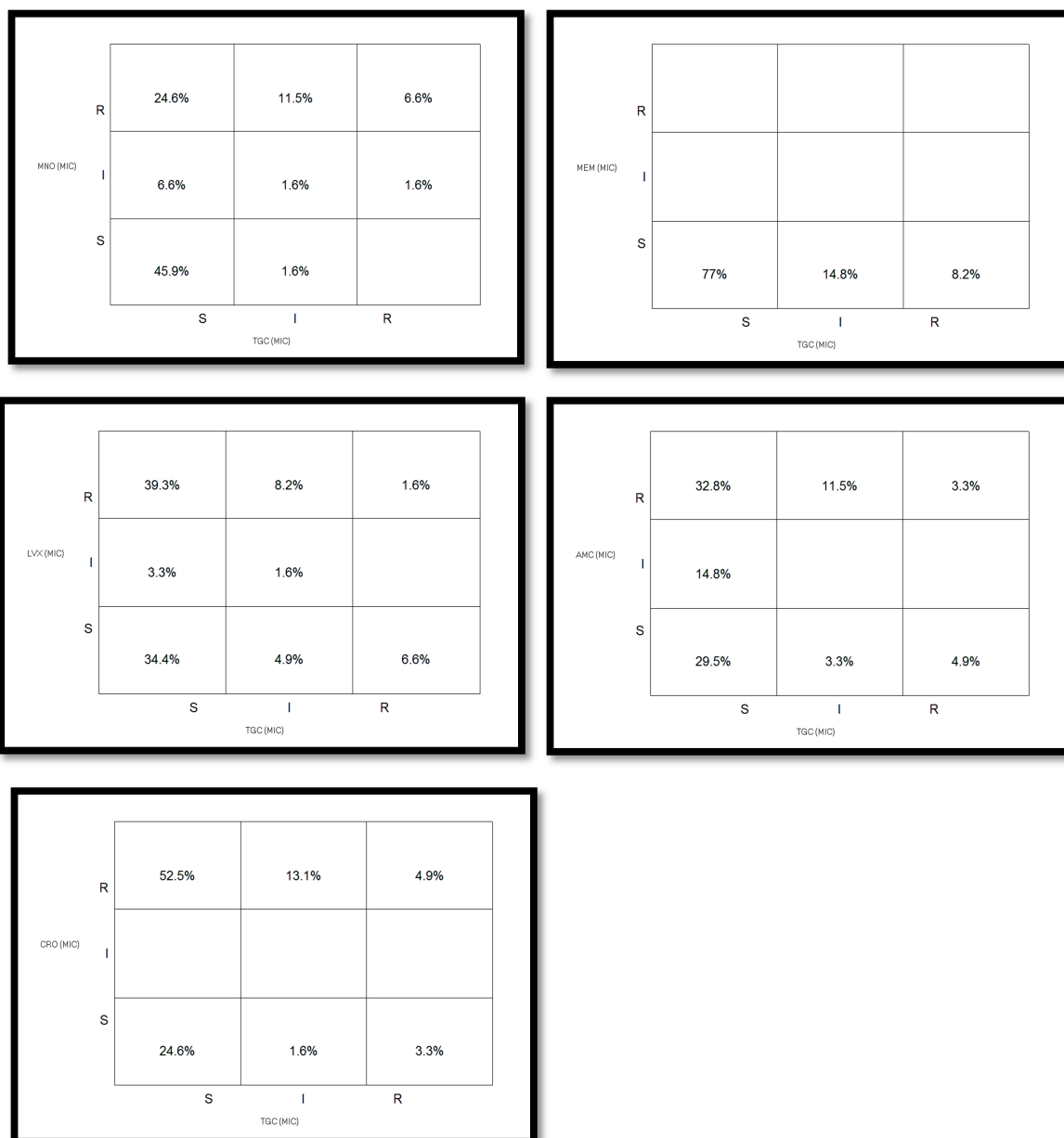
En la gráfica 4 se visualiza que el 52.5% fue susceptible a la tigeciclina y resistente a la ceftriaxona. El 24.6% fue susceptible para ambos antibióticos. El 39.3% fue resistente a la levofloxacina y susceptible a la tigeciclina. De todos los aislamientos susceptibles a meropenem, el 23% no lo fue a la tigeciclina (8.2% fueron resistentes y 14.8% intermedios). El 45.9% fue susceptible a la minociclina, y también a la tigeciclina, mientras que el 24.6% fue susceptible a ambos antibióticos.

Gráfica 3. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *S. agalactiae*



TGC: tigeciclina, AMP: ampicilina, LVX: levofloxacina, LNZ: linezolid; MNO: minociclina, PEN: penicilina, VAN: vancomicina

Gráfica 4. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *E. coli*



TGC: tigeciclina, LVX: levofloxacina, MNO: minociclina, MEM: meropenem, CRO: ceftriaxona, AMC: amoxicilina/ ácido clavulánico

K. pneumoniae (n=54) presentó un 82.3% de susceptibilidad a la tigeciclina, con una CIM₅₀ de 1 mcg/mL y CIM₉₀ de 4 mcg/mL. El 48.9% de los aislamientos fueron susceptibles a la levofloxacina, el 40.4% fue susceptible a la minociclina y el

100% fue susceptible a meropenem. El 59.6% presentó resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico y el 83% a la ceftriaxona (Anexo 8).

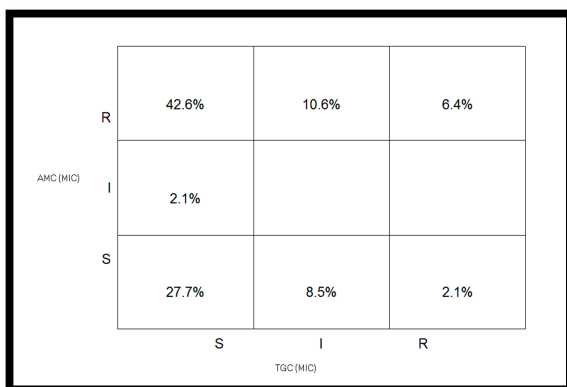
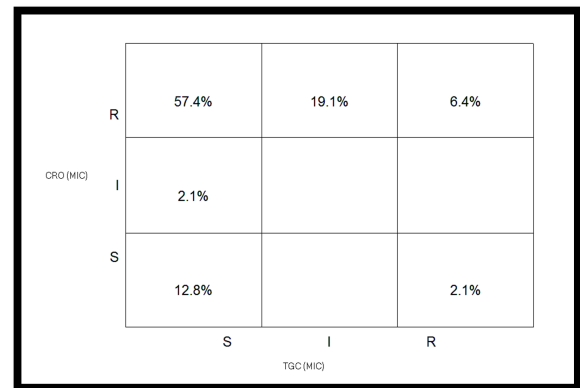
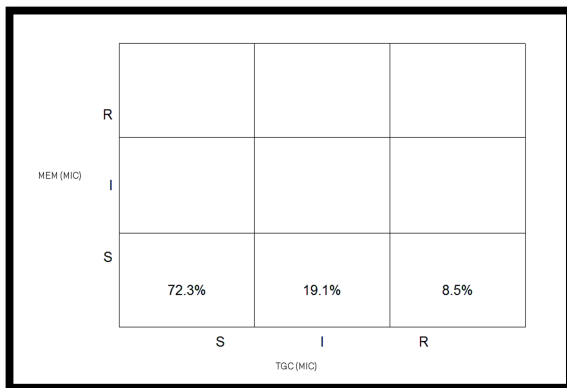
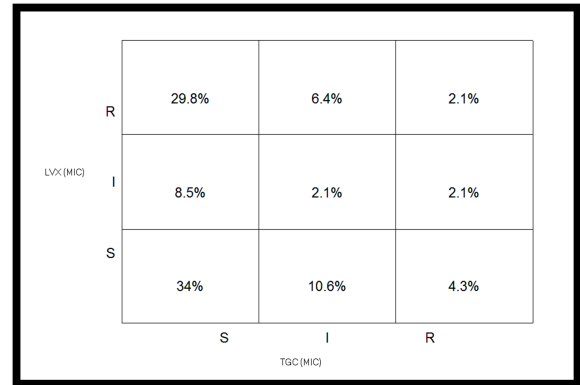
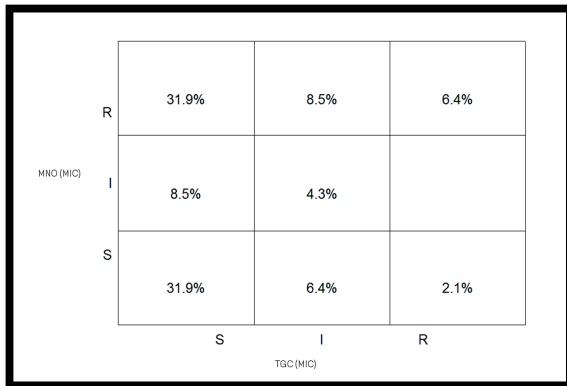
La gráfica 5 muestra que el 42.6% presentó susceptibilidad a tigeciclina siendo resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico. El 29.8% fue susceptible a tigeciclina y resistente a levofloxacin. El 31.9% fue susceptible a tigeciclina y resistentes a minociclina. El 57.4% de los aislamientos fueron resistentes a la ceftriaxona, pero susceptibles a tigeciclina. De los aislamientos susceptibles a meropenem, el 72.3% también lo fue para tigeciclina.

Para *Enterobacter* spp. (n= 41), el 65.5% fue susceptible a la tigeciclina con una CIM₅₀ de 1 mcg/mL y CIM₉₀ de 4 mcg/mL. El 48.2% fue susceptible a ceftriaxona, el 58.6% a la levofloxacin, el 89.7% fue susceptible a la amikacina y el 82.9% lo fue para piperaciclina/tazobactam. El 100% fue susceptible a meropenem. El 58.6% de aislamientos fueron resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico y el 51.7% fue resistente a minociclina (Anexo 9).

En la gráfica 6 se puede observar que el 41.4% de *Enterobacter* spp., fue resistente para amoxicilina/ácido clavulánico y susceptible para tigeciclina. El 34.5% fueron resistentes a ceftriaxona, pero susceptibles a tigeciclina. El 27.6% fue susceptible a tigeciclina y resistente a levofloxacin. De los aislamientos susceptibles a meropenem, el 65.5 % fue también susceptible a tigeciclina. El 31% de los aislamientos resistentes a minociclina fueron susceptibles a tigeciclina.

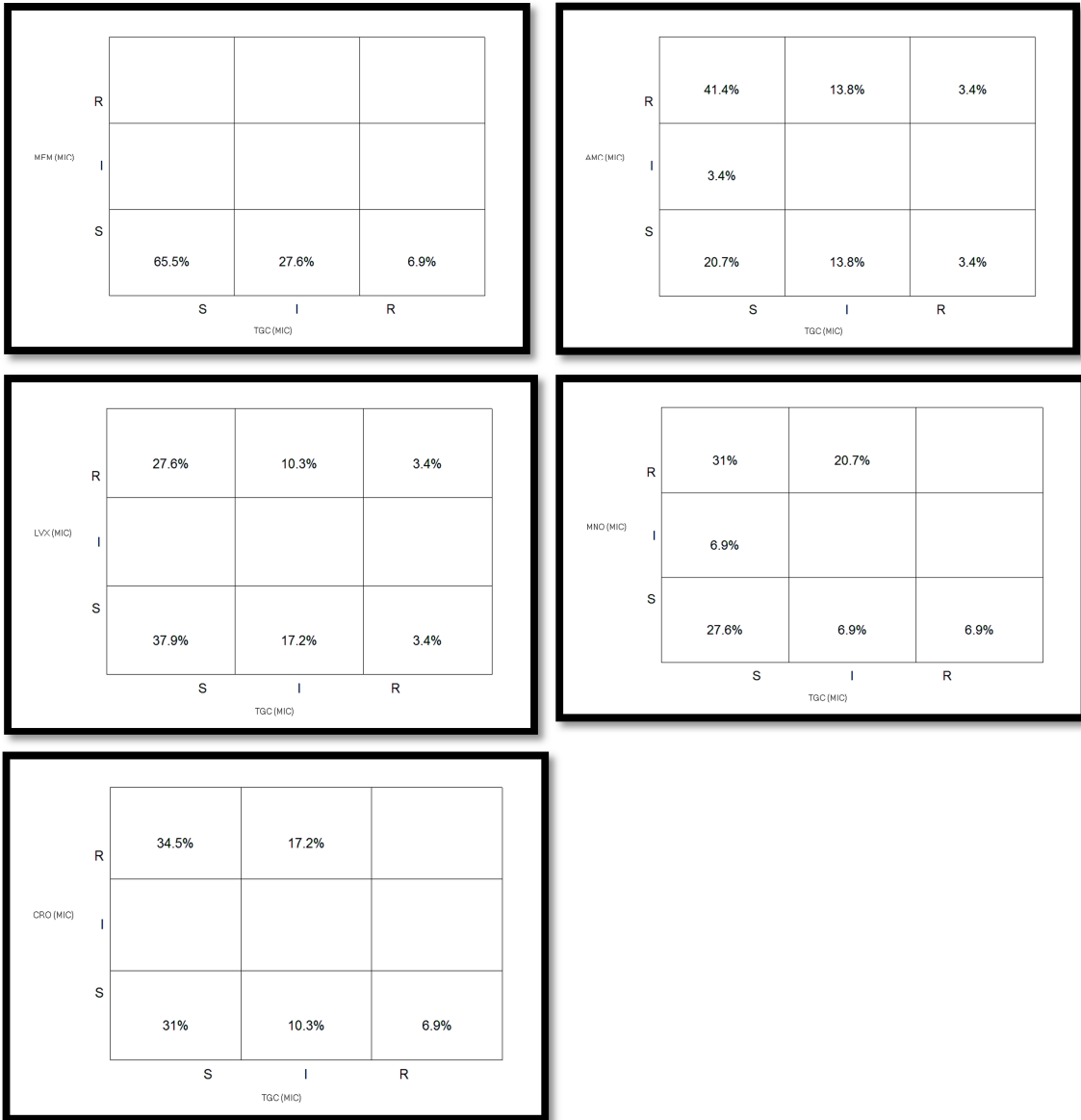
S. marcescens (n=13) presentó un 71.4% de susceptibilidad a la tigeciclina, con una CIM₅₀ y CIM₉₀ de 0.5 y 4 mcg/mL. El 85.7% fue susceptible a levofloxacin y ceftriaxona. El 71.4% fue susceptible a minociclina y el 100% de los aislamientos fue susceptible a meropenem. El 57.1% fue resistente a amoxicilina/ácido clavulánico (Anexo 10).

Gráfica. 5. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *K. pneumoniae*



TGC: tigeciclina, LVX: levofloxacina, MNO: minociclina, MEM: meropenem, CRO: ceftriaxona, AMC: amoxicilina/ ácido clavulánico

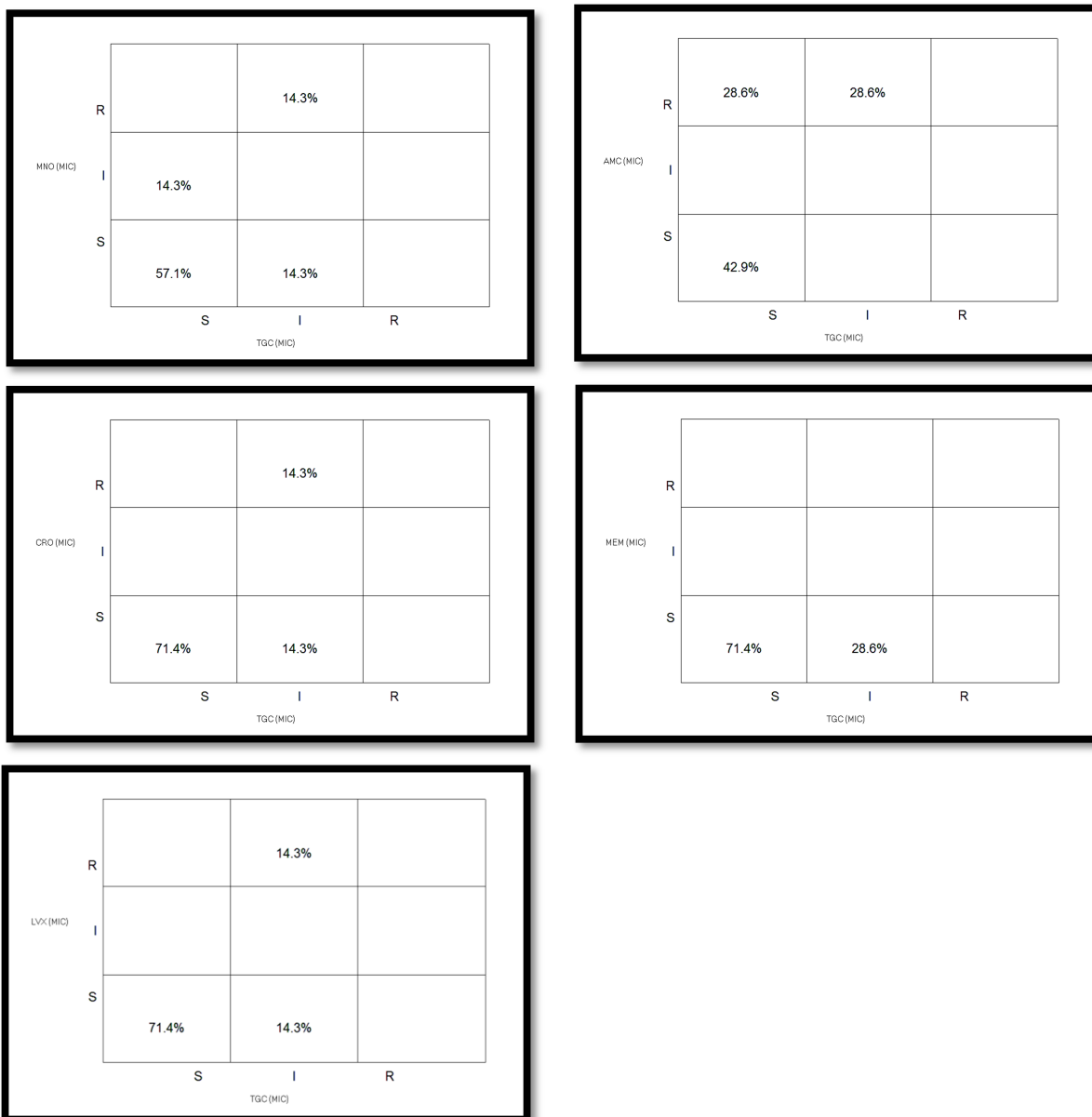
Gráfica 6. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *Enterobacter* spp.



TGC: tigeciclina, AMP: ampicilina, LVX: levofloxacina, LNZ: linezolid; MNO: minociclina, PEN: Penicilina, VAN: Vancomicina, MEM: meropenem, CRO: ceftriaxona, AMC: amoxicilina/ ácido clavulánico

La gráfica 7 muestra que el 28.6% de los aislamientos de *S. marcescens* fue susceptible a tigeciclina y resistente a amoxicilina/ácido clavulánico. El 57.1% fue susceptible a la minociclina y a la tigeciclina. De los aislamientos susceptibles a meropenem, el 71.4% lo fue también para tigeciclina. Se obtuvieron resultados similares para la levofloxacina y para la ceftriaxona (71.4% para ambos antibióticos).

Gráfica 7. Diagramas de dispersión de Tigeciclina contra antibióticos ensayados para *S. marcescens*



TGC: tigeciclina, LVX: levofloxacina, MNO: minociclina, MEM: meropenem, CRO: ceftriaxona, AMC: amoxicilina/ ácido clavulánico

Se obtuvieron 54 aislamientos de *A. baumannii*, la mayoría multirresistentes (Anexo 11). La mayor susceptibilidad antimicrobiana de los antibióticos comparados fue: piperacilina/tazobactam (74%), amikacina (62%), minociclina y meropenem (56%), cefepima (18%). No se disponen aún de puntos de corte para *A. baumannii*,

por lo que el resultado de la CIM no se correlaciona con la interpretación de susceptibilidad *in vitro*. La CIM₅₀ y CIM₉₀ fue de 2 y 16 mcg/mL respectivamente, con un mínimo de 0.06 mcg/mL y un máximo de 64 mcg/mL.

Para *P. aeruginosa* (n=54), al igual que *A. baumannii*, tampoco se dispone de puntos de corte, por lo que el resultado de la CIM no se correlaciona con la interpretación de susceptibilidad *in vitro*. Sin embargo, la CIM₅₀ y CIM₉₀ fue de 16 y 32 mcg/mL respectivamente, con un mínimo de 0.12 mcg/mL y un máximo de 256 mcg/mL. La mayor susceptibilidad antimicrobiana fue: amikacina (75.4%), piperaciclina/tazobactam (44.9%), cefepima (42%) y meropenem (37.7%) (Anexo 12).

La tabla 1, presenta los tipos de muestra de los cuales se obtuvieron las bacterias. Se obtuvo un total de 54 aislamientos de secreciones varias, 46 de fluidos varios, 53 de heridas quirúrgicas, 16 de esputo, 51 de orina, 36 de líquido peritoneal, siete de líquido cefalorraquídeo, 18 de abscesos, cuatro de drenajes, ocho de tejidos, 21 de catéter, 48 de secreción orotraqueal, 11 de úlcera, 20 de hemocultivo y siete de uretra.

Tabla 1. Bacterias aisladas estratificadas por tipo de muestra del cual se obtuvieron

	SV	FV	HQ	Es	Or	LP	LC	Ab	Dr	Tj	Cat	SOT	UI	Hem	Ur	Total
<i>E. coli</i>	6	7	10	-	6	9	-	5	2	3	-	3	2	1	-	54
<i>K. pneumoniae</i>	6	5	3	5	10	7	1	-	-	2	2	8	-	3	2	54
<i>Enterobacter</i> sp.	5	5	2	4	11	5	-	-	-	-	3	4	1	1	-	41
<i>S. marcescens</i>	3	-	3	-	-	1	-	-	-	-	4	2	-	-	-	13
<i>A. baumannii</i>	8	6	6	1	2	2	1	1	1	-	3	16	1	5	1	54
<i>P. aeruginosa</i>	3	7	9	5	5	4		2	-	-	1	8	5	1	4	54
<i>S. aureus</i>	10	9	16	1	3	5	2	8	1	-	8	7	2	8	-	80
<i>S. agalactiae</i>	3	-	-	-	2		2	1	-	1	-	-	-	1	-	10
<i>Enterococcus</i> sp.	10	7	4	-	12	3	1	1	-	2	-	-	-	-	-	40
	54	46	53	16	51	36	7	18	4	8	21	48	11	20	7	400

SV: secreciones varias, FV: fluidos varios, HQ: herida quirúrgica, Es: esputo, Or: orina, LP: líquido peritoneal, LC: líquido cefalorraquídeo, Ab: absceso, Dr: drejane, Tj: tejido, Cat: catéter, SOT: secreción orotraqueal, UI: úlcera, Hem: hemocultivo, Ur: uretra,

En el anexo 13, se observa que *E. coli* presentó susceptibilidad a la tigeciclina del 91% en los aislamientos obtenidos de fluidos varios; un 87% en secreciones varias, un 83% en líquido peritoneal, 84% en absesos y un 78% en heridas quirúrgicas.

K. pneumoniae presentó una susceptibilidad a la tigeciclina del 88% en secreciones varias, un 88% en líquido peritoneal, un 80% en fluidos varios, un 70% en esputos, un 68% en orina, y un 70% en heridas quirúrgicas y un 60% en aislamientos de tráquea (Anexo 14).

Enterobacter spp. presentó una susceptibilidad a la tigeciclina del 100% en heridas quirúrgicas, un 100% en catéter, un 80% en fluidos varios, un 70% en secreciones varias, un 65% en orina y un 60% en líquido peritoneal (Anexo 15).

S. marcescens presentó una sensibilidad a la tigeciclina del 100% en secreciones varias, 100% en líquido peritoneal, un 88% en uretra, un 75% en catéter y un 66% en heridas quirúrgicas (Anexo 16).

S. aureus presentó una sensibilidad a la tigeciclina del 80% en secreciones varias, un 80% en líquido peritoneal, un 75% en heridas quirúrgicas y un 66% en fluidos varios (Anexo 17).

S. agalactiae y *Enterococcus* spp. presentaron una susceptibilidad a la tigeciclina del 100% en todos los tipos de muestras de los cuales se obtuvieron los aislamientos (Anexos 18 y 19 respectivamente).

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las glicilciclinas son una nueva clase de antimicrobianos que superan los mecanismos de defensa comunes que afectan las tetraciclinas y sus derivados. La tigeciclina es la primer glicilciclina en entrar a ensayos clínicos y, por consiguiente, la primera en salir al mercado. Es un agente antimicrobiano que no se afecta, como otras glicilciclinas, por un gran número de mecanismos de defensa bacteriana como producción de beta lactamasas, alteraciones de la ADN girasa y otros que suelen ser utilizados por bacterias aisladas comúnmente en la comunidad o de infecciones nosocomiales (Hoban, Bouchillon, Johnson, Johnson & Dowzicky, 2005), como las encontradas en el presente estudio.

Los resultados para *S. aureus* muestran que la tigeciclina tiene una excelente actividad (90.7% de susceptibilidad con CIM₉₀ de 0.5 mcg/mL) contra ésta bacteria. Estos datos se correlacionan con los de Petersen, Bradford, Weiss, Murphy & Projan (2002), quienes obtuvieron 90% de susceptibilidad para cepas de *S. aureus* con una CIM₉₀ de 0.5-1. En este estudio no se realizó diferenciación entre *S. aureus* meticilino-resistentes y no meticilino resistentes. La tigeciclina presentó una mejor actividad que las cefalosporinas (90.7% de susceptibilidad a tigeciclina contra 9.3% para cefalosporinas). En general, la actividad de la tigeciclina se compara únicamente con la de la vancomicina y el linezolid, para este género bacteriano.

Para el género *Enterococcus* sp., la tigeciclina presentó un 100% de sensibilidad a la misma. La tigeciclina presentó mejor actividad que el linezolid y únicamente la vancomicina presentó resultados similares. Esto se compara con lo obtenido por Sader, Jones, Stilwell, Dowzicky & Fritsche (2005) quienes obtuvieron que la tigeciclina (CM₉₀ <1) era 16 veces más potente que el linezolid (CIM₉₀ >16). *S. agalactiae* presentó una susceptibilidad del 100% contra la tigeciclina. Ésta actividad es comparable con la de las penicilinas, vancomicina y el linezolid, en éste estudio.

Las bacterias gram negativo estudiadas presentaron porcentajes de susceptibilidad altos hacia la tigeciclina. El 87% de los aislamientos de *E. coli* fueron

susceptibles a tigeciclina (CIM₉₀ de 2 mcg/mL). La actividad fue inferior a la de meropenem y amikacina. Sin embargo, presentó mayor actividad que las cefalosporinas, incluyendo la ceftriaxona (3.3% de resistentes a ceftriaxona fueron resistentes a tigeciclina). López (2009) reportó que ningún aislamientos de *E. coli* productoras de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) presentaron resistencia a tigeciclina. Reinert, et al.(2007), reportaron que la tigeciclina, junto con imipenem, fueron los antibióticos más activos contra *E. coli*, con una susceptibilidad del 99.99%, con dos aislamientos en el punto intermedio 2 mcg/mL. Aislamientos con una CIM de 2 mcg/mL fueron reportados en estudios realizados en Europa y América (Betriu, Rodríguez-Avial, Sánchez, Alvarez & Picazo, 2002). La actividad de la tigeciclina contra el género *Enterobacter* sp., fue efectiva en un 65.5% y fue inferior a la presentada por la amikacina, piperaciclina/tazobactam y meropenem. Sin embargo presentó una mejor actividad que la ceftriaxona y la levofloxacin. Reinert, et al. (2007) reportó un rango de susceptibilidad a la tigeciclina, imipenem y amikacina entre 89% y 100% entre los aislamientos de *Enterobacter* sp., y una total resistencia a la ampicilina y amoxicilina/ácido clavulánico. Esto concuerda con lo obtenido en éste estudio.

El 82.3% de *K. pneumoniae* fueron susceptibles a tigeciclina (CIM₉₀ de 2 mcg/mL). Su actividad fue inferior a la de meropenem y amikacina, pero mayor al resto de antibióticos probados. Esto concuerda con lo reportado por Hoban, et al., (2005) donde la tigeciclina fue activa contra aislamientos de *K. pneumoniae* con una CIM₉₀ DE 2 mcg/mL, y que solamente dos agentes, amikacina e imipenem demostraron susceptibilidad arriba de 80%. La tigeciclina presentó una mayor actividad que las cefalosporinas, incluyendo la ceftriaxona (2.1% de resistentes a ceftriaxona fueron resistentes a tigeciclina). Esto concuerda con López (2009) quien reportó que del total de *K. pneumoniae* BLEE positivo, el 4.3% fueron resistentes a tigeciclina. Bossó-Ribelles, et al. (2007) reportó que se ha detectado cierto grado de resistencia plasmídica hacia la tigeciclina en *K. pneumoniae*.

Se obtuvo un 71.4% de susceptibilidad a la tigeciclina para *S. marcescens* (CIM₉₀ ≤ 4 mcg/mL). Tanto meropenem, cefepime, como amikacina, presentaron una

mayor actividad (100% de susceptibilidad). La actividad del resto de antibióticos ensayados fue menor que la de tigeciclina. Milatovik, Schmitz, Verhoef & Fluit (2003) y Sader, *et al.* (2005) reportaron que la tigeciclina mostró una alta actividad contra miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, con la excepción de *Proteus* spp y *S. marcescens* (CIM₉₀ de 4 mcg/ml). Bosso-Ribelles, *et al.* (2007) reportó que *Proteus* spp. es menos sensible a la tigeciclina, ya que ésta sigue siendo vulnerable a las bombas de flujo de salida de múltiples fármacos que son codificadas por este género bacteriano.

A. baumannii, principal causante de infecciones nosocomiales, mostró una CIM₉₀ de 16 mcg/mL. Actualmente la CLSI no ha aprobado puntos de corte para considerar a *A. baumannii* susceptible o resistente a tigeciclina. En un estudio realizado por Pachón-Ibáñez, Jiménez-Mejías, Pichardo, Llanos & Pachón (2004) utilizando como puntos de corte para tigeciclina, los establecidos para bacilos gram negativo no pertenecientes a la familia de las enterobacterias (susceptible ≤ 2 mcg/mL y resistente ≥ 8 mcg/mL) se determinó que el 92% de cepas de *A. baumannii* fueron susceptibles a tigeciclina, con una CIM₉₀ de 2 mcg/mL. Tomando como referencia los puntos de corte antes mencionados, se tiene que las cepas *A. baumannii* ensayadas, son resistentes (100%) a la tigeciclina, pero la actividad es similar a la de amikacina y minociclina.

Para *P. aeruginosa* se obtuvo una CIM₉₀ de 32 mcg/ml, lo cual confirma la escasa actividad de la tigeciclina contra esta bacteria. Las bombas de eflujo codificadas en los cromosomas están asociadas con la disminución en la actividad *in vitro* de la tigeciclina contra *P. aeruginosa* (Noskin, 2005; Livemore. 2005). Su actividad fue similar a la de minociclina (CIM₉₀ de 32 mcg/ml para ambos), lo cual confirma la existencia de un mecanismo de resistencia para ésta familia de antibióticos. Milatovik *et al.*(2003) encontró que contra *P. aeruginosa*, ni la tigeciclina ni la minociclina tienen una actividad relevante.

Los datos de resistencia obtenidos para tigeciclina en enterobacterias y *A. baumannii*, pudieron deberse a que uno de los principales motivos de la variabilidad de

los valores de CIM para la tigeciclina, es la concentración de ciertos cationes metálicos presentes en los medios de cultivo para hacer los ensayos. Algunos autores refieren el hecho de que a mayores concentraciones de manganeso, hay mayor inactivación del antibiótico, provocando así la obtención de falsas resistencias (Tenorio-Abreu, et al., 2010)

Los resultados obtenidos para la actividad de la tigeciclina, comparados contra un antibiótico de la misma familia, la minociclina; fueron superiores para todos los géneros bacterianos gram negativo (CIM₉₀ de 2 mcg/ml contra CIM₉₀ de 32 mcg/ml) y gram positivo (CIM₉₀ 0.5 mcg/ml contra CIM₉₀ 16 mcg/ml) estudiados. Por lo tanto esto demuestra que ya sea por su estructura molecular o mecanismo de acción, no se ha demostrado que los mecanismos de resistencia contra las tetraciclinas, tengan efecto sobre la tigeciclina (Noskin, 2005)

Los aislamientos obtenidos en este estudio, provenientes de heridas quirúrgicas, secreciones varias, líquido peritoneal, abscesos, tejidos, úlceras y hemocultivos presentaron una mayor sensibilidad a la tigeciclina. Los estudios y las indicaciones aprobadas por las agencias reguladoras dirigen al tratamiento con tigeciclina hacia infecciones intrabdominales, de piel y tejidos blandos, tanto hospitalarias como adquiridas en la comunidad, incluyendo apendicitis complicadas, abscesos intrabdominales, infecciones profundas de tejidos blandos, quemaduras y úlceras infectadas (Gobernado, 2006).

En general, los géneros bacterianos estudiados, tanto gram positivo como gram negativo, presentaron una mayor susceptibilidad a la tigeciclina. Aunque se obtuvieron resultados de resistencia para la misma y hubo antibióticos que presentaron un mayor porcentaje de susceptibilidad (linezolid, vancomicina, imipenem y amikacina), ésta puede considerarse una posible opción terapéutica; por lo que se debería de continuar con los estudios sobre la misma y ampliar el conocimiento que se tiene de su actividad contra bacterias guatemaltecas.

IX. CONCLUSIONES

- A. Para las bacterias gram positivo estudiadas, *S. aureus* presentó un 90.7 % de susceptibilidad (CIM₉₀ de 0.5 mcg/mL) y para *Enterococcus* sp. y *S. agalactiae* un 100% de susceptibilidad (CIM₉₀ de 4 mcg/mL y 0.25 mcg/mL respectivamente) a la tigeciclina.
- B. Las enterobacterias gram negativo estudiadas (*E. coli*, *Enterobacter* sp, *K. pneumoniae* y *S. marcescens*) presentaron un porcentaje de susceptibilidad a tigeciclina de 60-75% con una CIM₉₀ de 2 mcg/mL para todas las especies.
- C. Para *A. baumannii* y *P. aeruginosa* se obtuvieron una CIM₅₀ y CIM₉₀ de 2 y 16 mcg/ml respectivamente.
- D. La tigeciclina presentó un mayor porcentaje de susceptibilidad que las penicilinas, cefalosporinas y quinolonas ensayadas, tanto para bacterias gram positivo como para bacterias gram negativo.
- E. La tigeciclina tuvo porcentajes de susceptibilidad igual o menores que los obtenidos para meropenem, vancomicina y linezolid para las bacterias gram positivo; y que meropenem, amikacina y piperacilina/ tazobactam para las bacterias gram negativo.
- F. La actividad de la tigeciclina, comparada contra un antibiótico de la misma familia, la minociclina; fue superior para todos los géneros bacterianos ensayados, con excepción de *P. aeruginosa*.

X. RECOMENDACIONES

- A. Incluir en el estudio a *K. oxytoca* y *K. ozanae*, ya que son las dos especies más comunes después de *K. pneumoniae*.
- B. Incluir en el muestreo únicamente las especies de *Enterococcus* spp patógenas del hombre.
- C. Identificar en el estudio bacterias que presenten mecanismos de multirresistencia.
- D. No incluir aislamientos de pacientes que asisten a la consulta externa debido a que éstas no son bacterias nosocomiales.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, J., Paterson, D., & Peleg, A. (2007). Tigecycline efflux as a mechanism of nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51(6), 2065-2069.
- Alcamo, E. (Ed. 2000). *Fundamentals of Microbiology*. (9a. ed.). Estados Unidos: Lones and Bartlett Publishers Inc. p. 111-115
- Barrientos, T., Ruy, J., Solano, S., y Vasquez-López, R. (2010). Efecto inhibitorio del cultivo de *Klebsiella pneumoniae* sobre la proliferación de linfocitos humanos. *Revista Panamericana de Infectología* 12 (1), 23-27.
- Betriu, C., Rodríguez-Avial, I., Sánchez, B. Alvarez, J., & Picazo, J. (2002). *In vitro* activities of tigecycline (GAR-936) against recently isolated clinical bacteria in Spain. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 46, 892–895.
- Bosó-Ribelles, V., Romá-Sánchez, E., Salavert-Lletí, M., Hernández-Martí, V., y Póveda-Andrés, J. (2007). La tigeciclina, el primer antibiótico de una nueva clase: las gliciliclinas. *Revista Española de Quimioterapia* 20 (1), 19-35.
- Bou, G., Cervero, G., Domínguez, A., Quereda, C., & Martínez-Beltran, J. (2000). Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hidrolizing enzyme: high level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of β -lactamases. *Journal of Clinical Microbiology* 38(9), 3299-3305.

- Brooks, G., Botel, J., y Morse, S. (Ed. 2005). Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. (18a. ed.). México: El Manual Moderno. p. 53 – 62, 119 - 121.
- Cavaliere, S., Harbeck, J., y McCarter, Y. (Ed. 2005). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana (3a. ed.). Organización Panamericana de la Salud. p. 93-114 .
- Curcio, D. e Istúriz, R. (2006). Tigeciclina, la primera glicilciclina. *Revista Panamericana de Infectología* 8(3), 35-42.
- Diomedi, A. (2005). Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente: consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. *Revista Chilena de Infectología* 22 (4), 298-320.
- Dossi, M., Escalona, M., Fernández, A., Fernández, J., Leiva, C., Serrano, C.,... Silva, A. (2002). *Serratia marcescens*: Descripción de un brote hospitalario. *Revista Chilena de Infectología* 19(4), 262-266.
- Echeverri, T., Lina, M., y Catano, J. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Revista IATREIA* 23(3), 240-249.
- Espinoza, L. (2007). Determinación de mecanismos de resistencia en cepas de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella* y *Providencia* obtenidas del laboratorio de microbiología del Hospital General San Juan de Dios. (Tesis de graduación) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala.

- Felipe, E. (2010). Determinación de metaloenzimas en asilamientos de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes del Hospital General San Juan de Dios. (Tesis de graduación) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Gil, M. (2000). *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Revista Chilena de Infectología* 17(2), 145-152.
- Gobernado, M. (2006). Resistencia bacteriana y un nuevo antibiótico: la Tigeciclina. *Revista Española de Quimioterapia* 19(3), 209-219.
- Fong, H. (2013). Información general del Hospital Nacional San Juan de Dios. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Recuperado el 20 de febrero del 2013, de http://www.hospitalsanjuandediosguatemala.com/info_general.shtml
- Foster, S., Harris, L., & Richards R. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesions in relation to adhesion to biomaterials: review. *European Cells and Materials* 4, 39-60.
- Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., & Tenover, F. (1997). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 40, 135-136.

- Hoban, D., Bouchillon, S., Johnson, B., Johnson, J., & Dowzicky, M. (2005). *In vitro* activity of tigecycline against 6792 gram negative and gram positive clinical isolates from the global tigecycline evaluation and surveillance trial (TEST Program, 2004). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 52, 215-227.
- Itzep, V. (2005). Determinación de beta-lactamasas de espectro extendido en *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* aislados de pacientes del Hospital General San Juan de Dios. (Tesis de graduación) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Koneman, E., Winn, W., Procop, G., Allen, S., Schreckenberger, P., Janda, W., y Woods, G. (Ed. 2008). Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas a color (6a. ed.). Estados Unidos: Editorial Médica Panamericana. p. 1225-1228.
- Kühn, I. (2005). Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant enterococci in animals, humans, and the environment in different european regions. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9), 5383-5390.
- Lefort, A., Mentre, F., Panhard, X., Olivier, C., Woerther, P. & Wolf, M. (2011). Host factors and portal of entry outweigh bacterial determinant to predict the severity of *Escherichia coli* bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology* 9(3), 777-783.
- Lincopan, N., McCulloch, J., & Reinert, C. (2005). First isolation of metallo- β -lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology* 43(1), 516-519.

- Livermore, D. (2005). Tigecycline: what is it, and where should it be used? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 611-614.
- Llop-Hernández, A., Valdés-Dapena, V., y Zuazo, S. (Ed. 2001). Microbiología, Parasitología Médicas Tomo I (3a. ed.). Cuba: Editorial Ciencias Médicas. p. 375-378
- López, J. (2009). Actividad *in vitro* de la tigeciclina en cepas bacterianas cultivadas en muestras clínicas de pacientes atendidos en un hospital universitario. *Medicina UPB* 28(2), 105-111.
- Manzur, A. Tubau, F. Pujol, M. Catayud, L. Peña, C. Sora, M. & Gudiol, F. (2007). Nosocomial outbreak due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a cardiothoracic intensive care unit. *Journal of Clinical Microbiology* 45(8), 2365-2369.
- Marroquín, C. (2009). Determinación de metaloenzimas en aislamientos de *Acinetobacter* spp. en el Hospital San Juan de Dios. (Tesis de graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Mazariegos, M. (2007). Determinación de la prevalencia de beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* del Hospital General San Juan de Dios. (Tesis de graduación) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Mella, S. y Muñoz, M. (2009). Tigeciclina: aspectos estructurales, farmacocinéticos y farmacodinámicos. *Revista chilena de Infectología* 26 (1), 10-12.

- Milatovik, D., Schmitz, F., Verhoef, J., & Fluit, A. (2003). Activities of the glycylicycline tigecycline (GAR-936) against 1,924 recent european clinical bacterial isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47(1), 400-404.
- Muslin, I., Jensen, V., Schilling, J., Ashdown, B., & Tyler, K. (2010). *Enterobacter cloacae* infection of an expanded polytetrafluoroethylene femoral-popliteal bypass graft: a case report. *Journal of Medical Case Reports* 4 (131), 235-241.
- Noskin, G. (2005). Tigecycline: A new glycylicycline for treatment of serious infections. *Clinical Infectious Diseases* 41, 303-314.
- Ortiz, F., Morales, I., Acevedo, A., Figueroa, J., Benítez, A., Aldrete, J. y Luna, D. (2009). El reto de la resistencia bacteriana en México: los beneficios de contar con una nueva alternativa de manejo antimicrobiano eficaz. *Medicina Interna de México* 25(5), 361-71.
- Oteo, J., Navarro, C., Cercenado, C., Delgado, A., Wilhelmi, I., Orden, B. & García, C. (2006). Spread of *Escherichia coli* strains with height level cefotaxime and ceftazidime resistance between the community, long-term care facilities, and hospital institutions. *Journal of Clinical Microbiology* 44 (7), 2359-2366.
- Pachón-Ibañez, M., Jiménez-Mejías, M., Pichardo, C., Llanos, A., & Pachón, J. (2004). Activity of tigecycline (GAR.936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (11), 4479-4481.

- Pavalencino, R. (2001). Puesta al día en enterococos- año 2001: Identificación de especies y estudio de susceptibilidad antimicrobiana. *Revista Chilena de Infectología* 18(2), 95-100.
- Pankey, G. (2005). Tigecycline. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 470-480.
- Paz, J. (2005). Determinación de los mecanismos de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* aislados de muestras biológicas en el Hospital General San Juan de Dios. (Tesis de graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Petersen, P., Bradford, P., Weiss, W., Murphy, T., & Projan, S. (2002). *In vitro* and *In vivo* activities of tigecycline (GAR-936), daptomycin, and comparative antimicrobial agents against glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* and other resistant gram positive pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46(48), 2595-2691.
- Reinert, R., Donald, E., Rossi, F., Zhang, X., Wattal, C., & Dowzicky, J. (2007). Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60, 1018-1029.
- Rodríguez-Baño J., Cisneros, J., Moreno, I., Salas, J., y Pascual, A. (2004). Documento de consenso sobre el manejo clínico de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en adultos. *Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas* 21, 6-9.

- Rodríguez-Baño, J., Picón, E., Gijón, P., Hernández, J., Cisneros, J., Peña, C,... Almirante, M. (2010). Risk factors and prognosis of nosocomial bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology* 48(5), 1726-1731.
- Rosales, M. (2005) Determinación del patrón de susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp., aisladas en muestras de las salas del Hospital General San Juan de Dios. (Tesis de graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala.
- Sader, H., Jones, N., Stilwell, M., Dowzicky, M., & Fritsche, T. (2005). Tygecycline activity tested against 26,474 bloodstream infection isolates: a collection from 6 continents. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 52, 181-186.
- Sander, H. (2002). Enterococos resistentes a vancomicina: ¿Infección emergente inminente? *Revista Chilena de Infectología* 19(1), S50-S55.
- Sanders, W. & Sanders, C. (1997). *Enterobacter* spp: patogens poised to flourish at the turn of the century. *Clinical Microbiology Reviews* 10(2), 220-241.
- Seija, V. y Vignoli, R. (2008). Principales tipos de antibióticos en: temas de bacteriología y virología médica. Montevideo: FEFMUR. p. 631-632.
- Su, L., Ou, J., Leu, H., Chiang, P., Chiu, Y., Chia, J... Sun. C. (2003). Extended epidemic of nosocomial urinary tract infections caused by *Serratia marcescens*. *Journal of Clinical Microbiology* 41(3), 4726-4732.

Taroco, R., Seija, V., y Vignoli, R. (2008). Métodos de estudio de la susceptibilidad antibiótica en: Temas de Bacteriología y Virología Médica. Montevideo: FEFMUR. p. 663-664

Tenorio-Abreu, A., Eiros, J., Rodriguez, M., Ojeda, A., Bobillo, F., Dominguez, M., y Ortiz, R. (2010). Variabilidad en la sensibilidad de tigeciclina frente a *Acinetobacter baumannii* en diferentes medios de cultivo. *Revista Española de Quimioterapia* 23(2), 76-80.

Torres, H., Vásquez, E., Yagüet, G., y Gómez, J. (2010). *Acinetobacter baumannii* multirresistente: situación clínica actual y nuevas perspectivas. *Revista Española de Quimioterapia* 23(1), 12-19.

Wyeth Pharmaceuticals. (2008). Protocolo de estudio del laboratorio de microbiología en Vigilancia de la evaluación de la Tigeciclina. Estados Unidos: International Health Management Associates. p. 20-45.

XII. ANEXOS

- A. Anexo 1:** Formulario para información de aislamientos
Recolectados para Microorganismos gram positivo
- B. Anexo 2:** Formulario para información de aislamientos
Recolectados para Microorganismos gram negativo
- C. Anexo 3:** Descripción de pacientes por tipo de servicio y género
- D. Anexo 4:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *S. aureus* (n=80)
- E. Anexo 5:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *Enterococcus* spp. (n=40)
- F. Anexo 6:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *S. agalactiae* (n= 10)
- G. Anexo 7:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *E. coli* (n=54)
- H. Anexo 8:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *K. pneumoniae* (n=54)
- I. Anexo 9:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *Enterobacter* spp. (n=41)
- J. Anexo 10:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *S. marcescens* (n = 13)
- K. Anexo 11:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *A. baumannii* (n = 54)
- L. Anexo 12:** Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *P. aeruginosa* (n = 54)

- M. Anexo 13:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *E. coli* por tipo de muestra
- N. Anexo 14:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *K. pneumoniae* por tipo de muestra
- O. Anexo 15:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *Enterobacter spp.* por tipo de muestra
- P. Anexo 16:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *S. marscecens* por tipo de muestra
- Q. Anexo 17:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *S. aureus* por tipo de muestra
- R. Anexo 18:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *S. agalactiae* por tipo de muestra
- S. Anexo 19:** Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *Enterococcus spp.* por tipo de muestra

Anexo 1

Formulario para información de aislamientos Recolectados para Microorganismos Gram Positivo

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Biológica
Departamento de Microbiología

Seminario de investigación

“Actividad inhibitoria *in vitro* de la Tigeciclina sobre bacterias gram positivo (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp. y *Streptococcus agalactiae*) y gram negativo (Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp.) de pacientes que asisten al Hospital General San Juan de Dios”

Formulario para información de aislamientos recolectados Microorganismos gram positivo

Aislamiento No.

Nombre del paciente: _____ No. WalkAway: _____

Género: _____ Servicio: _____ Tipo de muestra: _____

Microorganismo aislado: _____

Antibiótico	CIM	Resultado
Amoxicilina/Ácido Clavulánico		
Piperacilina/Tazobactam		
Levofloxacin		
Ceftriaxona		
Linezolid		
Minociclina		
Vancomicina		
Ampicilina		
Penicilina		
Tigeciclina		
Meropenem		

Para llenar el formulario, en la casilla CIM Anotar la concentración mínima inhibitoria, y en la casilla de Resultado si es Susceptible, intermedio o resistente.

Anexo 2

Formulario para información de aislamientos Recolectados para Microorganismos Gram Negativo

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Biológica
Departamento de Microbiología

Seminario de investigación

“Actividad inhibitoria *in vitro* de la Tigeciclina sobre bacterias gram positivo (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp. y *Streptococcus agalactiae*) y gram negativo (Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* sp.) de pacientes que asisten al Hospital General San Juan de Dios”

Formulario para información de aislamientos recolectados Microorganismos gram negativo

Aislamiento No.

Nombre del paciente: _____ No. WalkAway: _____

Género: _____ Servicio: _____ Tipo de muestra: _____

Microorganismo aislado: _____

Antibiótico	CIM	Resultado
Amoxicilina/Ácido Clavulánico		
Piperacilina/Tazobactam		
Levofloxacina		
Ceftriaxona		
Cefepime		
Ampicilina		
Amikacina		
Minociclina		
Ceftazidima		
Tigeciclina		
Meropenem		

Para llenar el formulario, en la casilla CIM Anotar la concentración mínima inhibitoria, y en la casilla de Resultado si es Susceptible, intermedio, o resistente.

Anexo 3
Descripción de pacientes por tipo de servicio y género

Servicio	Masculino	Femenino	TOTAL	%
Medicina	57	65	122	30.5
Cirugía	60	26	86	21.5
Unidad de Cuidados Intensivos	49	16	65	16.25
Emergencia	28	21	49	12.25
Consulta externa	10	11	21	5.25
Traumatología	8	2	10	2.5
Unidad de Cuidados coronarios	9	0	9	2.25
Urología	3	6	9	2.25
Pos operatorios	6	1	7	1.75
Cardiología	2	3	5	1.25
Neurología	3	2	5	1.25
Ginecología	0	4	4	1
Unidad de Cuidados Intermedios	4	0	4	1
Unidad de Cuidados Progresivos	2	1	3	0.75
Séptico	0	1	1	0.25
Total	241	159	400	100

Anexo 4
Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *S. aureus* (n=80)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte		Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 4	R ≥ 8	60	85.6		0	40	14.4	8	16
Ampicilina	S ≤ 0.25	R ≥ 0.5	70	100	0	0	0	0	16	32
Ceftriaxona	S ≤ 1	R ≥ 4	61	87.6	2	3.1	37	9.3	64	128
Levofloxacina	S ≤ 1	R ≥ 4	60	85.6	1	1	9	13.4	32	64
Linezolid	S ≤ 4	R ≥ 8	0	0	0	0	0	100	2	4
Meropenem	S ≤ 4	R ≥ 16	37	52.6	11	15.5	22	32	16	32
Minociclina	S ≤ 4	R ≥ 16	9	12.4	14	18.6	47	69.1	2	16
Penicilina G	S ≤ 0.125	R ≥ 0.25	70	100	0	0	0	0	8	16
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 8	R ≥ 16	58	82.5	0	0	12	17.5	16	32
Tigeciclina	S ≤ 0.5		7	9.3	0	0	63	90.7	0.25	0.5
Vancomicina	S ≤ 2	R ≥ 16	0	0	0	0	70	100	1	1

%R: porcentaje resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

Anexo 5

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *Enterococcus* spp. (n=40)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte		Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8	R ≥ 32	0	0	0	0	40	100	2	8
Ampicilina	S ≤ 8	R ≥ 16	19	46.4	0	0	21	53.6	8	32
Ceftriaxona	S ≤ 1	R ≥ 4	37	92.9	0	0	3	7.1	64	128
Levofloxacina	S ≤ 2	R ≥ 8	29	71.4	1	3.6	10	25	2	2
Linezolid	S ≤ 2	R ≥ 8	0	0	0	0	40	100	32	64
Meropenem	S ≤ 4	R ≥ 16	17	42.9	14	35.7	9	21.4	8	32
Minociclina	S ≤ 4	R ≥ 16	16	39.3	17	42.9	7	17.9	8	16
Penicilina G	S ≤ 8	R ≥ 16	11	28.6	0	0	29	71.4	8	16
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 0.25	R ≥ 0.5	17	42.9	0	0	23	57.1	0.25	0.5
Tigeciclina	S ≤ 16	R ≥ 128	0	0	0	0	40	100	2	4
Vancomicina	S ≤ 4	R ≥ 32	0	0	0	0	0	100	1	2

%R: porcentaje resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

Anexo 6

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *S. agalactiae* (n= 10)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte		Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amoxicilina/Ácido clavulánico	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.125	0.125
Ampicilina	S ≤ 0.25		0	0	00	0	10	100	0.125	0.25
Ceftriaxona	S ≤ 0.5		0	0	0	0	10	100	0.125	0.5
Levofloxacina	S ≤ 2	R ≥ 8	4	33.3	0	0	6	66.7	0.5	64
Linezolid	S ≤ 2		0	0	0	0	10	100	1	2
Meropenem	S ≤ 0.5		0	0	0	0	10	100	0.125	0.5
Minociclina	S ≤ 4	R ≥ 16	0	0	7	66.7	3	33.3	8	8
Penicilina G	S ≤ 0.125		0	0	0	0	10	100	0.064	0.125
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 16	R ≥ 128	0	0	0	0	10	100	0.5	16
Tigeciclina	S ≤ 0.25	R ≥ 0.5	0	0	0	0	10	100	0.25	0.25
Vancomicina	S ≤ 1		0	0	0	0	10	100	0.5	1

%R: porcentaje resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

ND: No Determinado

Anexo 7

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *E. coli* (n=54)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amikacina	S ≤ 16 R ≥ 64	4	8.2	0	0	50	91.8	4	16
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8 R ≥ 32	26	47.5	8	14.8	20	37.7	16	64
Ampicilina	S ≤ 8 R ≥ 32	50	93.4	0	0	4	6.6	32	64
Cefepima	S ≤ 8 R ≥ 32	39	72.1	1	1.6	14	24.6	8	64
Ceftazidima	S ≤ 4 R ≥ 16	38	70.5	4	8.2	12	21.3	32	64
Ceftriaxona	S ≤ 1 R ≥ 4	38	70.5	0	0	16	29.5	64	128
Levofloxacina	S ≤ 2 R ≥ 8	27	49.2	3	4.9	25	45.9	4	16
Meropenem	S ≤ 4 R ≥ 16	0	0	0	0	54	100	0.5	4
Minociclina	S ≤ 4 R ≥ 16	23	42.6	5	9.8	26	47.5	8	32
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 16 R ≥ 128	11	19.7	6	11.5	37	68.9	8	128
Tigeciclina	S ≤ 2 R ≥ 8	4	8.2	3	4.8	47	87	1	2

%R: porcentaje resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

Anexo 8

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *K. pneumoniae* (n=54)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amikacina	S ≤ 16 R ≥ 64	0	0	0	0	54	100	2	16
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8 R ≥ 32	32	59.6	1	2.1	21	38.3	32	64
Ampicilina	S ≤ 8 R ≥ 32	51	93.6	1	2.1	2	4.3	32	64
Cefepima	S ≤ 8 R ≥ 32	46	85.1	1	2.1	7	12.8	16	64
Ceftazidima	S ≤ 4 R ≥ 16	45	83	3	6.4	6	10.6	32	64
Ceftriaxona	S ≤ 1 R ≥ 4	45	83	1	2.1	8	14.9	64	128
Levofloxacina	S ≤ 2 R ≥ 8	21	38.3	7	12.8	26	48.9	4	16
Meropenem	S ≤ 4 R ≥ 16	0	0	0	0	54	100	0.5	4
Minociclina	S ≤ 4 R ≥ 16	25	46.8	7	12.8	22	40.4	8	32
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 16 R ≥ 128	18	34	8	14.9	28	51.1	16	256
Tigeciclina	S ≤ 2 R ≥ 8	4	8.5	5	9.1	45	82.3	1	2

%R: porcentaje resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

Anexo 9

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *Enterobacter spp.* (n=41)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amikacina	S ≤ 16 R ≥ 64	4	10.3	0	0	37	89.7	4	64
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8 R ≥ 32	24	58.6	1	3.4	16	37.9	32	64
Ampicilina	S ≤ 8 R ≥ 32	29	69	1	3.4	11	27.6	32	64
Cefepima	S ≤ 8 R ≥ 32	8	20.7	4	10.3	29	69	4	32
Ceftazidima	S ≤ 4 R ≥ 16	25	62.1	4	6.9	12	31	32	64
Ceftriaxona	S ≤ 1 R ≥ 4	21	51.7	0	0	20	48.3	4	128
Levofloxacina	S ≤ 2 R ≥ 8	17	41.4	0	0	24	58.6	2	16
Meropenem	S ≤ 4 R ≥ 16	0	0	0	0	41	100	1	4
Minociclina	S ≤ 4 R ≥ 16	21	51.7	3	6.9	17	41.4	16	32
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 16 R ≥ 128	1	3.4	6	13.8	34	82.8	8	64
Tigeciclina	S ≤ 2 R ≥ 8	3	6.9	11	27.6	27	65.5	1	4

%R: porcentaje de resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

Anexo 10

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *S. marcescens* (n = 13)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amikacina	S ≤ 16 R ≥ 64	0	0	0	0	13	100	2	4
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8 R ≥ 32	7	57.1	0	0	6	42.9	32	64
Ampicilina	S ≤ 8 R ≥ 32	7	57.1	0	0	6	42.9	32	64
Cefepima	S ≤ 8 R ≥ 32	0	0	0	0	13	100	1	8
Ceftazidima	S ≤ 4 R ≥ 16	2	14.3	4	28.6	7	57.1	4	64
Ceftriaxona	S ≤ 1 R ≥ 4	2	14.3	0	0	11	85.7	1	128
Levofloxacina	S ≤ 2 R ≥ 8	2	14.3	0	0	11	85.7	1	16
Meropenem	S ≤ 4 R ≥ 16	0	0	0	0	13	100	0.25	4
Minociclina	S ≤ 4 R ≥ 16	2	14.3	2	14.3	9	71.4	4	32
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 16 R ≥ 128	0	0	6	42.9	7	57.1	8	32
Tigeciclina	S ≤ 2 R ≥ 8	0	0	4	28.6	9	71.4	0.5	4

%R: porcentaje de resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

Anexo 11

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *A. baumannii* (n = 54)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amikacina	S ≤ 16 R ≥ 64	14	26	6	12	34	62	16	64
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8 R ≥ 32	49	90	3	6	2	4	32	64
Ampicilina	S ≤ 8 R ≥ 32	50	92	3	6	1	2	32	64
Cefepima	S ≤ 8 R ≥ 32	32	60	12	22	10	18	32	64
Ceftazidima	S ≤ 4 R ≥ 16	52	96	1	2	1	2	32	64
Ceftriaxona	S ≤ 1 R ≥ 4	53	98	1	2	0	0	64	128
Levofloxacina	S ≤ 2 R ≥ 8	40	74	10	18	4	8	8	16
Meropenem	S ≤ 4 R ≥ 16	14	26	10	18	30	56	4	16
Minociclina	S ≤ 4 R ≥ 16	17	32	6	12	30	56	2	32
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 16 R ≥ 128	8	14	6	12	40	74	8	32
Tigeciclina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2	16

%R: porcentaje de resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

ND: No Determinado

Anexo 12

Actividad de la Tigeciclina y otros antibióticos contra *P. aeruginosa* (n = 54)

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	Frecuencia	%R	Frecuencia	%I	Frecuencia	%S	CIM50 mcg/mL	CIM90 mcg/mL
Amikacina	S ≤ 16 R ≥ 64	9	17.4	4	7.2	41	75.4	16	64
Amoxicilina/Ácido clavulánico	S ≤ 8 R ≥ 32	49	91.3	1	1.4	4	7.2	32	64
Ampicilina	S ≤ 8 R ≥ 32	47	89.9	4	5.8	3	4.3	32	64
Cefepima	S ≤ 8 R ≥ 32	25	46.4	6	11.6	23	42	16	64
Ceftazidima	S ≤ 4 R ≥ 16	46	85.5	3	5.8	5	8.7	32	64
Ceftriaxona	S ≤ 1 R ≥ 4	50	92.8	1	2.9	3	4.3	64	128
Levofloxacina	S ≤ 2 R ≥ 8	36	66.7	4	7.2	14	26.1	8	16
Meropenem	S ≤ 4 R ≥ 16	27	50.7	6	11.6	21	37.7	16	32
Minociclina	S ≤ 4 R ≥ 16	36	66.7	11	20.3	7	13	16	32
Piperacilina/Tazobactam	S ≤ 64 R ≥ 128	30	55.1	0	0	24	44.9	128	256
Tigeciclina	S ≤ 16 R ≥ 32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16	32

%R: porcentaje de resistencia, %I: porcentaje de intermedio, %S: porcentaje de susceptibilidad

ND: No Determinado

Anexo 13

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *E. coli* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	N	Frecuencia (n=54)		
		Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	6	4	1	1
Fluidos Varios	7	5	1	1
Heridas Quirúrgicas	10	7	1	2
Orina	6	3	1	2
Líquido Peritoneal	9	6	1	1
Absceso	5	3	1	1
Drenaje	2	2	0	0
Tejido	3	2	0	1
Tráquea	3	2	0	1
Úlceras	2	2	0	0
Hemocultivos	1	1	0	0

Anexo 14

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *K. pneumoniae* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	N	Frecuencia (n=54)		
		Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	6	4	1	1
Fluidos Varios	5	4	1	0
Heridas Quirúrgicas	3	2	0	1
Espuito	5	2	2	1
Orina	10	7	1	2
Líquido Peritoneal	7	5	1	1
Líquido Cefalorraquídeo	1	1	0	0
Tejido	2	2	0	0
Catéter	2	2	0	0
Tráquea	8	4	2	2
Hemocultivos	3	2	0	1
Uretra	2	2	0	0

Anexo 15

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *Enterobacter spp.* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	Frecuencias (n=41)			
	N	Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	5	3	0	2
Fluidos Varios	5	4	1	0
Heridas Quirúrgicas	2	1	0	0
Espudo	4	4	0	0
Orina	11	7	3	1
Líquido Peritoneal	5	3	1	1
Catéter	3	1	0	0
Tráquea	4	1	1	1
Úlceras	1	1	0	0
Hemocultivos	1	1	0	0

Anexo 16

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *S. marscecens* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	Frecuencias (n=13)			
	n	Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	3	1	0	0
Heridas Quirúrgicas	3	2	1	0
Líquido Peritoneal	1	1	0	0
Catéter	4	3	1	0
Tráquea	2	2	0	0
Uretra	13	11	2	0

Anexo 17

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *S. aureus* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	n	Frecuencias (n=80)		
		Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	10	8	0	2
Fluidos Varios	9	6	3	0
Heridas Quirúrgicas	16	12	3	1
Espuito	1	1	0	0
Orina	3	2	0	1
Líquido Peritoneal	5	4	1	0
Líquido Cefalorraquídeo	2	2	0	0
Absceso	8	4	2	2
Drenaje	1	1	0	0
Catéter	8	4	4	0
Tráquea	7	4	1	2
Úlceras	2	2	0	0
Hemocultivos	8	4	4	0

Tabla 18

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *S. agalactiae* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	n	Frecuencias (n=10)		
		Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	3	3	0	0
Orina	2	2	0	0
Líquido Cefalorraquídeo	2	2	0	0
Absceso	1	1	0	0
Tejido	1	1	0	0
Hemocultivos	1	1	0	0

Anexo 19

Comparación de la actividad de la tigeciclina contra *Enterococcus spp.* por tipo de muestra

Tipo de Muestra	N	Frecuencia (n=40)		
		Susceptibilidad	Intermedio	Resistencia
Secreciones Varias	10	10	0	0
Fluidos Varios	7	7	0	0
Heridas Quirúrgicas	4	4	0	0
Orina	12	12	0	0
Líquido Peritoneal	3	3	0	0
Líquido Cefalorraquídeo	1	1	0	0
Absceso	1	1	0	0
Tejido	2	2	0	0