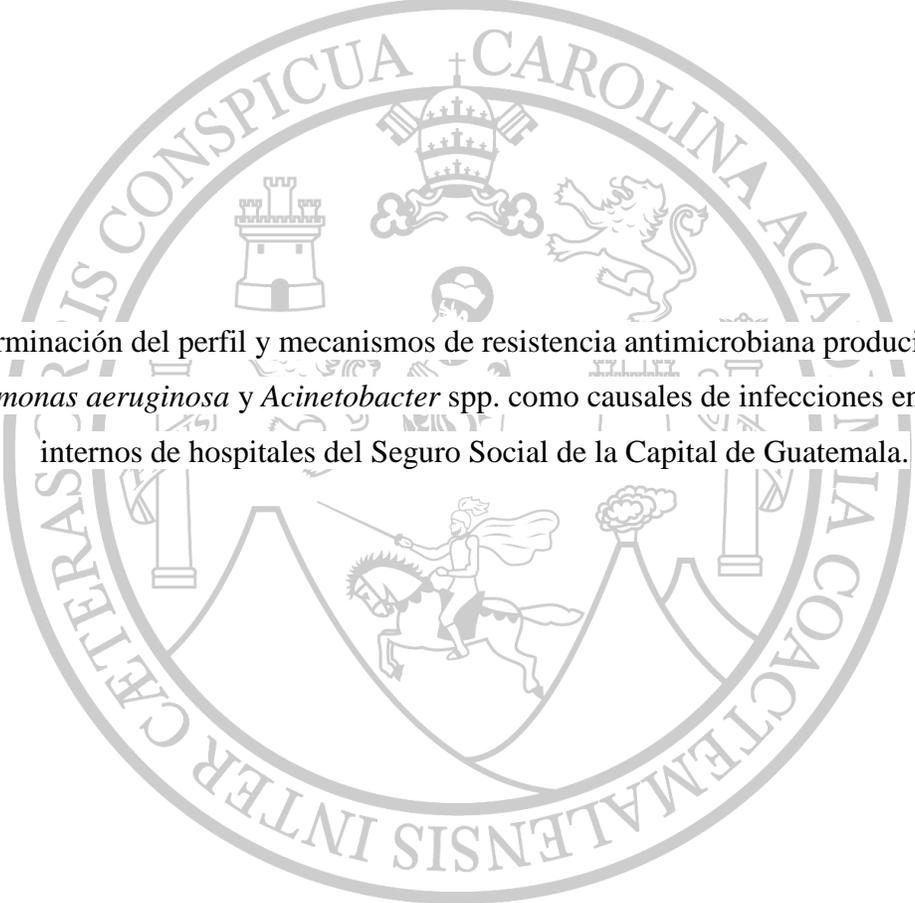


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



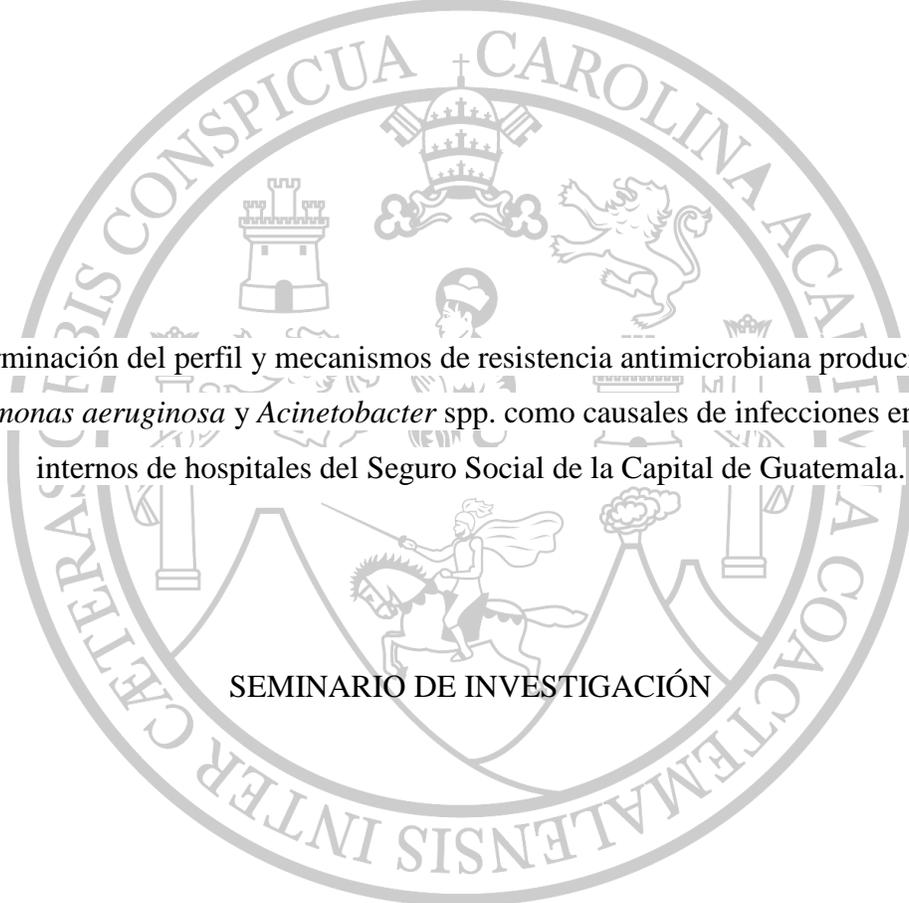
Determinación del perfil y mecanismos de resistencia antimicrobiana producidos por *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. como causales de infecciones en pacientes internos de hospitales del Seguro Social de la Capital de Guatemala.

Shirley Gabriela Martínez Cuesi  
Karla Sorayda Barrientos García

QUÍMICAS BIÓLOGAS

Guatemala, Julio de 2015

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, holding a staff, surrounded by various symbols including a castle, a crown, and a lion. The Latin motto "SIBI CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERAS" is inscribed around the perimeter of the seal.

Determinación del perfil y mecanismos de resistencia antimicrobiana producidos por *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. como causales de infecciones en pacientes internos de hospitales del Seguro Social de la Capital de Guatemala.

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

Shirley Gabriela Martínez Cuesi  
Karla Sorayda Barrientos García

PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
QUÍMICAS BIÓLOGAS

Guatemala, Julio de 2015

## **JUNTA DIRECTIVA**

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por habernos acompañado y guiado en todo momento.

A nuestros Padres por el apoyo otorgado en todo momento, los valores inculcados y la oportunidad de una educación y superación en el transcurso de nuestra vida.

A nuestros hermanos por ser parte importante de nuestra vida, y ser una inspiración en diferentes aspectos.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por su formación.

A los Licenciados Martín Gil y Osberth Morales por su asesoría, colaboración y paciencia durante todo el proceso de esta investigación.

A las Licenciadas Evelyn Ordoñez y Manola Pérez del Hospital General de Enfermedades y Hospital General de Accidentes, por habernos permitido llevar a cabo este estudio en dichas instituciones.

Al Departamento de Microbiología de la USAC por el préstamo de las instalaciones para realizar este estudio, y al Departamento de Citohistología de la USAC y al Laboratorio Nacional de Salud por el préstamo y donación de materiales de trabajo.

## ÍNDICE

I. Ámbito de la investigación	1
II. Resumen	2
III. Antecedentes	3
A. Infecciones nosocomiales	3
B. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
1. Generalidades	4
2. Fisiología	5
3. Determinantes de patogenicidad	5
4. Patogenia	5
5. Diagnóstico microbiológico	6
6. Tratamiento	6
7. Epidemiología	6
C. <i>Acinetobacter</i> spp.	10
1. Generalidades	10
2. Epidemiología molecular y clínica	10
3. Patogenia	11
4. Factores de riesgo	12
5. Resistencia antimicrobiana	13
D. Mecanismos de resistencia	15
1. $\beta$ -lactamasas	16
2. Bombas de expulsión	16
3. Porinas de membrana	17
IV. Justificación	19
V. Objetivos	20
A. Generales	20
B. Específicos	20
VI. Hipótesis	21
VII. Materiales y métodos	22

A. Tipo de estudio	22
B. Universo y muestra	22
C. Recursos	22
1. Humanos	22
2. Institucionales	22
3. Físicos	22
a. Equipo	22
b. Materiales	23
c. Reactivos	23
D. Metodología	23
1. Recolección de muestra	23
2. Procesamiento	23
3. Análisis	23
4. Método de difusión en agar	23
5. Procedimiento para realizar el antibiograma	24
6. Mecanismos de resistencia para cada microorganismo	24
E. Diseño del muestreo	26
F. Análisis de resultados	26
VIII. Resultados	27
IX. Discusión	33
X. Conclusiones	37
XI. Recomendaciones	38
XII. Referencias	39
XIII. Anexos	44

## I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

En los últimos años se ha presentado un incremento de las infecciones nosocomiales ocasionadas por bacilos gramnegativo no fermentadores, debido a su ubicuidad y a la facilidad que presentan para desarrollar resistencia a diversos antimicrobianos, lo cual aumenta la mortalidad debido a que no es posible establecer una terapia antimicrobiana adecuada. Por lo tanto, se realizó un estudio acerca de mecanismos de resistencia como la producción de  $\beta$ -lactamasas, AmpC, carbapenemasas y oxacilinasas desarrollados por cepas aisladas en pacientes internos, de consulta externa y emergencia, con el fin de detectar el porcentaje aproximado de la presencia de estas multirresistencias. Dicho estudio forma parte del proyecto macro a cargo del departamento de Microbiología en la Escuela de Química Biológica que se ejecuta en laboratorios del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social de Accidentes y Enfermedades.

Se realizó el método de difusión en agar utilizando discos con antibióticos. Los datos fueron analizados a fin de determinar a cuales antibióticos han desarrollado resistencia y los mecanismos de resistencia que se presentan con mayor frecuencia, analizando características en común de los pacientes.

## II. RESUMEN

Las infecciones nosocomiales producidas por bacilos gramnegativo no fermentadores, el aumento de multirresistencias y el desarrollo de mecanismos de resistencia han tomado importancia en los Hospitales, por tal razón, se realizó un estudio descriptivo transversal donde se evaluó la presencia de los mecanismos de resistencia KPC, MBL y BLEE para *Pseudomonas aeruginosa* y además, también se evaluó el mecanismo AmpC para *Acinetobacter baumannii*. Se analizaron 57 muestras positivas en el Hospital General de Accidentes y 90 en el Hospital General de Enfermedades, en pacientes que se encontraban internos, algunos que llegaron por emergencia y también en consulta externa de ambos, durante el periodo de octubre a noviembre de 2013.

Las salas que estuvieron involucradas con mayor frecuencia fueron Encamamiento e Intensivo en el Hospital General de Accidentes y, Emergencia e Infectología en el Hospital General de Enfermedades. Los tipos de muestra más frecuentes fueron aspirado traqueal y secreción en ambos hospitales para ambos microorganismos.

*P. aeruginosa* se presentó en un 58% de las muestras en el Hospital General de Accidentes y en un 61% en el Hospital General de Enfermedades. Las cepas de *P. aeruginosa* presentaron algún tipo de mecanismo de resistencia en un 70% y 78% en cada hospital respectivamente. Solamente el 4% de los *A. baumannii* analizados presentó algún mecanismo de resistencia en el Hospital General de Accidentes y el 3% en el Hospital General de Enfermedades.

Con este estudio se concluyó que la frecuencia de bacilos gramnegativo no fermentadores, como *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, es alta por su ubicuidad y capacidad de sobrevivir en presencia de antisépticos débiles. Estas bacterias han tomado importancia debido al desarrollo de mecanismos de resistencias como se observó en *P. aeruginosa* y multirresistencias en *A. baumannii*, y, que a pesar de haberse evaluado en dos hospitales diferentes (uno dedicado a accidentes y el otro a enfermedades comunes) presentan un patrón similar, difiriendo en muy pocos casos.

### **III. ANTECEDENTES**

#### **A. Infecciones nosocomiales**

Las infecciones nosocomiales se refieren a las infecciones adquiridas como consecuencia de la estadía en un hospital y que no se encuentran presentes en el paciente al momento de su ingreso. Éstas constituyen un problema de salud de extraordinaria importancia en el mundo, que afecta la calidad y la eficiencia de los servicios médicos. A pesar de los esfuerzos globales realizados para erradicar este tipo de enfermedades infecciosas, continúan siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad (Lebeque, Morris y Calas, 2006). Las infecciones nosocomiales más frecuentes son las de heridas quirúrgicas, las de vías urinarias y las de vías respiratorias inferiores. Estudios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y otros publicados en revistas médicas de diferentes países han demostrado también que la máxima prevalencia de infecciones nosocomiales ocurre en unidades de cuidados intensivos y en pabellones quirúrgicos y ortopédicos de atención de enfermedades agudas. Las tasas de prevalencia de infección son mayores en pacientes con mayor vulnerabilidad por causa de edad avanzada, enfermedad subyacente o quimioterapia (Girard, et al., 2002).

En el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, se estima que el 5-15% de todos los pacientes hospitalizados adquieren algún tipo de infección nosocomial. A pesar de los avances modernos en las técnicas de esterilización y los materiales descartables, la tasa de infecciones nosocomiales aumentó el 36% en los últimos 20 años. Las infecciones nosocomiales son resultado de la interacción entre varios factores: (1) los microorganismos presentes en el ambiente hospitalario (2) el estado comprometido (o debilitado) del huésped y (3) la cadena de transmisión en el hospital. Generalmente la presencia de uno de estos factores no es suficiente para causar la infección, sino que es la interacción de los tres factores lo que plantea un riesgo significativo de infección nosocomial (Tortora, Funke y Case, 2007).

La edad avanzada de los pacientes internados en establecimientos de atención de salud, la mayor prevalencia de enfermedades crónicas en pacientes internados, el mayor uso de procedimientos terapéuticos y de diagnóstico que afectan las defensas del huésped constituirán una presión constante en las infecciones nosocomiales en el futuro. Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales pueden ser transmitidos a la comunidad por los pacientes después del alta hospitalaria, el personal de atención de salud y los visitantes. Si dichos microorganismos son multirresistentes, pueden causar enfermedad grave en la comunidad (Girard, et al., 2002).

Un paciente puede adquirir una infección nosocomial en prácticamente todas las partes de su cuerpo, pero algunas enfermedades nosocomiales son más comunes. Las infecciones más comunes son las infecciones urinarias (33%), seguidas por la neumonía (15%), las infecciones de herida quirúrgica (15%) y las infecciones del torrente sanguíneo (13%) (Forbes, 2009).

Los microorganismos que se presentan con mayor frecuencia en las infecciones nosocomiales, son los bacilos gramnegativo facultativos o aerobios, entre ellos se menciona a las enterobacterias *Pseudomonas* y *Acinetobacter* que han aumentado la tasa de prevalencia en los últimos años (Gonzalo, 2007).

## **B. *Pseudomonas aeruginosa***

### **1. Generalidades**

*Pseudomonas* es un género cuya morfología consiste en bacilos rectos o ligeramente curvados, móviles (debido a los flagelos polares que poseen), oxidasa positivo y aerobios estrictos. *P. aeruginosa* es la especie con mayor importancia, ya que es la que con mayor frecuencia ocasiona infecciones en el hombre. Muestra una especial predilección por los ambientes húmedos (equipos respiratorios, desinfectantes, las piscinas de fisioterapia) (Felipe, 2010). La mayoría de las infecciones que produce son hospitalarias y en pacientes inmunodeprimidos o con alteraciones de las barreras normales -piel y mucosas- (a causa de

quemaduras, cirugía, cateterismo o intubación). Además de la resistencia a los antimicrobianos, también son muy resistentes a los desinfectantes (Ruíz, 2007).

## **2. Fisiología**

Algunas especies sintetizan una capa polisacárida que facilita la adhesión celular y la formación de biopelículas, lo que aumenta su patogenicidad. No forman esporas y más de la mitad de los aislamientos clínicos producen piocianina, un pigmento que confiere un color azul-verdoso al medio de cultivo. Tienen un olor dulzón debido a la producción de 2-aminocetofenona y en ocasiones las colonias presentan un brillo metálico (Ruíz, 2007).

## **3. Determinantes de patogenicidad**

*P. aeruginosa* tiene un flagelo único que permite su motilidad y puede mediar las interacciones iniciales de superficie. También posee adhesinas en la superficie celular, las que son responsables de la adherencia a las membranas celulares y otras superficies. Poseen distintas toxinas, entre las cuales se pueden mencionar las endotoxinas que se liberan con la lisis de la bacteria y afectan al hospedero al provocar una reacción pirógena, además de hipotensión, coagulación intravascular diseminada y distress respiratorio. La citotoxina que posee un efecto letal sobre los leucocitos polimorfonucleares y por último, la exotoxina A que inhibe la síntesis protéica. Además cuentan con otros factores como las hemolisinas que degradan lípidos, lecitinas que induce la aglutinación de células rojas y la elastasa que destruye las redes de fibrina (Driscoll, Brody & Kollef, 2007).

## **4. Patogenia**

*P. aeruginosa* produce una gran variedad de infecciones. Entre ellas, se pueden mencionar infecciones respiratorias en pacientes hospitalizados politraumatizados, con procesos crónicos como fibrosis quística, infecciones urinarias oportunistas en pacientes portadores de catéteres o causadas por exploraciones de las vías urinarias; también en infecciones osteoarticulares en traumatismos penetrantes o por procedimientos quirúrgicos, infecciones

oculares y óticas como queratitis bacteriana y otitis externa crónicas, infecciones de la piel como exantema vesículo-papuloso o infecciones por quemaduras. La meningitis se produce en menor frecuencia en intervenciones de neurocirugía. Por último, la endocarditis es la causa más frecuente en los adictos a drogas vía parenteral y se localiza principalmente en la válvula tricúspide (Pardo, Tirado, García, Granados, Campos y Moreno, 2010).

## **5. Diagnóstico Microbiológico**

Estas bacterias crecen adecuadamente en medios de cultivo utilizados rutinariamente, tales como en agar Sangre y agar MacConkey. Con frecuencia las colonias ofrecen características muy típicas (olor dulzón y color verdoso). La identificación se realiza al observar la no fermentación de carbohidratos y la reacción del citrato positivo, así como la prueba de oxidasa positiva (Anexo 1) (Pardo, et al., 2010).

## **6. Tratamiento**

Se debe realizar un antibiograma ya que con facilidad aparece resistencia a varios antibióticos. Los antimicrobianos que pueden ser útiles son: penicilinas antipseudomonas (ticarcilina y piperacilina tazobactam), aminoglucósidos, carbapenemes, monobactámicos, quinolonas y algunas cefalosporinas como ceftazidima y cefepime (Pardo, et al., 2010).

## **7. Epidemiología**

*P. aeruginosa* es una bacteria ubicua, ampliamente distribuida en suelo, agua, plantas y animales. La colonización en el hombre es poco frecuente aunque puede aumentar en pacientes hospitalizados. Afecta principalmente zonas húmedas como axila y oído. Tanto las cepas ambientales como las que se encuentran en la microbiota normal pueden ser patógenas para el hombre. Debido a esto, se encuentra entre las bacterias que con mayor frecuencia ocasionan infecciones hospitalarias (Ferrero, Gómez y Reparaz, 2009).

Una de las especies que más se ha aislado de infecciones nosocomiales es *P. aeruginosa*, la cual se ha asociado con la contaminación de fuentes comunes de agua, antisépticos y equipos médicos. La alta prevalencia se debe a la facilidad de adaptación fisiológica y los elevados niveles de resistencia que manifiesta frente a numerosos agentes antimicrobianos. Además, su crecimiento se favorece por la alteración de la microbiota. Las medidas terapéuticas, la ventilación mecánica, cirugías, drenajes, aplicación de antibióticos y técnicas de diálisis, así como el uso de sondas vesicales y catéteres arteriales, son factores de riesgo en el origen de estas infecciones (Lebeque, et al., 2006).

Generalmente se observa en pacientes con inmunidad deprimida, en los que sufren quemaduras, en enfermos con alteraciones metabólicas como la diabetes, en pacientes con neoplasias malignas y en convalecientes que han sido sometidos a instrumentación o cateterismo. Con frecuencia se manifiestan infecciones urinarias en personas de edad avanzada y debe cuidarse de las infecciones a los pacientes que se encuentran sometidos a drogas inmunosupresoras. Puede infectar cualquier órgano o tejido (desde una simple herida o quemadura), invadir el oído externo, así como colonizar las vías urinarias, los pulmones, el endocardio, la córnea y los huesos. De una infección localizada en alguno de esos tejidos, puede diseminarse por el torrente circulatorio y producir septicemias de alta gravedad infectando otros tejidos, dando lugar a procesos supurativos. Estas formas clínicas diseminadas generalmente son de una alta tasa de mortalidad (Cabello, 2007).

Esta bacteria presenta resistencia natural a muchos de los antimicrobianos de uso clínico, incluyendo la mayoría de las penicilinas, las cefalosporinas de primera, segunda y muchas de las de tercera generación, tetraciclinas, cloranfenicol, cotrimoxazol y rifampicina. Además, con gran facilidad desarrolla mutaciones cromosómicas y adquiere material genético exógeno responsable de la resistencia a compuestos habitualmente activos. Esta resistencia depende de la baja permeabilidad de la membrana externa y también de varios sistemas de expulsión activa. Es posible que este segundo mecanismo sea incluso más relevante que la baja permeabilidad de la membrana externa, y, en todo caso, hay evidencias claras de que ambos mecanismos se complementan. Casi la totalidad de los aislamientos clínicos de esta bacteria expresan la

$\beta$ -lactamasa AmpC, la que puede ser inducible o constitutiva y ésta última parcial o total (Ferrero, et al., 2009).

La actividad de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas tipo AmpC, depende de la capacidad que posea el antibiótico para inducir estas enzimas y resistir a la actividad hidrolítica de las mismas. Por ejemplo, la cefotaxima tiene baja capacidad inductora, pero es sensible a la hidrólisis, por lo tanto, es efectiva frente a las cepas con enzimas inducibles ya que no activará su acción, pero no tendrá actividad contra las cepas con expresión dereprimida (no necesitan actividad inductora para la producción de la enzima hidrolítica), lo que ocasiona que solamente sean eliminadas las cepas con enzima inductora y por consiguiente provoca un sobrecrecimiento de la población resistente (dereprimidos), los cuales reemplazarán a la población inicial y causarán un fracaso terapéutico. Por otro lado, el imipenem es un potente inductor de la enzima, pero es muy estable a la hidrólisis, por ello mantiene una buena actividad incluso frente a cepas dereprimidas que carecen de otros mecanismos de resistencia. Otro tanto sucede con el meropenem, que es aun más estable a la hidrólisis por AmpC y posee menor capacidad inductora que el imipenem (Ausina, 2006).

En varios estudios se ha demostrado que *P. aeruginosa* desarrolla una amplia resistencia a varios antimicrobianos en pacientes que se encuentran hospitalizados. Por ejemplo, en un estudio realizado entre los meses de enero y diciembre de 2003 en un hospital universitario en Perú, por medio del método de difusión Kirby-Bauer se demostró una mayor resistencia por parte de los siguientes antimicrobianos: ceftazidima (71%), aztreonam (62%), ciprofloxacina (57%) y gentamicina (55%). El antibiótico que mostró mejor actividad fue meropenem (73% de cepas sensibles) (Anexo 2) (Lujan, Ibarra y Mamani, 2008).

En otro estudio realizado en el Hospital de Castellón, España, se observó en la resistencia de *P. aeruginosa* un cambio en los patrones de susceptibilidad. En este estudio realizado entre 2004-2008, la resistencia global osciló desde el 2.07% para amikacina, al 15.89% para ciprofloxacina con diferencias según la procedencia del paciente, servicios y muestras. Los aislamientos de pacientes ingresados fueron significativamente más resistentes que los de los

ambulatorios, ( $p \leq 0.001$ : tobramicina, 13.74% vs 5.05%; gentamicina, 13.74% vs 8.26%; ceftazidima, 12.67% vs 4.24%; cefepima, 11.48% vs 7.07%; meropenem, 8.57% vs 2.06%), salvo para amikacina (1.98% vs 2.2%,  $p=0.74$ ), piperacilina/tazobactam (6.07% vs 4.55%,  $p=0.14$ ) y ciprofloxacino (17.17% vs 13.97%,  $p=0.06$ ). Los servicios de críticos y las muestras respiratorias presentaron las tasas más altas de resistencia mientras que los servicios quirúrgicos y las muestras invasivas presentaron la mejor sensibilidad. Un 4.8% de los aislamientos fueron multirresistentes. Al comparar el estudio anterior con otro realizado entre 1992 y 2003, se observó un descenso significativo de resistencia a amikacina (7.74% vs 2.07%,  $p < 0.001$ ), tobramicina (13.61% vs 10.26%,  $p < 0.001$ ), gentamicina (30.85% vs 14.73%,  $p < 0.001$ ) ceftazidima (14.63% vs 9.28%,  $p < 0.001$ ), cefepima (12.31% vs 9.71%,  $p=0.005$ ) y meropenem (8.84% vs 5.96%,  $p=0.001$ ) y se mantienen piperacilina/tazobactam (4.26% vs 5.46%,  $p=0.06$ ) y ciprofloxacina (16.02% vs 15.89%,  $p=0.89$ ) (Pardo, et al., 2010).

En otro estudio se llevó a cabo la determinación del perfil de resistencia con los siguientes antibióticos aztreonam, colistín, cepefime, ceftazidima, piperacilina, imipenem, meropenem, amikacina y ciprofloxacina en 86 cepas de *P. aeruginosa* intrahospitalarias aisladas del Hospital Escuela "José de San Martín" de Corrientes durante el año 2008. Las muestras de donde se aislaron estos bacilos provenían de 24 de muestras respiratorias (42.8%), 20 de piel y partes blandas (35.7%), 8 urocultivos (14.3%) y 4 hemocultivos (7.2%) (Forbes, 2009).

En el perfil de resistencia se encontró para amikacina 92.8% y ciprofloxacina 94.6%. Los mecanismos de resistencia implicados a antibióticos beta-lactámicos fueron: por MBLs, 15 casos (26.8%); Eflujo + Impermeabilidad, 15 (26.8%); Eflujo, 12 (21.4%); BLEE, 5 (8.9%); AmpC derreprimida, 3 (5.3%); Impermeabilidad, 3 (5.3%); Impermeabilidad + Eflujo + BLEE, 2 (3.6%) y AmpC derreprimida + Eflujo, 1 (1.6%). De éstas, 56 cepas tuvieron algún mecanismo de resistencia a beta-lactámicos, 19 presentaron sensibilidad a imipenem (33.9%) y 9 a meropenem (16.1%), coincidiendo con el mecanismo de resistencia por eflujo (Ferrero, et al., 2009).

## **C. *Acinetobacter* spp.**

### **1. Generalidades**

*Acinetobacter* es un género cuya morfología consiste en cocobacilos gramnegativo no fermentadores, aerobios, inmóviles, oxidasa negativo, que sobreviven con gran facilidad en superficies y colonizan con frecuencia la piel humana (Marcos, Vila y Jimenez, 1993).

El amplio espectro de las infecciones nosocomiales causadas por *Acinetobacter* spp., incluye bacteriemia, neumonía, meningitis, infección urinaria, infecciones relacionadas con catéteres intravasculares, abscesos abdominales e infecciones de herida quirúrgica (Marcos, et al., 1993).

### **2. Epidemiología molecular y clínica**

Diversos estudios epidemiológicos y clínicos sugieren que las cepas de *A. baumannii* responsables de las infecciones nosocomiales derivan de las cepas ya existentes como microbiota normal humana. Aunque no es un microorganismo entérico, se ha demostrado que el tracto digestivo es el mayor reservorio en las epidemias (Leturia, Cobos, y Diaz, 1997).

Muchas de las cepas exhiben altas tasas de resistencia a múltiples antibióticos, las cuales parecen desarrollar tras ser expuestas en el hospital a diversos antimicrobianos. Además, se han descrito brotes epidémicos relacionados con la contaminación de equipo médico (respiradores, guantes, bolsas de reanimación, transductores de presión) y superficies diversas (colchones, almohadas, lavabos, mesas). Estos reservorios han sido implicados en el mantenimiento de brotes hospitalarios. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que en la mayoría de las epidemias ocasionadas por *A. baumannii*, son a causa de una única cepa o a lo sumo dos (Martínez, Ruíz, Jaime, Simarro y Fernandez, 2002).

También se ha informado que cepas de *Acinetobacter* pueden sobrevivir en superficies secas por un tiempo igual o mayor que el encontrado para *S. aureus*, pero significativamente mayor que el tiempo de sobrevivencia de *E. coli* y *Pseudomonas* spp. Además, la sobrevivencia

de *Acinetobacter* quizás se deba a su capacidad de crecer en amplios rangos de temperaturas y valores de pH diferentes (Marcos, et al., 1993). Por otro lado, las infecciones por *Acinetobacter* tienen un marcado patrón estacional, con una tasa de infección al menos dos veces mayor al final del verano respecto al invierno. Se cree que los cambios de temperatura y humedad ambientales son las razones posibles de este hallazgo, además del hecho de que crecen mejor en el agua lo que facilita su transmisión. *Acinetobacter* tiene características únicas entre las bacterias gramnegativo nosocomiales, entre ellas su capacidad de supervivencia y multirresistencia, que favorecen su persistencia en el ambiente hospitalario. Este microorganismo se difunde fácilmente en el ambiente luego a pacientes infectando o colonizando y pueden persistir en ellos durante muchos días, es un factor que podría explicar su capacidad de causar brotes persistentes en el tiempo y ser de difícil control (Salazar, 2005).

### **3. Patogenia**

Tradicionalmente se ha considerado de baja virulencia, dado que es un microorganismo habitual de la piel, lo que ha dado lugar a que muchos de los aislamientos en pacientes hospitalizados se interpreten como simples colonizaciones. Sin embargo, estudios posteriores sugerían que infecciones tales como las bacteriemias o las neumonías asociadas a ventilación mecánica causadas por *A. baumannii* tenían una mortalidad atribuible significativa y que oscilaba entre el 20 y el 35%. Esta mayor mortalidad podía ser causada por la virulencia intrínseca de esta bacteria o por su elevada resistencia a los antibióticos. Sin embargo, estudios más recientes, tras un ajuste preciso de las variables de confusión, no han hallado una mortalidad atribuible a bacteriemia o a neumonías asociadas a ventilación mecánica por este microorganismo. No obstante, los episodios de neumonía asociados a ventilación mecánica causados por cepas resistentes a carbapenemes presentan una clara tendencia a mayor mortalidad, quedando aún por definir si en pacientes críticos, estos casos tienen una mortalidad atribuible (Leturia, et al., 1997).

#### 4. Factores de riesgo

Las especies de *Acinetobacter* se consideran generalmente microorganismos de baja virulencia, salvo en pacientes enfermos críticamente o inmunocomprometidos. Estos microorganismos se asocian más a menudo con infecciones nosocomiales que con comunitarias. Los múltiples factores identificados para la adquisición de infecciones por *Acinetobacter* incluyen enfermedad grave, infección o sepsis previa, ventilación mecánica prolongada, antibioterapia previa, colonización previa por *Acinetobacter* y estadía prolongada en unidad de cuidado intensivo (Diomedí, 2005).

*A. baumannii* es particularmente un patógeno humano oportunista que representa un riesgo potencial de causar infecciones severas en pacientes inmunocomprometidos o que sufren de infecciones polimicrobianas. La colonización o infección por este microorganismo va a depender principalmente de los factores predisponentes inherentes al hospedero y de los factores de virulencia de la bacteria (Leturia, et al., 1997).

Entre los factores que predisponen a infección por *Acinetobacter* spp se incluyen los pacientes susceptibles, la edad, (de los cuales los bebés, niños y ancianos son los más vulnerables a adquirir una infección), la presencia de equipos invasivos (tubo endotraqueal, sonda gástrica y catéteres), largo tiempo de permanencia en el ambiente hospitalario, terapias prolongadas con corticosteroides, ventilación mecánica y terapia antimicrobiana; esta última, probablemente altera la microbiota habitual y trae como consecuencia la selección de microorganismos resistentes como *A. baumannii*. Los dos últimos factores son los más importantes, sin embargo, el factor de riesgo individual más significativo es la administración previa de antimicrobianos, ya que aproximadamente el 80% de los pacientes han recibido tratamiento previo al desarrollo de infecciones graves por *Acinetobacter* (Salavert, 1999).

Lo anterior fue puesto de manifiesto en un estudio de cohorte realizado por Martínez y otros investigadores en el año 2002, en el que se analizaron factores de riesgo de bacteremia por *A. baumannii* donde el índice de procedimientos invasivos (relación entre el número de procedimientos invasivos divididos por el número de días) fue un factor predisponente. Al respecto, la exposición previa a imipenem se ha considerado como factor de riesgo independiente

para la colonización o infección por cepas de *A. baumannii* resistentes a dicho antibiótico (Martínez, et al., 2002).

## 5. Resistencia antimicrobiana

*A. baumannii* es un microorganismo que se caracteriza por su capacidad para desarrollar resistencias rápidamente. Esta característica ha sido una de las causas de la elevada mortalidad de la infección que provoca. Por otro lado, *A. iwoffii* es más susceptible a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos y *A. haemolyticus* es altamente resistente a los aminoglucósidos (Opazo, Mella, Domínguez, Bello y Gonzalez, 2009).

Los patrones de sensibilidad pueden variar en función de factores ambientales, del tiempo de evolución de la endemia o epidemia y de las distintas políticas de uso de antimicrobianos en los hospitales. Actualmente, en lugares endémicos, la mayoría de las cepas de *A. baumannii* son resistentes a los aminoglucósidos, ureidopenicilinas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación y fluoroquinolonas. Estos antimicrobianos no tienen indicación para utilizarse en el tratamiento empírico de infecciones en las que se sospeche *A. baumannii*. El tratamiento empírico de las infecciones por *Acinetobacter* spp son a veces un grave problema debido a la frecuente y cambiante aparición de resistencias, además de la gravedad clínica y el bajo índice de sospecha de éstas (Martínez, et al., 2002).

*Acinetobacter* spp. es causa importante de morbilidad infecciosa y mortalidad, que afecta mayormente a pacientes en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) (Martínez, et al., 2002). *A. baumannii* la especie más frecuentemente aislada y la de mayor importancia clínica, en los últimos 20 años se ha implicado en una variedad de infecciones, tales como bacteriemia, infecciones del tracto urinario y meningitis secundaria a malformaciones congénitas o infecciones previas por otros microorganismos. Sin embargo, su papel predominante es como agente causal de neumonía, particularmente aquellas asociadas con ventilación mecánica, las cuales son de difícil tratamiento debido a la amplia resistencia de esta bacteria a la mayoría de los antibióticos (Marcos, et al., 1993; Salazar, 2005). Las dificultades terapéuticas, en conjunto con la gran capacidad que tiene *Acinetobacter* de sobrevivir por largo tiempo en el ambiente

hospitalario, aumentan las oportunidades para que se transmita entre pacientes, ya sea por medio del reservorio humano o por materiales inanimados contaminados (Marcos, et al., 1993; Salazar, 2005). En la actualidad, muchos clínicos aún desconocen la importancia de *Acinetobacter* multirresistente en hospitales, en parte, por su ubicación taxonómica confusa hasta años recientes (Leturia, et al., 1997).

En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos de identificación y tipificación molecular para los miembros de este género, lo que constituye una herramienta idónea para estudios epidemiológicos de cepas genéticamente relacionadas, involucradas en brotes de infección hospitalaria (Salazar, 2005).

La literatura especializada en microbiología, enfermedades infecciosas, epidemiología y control de la infección hospitalaria, ha tenido en los últimos quince años un crecimiento exponencial y abrumador de los trabajos que abordan las distintas facetas de presentación y comportamiento del género *Acinetobacter* (Salazar, 2005).

Aunque *Acinetobacter* spp se considera como un patógeno relativamente de bajo grado, la patogenicidad no es aún clara, ya que ciertas características pueden aumentar la virulencia de cepas involucradas en infecciones (Salazar, 2005) y la resistencia a los agentes antimicrobianos, ha observado un incremento progresivo durante los últimos 20 años. Las infecciones por *Acinetobacter* se podían tratar con los antibióticos utilizados comúnmente, incluyendo aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de espectro limitado (cefalotina), de amplio espectro (cefamandol) y cefamicinas (cefoxitin); además, cloranfenicol y tetraciclina (Fernández, 2000). Algunos antibióticos de uso reciente, como las cefalosporinas de amplio espectro (cefotaxima y ceftazidima), imipenem, tobramicina, amikacina y fluoroquinolonas, han presentado susceptibilidad parcial, pero la concentración inhibitoria mínima de estos antibióticos se ha incrementado sustancialmente en la última década (Salavert, 1999).

Cada vez es más frecuente encontrar resistencia combinada a todos los  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y quinolonas (Salazar, 2005). A pesar de que se ha descrito una creciente

resistencia al imipenem, los carbapenemes han mantenido buena actividad *in vitro* y en algunos estudios han resultado los únicos agentes eficaces, además de polimixina y el sulbactam (Fernández, 2000). Recientemente se encontró excelente actividad *in vitro* de la colistina, especialmente combinada con rifampicina (Salavert, 1999).

Christensen y colaboradores (1990), demostraron la resistencia a la radiación en aislamientos de *Acinetobacter*, estos resultados indicaron que se debe tener especial atención con los aparatos médicos que normalmente son esterilizados por este método, particularmente los empleados en UCI. *Acinetobacter* puede sobrevivir 60 minutos en los dedos y más de dos semanas sobre superficies de fórmica, mientras que otras bacterias sólo sobreviven 3 días. Sobre los paños de limpieza y los filtros de papel puede sobrevivir entre 6 y 7 días, respectivamente, en cristal más de una semana y sobre algodón 25 días o más (Leturia, et al., 1997).

#### **A. Mecanismos de resistencia**

Muchos de los bacilos gramnegativo no fermentadores son resistentes, tanto de manera natural como adquirida, a un gran número de antibióticos como cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto se debe a las características de la membrana celular que tiene propiedades excepcionales y posee una baja permeabilidad a ciertos antimicrobianos y, además, presenta bombas de expulsión que se encuentran expresadas de manera constitutiva, lo cual se traduce en una menor susceptibilidad a los antimicrobianos, lo que sumado a otros mecanismos de resistencia, tales como la producción de enzimas como  $\beta$ -lactamasas, genera un fenotipo de multi-resistencia (Opazo, et al., 2009).

Otras sustancias como el zinc, componente de una clase de catéteres urinarios, también inducen cambios moleculares que activan la resistencia a imipenem (Salazar, 2005).

Los principales mecanismos de resistencia comprende: presencia de  $\beta$ -lactamasas y alteraciones de la permeabilidad de membrana dada por la presencia de bombas de expulsión y las mutaciones de las porinas transmembrana (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005).

Los mecanismos de resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos en especies de *Acinetobacter*, incluye producción de  $\beta$ -lactamasas, modificación de la proteína de unión a la penicilina, y permeabilidad reducida de la membrana. La producción de  $\beta$ -lactamasas, tanto plasmídicas como cromosómicas es el mecanismo más estudiado en este microorganismo, y posiblemente el de mayor importancia (Salazar, 2005). El principal mecanismo de resistencia a los aminoglucósidos es la producción de enzimas inactivantes, de las que la aminoglucósido-3'-fosfotransferasa VI, que inactiva a la amikacina, es la más frecuentemente encontrada (Leturia, et al., 1997). Recientemente se ha comprobado que la resistencia a las quinolonas es debida a las mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*. Asimismo, se ha sugerido la implicación de bombas de expulsión en el desarrollo de resistencia frente a estos antimicrobianos (Fernández, 2000).

## 1. $\beta$ -lactamasas

Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico de los antibióticos, de manera que destruyen el sitio activo del antibiótico e impiden su actividad. Las  $\beta$ -lactamasas se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de  $\beta$ -lactámicos, es por esto que algunas subclasificaciones las denominan penicilinasas, cefalosporinasas o carbapenemasas, dependiendo de la familia de  $\beta$ -lactámicos que tenga mayor susceptibilidad a ser atacadas por la enzima. Así mismo, estas enzimas son susceptibles de ser inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el clavulanato, el sulbactam y el tazobactam, aunque no todas son susceptibles ni responden de igual forma a esta inhibición (Opazo, et al., 2009).

Existen dos clases de  $\beta$ -lactamasas: AmpC y las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). AmpC, está codificada en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios antibióticos  $\beta$ -lactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. El problema radica en que esta enzima, es inducida en cuestión de días, por tanto, al inicio del tratamiento, los  $\beta$ -lactámicos parecen servir, pero clínicamente el paciente no mejora y se descubre posteriormente la inducción completa de la enzima (Marcos, et al., 1993).

Las BLEE son codificadas por plásmidos y se adquieren mediante transporte de ADN extracromosomal y se manifiestan también por resistencia a penicilinas y a cefalosporinas. En un tipo de enzimas llamadas carbapenemasas se evidencia resistencia a carbapenémicos (Salazar, 2005).

## **2. Bombas de expulsión**

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana, que expulsan de la célula, detergentes y sustancias anfipáticas que de otra manera destruirían la bacteria. Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración,  $\beta$ -lactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetracilinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de la “impermeabilidad” a la mayoría de los antibióticos. Las bombas de expulsión, tienen también la capacidad de ser inducidas por antibióticos, especialmente ciprofloxacina. La sobreexpresión del gen MexAB-OprM, compromete la acción de quinolonas, penicilinas, cefalosporinas e incluso meropenem, pero no imipenem. La resistencia mediada por bombas de expulsión se sospecha por un antibiograma que demuestra resistencia a las penicilinas y cefalosporinas antipseudomonas, que también afecta la susceptibilidad a meropenem, imipenem o aminoglicósidos dependiendo de la clase de bomba (Opazo, et al., 2009).

## **3. Porinas de membrana**

Las porinas son proteínas transmembrana que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones. Su papel primitivo es permitir la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. Se sabe además, que es capaz de permitir la entrada de carbapenémicos, aunque no de otros  $\beta$ -lactámicos (Salavert, 1999).

La afinidad y la capacidad de difusión de imipenem a través de esta porina son casi 70 veces más alta que la de meropenem. El imipenem tiene la capacidad de seleccionar durante el tratamiento a cepas bacterianas que presentan mutaciones en la porina OprD, ésta demuestra disminución de la afinidad y transporte de este antibiótico a través de esta proteína. Estas cepas

mutantes muestran un aumento de la concentración inhibitoria mínima (CIM) para imipenem, lo que las hace francamente resistentes a este carbapenémico. Con respecto a meropenem, estas cepas mutantes también han demostrado un aumento de la CIM a valores, que si bien no demuestran resistencia, si revelan disminución de la susceptibilidad. La resistencia franca a meropenem exige dos mecanismos de resistencia: la mutación del gen que codifica la porina OprD y la activación de bombas de expulsión que toman a meropenem como sustrato. La mutación del gen OprD se sospecha ante una cepa francamente resistente a imipenem con susceptibilidad reducida o preservada a meropenem y sin afectar a otros  $\beta$ - lactámicos, a menos que estén presentes otros mecanismos de resistencia (Opazo, et al., 2009).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas son de las principales causas de muerte en cualquier parte del mundo. La baja disponibilidad de antibióticos de segunda línea en los países en vías de desarrollo y la emergencia de infecciones por bacterias multirresistentes en países desarrollados, adquiridas intrahospitalariamente como en la comunidad han sobrepasado a la aparición de nuevos antibióticos.

En las últimas décadas, el uso indiscriminado de antimicrobianos junto a la vulnerabilidad de los pacientes en centros hospitalarios ha permitido que *P. aeruginosa* y especies de *Acinetobacter* emerjan entre los principales patógenos oportunistas que ocasionan infecciones adquiridas en el ámbito hospitalario.

La gran mayoría de los tratamientos antibióticos establecidos se realizan empíricamente, es decir, sin contar con la información del agente etiológico y su sensibilidad. En la actualidad, la aparición de multirresistencias en cepas bacterianas se debe principalmente al uso irracional de los antibióticos. Por ello, es importante conocer el perfil de resistencia de cada microorganismo patógeno, así como identificar la posible presencia de multirresistencias, lo cual permitirá establecer esquemas del tratamiento adecuado. De esta forma se disminuirá la morbimortalidad asociada a infecciones por estos microorganismos, el uso irracional de antibióticos, la aparición de cepas resistentes y la disminución de días de estancia hospitalaria.

## V. OBJETIVOS

### A. Generales

1. Determinar el perfil de resistencia de antibióticos de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., en el Hospital General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- de la zona 9 y en el Hospital General de Accidentes Ceibal.
2. Determinar los mecanismos de resistencia de antibióticos de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., en el Hospital General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- de la zona 9 y en el Hospital General de Accidentes Ceibal.

### B. Específicos

1. Identificar el perfil y los mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., a través de medio de difusión Kirby-bauer.
2. Relacionar el tipo de muestra con el perfil y mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., en ambos hospitales por medio de frecuencias relativas y absolutas.
3. Establecer la sala hospitalaria que posee mayor frecuencia de perfil y mecanismos de resistencia por *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., en ambos hospitales por medio de frecuencias relativas y absolutas.

## **VI. HIPÓTESIS**

Las cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* causan infecciones en pacientes internos de hospitales del Seguro Social de la capital de Guatemala, a través del desarrollo de mecanismos de resistencia antimicrobiana, constituyendo elevados perfiles de resistencia.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

**A. Tipo de estudio:** Estudio descriptivo transversal.

**B. Universo y muestra:** Fueron tomados en cuenta los pacientes que presenten infección por *P. aeruginosa* y *A. baumannii* en el Hospital General de Enfermedades y el Hospital General de Accidentes Ceibal. El total de cepas aisladas fueron 90 y 57 respectivamente, elegido por conveniencia debido a la disponibilidad de materiales.

### C. Recursos

#### 1. Humanos

- Asesor: Lic. Martin Gil
- Jefes de laboratorio clínico de ambos hospitales del Seguro Social
- Hospital General de Enfermedades, zona 9. Licda. Patricia de Arroyo
- Hospital General de Accidentes “Ceibal”. Licda. Marisol Orozco.

#### 2. Institucionales

- Hospital General de Enfermedades.
- Hospital General de Accidentes Ceibal.

#### 3. Físicos

##### a. Equipo

- Autoclave
- Campana de Bioseguridad
- Incubadora
- Mecheros
- Estufa
- Balanza

## **b. Materiales**

- Agar en polvo
- Cajas de Petri
- Tubos con tapadera estériles
- Asas bacteriológicas
- Discos de antibióticos (imipenem, meropenem, ceftazidima con ácido clavulánico, cefepime, piperacilina, aztreonam, oxacilina).
- Discos de EDTA y ácido bórico.
- Hisopos estériles
- Pinzas

## **c. Reactivos**

- Solución de cloruro de bario y ácido sulfúrico al 1%.

## **D. Metodología**

### **1. Recolección de muestra**

Se trabajó con cultivos de muestras de pacientes internos en los distintos servicios, en los cuales se observó crecimiento y se identificaron colonias de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., en el laboratorio clínico de cada institución.

### **2. Procesamiento**

Se utilizaron cultivos jóvenes de cada una de las cepas y se realizó inmediatamente el antibiograma con los discos de antibióticos correspondientes para cada cepa (CLSI, 2013).

#### **a. Método de difusión en agar (Kirby-Bauer)**

Los puntos críticos que se tomaron en cuenta para el procedimiento fueron: La concentración del inóculo que corresponde a una dilución de turbidez 0,5 en la escala de

McFarland, (otras concentraciones pueden dar lugar a interpretaciones erróneas de los resultados). El medio adecuado es el de Müller-Hinton de 4mm de espesor. Y por último, la concentración de los discos antibióticos establecido por la CLSI (Rodríguez, 2005).

#### **b. Procedimiento para realizar el antibiograma**

Se utilizaron cepas de los microorganismos en cultivo puro.

Se comparó con el estándar de Mcfarland una suspensión de similar turbidez de ambos microorganismos. Se humedeció un hisopo estéril en la suspensión quitando el exceso contra las paredes del tubo. Se realizó un tapete, estriando con el hisopo en tres direcciones diferentes y por ultimo pasar el hisopo en la orilla. Se esperó dos minutos y luego fueron colocados los discos con la concentración conocida de los antibióticos (amoxicilina con ácido clavulánico, cefepime, meropenem, imipenem, aztreonam y oxacilina) según el mecanismo a evaluar. Se dejó incubar a 37°C por 24 horas y se midieron los halos sin crecimiento de las bacterias, comparando con una tabla estandarizada se determina si los microorganismos son susceptibles, intermedios o resistentes (Pedrique, 2002).

### **3. Determinación de mecanismos de resistencia que se identificarán para cada microorganismo**

#### **a. *P. aeruginosa***

##### **i. BLEE**

Para determinar la presencia de este mecanismo se colocaron los siguientes taxos (amoxicilina o ceftazidima/ácido clavulánico-cefepime) a una distancia de 2 cm para observar la sinergia entre los mismos. También se sospechó de BLEE cuando hubo disociación entre sensibilidad. Por ejemplo cuando ceftazidima es sensible, pero cefepime es resistente o si ceftazidima es resistente pero piperacilina es sensible (Díaz, 2008).

##### **ii. Carbapenemasas**

Para determinar la presencia de carbapenemasas, primero se evaluó la susceptibilidad de ceftazidima que debe ser resistente o intermedio y luego se procedió a diferenciar entre mecanismos.

MBL: Para la identificación de este mecanismo se observa sinergia entre meropenem-EDTA/SMA-imipenem colocando los taxos a una distancia de 1.5 cm. También se evaluó la resistencia en piperacilina, ceftazidima y cefepime, susceptibilidad en aztreonam.

KPC: En este mecanismo se observa por sinergia de los carbapenemes con ácido borónico y total resistencia en antibióticos de imipenem y aztreonam (Díaz, 2008).

## **b. *Acinetobacter* spp.**

### **i. BLEE**

La identificación de sinergia entre ceftazidima/ácido clavulánico-cefepime a una distancia de 2 cm indica presencia de BLEE. Se observa una deformación entre los halos de ambos antibióticos, además se sospecha de BLEE cuando se encuentra disociación entre sensibilidad, por ejemplo: cuando ceftazidima es sensible, pero cefepime es resistente o ceftazidima resistente, pero piperacilina es sensible (Díaz, 2008).

### **ii. Producción de AmpC**

La presencia de este mecanismo provoca un achatamiento entre imipenem ceftazidima con ácido clavulánico colocados a una distancia de 2 cm (Díaz, 2008)

### **iii. Carbapenemasas**

Para determinar la presencia de carbapenemasas, primero se evalúa la susceptibilidad de ceftazidima que debe ser resistente o intermedio y luego se procede a diferenciar entre mecanismos.

MBL: Para identificar este mecanismo se observa sinergia entre meropenem-EDTA/SMA-imipenem colocando los taxos a una distancia de 1.5 cm, además se evaluó la resistencia para antibióticos como piperacilina, ceftazidima y cefepime, y susceptibilidad en aztreonam (Díaz, 2008).

### **iv. Oxacilinasas**

Para determinar que una cepa de *A. baumannii* posee resistencia a oxacilinasas se observó si se presentaba resistencia total a la oxacilina.

## **E. Diseño del muestreo**

Los mecanismos de resistencia fueron determinados en muestras positivas a *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., de pacientes internos desde Octubre 2013 hasta completar el número de muestras indicado. Tomando un 60% del total de las muestras del Hospital General de Enfermedades de la zona 9, y un 40% del total de muestras del Hospital General de Accidentes Ceibal, por conveniencia.

## **F. Análisis de resultados**

1. Los resultados obtenidos en cada hospital se analizaron por separado, agrupando las muestras por el tipo de muestra y el microorganismo aislado, para determinar el tipo de muestra prevalente.
2. Perfil de resistencia y mecanismos de resistencia. Se agruparon los resultados según la frecuencia de los perfiles de resistencia/susceptibilidad de cada bacteria. Se cuantificaron los mecanismos de resistencia, por medio de frecuencias absolutas y relativas, representadas en tablas y gráficas.
3. Análisis: De acuerdo a los resultados obtenidos, se agruparon las cepas de acuerdo al perfil de mayor frecuencia y a los mecanismos de resistencia para realizar comparaciones entre el tipo de muestra/paciente/sala.

## VIII. RESULTADOS

La mayor frecuencia *P. aeruginosa* y *A. baumannii* se aisló de muestras de secreción en pacientes en sala de Encamamiento (0.21) y en muestras de aspirado traqueal en pacientes en la sala de Cuidados Intensivos (0.19), no se logró identificar una diferencia significativa en los demás tipos de muestras y salas (Figura 1).

**Figura 1. Presencia de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* por sala y tipo de muestra en el Hospital General de Accidentes Ceibal.**

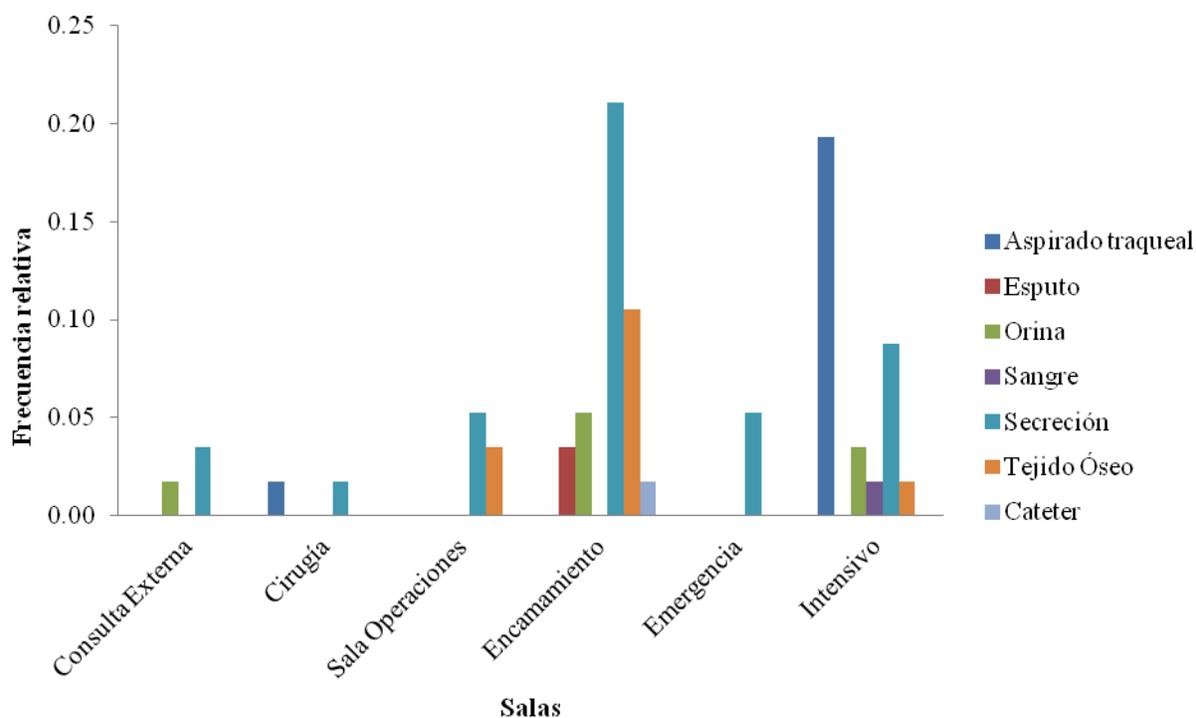


Figura 1. Se presentan los resultados en escala de frecuencia relativa (0-1) en el eje de las ordenadas y en el eje de las abscisas las salas de las cuales fueron aisladas las cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* sin importar la presencia de mecanismos de resistencia, se observó una relación entre el tipo de muestra y el tipo de sala en la que se encontraba el paciente al momento del aislamiento de la cepa.

En la distribución de las cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* con presencia y ausencia de mecanismos de resistencia, se identificó que la mayor cantidad de ambas cepas se presentaron en muestras de aspirado traqueal en pacientes de las salas de Cuidados Intensivos (0.17) e Intermedios (0.10), seguido de secreciones varias en la Emergencia (0.08) que presentó una distribución casi homogénea de muestras de exudado, orina, sangre, esputo y heces en las demás salas hospitalarias (Figura 2).

**Figura 2. Frecuencia de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* por sala y tipo de muestra en el Hospital General de Enfermedades.**

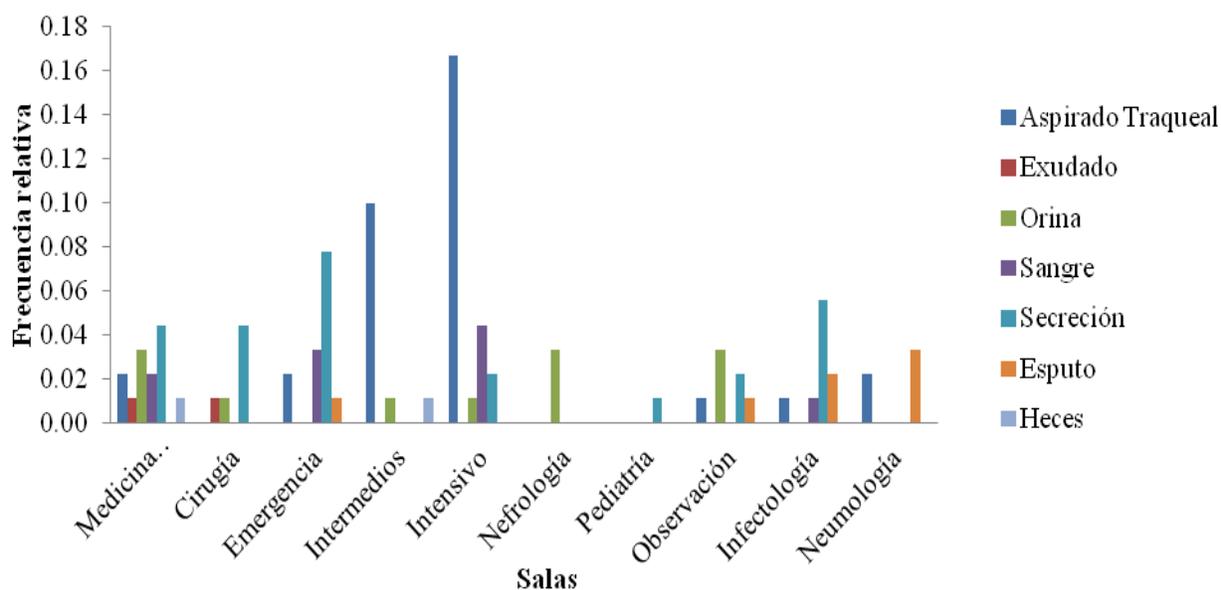


Figura 2. En esta gráfica de frecuencia relativa (escala 0-1) de los tipos de muestra según las salas de las cuales se aislaron ambas cepas (abscisas).

La mayor cantidad de cepas que presentaron mecanismos de resistencia fueron aisladas del intensivo y el tipo de muestra correspondió a aspirado traqueal (0.22), al igual que en Encamamiento siendo la principal muestra tejido óseo (0.22) seguido de secreciones varias (0.17). Las demás cepas con mecanismos de resistencia se aislaron de muestras varias como catéter, esputo y orina en todos los servicios.

Las secreciones varias predominaron en los diferentes servicios presentando mecanismos de resistencia (Figura 3).

**Figura 3. *P. aeruginosa* que presenta algún mecanismo de resistencia (KPC, MBL y/o BLEE) según la sala y tipo de muestra aislados en el Hospital General de Accidentes Ceibal.**

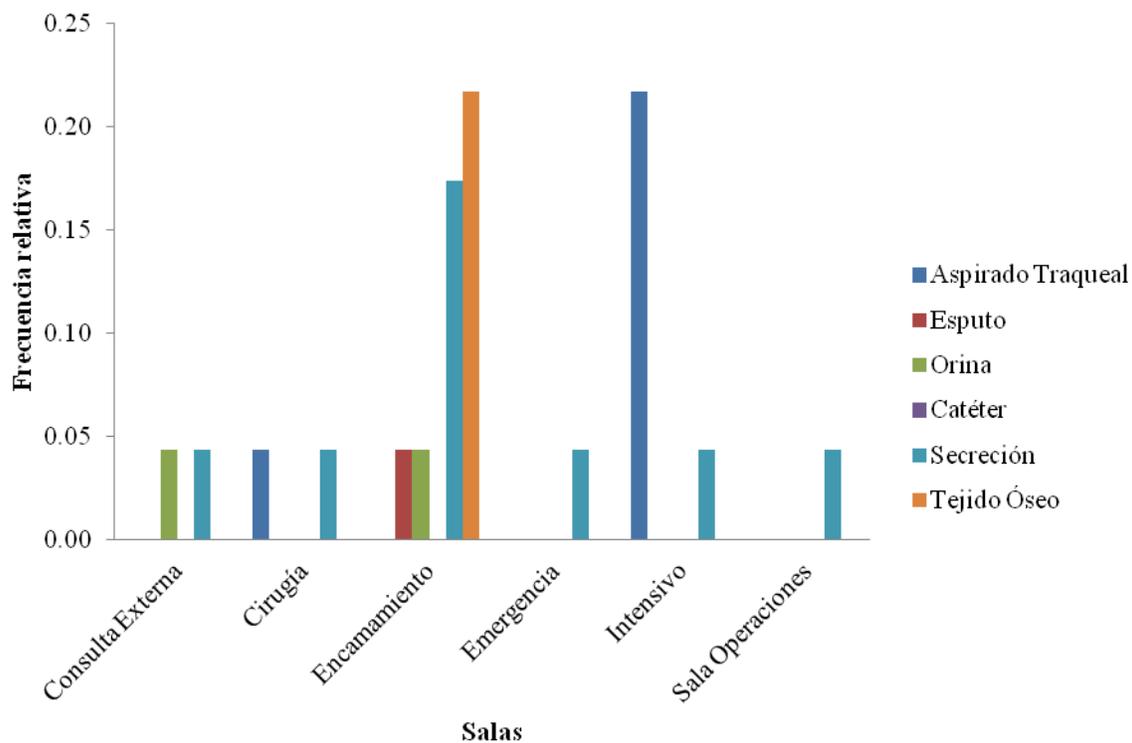


Figura 3. Se observa la distribución en frecuencia relativa de *P. aeruginosa* (ordenadas) que presentó mecanismos de resistencia según las salas (abscisas) observándose una relación en el tipo de muestra (abscisas).

En la Emergencia del Hospital General de Enfermedades se aisló la mayor cantidad de cepas que presentaban mecanismos de resistencia y los tipos de muestra más frecuentes fueron secreciones varias (diferentes heridas e infecciones superficiales) (0.14), del mismo tipo de muestra se aisló en el servicio de Cirugía (0.09). Con respecto a los demás tipos de muestra se observa una distribución casi uniforme en todos los servicios.

En los servicios más delicados como Intensivo e Intermedios se observa una mayor cantidad de aspirado traqueal contaminado con cepas resistentes (0.07) (Figura 4).

**Figura 4. *P. aeruginosa* que presenta algún mecanismo de resistencia (KPC, MBL y/o BLEE) según la sala y tipo de muestra aislados en el Hospital General de Enfermedades.**

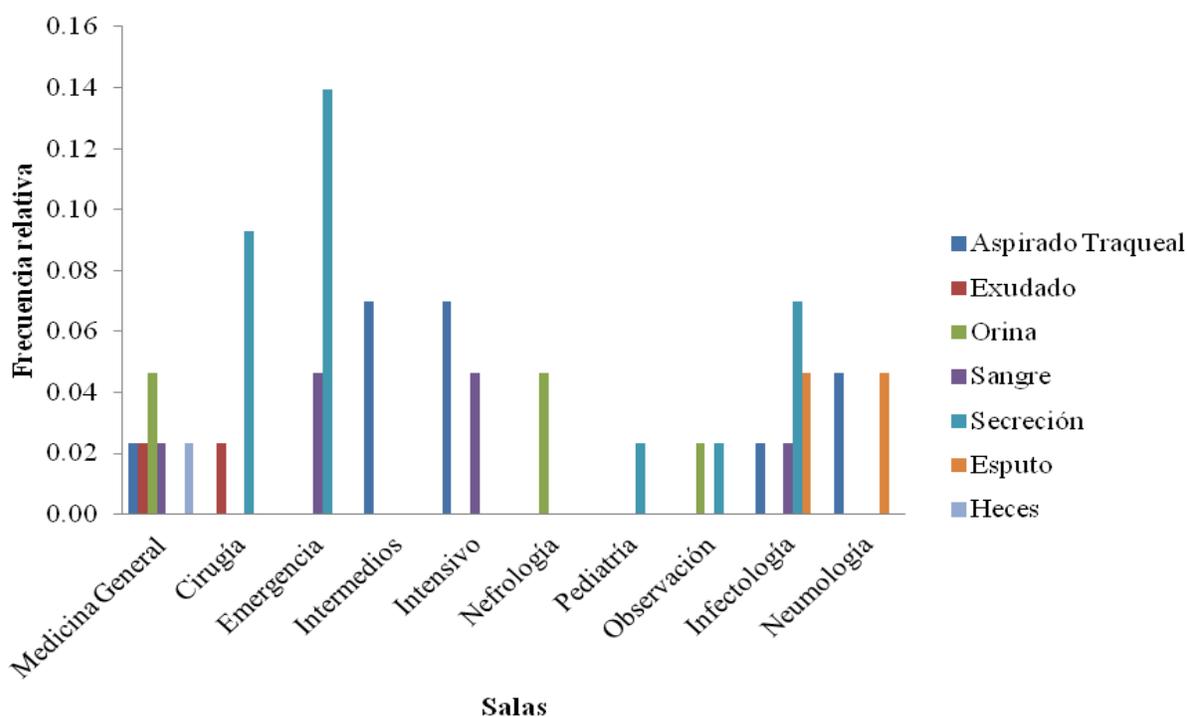
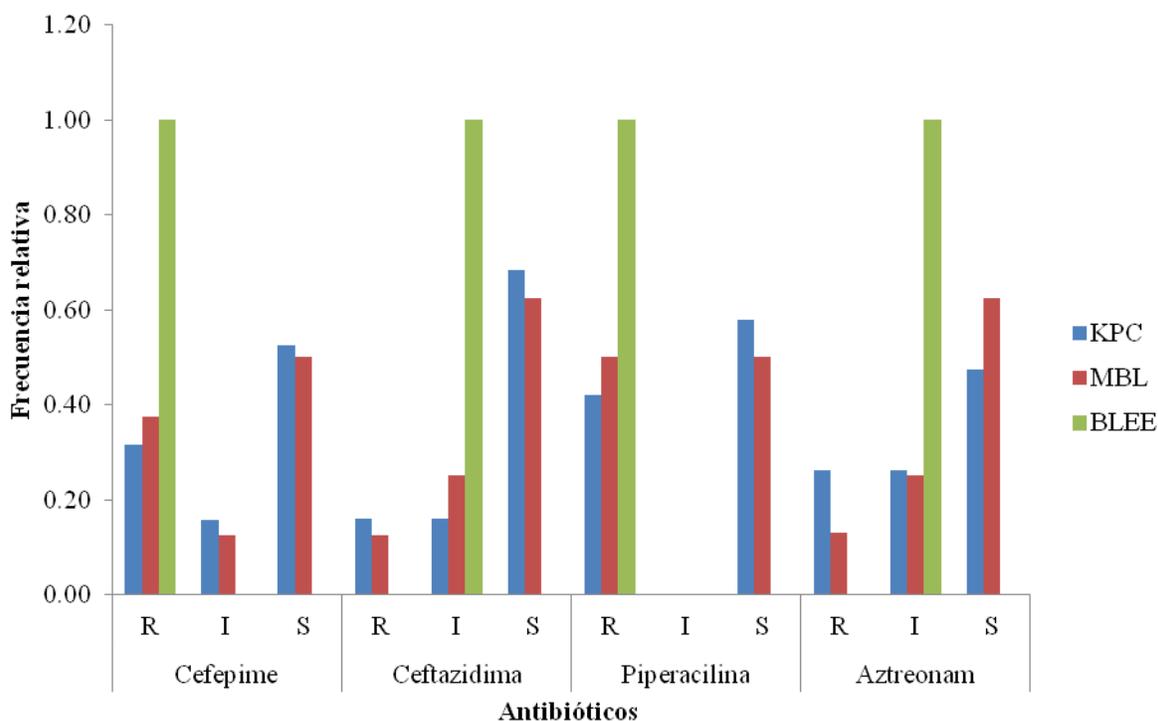


Figura 4. Se observa la distribución en frecuencia relativa (abscisas), de *P. aeruginosa* que presentó mecanismos de resistencia según las salas (ordenadas), haciendo una relación entre el tipo de muestra.

La única cepa de *P. aeruginosa* que presentó BLEE fue resistente para cefepime, piperacilina y aztreonam, e intermedio para ceftazidima. Las cepas confirmadas con mecanismos de resistencia KPC y MBL en su mayoría presentaron sensibilidad a los cuatro antibióticos (Figura 5).

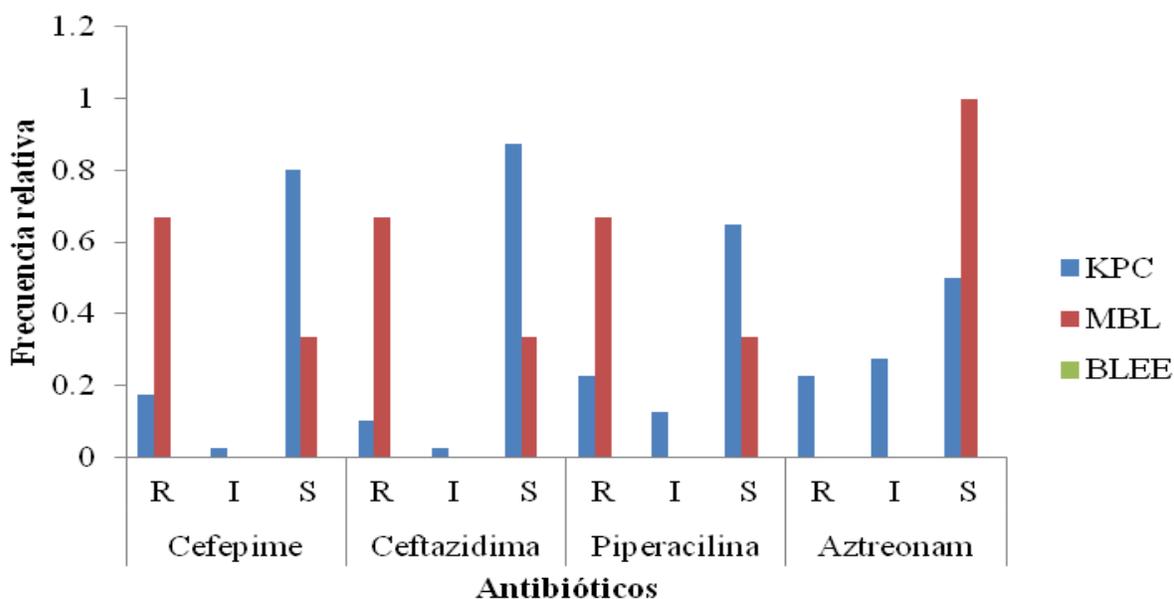
**Figura 5. Perfil de resistencia de *P. aeruginosa* que sí presentan mecanismos de resistencia aislados del Hospital General de Accidentes Ceibal.**



*Figura 5.* Se observa el perfil de resistencia en frecuencia relativa (escala 0-1) de los antibióticos ensayados en las cepas que presentaron mecanismos de resistencia (ordenadas). Los cuatro antibióticos se muestran los resultados como resistente, intermedio y sensible (abscisas).

Se determinó que el perfil de resistencia tipo KPC presentó mayor frecuencia de sensibilidad con los cuatro antibióticos en *P. aeruginosa*, aunque puede observarse que en el aztreonam se identificó la misma frecuencia de cepas resistentes e intermedias. Con el caso de MBL puede observarse que cefepime, ceftazidima y piperacilina sí presentan mayor frecuencia de resistencia, y la totalidad de éstas presenta sensibilidad para aztreonam (Figura 6).

**Figura 6. Perfil de resistencia de *P. aeruginosa* que sí presentan mecanismos de resistencia aislados del Hospital General de Enfermedades.**



*Figura 6.* Se observa el perfil de resistencia en frecuencia relativa (escala 0-1) (abscisas) de los antibióticos testados en las cepas que presentaron mecanismos de resistencia. En los cuatro antibióticos se muestran los resultados como resistente, intermedio y sensible (ordenadas).

## IX. DISCUSIÓN

Se llevó a cabo un estudio descriptivo en dos hospitales del Seguro Social, en el que se evaluaron todas las cepas positivas a *P. aeruginosa* y *A. baumannii* por ser de mayor prevalencia en el grupo de los bacilos gramnegativos no fermentadores (Larrondo, 2010). Las infecciones causadas por *P. aeruginosa* y *A. baumannii* han incrementado notablemente a través de los años, ésto es causado por su ubicuidad, el deterioro del estado inmunológico del paciente, la facilidad de adquirir multirresistencias y la capacidad de resistencia a antisépticos débiles como cloruro de bencetonio, metilrosamilina, cloherxidina, hexaclorofeno (Cruz, Vargas y Acosta, 2012), entre otros.

En un estudio realizado en Argentina se observó que de 228 muestras hospitalarias el 61% (140) correspondió a *P. aeruginosa* y el 36% (81) a *Acinetobacter* sp. en tanto que, el 3% (7) correspondió a otros bacilos gramnegativos no fermentadores (Ferrero, 2005). La prevalencia de ambos microorganismos fue similar en esta investigación, ya que se obtuvo un 58% (33) de *P. aeruginosa* y 42% (24) de *A. baumannii* en el Hospital General de Accidentes y un 61% (55) de *P. aeruginosa* y 39% (35) de *A. baumannii* en el Hospital General de Enfermedades, sin embargo, la presencia de otros bacilos no fermentadores no se tomaron en cuenta.

En este estudio se detectó un alto porcentaje de muestras positivas aisladas en aspirados traqueales en el Hospital General de Accidentes (Figura 1) y el Hospital General de Enfermedades (Figura 2), en pacientes que en su mayoría presentaron algún procedimiento como intubación y/o estancia en las Unidades de Cuidados Intensivos e Intermedios. Pacientes que se encontraban en otras situaciones desfavorables como, deterioro del estado inmunológico, edad (extremos de la vida), coinfecciones y manipulación constante, fueron comprometidos a adquirir otras infecciones por distintos patógenos que, a la vez, pueden facilitar la infección por bacilos gramnegativo no fermentadores (Lemos, Restrepo, Alvis, Quevedo, Cañon y León, 2011). Los bacilos gramnegativo no fermentadores poseen la capacidad de colonizar el tracto respiratorio inferior por dos vías: La vía endógena, por medio de microaspiraciones que provienen de la orofaringe a través del espacio del tubo endotraqueal y la pared de la traquea; y la vía exógena, a través del material respiratorio artificial, contaminación por manos del personal sanitario y mala

esterilización de materiales (Anexo 3). *P. aeruginosa* es capaz de colonizar por ambas vías, mientras que *A. baumannii* solo lo hace por vía exógena (Vallesa y Mariscal, 2005). Además, otros autores como Niederman, Mantovani, Shock, Papas & Fein (2009) sugieren que en *P. aeruginosa* existe un tropismo especial hacia las células del epitelio traqueal, lo que explica el por qué esta especie microbiana es agente causal de neumonía asociada a ventilación mecánica y se reporta con mayor frecuencia que *A. baumannii*.

Se pudo observar una diferencia en cuanto a las muestras positivas *P. aeruginosa* y *A. baumannii* con respecto a los mecanismos de resistencia, en la cual, la mayoría de cepas que presentaron algún mecanismo resistencia en el Hospital General de Accidentes corresponde a muestras de tejido óseo, debido al tipo de hospital, ya que los pacientes generalmente tienen heridas expuestas siendo más susceptibles de adquirir alguna infección y llegar a una posterior diseminación; también fueron frecuentes las muestras traqueales y de secreciones varias producidas por la manipulación constante (Figura 3), a diferencia del Hospital General de Accidentes, en el Hospital General de Enfermedades predominaron las muestras de secreciones varias en el servicio de emergencia, debido a que en este servicio se administran antibióticos de urgencia sin tener un resultado concreto de laboratorio para asistir al paciente lo más pronto posible (Figura 4).

Es importante recalcar que estas infecciones nosocomiales no son exclusivas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, solamente son algunos de los patógenos responsables. Si bien la enfermedad puede estar presente sin la presencia estricta de estos dos microorganismos, ellos son responsables de cierto porcentaje de las mismas, pero no es posible determinar la frecuencia exacta con este estudio, ya que para ello sería necesario estudiar a profundidad todos los factores que pueden afectar a un solo paciente, desde las características sociodemográficas hasta el estado actual en el hospital, identificando patologías asociadas y no asociadas causantes de su estadía en el nosocomio. Solamente se puede mencionar que en el Hospital General de Accidentes un 72% de los pacientes de este estudio fueron hombres y 28% mujeres y en el Hospital General de Enfermedades un 56% fueron hombres y un 44% mujeres. Debe considerarse que estos datos por

sí solos no indican mayor información, ya que no se tomó en cuenta la historia clínica completa de cada uno de ellos.

Otra característica que facilitó la producción de infecciones causadas por estos microorganismos fue la habilidad que poseen para desarrollar rápidamente resistencia antimicrobiana, más aún cuando se da tratamiento sin un resultado previo de laboratorio (Larrondo, 2010). Cuando los aislamientos no son de microorganismos multirresistentes, los carbapenemes pudieran utilizarse como alternativas de primera línea, generalmente en combinación con los aminoglucósidos. Las opciones de terapia son limitadas cuando se enfrenta una multirresistencia, siendo los agentes más activos *in vitro* las polimixinas: polimixina B y polimixina E (Colistina) (Larrondo, 2010). Por inferencia, en este estudio la única opción terapéutica en la mayoría de los casos son las polimixinas, ya que en su mayoría las cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* evaluados en ambos hospitales presentaron mecanismos de resistencia producidos por carbapenemasas y los que no presentaron este mecanismo, tampoco fueron sensibles a los demás medicamentos evaluados (Figura 5 y 6).

Es importante señalar que en el Hospital General de Accidentes solamente una cepa de *A. baumannii* produjo deformación en el halo de imipenem mostrando mecanismo de resistencia KPC, en una muestra de secreción (Anexos 4 y 5), las demás muestras en su mayoría, aunque no presentaron mecanismos de resistencias sí mostraron multirresistencias. Y en el Hospital General de Enfermedades una cepa presentó mecanismo AmpC en una muestra de esputo, presentando además resistencia a oxacilina, aztreonam y siendo intermedio a piperacilina (Anexos 7 y 8).

Debido al uso indiscriminado de antibióticos y a la facilidad de estos microorganismos de adquirir genes de resistencia, se observó que aunque *A. baumannii* presentó escasamente los mecanismos ensayados en este estudio, sí presentó una alta multirresistencia que restringió opciones terapéuticas, en comparación con *P. aeruginosa* cuyas cepas, a pesar de poseer los mecanismos evaluados presentó más antibióticos susceptibles *in vitro* (Anexos 6 y 9), (Jover, Barcenilla, Barbé, García, López y Castañeda, 2005) datos similares se han encontrado en otros estudios; como en el de Falagas, Bliziotis y Siempos (2006), estudio de casos y controles, donde observaron mayor incidencia de mortalidad en pacientes con infección y/o colonización por *A.*

*baumannii* con respecto a otras especies microbianas, debido a la elevada resistencia a los antimicrobianos que genera esta especie. Existe información sobre la responsabilidad de microorganismos multirresistentes en el tratamiento antibiótico empírico inadecuado y en el retraso del inicio de un tratamiento correcto, lo que incrementa la sepsis y ser causa de muerte (Iregui, Ward, Sherman, Fraser & Kollef, 2002).

## X. CONCLUSIONES.

1. En *P. aeruginosa* se identificaron mecanismos de resistencia tipo KPC y MBL, a diferencia de *A. baumannii* que, aunque no se le identificaron mecanismos de resistencia, en su mayoría mostró multirresistencia a todos los antibióticos ensayados, en ambos hospitales.
2. Se observó un alto porcentaje de muestras con cultivo positivo a *P. aeruginosa* y *A. baumannii* en aspirados traqueales en el Hospital General de Enfermedades, sin embargo en el Hospital General de Accidentes el tipo de muestra sobresaliente fue de tejido óseo.
3. Se identificó una mayor presencia de *P. aeruginosa* en las salas de cuidados intensivos en el Hospital General de Enfermedades, comparado con el Hospital General de Accidentes en el cual predominó en la sala de Encamamiento.
- 4.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Las cepas bacterianas a estudiar deben ser jóvenes (cultivos de 24 horas) para que la potencia de los mecanismos de resistencia y multirresistencia no se vean afectados.
2. Las cepas deben ser puras e identificadas correctamente con pruebas bioquímicas para evitar que otra cepa contaminante interfiera con la identificación del perfil y mecanismos de resistencia.
3. Evitar cambios de temperatura innecesarios a los discos de antibióticos y cajas de agar.
4. El medio Müller-Hinton debe tener un espesor exacto de 4 mm para que los halos no sean mal interpretados.
5. Realizar el control de calidad para establecer que la concentración es adecuada, de ácido borónico, EDTA y ácido clavulánico, ya que fueron impregnados en los discos.
6. Debido a que el método manual es más susceptible a errores, es importante prestar atención a la colocación de los discos a una distancia de 2 cm.
7. Se debe utilizar un estandar de McFarland recientemente elaborado.
8. Realizar el estudio con una población más grande, con datos sociodemográficos e historia clínica de los pacientes, para poder aportar más datos epidemiológicos.

## XII. REFERENCIAS

- Ausina, V. (2006). *Tratado seimc de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. México: Editorial Médica Panamericana.
- Cabello, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana*. (3ª Ed). México: Editorial Médica Panamericana.
- Christensen, E., Gerner-Smidt P. & Kristensen, H. (1990). Radiation resistance of clinical *Acinetobacter* spp., a need for concern?. *Journal Hospital Infection*, 18(2), 85-92.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. 11<sup>th</sup> edition. CLSI Document M100-S23. Wayne, PA: CLSI.
- Cruz, S., Vargas, J. y Acosta, M. (2012). Incidencia de bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa causantes de infección nosocomial. *Evidencia Médica e Investigación en Salud*, 5 (1), 13-18.
- Díaz, J. (2008). *Detección de metalobetalactamasa en Pseudomonas aeruginosa resistentes a los carbapenemes (MBLs) en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008*. (Tesis de maestría en microbiología), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- Diomedi, A. (2005). Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente: Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. *Revista Chilena de Infectología*, 22(4), 298-320.
- Driscoll, J., Brody, S. & Kollef, M. (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Sociedad Iberoamericana de Información Científica*, 67(3), 351-368.

- Falagas, M., Bliziotis, I. y Siempos, I. (2006). Mortalidad atribuible de infecciones por *Acinetobacter baumannii* en pacientes en estado crítico: una revisión sistemática de cohorte y acompañado estudios de casos y controles. *Critical Care*, 10(2), 48-58.
- Felipe, E. (2010). *Determinación de metaloenzimas en aislamientos de Pseudomonas aeruginosa provenientes del Hospital General San Juan de Dios*. (Tesis de Licenciatura: Química Bióloga), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Fernández, F. (2000). Actividad de inhibidores de betalactamasas frente a *Acinetobacter baumannii*. *Revista Española de Quimioterapia*, 13(1), 31-36.
- Ferrero, S. (2005). *Incidencia y resistencia de bacilos gram negativos no fermentadores*. (Resumen M-36). Argentina: Comunicaciones científicas y tecnológicas. Recuperado de [www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-136.pdf](http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/3-Medicina/M-136.pdf)
- Ferrero, S. Gomez, L. y Reparaz, M. (2009). *Vigilancia de los mecanismos de resistencia en Pseudomonas aeruginosa*. (Plan de trabajo Pi110-05). Argentina: Comunicaciones científicas y tecnológicas. Recuperado de [www.unne.edu.ar/unnevieja/investigacion/com2009/CM-073.pdf](http://www.unne.edu.ar/unnevieja/investigacion/com2009/CM-073.pdf).
- Forbes, B. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. (12<sup>a</sup> Ed.). México: Editorial Médica Panamericana.
- Girard, R., Perraud, M., Prüss, A., Savey, A., Tikhomirov, E., Thuriaux, M. y Vanhems, P. (2002). *Prevención de las infecciones nosocomiales*. (2<sup>a</sup> Ed.). Unión Europea: Organización Mundial de la Salud.
- Gómez, C., Leal, A., Pérez, M. y Navarrete, M. (2005). Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*, 3(1), 27-34.

- Gonzalo, O. (2007). *Infecciones por bacilos gramnegativos*. Chile: Universidad de La Frontera.
- Iregui, M., Ward, S., Sherman, G., Fraser, V. & Kollef, M. (2002). Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. *Chest Journal* 22(1), 262-268.
- Jover, A., Barcenilla, F., Barbé, E., García, M., López, R. y Castañeda, E. (2005). Infección nosocomial por gérmenes multirresistentes durante 1 año en un hospital de segundo nivel: Análisis clínico y microbiológico. *Revista Anales de Medicina Interna*, 22 (2), 180-189.
- Larrondo, H. (2010). Infección por bacilos gramnegativos no fermentadores: Problemática en las unidades de cuidados intensivos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9 (5), 680-687.
- Lebeque, Y., Morris, H. y Calas, N. (2006). Infecciones nosocomiales: Incidencia de la *Pseudomona aeruginosa*. *Revista Cubana de Medicina*, 45(1), 232-236.
- Lemos, E., Restrepo, F., Alvis, N., Quevedo, E., Cañon, O. y León, Y. (2011). Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30(4), 150-158.
- Leturia, A., Cobos J. y Díaz, L. (1997). Estudio de las resistencias a antibióticos de *Acinetobacter* en infecciones urinarias en una unidad de enfermos con lesión medular. *Revista Española de Quimioterapia*, 10(3), 236-239.
- Luján, D., Ibarra, J. y Mamani, E. (2008). Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario de Lima, Perú. *Revista Biomedica*, 19(3), 156-160.
- Marcos, M., Vila, J. y Jiménez, M. (1993). Epidemiología de las infecciones por *Acinetobacter baumannii*. *Revista de Microbiología Clínica*, 11(8), 29-33.
- Martínez, A., Ruíz, J., Jaime, F., Simarro, E. y Fernández, A. (2002). Incidencia de colonización e infección por *Acinetobacter baumannii* en una UCI con situación de endemia: Análisis

- de factores de riesgo mediante un estudio de vigilancia. *Revista Científica de Microbiología Clínica*, 20(5), 194-199.
- Niederman, M., Mantovani, R., Schock, P., Papas, J. & Fein, A. (2009). Patterns and routes of tracheobronchial colonization in mechanically ventilated patients: The role of nutritional status in colonization of the lower airway by *Pseudomonas species*. *Chest Journal*, 95(1), 155-161.
- Opazo, A., Mella, S., Dominguez, M., Bello, H. y Gonzalez, G. (2009). Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. *Revista Chilena de Infectología*, 26 (6), 499-503.
- Pardo, F., Tirado, M., García, E., Granados, J., Campos, A. y Moreno, R. (2010). *Pseudomonas aeruginosa*: resistencia antimicrobiana en aislados clínicos. *Revista Española de Quimioterapia*, 23(1), 20-26.
- Pedrique, M. (2002). *Determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos*. (3ª Ed.). Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- Rodríguez, E. (2005). *Bacteriología General: Principios y Practicas de Laboratorio*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Ruíz, L. (2007). *Pseudomonas aeruginosa: aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos*. (Tesis de doctorado), Universidad de Barcelona, Barcelona.
- Salavert, M. (1999). *Acinetobacter*: ¿Multiresistencia o supervivencia?. *Revista Española de Quimioterapia*, 12(4), 290-293.
- Salazar, E. (2005). *Acinetobacter spp.*: Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(2), 178-191.

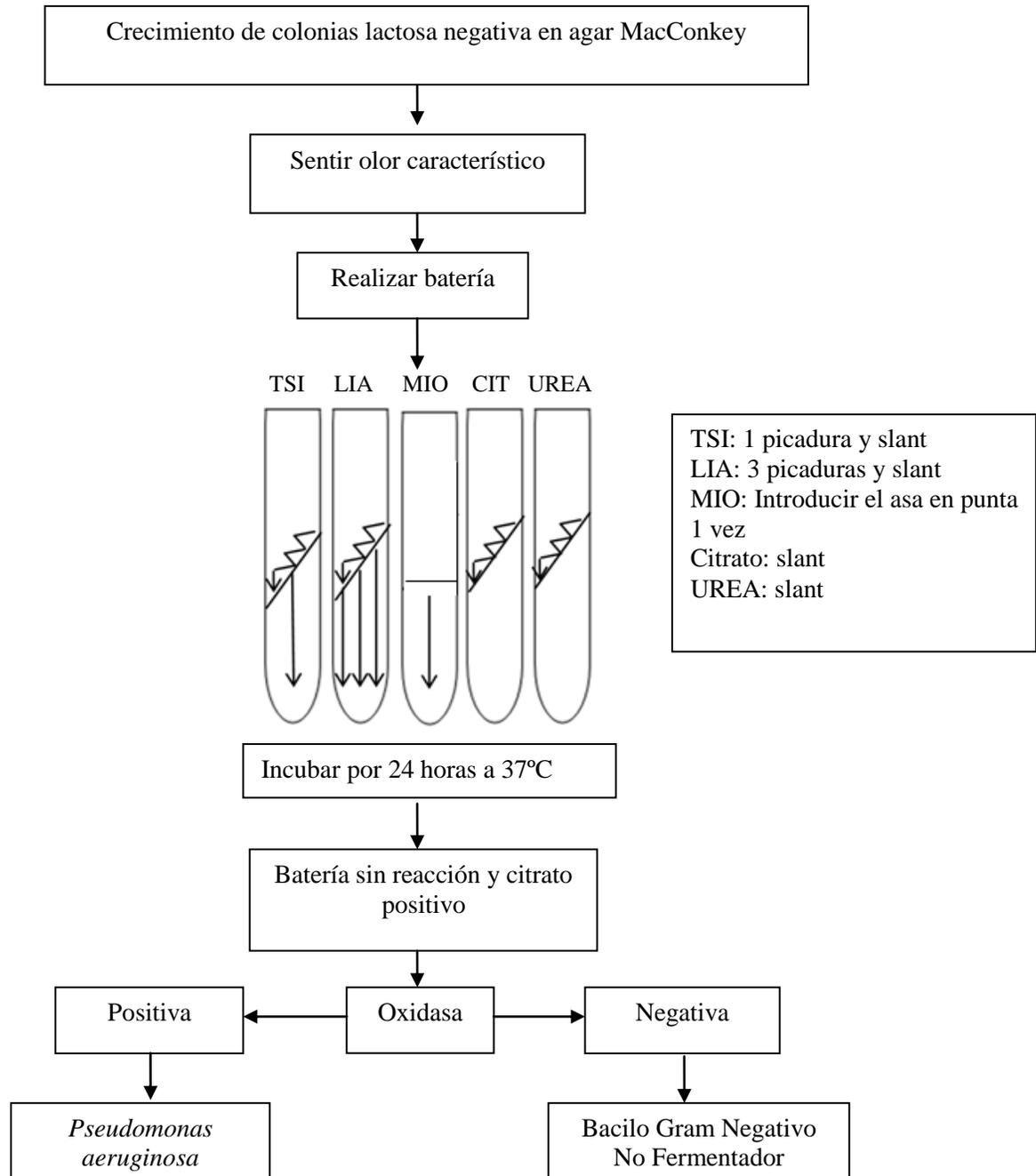
Suárez, C., Kattán, J., Guzmán, A. y Villegas, M. (2006). Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Revista Infectología*, 10(2), 85-93.

Tortora, G., Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. (9ª. Ed.) México: Editorial Médica Panamericana.

Vallesa, J. y Mariscal D. (2005). Neumonía por *Pseudomonas aeruginosa*. *Enfermedades Infecciosas. Microbiología Clínica*, 23(3),30-36.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo 1. Marcha para identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores.



Fuente: Pardos, et al, 2010.

**Anexo 2.** Resistencia a los antibióticos en 144 aislamientos clínicos de *P. aeruginosa*.

<b>Antibiótico</b>	<b>*R n (%)</b>	<b>** I n (%)</b>	<b>***S n (%)</b>
Ceftazidima	102 (71)	7 (5)	35 (24)
Cefepime	76 (53)	20 (14)	48 (33)
Aztreonam	89 (62)	26 (18)	29 (20)
Imipenem	68 (47)	3 (2)	73 (51)
Meropenem	48 (27)	9 (6)	87 (67)
Amikacina	75 (52)	3 (2)	66 (46)
Gentamicina	79 (55)	13 (9)	2 (36)
Ciprofloxacina	82 (57)	14 (10)	48 (33)

\*R = Resistente, \*\* I= Intermedio, \*\*\*S= Sensible

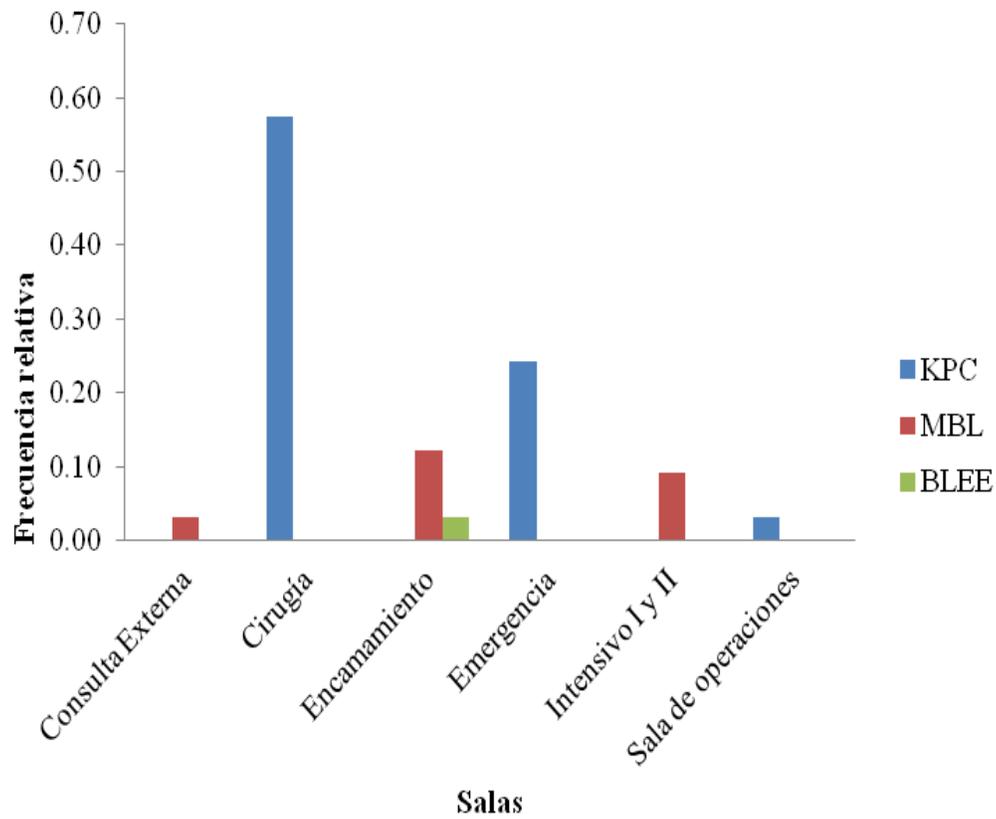
Fuente: Lujan et al, 2008.

**Anexo 3.** Niveles de desinfección

<b>Nivel de desinfección</b>	<b>Componente utilizado</b>
Alto	Glutaraldehído 2%, peróxido de hidrógeno 6%, ácido peracético, amina+amonio
Intermedio-alto	Compuestos clorados
Intermedio	Alcohol, iodóforos
Intermedio-bajo	Fenoles, clorhexidina
Bajo	Amonios cuaternarios

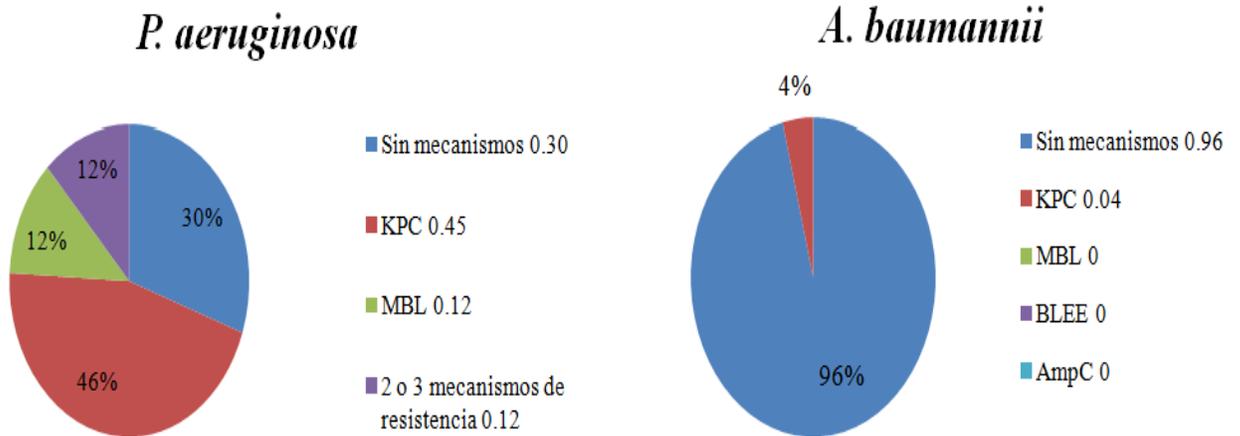
Fuente: Hospital Universitario Central de Asturias

**Anexo 4. Frecuencia de *P. aeruginosa* por mecanismos de resistencia y salas aislados en el Hospital General de Accidentes.**



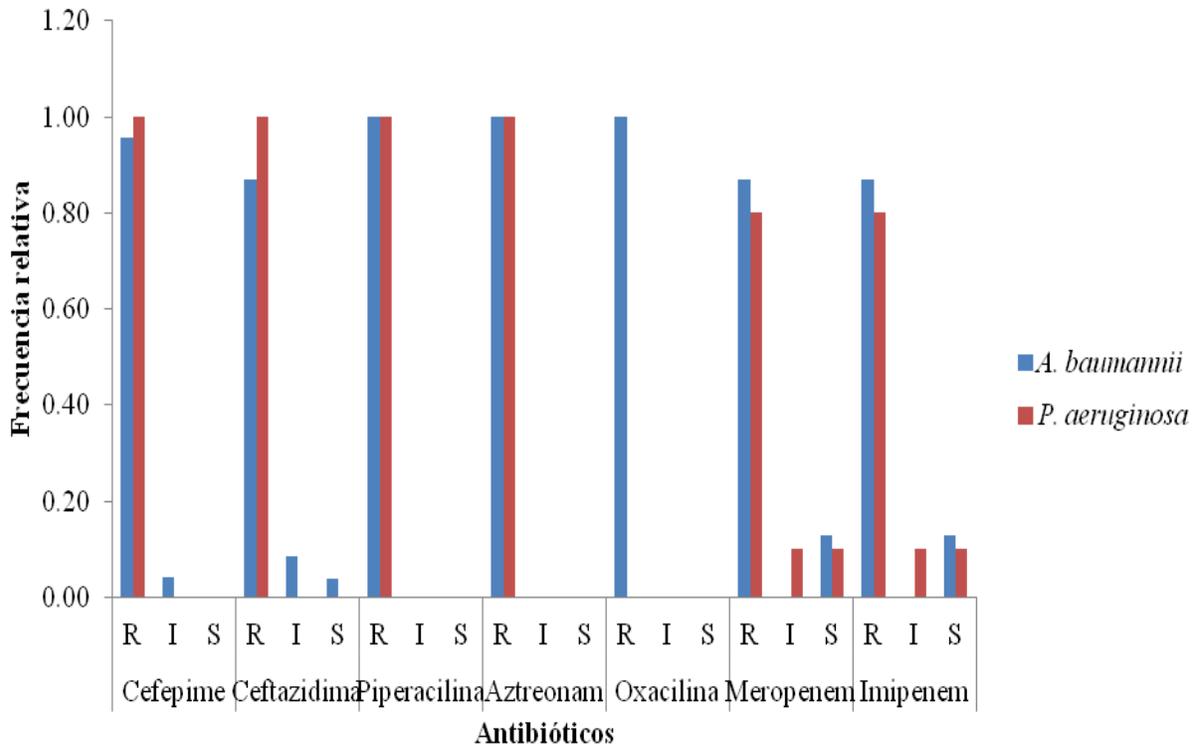
Anexo 4. Se describe con frecuencia relativa (escala de 0 a 1) los mecanismos de resistencia encontrados en las cepas de *P. aeruginosa* aisladas del Hospital. Relacionando las salas y los mecanismos de resistencia.

**Anexo 5. Frecuencia de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* aislados en el Hospital General de Accidentes Ceibal.**



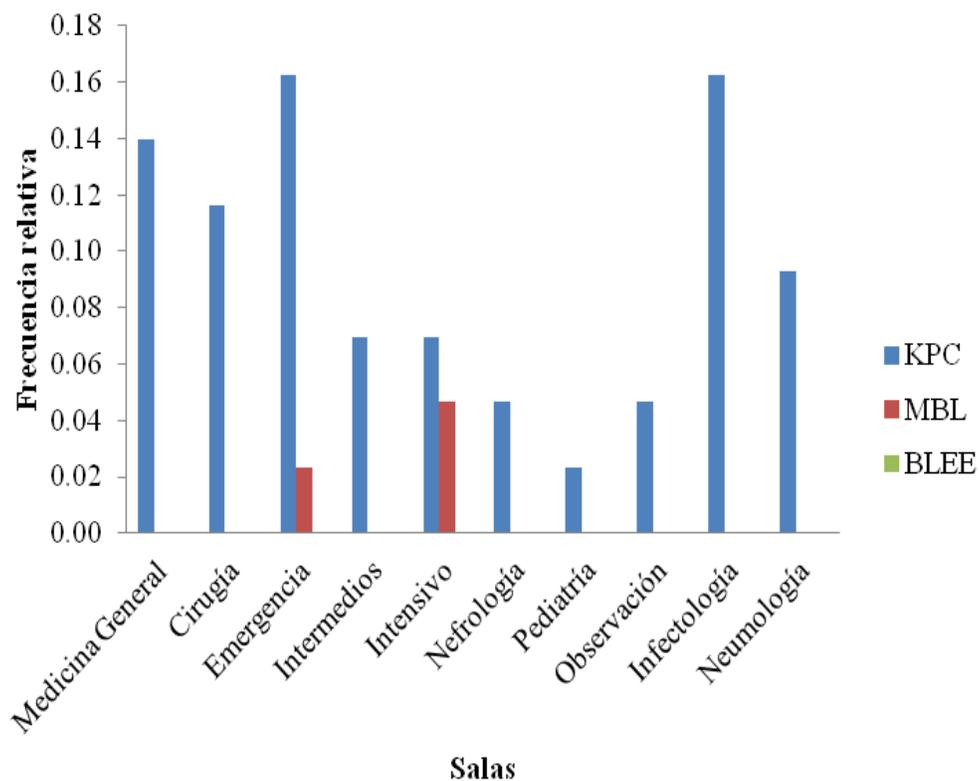
Anexo 5. Se observa la distribución de ambas cepas de acuerdo a los mecanismos de resistencia que presentaba cada una de ellas. En la gráfica se observa el porcentaje y el número indicado a la par de cada mecanismo indica la frecuencia relativa de cada una, es decir que las cepas sin mecanismo de resistencia corresponden al 0.30 en la escala de 0-1. El total de las cepas de *P. aeruginosa* fue de 33 y de *A. baumannii* fue 24.

**Anexo 6. Perfil de resistencia de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* que no presentan mecanismos de resistencia aislados del Hospital General de Accidentes Ceibal.**



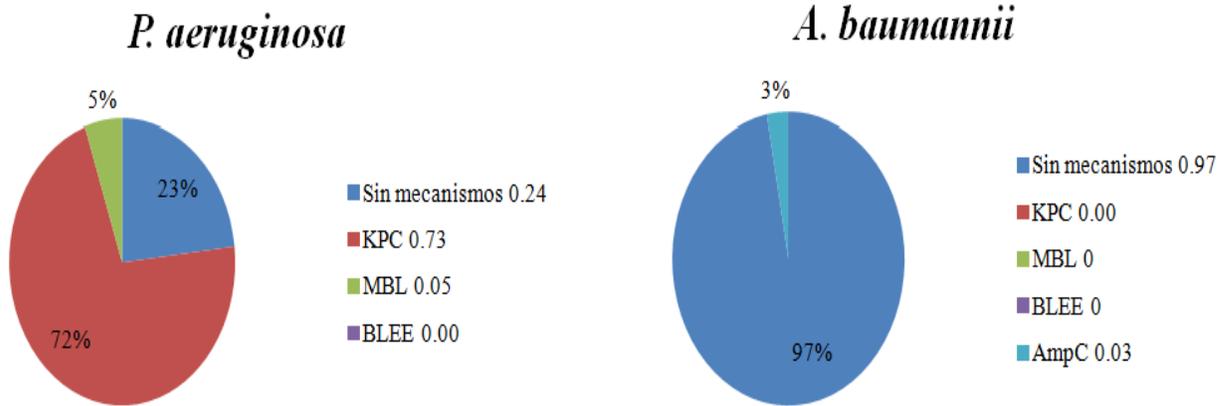
Anexo 6. En esta gráfica de frecuencia relativa (escala 0-1) se observan las cepas resistentes, intermedias y sensibles que no presentaban ningún tipo de mecanismo de resistencia. En las abscisas se observa los antibióticos testados en el estudio presentados por su resultado resistente, intermedio o susceptible.

**Anexo 7. Frecuencia de *P. aeruginosa* por mecanismos de resistencia y sala aislados en el Hospital General de Enfermedades.**



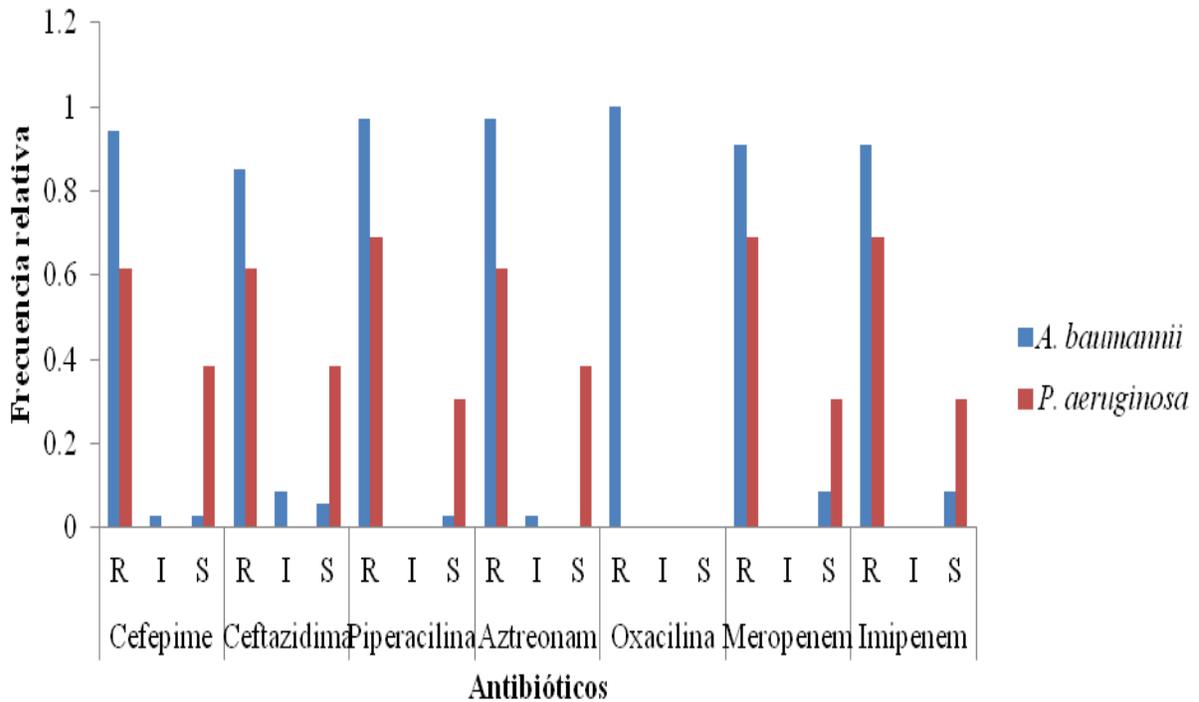
Anexo 7. Se describe con frecuencia relativa (escala de 0 a 0.2) los mecanismos de resistencia encontrados en las cepas de *P. aeruginosa* aisladas del Hospital. Relacionando las salas y el mecanismo de resistencia que presenta.

**Anexo 8. Frecuencia de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* aislados en el Hospital General de Enfermedades.**



*Anexo 8.* En esta gráfica se observa la distribución de ambas cepas de acuerdo a los mecanismos de resistencia que presentaba cada una de ellas. En la gráfica se observa el porcentaje y el número indicado a la par de cada mecanismo indica la frecuencia relativa de cada una, es decir que las cepas sin mecanismo de resistencia corresponden al 0.24 en la escala de 0-1. Se testaron 55 cepas de *P. aeruginosa* y 35 cepas de *A. baumannii*.

**Anexo 9. Perfil de resistencia de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* que no presentan mecanismos de resistencia aislados del Hospital General de Enfermedades.**



Anexo 9. En esta gráfica de frecuencia relativa (escala 0-1) se observan las cepas resistentes, intermedias y sensibles que no presentaban ningún tipo de mecanismo de resistencia. Puede observarse que en ambas la mayoría corresponde a una multiresistencia (resistencia a más de 3 antibióticos).