

14
21



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

ESTUDIO DE Pseudomonas aeruginosa AISLADAS DEL HOSPITAL GENERAL CENTRO MÉDICO "LA RAZA" MEDIANTE EL USO DE TRES MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A N
MA. DEL ROCÍO FLORES TRUJILLO
JUAN MANUEL MARTÍNEZ RAMOS

Director de Tesis: Q.F.I. Andrea A. Becerril Osaya

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

FALLA DE...

[Stamp]



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

-	RESUMEN.....	1
I.-	INTRODUCCION.....	2
I.1.-	Epidemiología.....	3
I.2.-	Tipos de Infecciones Nosocomiales.....	3
II.-	GENERALIDADES.....	7
2.1.-	Género <i>Pseudomonas</i>	7
2.1.1.-	Habitat y resistencia.....	7
2.2.-	<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	8
2.2.1.-	Morfología.....	8
2.2.2.-	Nutrición y crecimiento.....	8
2.2.3.-	Fisiología.....	9
2.2.4.-	Patogenicidad.....	9
2.2.5.-	Terapéutica y Control.....	10
2.2.6.-	Detección e infección.....	11
III.-	OBJETIVOS.....	15
IV.-	MATERIAL Y METODOS.....	16
4.1.-	Tipificación Bioquímica.....	20
4.2.-	Tipificación Pirocánica.....	22
4.3.-	Sensibilidad a los Antibióticos.....	24
4.4.-	Muestreo de Inhaloterapia y Salas de Quirófanos.....	28
IV.-	RESULTADOS.....	29
VI.-	ANALISIS DE RESULTADOS.....	54
VII.-	DISCUSION.....	58
VIII.-	CONCLUSIONES.....	60
IX.-	BIBLIOGRAFIA.....	63

RESUMEN

Durante el periodo del 20/Feb./90 al 20/Junio/90 se aislaron 113 cepas de Pseudomonas spp. dentro del Hospital General Centro Médico "La Raza" a las cuales primeramente se les realizó la Tipificación Bioquímica, resultando la especie predominante Pseudomonas aeruginosa con 93 aislamientos (82.30%), -- seguido de Pseudomonas maltophila con 7 aislamientos (6.19%), Pseudomonas putida con 5 aislamientos (4.42%), Pseudomonas cepacia con 4 aislamientos (3.54%), Pseudomonas diminuta con 3 aislamientos (2.65%) y Pseudomonas stutzeri con 1 aislamiento (0.88%), una vez identificadas las Pseudomonas aeruginosa se obtuvo el tipo picociánico predominante en los productos biológicos resultando que el 887 se encuentra en la mayoría de las muestras.

Posteriormente se determinó la incidencia de Pseudomonas en los productos biológicos trabajados, obteniéndose que en muestras relacionadas con vías respiratorias es donde hay más aislamientos.

Al tener este resultado se trató de determinar una fuente primaria de contaminación, orientándose el estudio hacia los inhaladores, primeramente se investigó cuales de los pacientes que se les aisló Pseudomonas aeruginosa de vías respiratorias habían tenido terapia con estos aparatos resultando que el 73.5% de los pacientes internos habían sido aspirados, después se realizó el muestreo microbiológico de los inhaladores, el cual durante el estudio fué negativo a aislamientos de Pseudomonas aeruginosa dando como resultado que esta terapia no sea la fuente primaria de contaminación pero no descartando la posibilidad que sea un parámetro comprometedor para que el paciente adquiera una infección por patógenos oportunistas.

Otro marcador que se utilizó fué la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) el cual no tuvo una correlación con el tipo picociánico por lo que no fué utilizado con fines epidemiológicos sino por las aportaciones clínicas y terapéuticas que estos nos dan, obteniéndose una alta multiresistencia la cual fué para Amikacina de un 21.50%, Gentamicina 78.49%, Cefotaxima 48.39% y Carbenicilina 34.41% de resistencia.

I.- INTRODUCCION

Este trabajo se realizó con el fin de determinar la incidencia de Pseudo--monas aeruginosa en los diferentes productos biológicos trabajados dentro del Hospital General Centro Médico "La Raza", así como determinar si dichas infecciones son adquiridas en forma nosocomial.

Las infecciones nosocomiales son aquellas que se adquieren dentro del Hospital. Por supuesto, pueden manifestarse cierto tiempo después de que el paciente ha sido dado de alta del hospital y depende del periodo de incubación de la infección en cuestión. Puede ser difícil distinguir entre una infección adquirida en la comunidad y una infección nosocomial ya que los periodos de incubación de muchas infecciones son variables o desconocidas. La identificación por el laboratorio de un número infrecuente de aislamientos de un patógeno poco común, de varias cepas del mismo microorganismo (m.o.) con características de sensibilidad antimicrobiana no usuales o con una característica bioquímica especial (por ejemplo *Proteus lactosa* (+)), de una concentración de aislamientos de un tipo dado en una unidad de terapia intensiva o en otra área aislada dentro del hospital, sugiere la probabilidad de un brote epidémico intrahospitalario. (17)

El estudio de las Infecciones Nosocomiales Nacionales (NNIS) realizado por el CDC (E.E.U.U.) indica que el 5% al 6% de los pacientes hospitalizados adquieren una infección intrahospitalaria. Al rededor del 1% de los pacientes que adquieren una infección nosocomial mueren como consecuencia directa de ella; además, estas infecciones contribuyen a la muerte de un 2% a 3% adicional de pacientes infectados. (17)

La incidencia varía según el tipo de hospital, los grandes hospitales de referencia tienen mayores índices de infección nosocomial que los hospitales comunitarios pequeños. (17)

1.1.- Epidemiología

La posibilidad de que un paciente dado adquiriera una infección nosocomial - depende de tres factores principales: 1) Susceptibilidad del paciente a la -- infección, 2) Virulencia del m.o. infectante, y 3) Naturaleza de la exposi--- ción del paciente al organismo infectante. En general, por supuesto, las -- personas hospitalizadas tienen una mayor susceptibilidad a las infecciones -- y aún no es posible inmunizar a los pacientes contra las infecciones nosoco-- miales. Los corticosteroides, los quimioterápicos-anticancerosos y los agen-- tes antimicrobianos contribuyen a la posibilidad de las infecciones intrahos-- pitalarias pero de todos modos son agentes importantes, generalmente mucho -- más benéficos que nocivos. Tampoco es posible ejercer ninguna influencia -- sobre la virulencia de los organismos infectantes. Con frecuencia se admi-- ten en los hospitales pacientes con infecciones graves adquiridas en la comu-- nidad. Nuestras mejores esperanzas para reducir al mínimo las infecciones - nosocomiales están en la eliminación de las fuentes de exposición y en la in-- terrupción de la diseminación de estos m.o. dentro del ambiente hospitalario.

La forma más importante de transmisión de las infecciones nosocomiales es por contacto, usualmente directo pero en ocasiones indirecto, como en el caso de la diseminación de una infección por medio de las secreciones. Los - pacientes infectados son la principal fuente de m.o. aunque los portadores a-- sintomáticos también pueden transmitir la infección. El lavado de las manos del personal antes y después del contacto con cada paciente es el medio más - importante para prevenir la transmisión por contacto directo de las infeccio-- nes nosocomiales. También es importante el aislamiento adecuado de los pa-- cientes infectados. La segunda forma más común de diseminación de las enfer-- medades hospitalarias es mediante vehículos contaminados o también por las -- llamadas fuentes de contaminación. En éstas se incluyen alimentos, agua, me-- dicaciones o dispositivos médicos. (17)

1.2.- Tipos de Infecciones Nosocomiales

Las infecciones del tracto urinario son el tipo más común de infecciones - intrahospitalarias y alcanzan el 40% de esta clase de infecciones. Las infe-- cciones de heridas quirúrgicas llegan al 20%, las del tracto respiratorio in--

inferior (Neumonía primaria) al 15% y las bacteremias nosocomiales al 5%. - Estas cuatro categorías agrupadas son responsables del 80% de las infecciones intrahospitalarias, las infecciones cutáneas causan un 5% adicional. -- E. coli es el patógeno aislado con mayor frecuencia de las infecciones del tracto urinario. Los catéteres urinarios permanentes y otros tipos de manipulaciones urológicas realizadas con propósito de diagnóstico o terapéuticos son factores importantes en las infecciones nosocomiales del tracto urinario. Las infecciones de las heridas quirúrgicas con frecuencia se deben a la flora normal, pero el Staphylococcus aureus y varios tipos de bacilos -- Gram (-) aerobios o anaerobios facultativos también son patógenos importantes que se encuentran en esta localización. Las infecciones del tracto respiratorio inferior adquiridas en el Hospital con frecuencia están relacionadas con una aspiración y, en consecuencia, implican a la flora normal sin embargo, los pacientes hospitalizados adquieren comúnmente patógenos nosocomiales como Staphylococcus aureus y diversos bacilos Gram (-). Estos organismos, además de los anaerobios y estreptococos de su flora habitual, pueden participar en una neumonía posterior si estos pacientes son aspirados. Los procedimientos terapéuticos respiratorios como aspiración endotraqueal o terapia por inhalación pueden introducir patógenos nosocomiales en el tracto respiratorio del paciente. Los vehículos contaminados como medicamentos o agua empleados para las inhalaciones pueden ser los responsables. La bacteremia nosocomial está relacionada con mayor frecuencia con el empleo de dispositivos intravasculares. Estas cánulas pueden ser contaminadas por contacto directo del personal que atiende al enfermo o bien por la flora cutánea propia de éste último. Los vehículos contaminados como líquidos intravenosos o transductores de presión arterial también son fuente importante de infecciones intrahospitalarias.

Aproximadamente dos tercios de las infecciones nosocomiales se deben a un solo patógeno y un 20% a varios agentes. Así, los patógenos son identificados en el 85% de las infecciones, de ellos el 85% son bacterias aerobias o facultativas y el 7% son Hongos. Los patógenos que se han aislado con mayor frecuencia son: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, enterococos y Pseudomonas aeruginosa. Otros patógenos según su frecuencia de aislamientos en este tipo de infecciones, son especies de Klebsiella, estafilococo coagulasa (-), especies de Enterobacter, Proteus, Candida y Serratia. Por supuesto, la frecuencia de aislamientos de los patógenos varía según el servicio

en el que el paciente está hospitalizado y la localización de la infección.

Muchos de los patógenos nosocomiales o la mayoría de ellos, además de los que pertenecen a la flora normal, son resistentes a varios agentes antimicrobianos de los que destaca Pseudomonas aeruginosa por su multiresistencia a ellos. (17).

Pseudomonas aeruginosa es un m.o. que en las últimas décadas ha incrementado su importancia por la alta frecuencia de aislamientos y multiresistencia a agentes antimicrobianos comúnmente utilizados en la clínica. (12).

Se puede considerar que Pseudomonas aeruginosa es un patógeno principalmente nosocomial. De acuerdo con diversos informes, 11% de las infecciones intrahospitalarias son producidas por esta bacteria causante de problemas respiratorios, de vías urinarias, de piel y tejidos blandos, del sistema nervioso central, de huesos y articulaciones, gastrointestinales y endocarditis, principalmente en los adictos a drogas intravenosas; ocupa el tercer lugar entre los gérmenes gramnegativos responsables de bacteremia y se han informado formas graves de otitis, sinusitis y conjuntivitis. Este germen debe ser considerado como un patógeno oportunista ya sea en un huésped inmunológicamente comprometido o ante alguna alteración en la integridad de las barreras fisiológicas o físicas que imponen a la infección bacteriana como ocurre en las quemaduras, traumatismos, procedimientos invasivos (cirugía, cateterismo intravenoso, sondaje vesical, intubación orotraqueal, etc.).

La localización, la invasión local, la diseminación, las propiedades anti-fagocíticas y la producción de antitoxinas son los pasos fundamentales que intervienen en la infección. (18).

Pseudomonas aeruginosa tiene una muy extensa distribución en la naturaleza; adaptabilidad fisiológica y una innata resistencia a los agentes antimicrobianos. Segundo hay un numeroso incremento de pacientes quienes son susceptibles a infecciones con este m.o., debido a la edad, debilidad o a una predisposición terapéutica, tal como el tratamiento con antimicrobianos, agentes immuno-

supresores o antimetabolitos.

No menos extensivo es la variedad de casos en hospitales, en cuanto a que - Pseudomonas aeruginosa pueda ser aislada.

Es esencial determinar constantemente las diferentes cepas de Pseudomonas aeruginosa presentes en el Hospital para detectar si un tipo en particular -- provoca una epidemia. (12).

II.- GENERALIDADES

2.1.- Género *Pseudomonas*

Las *Pseudomonas* son bacilos gramnegativos no esporulados. Casi todas las especies tienen flagelos polares, y algunas tienen también flagelos laterales. Las células de algunas especies pueden contener gránulos de polo- β -hidroxibutirato (PHB), estos gránulos de PHB pueden ser evidentes en preparaciones teñidas con Gram y mediante procedimientos especiales de coloración pueden usarse como auxiliar en la identificación, casi todas las *Pseudomonas* son oxidasa positivas y no encapsuladas, son aerobios obligados y no fermentativos. Casi todas las especies acidifican hidratos de carbono por oxidación, ninguna produce indol ni da una prueba de Voges-Proskauer para acetoina. (4,14).

2.1.1.- Habitat y resistencia

Muchas de las especies están comúnmente presentes en suelo y en medio hospitalario, y pueden formar parte de la flora normal del cuerpo. Las plantas y los animales salvajes y domésticos pueden ser portadores de *Pseudomonas*, pero rara vez tienen un papel importante como reservorios y vectores en la transmisión al hombre. Una especie *Pseudomonas fluorescens*, puede crecer a 4°C y se ha asociado a endotoxemia después de la administración de líquidos intravenosos contaminados. Otras, como, *Pseudomonas cepacia*, puede crecer en agua destilada comercial. Varias se han aislado de cosméticos y otros artículos de tocador. La mayoría son relativamente resistentes a diversos germicidas comunes, en particular compuestos de amonio cuaternario como el Zerifán. Muestran variación en especies y cepas con respecto a la susceptibilidad a los antimicrobianos. Más de 25 especies diferentes de *pseudomonas* se asocian al hombre y su medio ambiente inmediato, pero solamente dos de ellas, *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas maltophilia* representan más del 75% de las que se recuperan de muestras clínicas.. (4,14).

Únicamente dos especies de *Pseudomonas* tienen una relación con enfermedades humanas: *Pseudomonas mallei*; es el agente del muenno y *Pseudomonas pseudomallei*; de la melioidosis. Sin embargo muchas especies, especialmente *Pseudomonas aeruginosa*, son patógenos oportunistas. Pueden ser etiológicamente

significativos, en general en pacientes previamente comprometidos, en heridas y en sepsis postquemaduras, infecciones postquirúrgicas, septicemias e infecciones del tracto respiratorio y urinario, entre otras. (4,14).

2.2.- Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa (Pseudomonas pyocyanea) se encuentra con más frecuencia, y es más importante como agente de enfermedad humana que todos los demás bacilos no fermentativos.

2.2.1.- Morfología

Microscópicamente Pseudomonas aeruginosa es un bacilo fino no esporulado y en general no encapsulado con un solo flagelo polar. Las células no presentan inclusiones PHB. Esta bacteria presenta tres tipos de colonias. El más común, en una placa de agar sangre de 24 hrs. , es bajo y convexo a plano de 1 a 5 mm de diámetro, con una superficie rugosa o de vidrio opaco y una periferia ondulada o erosionada. Puede ser β -hemolítica en una placa de 24 hrs, y generalmente muestra β -hemólisis difusa en una placa de 48 hrs. Casi todas las cepas forman un pigmento de fenozina soluble en agua y clorofomo, la piocianina, del griego "pus azul", que generalmente imparte un color verde o verde azulado al medio que rodea a la colonia. Otros pigmentos de fenozina de color pardo a negro se forman también ocasionalmente. La fluoresceína (pioverdina) un pigmento hidrosoluble de color amarillo pálido a verde, es formado por casi todas las cepas de Pseudomonas aeruginosa, la fluoresceína no es visible en medio agar sangre; debe usarse un medio especial enriquecido con magnesio y fosfato, y la detección se hace con fluorescencia bajo luz ultravioleta.

Las colonias características, rugosas o mucoides, la β -hemólisis, pigmentación verde azulada y olor a frutas representan la identificación tentativa de esta especie en el laboratorio clínico. Aproximadamente 12% de las cepas no son pigmentadas, pero también ellas pueden identificarse fácilmente por su fluorescencia y alcalinización de acetamida.

2.2.2.- Nutrición y crecimiento

Pseudomonas aeruginosa, como casi todas las pseudomonas, no es nutricionalmente exigente, no es fermentativa. Crece fácilmente a 20 - 24°C; al contra-

rio, otra especie fluorescente, Pseudomonas fluorescens, crece a 4°C pero no a 41 - 42°C. Todas las cepas de Pseudomonas aeruginosa crecen fácilmente en medio agar Mac Conkey.

2.2.3.- Fisiología

Las tres Pseudomonas fluorescentes, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens y Pseudomonas putida, son oxidasas positivas. Raramente hidrolizan almidón y esculina, nunca descarboxilan lisina ni ornitina y nunca producen acetina, Indol y H₂S. Alcalinizan medio de Citrato de Simons. Casi todas las cepas de Pseudomonas aeruginosa acidifica glucosa, arabinosa y xilosa, pero no lactosa, maltosa ni sacarosa. (4,14)

2.2.4.- Patogenicidad

Pseudomonas aeruginosa produce varias sustancias extracelulares que han sido relacionadas por su virulencia; entre éstas se encuentran:

- a) EXOTOXINA A : Es un solo polipéptido con un P.M. de 66 Kd producido por un alto porcentaje de las cepas aisladas de pacientes y cuya acción es inhibir la síntesis de proteínas por ADP-ribosilación del factor de alargamiento ϵ -2(EF-2) requerido para el paso de translocación durante la síntesis proteica.
- b) ENOENZIMAS : Es una proteína con actividad de ADP-ribosiltransferasa que contribuye a la virulencia de Pseudomonas aeruginosa ya que se ha demostrado que mutantes deficientes en la producción de esta enzima son significativamente menos virulentas que su cepa progenitora.
- c) PROTEASA ALCALINA Y ELASTASA : Han sido implicadas en la producción de --hemorragias en órganos internos, especialmente en pulmones y probablemente -- las responsables de la destrucción del tejido corneal en infecciones oculares producidas por este m.o. . Aproximadamente el 85% de las cepas clínicas de Pseudomonas aeruginosa producen elastasa, la cual es una proteasa neutra que contiene Zinc y es sensible a quelantes de metales. La elastasa es producida como una proenzima inactiva asociada a la pared celular y es activada por proteólisis limitada por otras proteasas de Pseudomonas o por la propia elastasa. La elastasa purificada inactiva a los factores C₁, C₃, C₅, C₈ y C₉ del complemento "in vitro", por lo que quizá inhibe el movimiento --

de los leucocitos polimorfonucleares al sitio de inflamación y disminuye su actividad fagocítica. La elastasa también inactiva a la proteína alfa-1, el principal inhibidor de las serinoproteasas endógenas (p.ejem. leucocitos) cuya actividad aumentada puede asociar daño tisular.

También se ha demostrado que las proteasas de Pseudomonas aeruginosa rompen a la IgG y a la IgA1; generando, por acción sobre esta última, dos fragmentos cuyos P.M. son similares a los de los fragmentos Fc y Fab.

- d) LEUCOCIDINA : Una proteína de 27.5 Kd, termolábil y activable por tripsina, que destruye a los leucocitos pero no a los glóbulos rojos.
- e) HEMOLISINAS : Un glicolípido termoestable y una fosfolipasa termolábil -- (Fosfolipasa C), la cual es una proteína de 78 Kd que cataliza la hidrólisis de la fosfatidilcolina (el componente principal del surfactante pulmonar) en fosforilcolina y diacilglicerol. Se ha sugerido que la combinación del glicolípido hemolítico y la fosfolipasa C pueden producir efectos citopáticos - considerables en los pulmones de pacientes con infecciones de estos órganos. Aparentemente el glicolípido favorece la actividad de la fosfolipasa actuando como detergente para solubilizar a los fosfolípidos.
- f) ALGINATO : Es un exopolisacárido constituido principalmente por ácido manurónico y ácido gulurónico que hace a las cepas presentar una morfología mucoide. El alginato inhibe la actividad fagocítica de los leucocitos.
- g) MOVILIDAD : Debida al flagelo, que facilita la invasión al hospedero por la bacteria.

Pseudomonas aeruginosa también produce lipopolisacárido (endotoxina) común a las otras bacterias gramnegativas. Estas endotoxinas activan los sistemas de coagulación, fibrinolíticos y del complemento y estimula, además, la liberación de péptidos vasoactivos. (24)

2.2.5.- Terapéutica y control

Casi todas las cepas de Pseudomonas aeruginosa son susceptibles a uno o más aminoglucósidos, amikacina, gentamicina, kanamicina, netilmicina, isoniacida y tobramicina. La resistencia a un aminoglucósido no se acompaña necesariamente de resistencia a otros. Esta resistencia, cuando existe, puede atribuirse

a que el agente no puede entrar en la bacteria o a inactivación enzimática. El DNA cromosómico y de los plásmidos intervienen en la mediación de la resistencia.

La resistencia uniforme a la penicilina parece deberse a la exclusión por la membrana celular y a la β -lactamasa mediada cromosómicamente. Los derivados de penicilina como carbenicilina y ticarcilina son hoy agentes terapéuticos efectivos porque cruzan la membrana y son relativamente resistentes a la β -lactamasa. Las cepas mucoides son excepcionales porque con frecuencia son resistentes a carbenicilina y tobramicina, pero susceptibles a tetraciclina. Casi todas las cepas de Pseudomonas aeruginosa son susceptibles a polimixina B y E pero resistentes a otros antimicrobianos. (4,14).

2.2.6.- Detección e infección

La identificación inicial es semejante a la de una enterobacteria, apoyándose además en la prueba de oxidasa, la cual es positiva. La confirmación de que un aislamiento clínico es un bacilo aerobio obligado o estricto y no fermentativo (NFB) se hace comúnmente demostrando su falta de crecimiento en un tubo de medio de oxidación-fermentación (OF) cubierto de vaselina líquida. Alternativamente, su identidad como NFB puede confirmarse demostrando su crecimiento en plano inclinado, sin crecimiento ni acidificación en el tubo de medio KIA o --TSIA. Los rasgos para la identificación para Pseudomonas aeruginosa son: -- 1) morfología microscópica y de las colonias, incluso pigmentación, si existe; 2) producción de fluoresceína; 3) producción de gas con nitrato; 4) crecimiento a 42°C; 5) acidificación de hidratos de carbono particularmente glucosa, --arabinosa y xilosa; 6) descarboxilación de la lisina (prueba LDC) y 7) alcalinización de la acetamida y Urea.

En el laboratorio clínico común todos los aislamientos de Pseudomonas aeruginosa son, como ya vimos piocianina positivos; esta característica junto con la típica morfología de las colonias (grandes, planas y escarchadas) y el --olor permiten la identificación tentativa. Cuando el pigmento no es evidente y la colonia es mucoides o lisa, limitando bacilos entéricos, la colonia debe transferirse a medio KIA o TSI. Si no crece o acidifica el fondo de este medio crecen bien en el plano inclinado, se confirma la presencia de una bacteria no fermentativa. Las pruebas siguientes, junto con la morfología microscó--

pica que se ve con coloración de Gram confirma su identificación como Pseudomonas aeruginosa, fluoresceína (+), acetamida (+) y crecimiento a 41 - 42°C.

(4,14)

La identificación a nivel subespecie puede ser conveniente para fines epidemiológicos. Un buen sistema para tipificar las cepas microbianas implicadas en brotes intrahospitalarios debe ser estandarizado, reproducible, sensible, estable, accesible, no costoso, aplicable a una gran variedad de m.o. y debe habérselo probado junto con investigaciones epidemiológicas.

Los métodos disponibles para tipificación incluyen tipificación biológica - o bioquímica (biotipo), características de sensibilidad antimicrobiana (antibiograma), tipificación serológica (serotipo), tipificación por bacteriocinas --- (incluyendo sensibilidad a las bacteriocinas o producción de bacteriocinas), - tipificación por bacteriófagos (fagotipo), análisis de plásmidos o de ácidos nucleicos cromosomales, mutagénesis por inserción de transposones y homología de ácidosnucleicos. Los biotipos y los antibiogramas son adecuados para todos los laboratorios de microbiología clínica de los hospitales. (17).

Para llevar a cabo este estudio de Pseudomonas aeruginosa se eligieron tres marcadores epidemiológicos: 1) Tipificación bioquímica (Biotipo); 2) Tipificación piocianica (producción de bacteriocinas) y 3) Sensibilidad a antimicrobianos (MIC).

1) Tipificación Bioquímica (Biotipo)

Si el m.o. es identificado hasta el nivel de especie por lo menos, los procedimientos de rutina son muy útiles para permitir el reconocimiento de los -- brotes de infecciones intrahospitalarias. La identificación completa de un -- estreptococo permitió la detección de un brote por Streptococcus faecium de una unidad de terapia intensiva paraneonatos. La falta de identificación completa de especies de Pseudomonas puede pasar por alto la presencia de especies poco frecuentes como Pseudomonas aeruginosa o Pseudomonas maltophilia como causas de una epidemia. Algunas pruebas bioquímicas permiten la identificación hasta - la especie de la gran mayoría de los bacilos gramnegativos fermentadores y con

la inclusión de unas pocas pruebas más, también identifican a muchos no fermentadores. Cabe considerar que algunas de las reacciones en estos páneces pueden estar mediadas por plásmidos y, por lo tanto, una cepa puede adquirirlos o perderlos durante un brote infeccioso intrahospitalario. No se debe atribuir demasiada importancia a las variaciones de sólo una o dos pruebas en un biotipo a menos que se hayan realizado estudios cuidadosos para definir las variaciones normales que pueden esperarse en esos cultivos cuando se emplean dichas pruebas. (17).

2) Tipificación Piocianica

Las piocianinas son las bacteriocinas de Pseudomonas aeruginosa, sustancias antibióticas producidas por especies que tienen la propiedad característica de ser letal solo para especies de Pseudomonas aeruginosa.

La piocianogénesis (habilidad de producir piocianina) fué primeramente descrito por Jacob en 1954 y es una característica estable de las bacterias que lo producen. Dicha producción puede ser incrementada por la inducción de luz U.V. o Mitomicina C. Varios tipos de piocianina han sido descritos, piocianina tipo R, tipo F y algunas de bajo peso molecular como son: piocianina A_2 asociada con endotoxinas de la pared bacteriana, A_3 derivadas del protoplasma tipo S.

Especies de Pseudomonas aeruginosa son inmunes de poseer piocianinas, la acción letal de estas sustancias es debido a que hay receptores específicos sobre la superficie de estas células provocando que el efecto bactericida se lleve a cabo.

Cuando se produce piocianina R y F en medio sólido no difunde fácilmente y la acción inhibitoria es restringida por debajo del área de crecimiento de la especie productora, en contraste la piocianina S produce una amplia zona de inhibición. (12,8).

Basándose en la producción de las piocianinas y las características que --
presentan éstas, se puede elaborar una metodología de tipificación piocianica
en la cual se pueden tipificar perfectamente las Pseudomonas aeruginosa con --
respecto a su tipo piocianico, es por esto que se utilizará este método para -
tipificar a Pseudomonas aeruginosa como un marcador epidemiológico.

3) Resistencia a Antimicrobianos

La principal causa que hace que un m.o. sea resistente a los antimicrobia--
nos es el cambio producido por alteraciones en la estructura del DNA cromosómi
co (mutación), dando como resultado la formación de enzimas u otras proteínas
que causan efectos sobre la acción de los fármacos. (6)

El DNA extracromosómico causante de dicha resistencia puede reproducirse --
por si mismo, dentro de la célula bacteriana y difundirse luego a otras bacte--
rias por tansducción o apareamiento (Conjugación).

Con frecuencia la resistencia a los agentes antimicrobianos está mediada por
plásmidos como ya se ha dicho; y estos pueden adquirirse o perderse durante un
brote epidémico. El tipo de prueba de sensibilidad empleada y el método de -
información influye sobre el grado de utilidad de los antibiogramas para fines
epidemiológicos. Con la técnica de Bauer - Kirby no pueden apreciarse los -
distintos grados de resistencia. Puede observarse ausencia de zonas de inhi-
bición para una cepa con concentración mínima inhibitoria (MIC) de 16 Ug/ml y
para otra con un MIC menor a 1,024 Ug/ml. Esta marcada diferencia en el gra-
do de resistencia puede indicar cepas totalmente diferentes desde un punto de
vista epidemiológico. Es por esta razón que si determinamos los MIC de las -
bacterias podemos utilizar a la sensibilidad a los antimicrobianos como un mar-
cador epidemiológico. Esta técnica se puede también combinar con los resul-
tados de las pruebas bioquímicas y así poder producir un "antibiotipo". (5)

Con estos tres marcadores epidemiológicos se va a caracterizar las Pseudo--
monas aeruginosa aisladas en el laboratorio de los diferentes productos biológi-
cos.

III.- OBJETIVOS

- 3.1.- Realizar el estudio epidemiológico de Pseudomonas aeruginosa basado - en tres marcadores epidemiológicos.
 - 3.1.1.- Tipificación bioquímica (Biotipo)
 - 3.1.2.- Tipificación piocianica
 - 3.1.3.- Susceptibilidad a antibióticos (MIC)

- 3.2.- Determinar la incidencia de Pseudomonas aeruginosa de los diferentes - productos biológicos trabajados en el Hospital Centro Médico "La Raza".
 - 3.2.1.- Exudado faringeo
 - 3.2.2.- Urocultivo
 - 3.2.3.- Coprocultivo
 - 3.2.4.- L.C.R.
 - 3.2.5.- Líquidos peritoneales
 - 3.2.6.- Secreciones
 - 3.2.7.- Otros

- 3.3.- Determinar si las Pseudomonas aeruginosa aisladas de los diferentes --- productos Biológicos son adquiridas dentro del hospital.

- 3.4.- Determinar la resistencia de Pseudomonas aeruginosa a antibióticos como - son; Amikacina, Gentamicina (Aminoglucósidos); Ceftazidima (Cefalospori- nas); Carbenicilina (β-lactámico).

IV.- MATERIAL Y METODOS

Material: Material que se ocupa en un laboratorio de Microbiología.

Medios de cultivo

- Agar Soya Tripticasa
- Agar Mac Conkey
- Agar Sangre
- Agar Mueller Hinton
- Agar Nutritivo
- Agar Semisólido (1% de peptona en 0.5% de agar)
- Caldo Mueller Hinton
- Caldo Nutritivo
- S.S.F.

Pruebas Bioquímicas

- Agar P
- Agar F
- Agar de Hierro y Triple azucar
- Agar de Lisina y Hierro
- Medio basal OF
- Agar Citrato de Simmons
- Agar M.I.O. (Motilidad, Indol y Ornitina)
- Caldo Urea
- Caldo Nitratos
- Agua Peptonada

Antibióticos

- Sales puras de:
- Amikacina
 - Gentamicina
 - Carbenicilina
 - Cefotaximà

Reactivos

- - Naftilamina
- Acido Sulfanílico
- Granallas de Zinc
- Reactivo de Earlich
- Reactivo de Kovac's

Productos biológicos

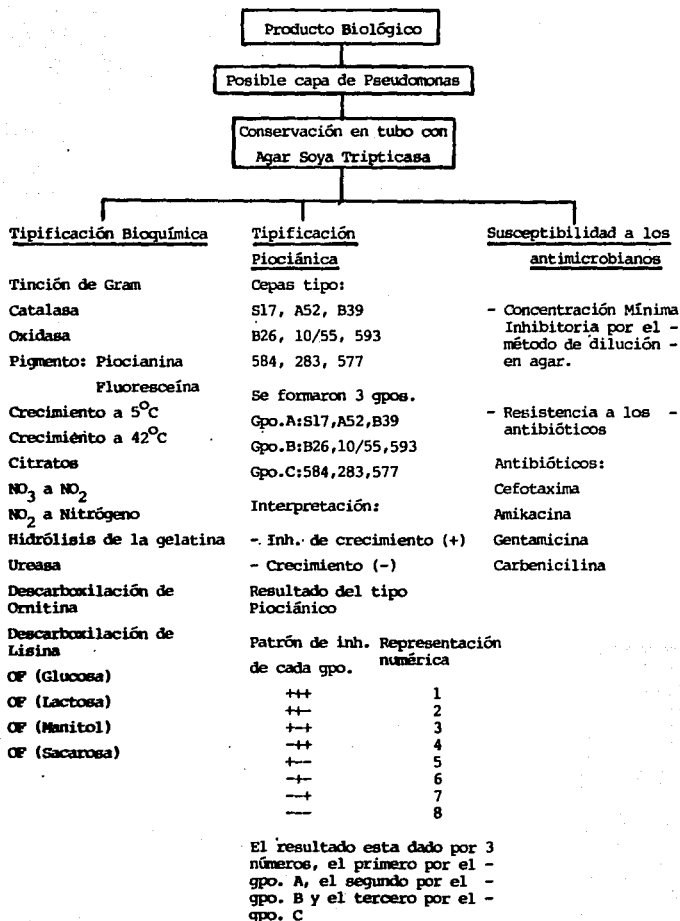
- Secreciones*
- Hemocultivo
- Exudado Faríngeo
- Expectoración
- Aspirado Bronquial
- Urocultivo
- Coprocultivo
- Secreciones Bronquiales
- Líquido Pleural
- Cultivo de Escara
- Cultivo de Punta de Cateter

* Dérmicas, Oculares, de Absceso y Orales.

MÉTODOS

Primeramente se hizo la recolección de las posibles cepas de Pseudomonas de los diferentes productos biológicos trabajados dentro del hospital y posteriormente se pasaron a tubos que contenían Agar Soya Trypticasa, para --- conservar las cepas (Se hizo resiembra cada 15 días)

Una vez obtenidas las muestras se realizó el estudio epidemiológico utilizando los tres marcadores antes mencionados.



4.1.- Tipificación Bioquímica

El primer estudio para diferenciar la presencia de Pseudomonas aeruginosa de las otras especies de Pseudomonas es la identificación Bioquímica, para ésta tipificación se usaron las siguientes pruebas:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+	d	+	+	d	+
Motilidad	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Pigmento	+ ^a	+ ^b	.	+ ^c	d ^d	+ ^c	.	+ ^c	-	-
Fluoresceína	+	+	-	-	-	-	-	-	-	.
Crecimiento a 5°C	-	+	d	-	-	-	d	-	-	.
Crecimiento a 42°C	+	-	-	-	d	-	d	+	-	.
Crecimiento en MacConkey	+	+	+	+	+	+	+	+	-	.
Utilización de Citratos	+	+	+	-	+	- ^e	+	+	-	+
CHO'S, ácido de:										
Glucosa	+	+	+	-	+	w ^B	+	+	+	+
Lactosa	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Manitol	+	+	d	-	+	-	d	+	+	-
Sacarosa	-	d	-	-	+	-	+	+	-	+
Reducción de NO ₃ a NO ₂	+	d	d	-	d	+	+	+	+	+
Reducción de NO ₂ a Nitrogeno	d	-	-	-	-	-	+	d	-	+
Hidrólisis de la Gelatina	+	+	-	+	+	+	-	+	d	-
Ureasa	+	d	d	-	+	-	(d)	d	d	.
Descarboxilación de Lisina	-	-	-	-	+ ⁱ	+	-	-	-	.
Descarboxilación de Ornitina	-	-	-	-	d	-	-	-	-	.

- a= Píocianina
 b= Fluoresceína
 c= Amarillo
 d= (+) en KIA y TAF.

- e= (+) en medio de Citratos de Chistesen y en la pba. de SSA.
 f = Base de Hogh y Leifson + 1% de azúcar.
 g = Débil en el medio H y L; (-) en ASS.
 i = (+) por el método de Richard; por el medio de Moler.

+ = del 85 - 100 % (+)
d = del 16 - 84 % (+)
- = del 0 - 15 % (+)

(d) = reacciones (+) tardía
(w) = reacciones tardía y débil

- 1.- Pseudomonas aeruginosa
- 2.- Pseudomonas fluorescens
- 3.- Pseudomonas putida
- 4.- Pseudomonas diminuta
- 5.- Pseudomonas cepacia
- 6.- Pseudomonas maltophilia
- 7.- Pseudomonas stutzeri
- 8.- Pseudomonas pseudomallei
- 9.- Pseudomonas mallei
- 10.- Pseudomonas pickettii

(7,16)

Despues de realizar la tipificación Bioquímica, se procedió a realizar la tipificación Piroclánica.

4.2.- Tipificación Piociánica

Primeramente, para realizar esta técnica, se obtuvieron las cepas de Pseudomonas aeruginosa sensibles a las piocinas, las cuales fueron donadas por la Escuela Superior de Ciencias Biológicas (IPN) departamento de Microbiología.

Metodología:

- 1).- Las cepas problema, se incubaron en Agar Nutritivo a 37°C/24 horas.
- 2).- Se tomaron tres o cuatro colonias del crecimiento y se hizo una suspensión bacteriana en 3 ml de S.S:F. hasta una concentración de 10^8-10^9 UFC /ml (Tubo 2 de Mac Farland).
- 3).- Se colocaron estas suspensiones en un replicador de Steers (se utilizó un replicador con 32 pozos).
- 4).- Se depositaron con el replicador de Steers 10 μ l de cada una de las cepas problemas en nueve placas que contenían 15 ml de Agar Soya Tripticasa.
- 5).- Se dejaron secar, aproximadamente 5 min y se incubaron a 30°C/18-24 hrs.
- 6).- Se colocó en cada una de las placas un disco de papel filtro (Whatman 40) impregnado con cloroformo por 15 min para permitir que el vapor del cloroformo matara a las células bacterianas.
- 7).- Las placas se expusieron por 15 min al aire para eliminar el residuo del cloroformo.
- 8).- Por otra parte se incubaron en 3 ml de Caldo Nutritivo las cepas indicadoras por cuatro horas a 37°C, hasta tener una concentración aproximada de 10^7 UFC/ml.
- 9).- Se tomaron 0.2 ml de esta suspensión y se pasaron a 5 ml de Agar Semisólido (1% de peptona en 0.5% de Agar Bacteriológico), fundido a 50°C.
- 10).- Se vertió esta suspensión sobre las placas de Agar Soya Tripticasa (una cepa indicadora por placa).
- 11).- Se dejaron secar y se incubaron a 37°C/18 hrs.
- 12).- Se procesó un control negativo y otro positivo.

Interpretación : - Inhibición del crecimiento: Positivo (+)
- No inhibición del crecimiento: Negativo (-)

Se formaron tres grupos con las cepas tipo:

Grupo A : S-17, A-52, B-39.

Grupo B : B-26, 10/55, 593

Grupo C : 584, 283, 577.

Los resultados se designaron con la notación siguiente:

Patrón de inhibición para cada grupo	Representación numérica
+++	1
++-	2
+--	3
---	4
+-+	5
-+-	6
--+	7
---	8

El resultado del tipo piociánico está dado por tres números, el primero por el grupo A, el segundo por el grupo B y el tercero por el grupo C.

(8,10)

4.3.- Sensibilidad a los Antibióticos

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria por el método de dilución en agar.

Para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) primeramente se obtuvieron las sales puras de los antibióticos: Amikacina, Cefotaxima, Gentamicina y Carbenicilina las cuales fueron donadas por :

Amikacina : Laboratorios BRISTOL S.A, de C.V.
Av. Ingeniero Walter C. Buchaman Num. 226
Naucalpan de Juarez Edo. de México.

Cefotaxima: Grupo ROSSEL S.A.
Av. Universidad Num. 1338.

Gentamicina: Laboratorios GROSSMAN S.A.
Calzada de Tlalpan Num. 2021

Carbenicilina: laboratorios SANFER S.A.
Calzada de Tlalpan Num. 550.

Metodología

1.- Preparación de la solución Stock:

1).- Se prepararon soluciones Stock de 1000 Ug/ml.

Cefotaxima: Se prepararon 5 tubos con 20 ml cada uno
Volumen requerido: 100 ml
Concentración : 1000 Ug/ml
Potencia biológica: 919.3 Ug/mg.

$$\text{Peso (mg)} = \frac{\text{Vol. requerido} \times \text{concentración}}{\text{Potencia biológica}}$$

$$\text{Peso} = 108.8 \text{ mg.}$$

Se pesaron 108.8 mg y se aforó a 100 ml.

Anikacina : Se prepararon 5 tubos con 20 ml cada uno.
Vol. requerido : 100 ml
Concentración : 1000 Ug/ml
Potencia biológica: 915 Ug/mg

Peso (mg) = 109.29 mg.

Se pesaron 109.29 mg y se aforó a 100 ml.

Gentamicina: Se prepararon 5 tubos con 20 ml cada uno.
Vol. requerido : 100 ml
Concentración : 1000 Ug/ml
Potencia biológica : 683.2 Ug/mg

Peso = 146.37 mg.

Se pesaron 146.37 mg y se aforó a 100 ml.

Carbenicilina : Se prepararon 5 tubos con 20 ml cada uno.
Vol. requerido : 100 ml
Concentración : 1000 Ug/ml
Potencia biológica : 835 Ug/mg

Peso =119.7 mg

Se pesaron 119.7 mg y se aforó a 100 ml.

- 2).- Se esterilizaron por filtración (filtros Millipore de 45 um).
- 3).- Se distribuyó cada antibiótico en 5 tubos estériles de 18 x 150.
- 4).- Se congelaron estas soluciones a -20°C , con el fin de almacenarlas antes de ser usadas.

11.- Preparación de las placas:

Se prepararon placas de Mueller-Hinton conteniendo las siguientes concentraciones de antibiótico: 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0, 128.0 ug/ml.

La preparación se realizó de la siguiente manera:

$$\text{Volúmen} = \frac{\text{Concentración Final} \times \text{Vol. de Agar Mueller Hinton}}{\text{Concentración del Stock}}$$

1).- Cefotaxima:

$$V_1 = \frac{(0.5 \text{ ug/ml}) (250 \text{ ml})}{(1000 \text{ ug/ml})} = 0.125 \text{ ml}$$

$$V_2 = 0.25 \text{ ml}$$

$$V_3 = 0.50 \text{ ml}$$

$$V_4 = 1.00 \text{ ml}$$

$$V_5 = 2.00 \text{ ml}$$

$$V_6 = 4.0 \text{ ml}$$

$$V_7 = 8.0 \text{ ml}$$

$$V_8 = 16.0 \text{ ml}$$

$$V_9 = 32.0 \text{ ml}$$

Se tomó el volúmen de la solución Stock para cada concentración requerida y se aforó a 250 ml y se distribuyeron en 12 placas (20 ml cada placa).

Ejemplo: Preparación de la placa 1 (conc. 0.5 ug/ml): Se midió 0.125 ml de la solución Stock y se aforó a 250 ml con agar Mueller-Hinton y se distribuyó en las placas.

Amikacina, Gentamicina y Carbenicilina se prepararon de la misma manera. Se guardaron las placas en refrigeración y se utilizaron 24 hrs. después.

III.- Preparación del Inóculo

- 1).- Se incubaron en Agar Nutritivo las cepas problema por 24 hrs a 37°C.
- 2).- Se tomó una pequeña asada del crecimiento y se hizo una suspensión bacteriana en 3 ml de caldo Mueller-Hinton (M.H.) y se incubó 2 hrs, se ajustó la concentración a 10^8 UFC/ml (Tubo 0.5 de MacFarland).
- 3).- Se colocaron estas suspensiones en un replicador de Steers.
- 4).- Se depositaron con el replicador de Steers 10 ul de cada cepa en las nueve placas de los antibióticos a diferentes concentraciones.
- 5).- Se dejaron secar y se incubaron a 37°C/18-24 hrs.

La interpretación fué de la siguiente manera:

- Inhibición del crecimiento se marcó como sensible (Negativo).
- Crecimiento se marcó como resistente (Positivo).

(1)

La potencia de cada antibiótico se comprobó utilizando una cepa de control de calidad, la cual fué E. coli ATCC 25922

Intervalo de la Concentración Mínima Inhibitoria de <u>E. coli</u> ATCC 25922 a 4 diferentes antibióticos				
Microorganismo	Rango de MIC			
	Cefotaxima ug/ml	Amikacina ug/ml	Gentamicina ug/ml	Carbenicilina ug/ml
<u>E. coli</u> ATCC 25922	0.06-0.25	0.5-4.0	0.25-1.0	4.0- 16.0

Para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de Pseudomonas aeruginosa la interpretación fué como sigue:

Antibiótico	Puntos de corte de MIC		
	Susceptible	Intermedio	Resistente
Cefotaxima	8	16.32	64
Amikacina	16	32.00	64
Gentamicina	4	8.00	16
Carbenicilina	128	---	256

(20)

Todos los métodos usados se realizaron por duplicado.

4.4.- Muestro de Inhaloterapia y Salas de Quirófanos.

- 1).- Se utilizaron hisopos y tubos que contenían 3 ml de Caldo Soya Triptica sa (C.S.T.), ambos estériles.
- 2).- Se impregnaba el hisopo con el C.S.T. y se muestreaban mascarillas -- mangueras, Inhaladores; para la sala de inhaloterapia y para Quirófanos material quirúrgico, personal médico, salas; esto se realizaba pasando el hisopo varias veces sobre la superficie de estos (en el caso del personal médico se muestreaban las manos después de ser lavadas por ellos y antes de entrar al quirófano).
- 3).- Después el hisopo se regresaba a un tubo con C.S.T. y se rotulaba el tubo.
- 4).- Para las soluciones desinfectantes se tomaba un poco de ellas en jeringas estériles.
- 5).- Una vez en el laboratorio los tubos con los hisopos se incubaban $37^{\circ}\text{C}/24$ hrs; mientras que las soluciones desinfectantes se enriquecían en un tubo para hemocultivo y dejándolas $24\text{hrs}/37^{\circ}\text{C}$.
- 6).- A las 24 hrs si se encontraba turbidez en cualquiera de los tubos se sembraba en Agar Sangre y Agar Mac Conkey.
- 7).- La ausencia de turbidez a las 24 hrs era indicio de prueba negativa.

(1)

IV.- RESULTADOS

En los productos biológicos trabajados dentro del Hospital se obtuvieron 113 cepas de Pseudomonas spp.

Para realizar el estudio epidemiológico se determinó la Tipificación --- Bioquímica, Tipificación Pirocínica y Susceptibilidad a los antibióticos.

En la tabla 1 se muestra la Tipificación Bioquímica.

Tabla 1

Tipificación Bioquímica

Género / especie	No. de aislamientos	Porcentaje
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	93	82.30
<u>Pseudomonas maltophilia</u>	7	6.19
<u>Pseudomonas putida</u>	5	4.42
<u>Pseudomonas cepacia</u>	4	3.54
<u>Pseudomonas diminuta</u>	3	2.65
<u>Pseudomonas stutzeri</u>	1	0.88
Total	113	100.00

IV.1.- Tipificación Bioquímica.

Tabla 2

Porcentaje de positividad de Pseudomonas aeruginosa
en las diferentes pruebas Bioquímicas utilizadas

Prueba	Porcentaje de positividad
Crecimiento en Mac Conkey	100
Catalasa	100
Oxidasa	100
Motilidad	100
Piicina	100
Fluoresceína	100
Crecimiento a 5 ⁰ C	0
Crecimiento a 42 ⁰ C	100
Citratos	100
OF (Glucosa)	100
OF (Lactosa)	0
OF (Manitol)	70.97
OF (Sacarosa)	0
NO ₃ a NO ₂	47.31
NO ₂ a Nitrógeno	49.46
Hidrólisis de la Gelatina	50.54
Ureasa	73.12
Descarboxilación de la Lisina	0
Descarboxilación de la Ornitina	0

Tabla 3

Distribución de los aislamientos de Pseudomonas aeruginosa en los diferentes productos Biológicos trabajados

Producto Biológico	Número de muestras	Porcentaje
Secreciones*	18	19.35
Exudado Faringeo	14	15.05
Cultivo de punta de Cateter	11	11.83
Secreción Bronquial	10	10.20
Hemocultivo	9	9.68
Expectoración	7	7.53
Aspirado Bronquial	6	6.45
Heridas Quirúrgicas	3	3.22
Urocultivo	3	3.22
Coprocultivo	3	3.22
Líquido pleural	2	2.15
Cultivo de Escara	2	2.15
Líquido peritoneal	1	1.07
Muestra intrahospitalaria	4	4.30
	Total	93
		100.00

*Secreciones: Dérmicas, Oculares, de absceso y orales.

V.2.- Tipificación Piociánica

Tabla 4

Tipo piociánico de 93 cepas de Pseudomonas aeruginosa
aisladas de diferentes productos Biológicos

Producto Biológico	No. de <u>Pseudomonas</u> <u>aeruginosa</u>	Tipo piociánico
Secreciones	18	243,887,652,884,186, 842,422,675,686,231, 754,677,488,746,187, 187,887,852.
Expectoración	7	747,787,887,887,761, 887,886.
Exudado Faringeo	14	447,485,885,787,886, 887,671,784,876,143, 671,657,887,686.
Cultivo de Punta de Cateter	11	848,862,867,651,411, 834,386,434,682,682, 682.
Secreción Bronquial	10	645,852,241,141,347, 141,441,778,141,887.
Hemocultivo	9	885,486,785,636,231, 688,657,682,885.
Aspirado Bronquial	6	786,786,887,786,742, 742.
Heridas Quirúrgicas	3	787,876,876.
Urocultivo	3	786,873,856.
Coprocultivo	3	411,887,657.

Producto Biológico	No. de <u>Pseudomonas</u> <u>aeruginosa</u>	Tipo pirocánico
Líquido Pleural	2	642,411.
Cultivo de Escara	2	887,878.
Líquido Peritoneal	1	643.
Muestra intrahospitalaria	4	781.885,758,381.

V.3.- Incidencia de Pseudomonas spp en los diferentes productos Biológicos.

Muestra	Incidencia de Pseudomonas spp (%)
Exudado faringeo de pacientes internos	1.17
Exudado faringeo de pacientes externos	1.61
Heridas Quirúrgicas	8.33
Aspirado Bronquial	25.64
Expectoración de pacientes internos	5.19
Expectoración de pacientes externos	4.35
Líquido Pleural	5.68
Cultivo de Punta de Cateter	3.75
Secreción Bronquial	18.18
Secreciones de pacientes internos	11.41
Secreciones de pacientes externos	7.69
Cultivo de Escaras	21.43
Hemocultivo	1.17
Urocultivo de pacientes internos	0.82
Urocultivo de pacientes externos	0.73
Coprocultivo de pacientes internos	1.39
Coprocultivo de pacientes externos	0.00

Tabla 5

Incidencia de Pseudomonas spp en muestras de
Exudado Faringeo de pacientes internos
del periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras Trabajadas: 341

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	48.68	
<u>Candida albicans</u>	18.18	27.31
Stap. coag. (+)	16.13	24.23
<u>E. coli</u>	6.16	12.00
<u>H. influenzae</u>	5.57	10.86
<u>Enterobacter spp</u>	5.57	10.86
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	2.64	5.15
Stap. coag. (-)	2.35	4.57
Strep. gpo. "A"	2.35	4.57
Strep. β hemo. no gpo. A y B	1.76	3.43
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>1.17</u>	<u>2.29</u>
<u>Proteus spp</u>	1.17	2.29
<u>Strep. pneumoniae</u>	0.58	1.14
Otros	2.93	5.71

Tabla 6

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Exudado Faringeo de pacientes externos
del periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 559

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	51.70	
<u>Stap. coag. (-)</u>	23.97	49.63
<u>Candida albicans</u>	12.39	25.55
<u>Strep. gpo. "A"</u>	4.29	8.89
<u>Strep. B hemo. no gpo. A y B</u>	3.76	7.78
<u>Enterobacter spp</u>	3.40	7.04
<u>H. influenzae</u>	1.79	3.70
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1.79	3.70
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>1.61</u>	<u>3.33</u>
<u>E. coli</u>	1.61	3.33
<u>Stap. coag. (-)</u>	1.43	2.96
<u>Strep. pneumoniae</u>	0.36	0.74
<u>Proteus spp</u>	0.18	0.37
Otros	1.43	2.96

Tabla 7

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Heridas Quirúrgicas del periodo de
20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 60

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	15.00	
<u>Stap. coag. (-)</u>	26.67	31.37
<u>E. coli</u>	23.33	27.45
<u>Stap. coag. (+)</u>	21.67	25.49
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>8.33</u>	<u>9.80</u>
<u>Klebsiella spp</u>	8.33	9.80
<u>Candida albicans</u>	8.33	9.80
<u>Proteus spp</u>	8.33	9.80
<u>Enterobacter spp</u>	5.00	5.88
Otros	8.33	9.80

Tabla 8

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Aspirado Bronquial de pacientes internos
del periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 39

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	35.90	
<u><i>Pseudomonas</i> spp</u>	<u>25.64</u>	<u>40.00</u>
<u><i>E. coli</i></u>	10.26	16.00
<u><i>Candida albicans</i></u>	7.69	12.00
<u><i>Stap. coag. (-)</i></u>	7.69	12.00
<u><i>Stap. coag. (+)</i></u>	5.54	8.00
<u><i>Strep. pneumoniae</i></u>	5.54	8.00
<u><i>Enterobacter</i> spp</u>	2.56	4.00
<u><i>Klebsiella</i> spp</u>	2.56	4.00
Otros	5.54	8.00

Tabla 9

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Expectoración de pacientes internos del
periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 154

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	43.51	
<u>Candida albicans</u>	29.87	52.87
<u>Klebsiella spp</u>	10.39	18.39
<u>Stap. coag. (+)</u>	7.79	13.79
<u>E. coli</u>	7.14	12.64
<u>Enterobacter spp</u>	7.14	12.64
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>5.19</u>	<u>9.19</u>
<u>Stap. coag. (-)</u>	3.90	6.90
<u>Strep. β hemo. no gpo. A y B</u>	1.95	3.45
Otros	5.19	9.19

Tabla 10

Incidence de *Pseudomonas* spp en muestras de
Expectoración de pacientes externos del
periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 23

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	73.91	
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>4.35</u>	<u>16.67</u>
<u>Candida albicans</u>	4.35	16.67
<u>Klebsiella spp</u>	4.35	16.67
<u>E. coli</u>	4.35	16.67
<u>Enterobacter spp</u>	4.35	16.67
<u>Proteus spp</u>	4.35	16.67

Tabla 11

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Líquido pleural del periodo del
20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 88

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mts. (+)
Negativo	71.59	
<u>Stap. coag. (-)</u>	6.82	24.00
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>5.68</u>	<u>20.00</u>
<u>E. coli</u>	4.54	16.00
<u>Candida albicans</u>	4.54	16.00
<u>Enterobacter spp</u>	2.27	8.00
<u>Klebsiella spp</u>	2.27	8.00
<u>Stap. coag. (+)</u>	1.14	4.00
Otros	4.54	16.00

Tabla 12

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Cultivo de Punta de Cateter del periodo de
20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 293

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las utas. (+)
Negativo	36.52	
<u>Stap. coag. (-)</u>	28.67	45.16
<u>Stap. coag. (+)</u>	16.38	25.81
<u>Candida albicans</u>	8.19	12.90
<u>E. coli</u>	7.51	11.83
<u>Klebsiella spp</u>	6.14	9.68
<u>Enterobacter spp</u>	5.12	8.06
<u>Pseudomonas spp</u>	3.75	5.91
<u>Proteus spp</u>	1.71	2.69
Otros	0.30	0.54

Tabla 13

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
 Secreción Bronquial del periodo de
 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 55

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	29.09	
<u><i>Pseudomonas</i> spp</u>	<u>18.18</u>	<u>25.64</u>
<u><i>Candida albicans</i></u>	14.54	20.51
<u><i>Stap.</i> coag. (+)</u>	10.90	15.38
<u><i>Stap.</i> coag. (-)</u>	10.90	15.38
<u><i>Enterobacter</i> spp</u>	10.90	15.38
<u><i>Klebsiella</i> spp</u>	7.27	10.26
<u><i>E. coli</i></u>	5.45	7.69
Otros	3.64	5.13

Tabla 14

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
 Secreciones* de pacientes internos del
 periodo del 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 298

Microorganismos	Porcentaje	Porcentaje de las mtas.(+)
Negativo	32.21	
<u>Stap. coag. (+)</u>	19.13	28.22
<u>E. coli</u>	16.44	24.26
<u>Stap. coag. (-)</u>	13.42	19.80
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>11.41</u>	<u>16.83</u>
<u>Candida albicans</u>	9.06	13.37
<u>Klebsiella spp</u>	8.72	12.87
<u>Enterobacter spp</u>	5.03	7.43
<u>Proteus spp</u>	4.03	5.94
<u>Strep. pneumoniae</u>	1.34	1.98
<u>Strep. gpo. "A"</u>	1.01	1.48
Otros	1.68	2.47

Tabla 15

Incidencia de Pseudomonas spp en muestras de
 Secreciones* de pacientes externos del periodo
 del 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 52

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	25.00	
<u>Stap. coag. (+)</u>	26.92	35.90
<u>Stap. coag. (-)</u>	17.31	23.08
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>7.69</u>	<u>10.26</u>
<u>E. coli</u>	7.69	10.26
<u>Candida albicans</u>	7.69	10.26
<u>Klebsiella spp</u>	3.85	5.13
<u>Proteus spp</u>	1.92	2.56
Otros	5.77	7.69

* Secreciones dérmicas

Secreción ocular

Secreción de absceso

Secreción oral

secreción de cuello

Tabla 16

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Escara de pacientes internos del periodo
del 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 14

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	21.43	
<u>E. coli</u>	42.86	54.54
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>21.43</u>	<u>27.27</u>
<u>Candida albicans</u>	21.43	27.27
<u>Stap. coag. (+)</u>	14.29	18.18
<u>Klebsiella spp</u>	7.14	9.09
<u>Enterobacter spp</u>	7.14	9.09
Otros	7.14	9.09

Tabla 17

Incidencia de Pseudomonas spp en muestras de
 Hemocultivo de pacientes internos del
 periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 1027

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	84.03	
<u>Stap. coag. (-)</u>	5.26	32.93
<u>Stap. coag. (+)</u>	3.89	24.39
<u>Klebsiella spp</u>	1.36	8.54
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>1.17</u>	<u>7.32</u>
<u>E. coli</u>	1.17	7.32
<u>Enterobacter spp</u>	0.68	4.27
<u>Propionibacterium acnes</u>	0.58	3.66
<u>Salmonella enteritidis</u>	0.49	3.05
<u>Strep. spp</u>	0.39	2.44
<u>Candida albicans</u>	0.39	2.44
<u>Acinetobacter spp</u>	0.19	1.22
Otros	0.39	2.44

Tabla 18

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Urocultivo de pacientes internos del
periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 1220

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mts. (+)
Negativo	65.82	
<u>E. coli</u>	12.87	37.65
<u>Klebsiella spp</u>	4.92	14.39
<u>Enterobacter spp</u>	2.46	7.19
<u>Proteus spp</u>	1.97	5.75
<u>Stap. coag. (-)</u>	1.97	5.75
<u>Morganella morganii</u>	1.31	3.84
<u>Citrobacter spp</u>	1.31	3.84
<u>Candida albicans</u>	0.98	2.88
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>0.82</u>	<u>2.40</u>
<u>Strep. faecalis</u>	0.82	2.40
<u>Stap. coag. (+)</u>	0.16	0.48
<u>Providencia spp</u>	0.16	0.48
<u>Acinetobacter spp</u>	0.08	0.24
Muestras contaminadas	5.49	

Tabla 19

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Urocultivo de pacientes externos del
periodo de 20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 955

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	67.43	
<u>E.coli</u>	16.33	50.16
<u>Klebsiella spp</u>	3.04	9.32
<u>Proteus spp</u>	1.78	5.47
<u>Citrobacter spp</u>	1.47	4.50
Stap. coag. (-)	1.15	3.54
<u>Strep. faecalis</u>	1.05	3.21
<u>Enterobacter spp</u>	0.84	2.57
<u>Pseudomonas spp</u>	<u>0.73</u>	<u>2.25</u>
<u>Morgenella morgani</u>	0.73	2.25
<u>Acinetobacter spp</u>	0.21	0.64
<u>Candida albicans</u>	0.10	0.32
Stap. coag. (+)	0.10	0.32
<u>Providencia spp</u>	0.10	0.32
Muestras contaminadas	5.13	

Tabla 20

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Coprocultivo de pacientes internos del periodo de
20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 645

Microorganismos	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	85.12	
<u><i>E. coli</i> enteropatógena</u>	8.06	54.17
<u><i>Salmonella</i> enteritidis</u>	3.26	21.87
<u><i>Pseudomonas</i> spp</u>	<u>1.39</u>	<u>9.37</u>
<u><i>Klebsiella</i> spp</u>	0.77	5.21
<u><i>Shigella</i> flexneri</u>	0.62	4.17
<u><i>Shigella</i> sonnei</u>	0.62	4.17
<u><i>Candida albicans</i></u>	0.15	1.04

Tabla 21

Incidencia de *Pseudomonas* spp en muestras de
Coprocultivo de pacientes externos del periodo de
20/Feb./90 al 20/Junio/90

Muestras trabajadas: 121

Microorganismo	Porcentaje	Porcentaje de las mtas. (+)
Negativo	83.47	
<u><i>E. coli</i> enteropatógena</u>	14.88	90.00
<u><i>Salmonella</i> enteritidis</u>	0.83	5.00
<u><i>Shigella</i> dysenteriae</u>	0.83	5.00
<u><i>Pseudomonas</i> spp</u>	<u>0.00</u>	<u>0.00</u>

V.4.- Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

Tabla 22

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria
de 93 cepas de Pseudomonas aeruginosa a cuatro
diferentes antibióticos por el método de
Dilución en Agar

Cepa	Cefotaxima (ug/ml)	Amikacina (ug/ml)	Gentamicina (ug/ml)	Carbenicilina (ug/ml)
1	16	16	>128	>128
2	16	8	8	>128
3	16	16	128	128
4	64	32	32	>128
5	64	32	>128	>128
6	64	32	>128	>128
7	64	8	>128	>128
8	128	16	>128	>128
9	64	32	16	128
10	32	32	>128	>128
11	64	128	128	>128
12	32	8	8	128
13	64	32	16	128
14	64	32	32	128
15	32	32	32	128
16	>128	8	8	64
17	32	16	16	128
18	64	8	8	64
19	128	8	>128	128
20	32	16	>128	>128
21	32	4	8	32
22	>128	8	8	>128
23	32	16	16	64
24	16	>128	64	128
25	>128	64	128	128

Continuación

Cepa	Cefotaxima (ug/ml)	Amikacina (ug/ml)	Gentamicina (ug/ml)	Carbenicilina (ug/ml)
26	64	16	>128	128
27	32	32	>128	>128
28	32	8	>128	64
29	32	32	>128	>128
30	16	16	128	>128
31	16	32	>128	128
32	32	16	16	64
33	>128	16	16	>128
34	>128	16	8	32
<u>35</u>	64	<u>< 0.5</u>	<u>< 0.5</u>	128
<u>36</u>	>128	16	16	64
37	32	8	64	128
38	>128	4	128	32
<u>39</u>	<u>>128</u>	16	<u>>128</u>	<u>128</u>
40	128	8	128	64
41	>128	16	32	128
<u>42</u>	32	<u>>128</u>	<u>>128</u>	<u>>128</u>
43	32	8	8	32
44	32	16	128	32
45	32	8	8	64
46	32	64	32	64
47	32	32	16	64
48	32	128	16	64
49	32	64	64	32
50	>128	16	16	64
51	>128	64	64	32
52	16	4	>128	128
53	32	64	>128	>128
<u>54</u>	<u>>128</u>	16	<u>>128</u>	<u>>128</u>
<u>55</u>	<u>>128</u>	64	<u>>128</u>	<u>>128</u>
56	128	>128	>128	128
57	32	16	16	32
58	32	16	16	64

Continuación

Cepa	Cefotaxima (ug/ml)	Amikacina (ug/ml)	Gentamicina (ug/ml)	Carbenicilina (ug/ml)
59	>128	16	>128	>128
60	16	8	8	32
61	>128	8	8	64
62	16	8	8	32
63	32	8	16	64
64	>128	128	>128	>128
65	32	8	16	64
66	128	>128	>128	>128
67	16	16	16	64
68	32	16	16	64
69	16	8	32	64
70	>128	>128	>128	128
71	16	128	>128	128
72	16	64	>128	128
73	32	4	8	64
74	>128	16	>128	128
75	>128	16	>128	128
76	16	8	8	64
77	16	>128	>128	>128
78	32	8	8	64
79	16	32	>128	>128
80	>128	16	>128	>128
81	16	>128	>128	>128
82	>128	16	>128	>128
83	16	>128	>128	>128
84	64	16	>128	>128
85	>128	8	16	>128
86	128	8	16	32
87	8	4	4	32
88	>128	16	>128	128
89	>128	>128	>128	>128
90	16	>128	>128	>128
91	16	128	128	128
92	32	8	>128	128
93	64	16	64	32

V.5.- Sensibilidad a los Antibióticos

Tabla 23

Sensibilidad a los Antibióticos de 93 cepas de
Pseudomonas aeruginosa aisladas de diferentes
 Productos Biológicos

Método	Antibiótico		
	CEFOTAXIMA		
	Susceptible (%)	Intermedio (%)	Resistente (%)
Dilución en agar	1.07	50.54	48.39
AMIKACINA			
Dilución en agar	65.59	12.90	21.50
GENTAMICINA			
dilución en agar	3.23	18.28	78.49
CARBENICILINA			
Dilución en agar	65.59	----	34.41

VI.- ANALISIS DE RESULTADOS

Durante el periodo del 20/Feb./1990 al 20/Junio/1990 se aislaron 113 cepas de Pseudomonas spp a las cuales se les realizó la Tipificación Bioquímica. Como se muestra en la Tabla 1 la Pseudomonas aeruginosa es la especie predominante con un 82.30% (93 cepas) seguido de Pseudomonas maltophila con 6.19% (7 cepas), Pseudomonas putida con 4.42% (5 cepas), Pseudomonas cepacia con 3.54% (4 cepas), Pseudomonas diminuta con 2.65% (3 cepas) y Pseudomonas stutzeri con 0.88% (1 cepa).

Posteriormente a las Pseudomonas aeruginosa aisladas se les realizó la Tipificación Piciánica, para determinar cual es el tipo piciánico predominante en cada producto biológico y en el total de los aislamientos. Se obtuvo que el tipo piciánico predominante en Secreciones es el 887 y 187 con dos aislamientos cada uno, en Expectoraciones el 887 con tres aislamientos, en Exudado Faríngeo el 671 y 887 con dos aislamientos cada uno, en Cultivo de Punta de Cateter el 682 con tres aislamientos, en Secreciones Bronquiales el 141, en Aspirado Bronquial el 786 y 742 con tres y dos aislamientos respectivamente, en Heridas Quirúrgicas el 876, en Hemocultivo, Urocultivo, Coprocultivo, Líquido Pleural, Cultivo de Escara y Líquido peritoneal no hay un tipo piciánico predominante.

Aunque hay una variedad de tipos piciánicos, hay algunos que son semejantes en los diferentes productos biológicos, determinandose que hay cepas iguales que se encuentran colonizando a diferentes pacientes dentro del Hospital.

El tipo piciánico más predominante es el 887 con 9 aislamientos, encontrándose en Secreciones, Expectoraciones, Exudado Faríngeo, Secreciones Bronquiales, Aspirados Bronquiales, Coprocultivo, Cultivo de Escara, como se observa se encuentra en la mayoría de los Productos Biológicos, aunque no se encontró ningún aislamiento en el medio ambiente hospitalario muestreado con tipo piciánico predominante en los productos biológicos, se puede decir que son infecciones adquiridas dentro del Hospital, para determinar la fuente de

infección primaria es recomendable hacer el muestreo de todo el medio ambiente hospitalario como puede ser: Salas de Hospitalización, Alimentos, Agua, - Baños, Personal Médico, etc..

Después de realizar la Tipificación Píocianica se determino la Concentración Mínima Inhibitoria de cada cepa aislada dando como resultado que no hay una correlación entre el tipo piocianico y la determinación de la concentración Mínima Inhibitoria de un Antibiótico (hay tipos piocianicos diferentes con la misma Concentración Mínima Inhibitoria a un antibiótico) por lo que no es recomendable utilizarla como un marcador epidemiológico.

Para determinar la importancia de Pseudomonas en los diferentes productos biológicos se determinó la incidencia de estos m.o., tanto en muestras de pacientes internos como externos.

En la Tabla 5 y 6 se observa que Pseudomonas en muestras de Exudado -- Faríngeo es un m.o. que no causa muchos problemas tanto en pacientes internos como de externos.

En la Tabla 7 se comprueba que en cultivos de Heridas Quirúrgicas las Pseudomonas se aíslan con frecuencia, en este estudio se encuentra en cuarto lugar entre los mas aislados.

En la Tabla 8 y 13 se observa que en muestras de Aspirado Bronquial y - Secreciones Bronquiales las Pseudomonas son el m.o. que más se aísla en el Hospital.

En la Tabla 9 y 10 observamos que en muestras de Expectoración tanto de pacientes internos como de externos las Pseudomonas no se aíslan con mucha frecuencia se encuentra en un termino medio.

En la Tabla 11 y 16 se observa la incidencia de Pseudomonas en muestras tanto de Líquido Pletal como Cultivo de Escara en donde se encuentra en segundo lugar de los m.o. que más se aíslan.

En la Tabla 14 y 15 se demostró que en cultivos de Secreciones las Pseudomonas son de los m.o. que más problemas causa a este nivel, tanto en pacientes internos como externos.

En la Tabla 17 se determinó que *Pseudomonas* es un gran productor de --- Bacteremia, encontrándose en cuarto lugar entre los m.o. más aislados en Hemocultivo.

En la Tabla 18 y 19 se mostro que en este estudio la presencia de *Pseudomonas* en vías urinarias es baja tanto en pacientes externos como internos, siendo las enterobacterias los causantes de infecciones a este nivel.

En la Tabla 20 se observa que *Pseudomonas* tien una incidencia muy im--- portante entre los patógenos más islados en materia fecal de pacientes inter--- nos, en contraste con los cultivos de los pacientes externos en donde no se encontró aislamiento de este m.o. como se muestra en la Tabla 21.

De acuerdo a la presencia de *Pseudomonas* en cultivos relacionados con - vías respiratorias, se decidio enfocar este estudio a dichas muestras para - determinar si la infección que presentan estos pacientes son adquiridas en - forma nosocomial.

Uno de los principales problemas que ha tenido el Hospital es la sala - de Inhaloterapia ya que se considera como uno de los vehículos mas importan--- tes para que los pacientes adquirieran una infección. Por lo que se decidio tratar de determinar si en realidad se trata de una fuente principal de con--- taminación para los pacientes a los cuales se les ha aislado *Pseudomonas* --- *aeruginosa* de vías respiratorias. Primeramente se investigó cuales de los pacientes a los que se les aisló *Pseudomonas aeruginosa* de vías respiratorias habian tenido inhaloterapia. Como segundo paso se hizo el muestreo del - equipo de inhaloterapia para tratar de recuperar las *Pseudomonas aeruginosa* que pudiesen estar presentes. Lo que se obtuvo fué que de las 39 cepas --- aisladas de los productos biológicos relacionada con vías respiratorias, - 34 son de pacientes internos y 5 son de pacientes externos.

De los 34 pacientes internos, 25 tuvieron terapia respiratoria. Pos--- teriormente fué muestreado el equipo de inhaloterapia, no obteniendose nin--- gún resultado positivo a aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* (el muestreo se realizó semanalmente). Por lo que se dice que los aparatos de la sala - de inhaloterapia no son la fuente primaria de contaminación para estos pa--- cientes, pero no hay que descartar la posibilidad de que estos aparatos pue--- dan ser un factor que compromete al paciente para adquirir una infección ---

nosocomial (por patógenos oportunistas).

Cabe señalar que durante el periodo en el que se realizó este estudio se hizo el muestreo de las salas de Quirófanos así como, el material quirúrgico, obteniéndose cuatro aislamientos de Pseudomonas aeruginosa cuyo tipo piocianico no tuvo relación con el de los productos biológicos de los pacientes. Pero hay que hacer conciencia, que en dichas salas se trata a pacientes a quienes se les va a realizar una intervención quirúrgica, por lo tanto son pacientes que pueden estar altamente comprometidos y que hay posibilidad de que adquieran una infección nosocomial.

Por otro lado se determinó la susceptibilidad a 4 antimicrobianos que con frecuencia son usados para el tratamiento con Pseudomonas aeruginosa: Amikacina, Carbenicilina, Gentamicina y Cefotaxima. En este trabajo se obtuvo que la resistencia para Cefotaxima es de 48.39%, Amikacina 21.50%, gentamicina 78.49% y Carbenicilina 34.41%. Dando como resultado que en la actualidad ya no se utilicen estos antibióticos dentro del Hospital para el tratamiento contra Pseudomonas aeruginosa.

Observando la multirresistencia a los antibióticos de esta bacteria en la actualidad se recomienda que para erradicar una infección por Pseudomonas aeruginosa en un paciente se le debe realizar un antibiograma y así determinar el tratamiento adecuado, utilizando un solo antibiótico o la utilización de dos simultáneamente.

VII.- DISCUSION

En este estudio se utilizaron tres métodos epidemiológicos: Tipificación Bioquímica, Tipificación Píocianica y Susceptibilidad a los antibióticos -- (determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria), en el cual con el -- Biotipo se obtuvo que la especie predominante fué Pseudomonas aeruginosa como se ha descrito por una gran variedad de autores (4,14), seguido de otras -- especies como Pseudomonas maltophila, Pseudomonas putida, Pseudomonas cepacia Pseudomonas diminuta y Pseudomonas stutzeri la cual puede variar según la re gión en donde se realice el estudio.

En 1978 en el Hospital General Centro Médico "La Raza" se determinó el ti po píocianico en diferentes productos biológicos elaborado por Gustavo Barri ga y colaboradores¹⁰ en el cual en Heridas Quirúrgicas fué el 384, en Cultivo de Punta de Catéter 364 y 647, en Urocultivo y Hemocultivo no hay un tipo pre dominante, en este estudio estos tipos fueron diferentes ya que en Heridas - Quirúrgicas el tipo fué 876, en Cultivo de Punta de Catéter fué el 682, en - Urocultivo y Hemocultivo al igual que en el anterior estudio no hay tipo píocianico predominante, aunque en ambos trabajos hay algunos tipo similares. ... Estas dos investigaciones también nos muestran que antes y actualmente las - cepas de Pseudomonas aeruginosa son diferentes.

El estudio se orientó a vías respiratorias ya que de aquí Pseudomonas -- aeruginosa se aisló con alta frecuencia como lo reportó Bennett y colaborado res,² se trató de determinar si los aparatos de inhaloterapia son la fuente principal de contaminación de dichos pacientes.

En el Hospital se han tenido problemas con estos aparatos ya que han sido fuente primaria de contaminación, lo cual fué comprobado en otros estudios (17), en este trabajo no se encontró ningún aislamiento de Pseudomonas ---- aeruginosa en el equipo de inhaloterapia, descartándola como la fuente principal de contaminación de los pacientes que se les aisló Pseudomonas aerugi - nosa en vías respiratorias y que además habían tenido terapia respiratoria - en este Hospital.

Con respecto a la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria no se encontró ninguna correlación con el tipo píocianico al igual que como se

reportó por G. Barriga y colaboradores (10)

También se utilizó a la susceptibilidad a los antibióticos para determinar la resistencia de Pseudomonas aeruginosa a Amikacina, Gentamicina, Carbenicilina y Cefotaxima. En trabajos recientes (23), muestran que en 1989 la sensibilidad a Amikacina, Carbenicilina y Gentamicina era entre el 85-95%, - en este trabajo la sensibilidad a Gentamicina es de 21.15% lo que se observa la multiresistencia que ha creado este m.o. al antibiótico. Para Amikacina y Carbenicilina la resistencia ha aumentado pero en un grado un poco menor, con respecto a Cefotaxima destacaba como un agente antipseudomónico - entre las cefalosporinas de tercera generación así como también Ceftazidima y Cefoperazona (21) pero en la actualidad dentro del Hospital la Pseudomonas aeruginosa ha creado una alta resistencia del 48.39%.

Para la erradicación de Pseudomonas aeruginosa es recomendable realizar - un antibiograma para determinar que tipo de antibiótico es el de elección, - utilizando uno solo o la combinación de dos o más. Entre los antibióticos - actuales los que destacan son:

De los β -lactámicos destaca la Ticarcilina (21)

De las Cefalosporinas, en la actualidad las de primera y segunda generación no tienen efecto ya sobre Pseudomonas aeruginosa, y las tercera generación - destaca Ceftazidima y Cefoperazona. (21)

Uno de los antibióticos nuevos es el Imipenem (Cilostatina Sódica) cuyo - espectro es amplio contra Pseudomonas aeruginosa muy semejante a las Cefalosporinas de tercera generación pero ya se ha observado una resistencia entre las cepas de este m.o. (22)

Otro grupo de antibióticos son las Quinolonas (Fluoroquinolonas) entre --- estas se encuentra Ciprofloxacina que tiene amplio espectro antipseudomonio. (22) Hay otros antibióticos que se utilizan pero los antes mencionados en muchos hospitales son de elección lo que se recomienda que en cualquier tipo de infección siempre haya un buen uso de los antibióticos ya que es una de las causas principales que hacen que dichas bacterias adquieran una resistencia a estos.

VII.- CONCLUSIONES

Con el estudio epidemiológico realizado en el Hospital Centro Médico "La Raza" sobre Pseudomonas se determinó que:

- 1.- La especie predominante fué Pseudomonas aeruginosa con una frecuencia del 82.30%, seguido de Pseudomonas maltophilia 6.18%, Pseudomonas ptida 4.42%, Pseudomonas cepacia 3.54%, Pseudomonas diminuta 2.65% y Pseudomonas stutzeri 0.88%.
- 2.- El tipo piocianico predominante en los productos Biológicos fué el siguiente:
 - a) Secreciones : 887 y 187
 - b) Expectoraciones: 887
 - c) Exudado Faríngeo: 671 y 887
 - d) Cultivo de Punta de Cateter: 682
 - e) Secreciones Bronquiales: 141
 - f) Hemocultivo: No hay tipo piocianico predominante.
 - g) Aspirado Bronquial: 786
 - h) Heridas quirúrgicas: 876

Urocultivo, Coprocultivo, Líquido pleural, Cultivo de Escara y Líquido peritoneal no hay un tipo predominante.
- 3.- El tipo piocianico que con mas frecuencia se aisló en el total de los productos Biológicos fué el 887 con 9 de 93 aislamientos que se trabajaron.
- 4.- Se determinó que los pacientes a los que se les aisló Pseudomonas aeruginosa de vías respiratorias y que habian tenido terapia respiratoria no adquirieron la infección por los equipos de inhaloterapia, pero no hay que descartar la posibilidad que este tratamiento con estos equipos puede ser un factor comprometedor para que se puedan infectar por m.o. oportunistas.
- 5.- Se obtuvieron 4 aislamientos de Pseudomonas aeruginosa de las salas de quirófanos, aunque el tipo piocianico no se relacione con los

tipos de los pacientes hay que hacer conciencia que puede ser una --- fuente de infección para las personas que son intervenidas quirúrgica--- mente.

- 6) La distribución porcentual de las muestras en las que se aisló Pseudomonas aeruginosa en este estudio fué: 19.35% de Secreciones, 15.05% de Exudado Faríngeo, 11.83 de Cultivo de Punta de cateter, 10.20% de Secrecio--- nes Bronquiales, 9.68% de Hemocultivo, 7.53% de Expectoración, 6.45% de Aspirado Bronquial, 3.22% de Heridas quirúrgicas, Urocultivo, Coprocultivo, 2.15% de Líquido Pleural, cultivo de Escara y 1.07% de Líquido -- peritoneal. Comparados con los datos obtenidos por Bennett y colabo--- radores² son muy semejantes ya que dichos autores señalan a las infec--- ciones de vías respiratorias altas como las mas frecuentes en los ser--- vicios de Cirugía General. Aunque ellos reportan que Pseudomonas --- aeruginosa es muy frecuente en vías urinarias y en este estudio la fre--- cuencia en estos sitios fué baja.
- 7).- Con la determinación de la incidencia de Pseudomonas en los diferentes productos biológicos observamos que día con día este m.o. se aísla con mayor frecuencia, como se muestra en los cultivos de Aspirado Bronquial, Heridas quirúrgicas, Secreciones, secreciones bronquiales, Líquido Pleu--- ral, Cultivo de escara, Hemocultivo y Coprocultivo, en contraste se ais--- la muy poco en muestras de Exudado faríngeo, Urocultivo, Expectoración, Cultivo de Punta de Cateter.
- 8).- La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria no tiene rela--- ción con el tipo psicógeno, por lo que no se puede utilizar como un -- marcador epidemiológico.
- 9).- En este estudio se observó la multirresistencia de Pseudomonas aerugi--- nosa hacia los antibióticos, obteniéndose una resistencia de 48.39% pa--- ra Cefotaxima, 21.50% a Amikacina, 78.49% a Gentamicina y 34.41 a Car--- benicilina. que comparado con otros autores la resistencia ha aumen--- tado en un alto grado.

Con este estudio realizado se demostró que Pseudomonas aeruginosa es -- uno de los m.o. que mas problemas causa a nivel Hospital por su alto grado - de aislamiento en promedio 1 cepa por día y por su difícil erradicación debido a la multirresistencia a antibióticos.

- En base al objetivo planteado podemos decir que con los tres marcadores epidemiológicos utilizados, sí se llegó a tipificar a las cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas en el Hospital.

- Otro objetivo era determinar la resistencia de Pseudomonas aeruginosa a cuatro diferentes antibióticos comúnmente utilizados para su erradicación obteniéndose una alta resistencia por lo que en la actualidad ya no son muy - útiles como tratamiento para estas infecciones.

IX.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bayley- Scott, William J.M., Sydney M.E. (1983). diagnóstico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- 2.- Benett J.V. Nosocomial infections due to Pseudomonas aeruginosa. Journal Infect. Dis. Vol. 30 . Pag. 4-7.
- 3.- Bergey's (1974) . Manual of Determinate Bacteriology., 8th edition., The William and Wilking Company, Baltimore. Pag. 141-199.
- 4.- Braude A.I. (1984). Microbiología Clínica. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pags. : 253-255.
- 5.- Cervantes V.C., Chávez J., Padilla Ma. E., Nereyda R.A. and Vaca S. (1986). Pyocin types of Clinical strains of Pseudomonas aeruginosa - isolated in Morelia, México (1980-1984). Rev. Lat-amer. Microbiology. Vol. 28. Pags.: 287-291.
- 6.- Cisneros B.M.E., Gómez E.M.C. (1987). Transferencia y resistencia al suero en cepas gram-negativas multirresistentes a las drogas antimicrobianas. Rev. Lat-amer. Microbiology. Vol. 29 Pags.: 80-88.
- 7.- Cowan S.T., Steel K.J. (1979). Manual for identification of medical bacteria. edition second.
- 8.- Fyfe J.A.M., Harris G. and Govan J.R.W. (1984). Revised Pyocin Typing Method for Pseudomonas aeruginosa. American Society for Microbiology. Vol.20 (1). Pags.: 47-50.
- 9.- Gill v.J., Stok F.B.S. (1986). Medium for the Simultaneous detection of Pyocyanin and Fluorescein pigments of Pseudomonas aeruginosa. --- Brief Scientific Reports. Vol. 88 (1). Pags.: 110-112.
- 10.- Giono S., García P. Ma. E. y Barriga G. (1982). Tipificación pirocianica de Pseudomonas aeruginosa aisladas del Hospital General Centro Médico "La Raza". I.M.S.S.. Rev. Lat-amer. Microciology. Vol.28 Pags.: 287-291.

- 11.- Govan J.R.W. (1974). Studies on the pyocins of Pseudomonas aeruginosa: Morphology and mode of action of contractile pyocins. Journal of General Microbiology. Vol.79 (3). Pags.: 1-15.
- 12.- Govan J.R.W. (1978) Pyocin Typing of Pseudomonas aeruginosa . Method - in Microbiology. Ed. Academic Press, Vol. 10. Pags.: 61-89.
- 13.- Henry D.A., Smith J.A. and Jones M.A. (1987). Comparison of the AMS gram-negative susceptibility flex panel GNS-V and Agar disk diffusion for testing of Pseudomonas aeruginosa. Journal of Clinical Microbiology. Vol.25 (3). Pags.: 586-587.
- 14.- Jawetz E. (1987). Microbiología Clínica. Ed. El Manual Moderno. -- 12ª Edición. México D.F. Pags.: 253-255.
- 15.- Jones L.F., Zakanycz J.P., Thomas E.T. and Farmer III J.J. (1974) - Pyocin typing of Pseudomonas aeruginosa: a simplified method. Applied Microbiology. Vol.27 (2) pags.: 400-406.
- 16.- Koneman E.W., Allen S.D., Dowell V.R., Sommers H.M. 91983). Diagnóstico Microbiológico, Texto y atlas color. a Edición.
- 17.- Lennette E.H., Balows A., Truant J.P., Hausler W.J. (1982). Manual de Microbiología Clínica. 4ª Edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pags.: 80-88.
- 18.- Muñoz R.C.G. (1988). Infecciones por Pseudomonas aeruginosa: algunas alternativas terapéuticas. Infectología. Num.5. Pags.: 221-222.
- 19.- Murthy S.K., Balh A.L., Smith R.P., Desjardin E.K. Hamer M.C., Conroy J.V. and Michelsen P.B. (1989) Oropharyngeal and fecal carriage of Pseudomonas aeruginosa in Hospital patients. Journal of Clinical Microbiology. Vol.27 (1) Pags.: 35-40.
- 20.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1987). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Second informational Supplement. NCCLS document M7-52. Villanova, Pa. NCCLS. Vol. 7 (10).

- 21.- Neu H.C. (1990). Antibacterial Therapy: Problems and Promises, --
Part. I. Hospital Practice. Pags.: 63-78.
- 22.- Neu H.C. (1990). Antibacterial Therapy: Problems and Promises, --
Part II. Hospital Practice. Pags.: 181-194.
- 23.- Staneck J.L., Glenn S., Dipersio J.R. and Leist P.A. (1989). Wide -
Variability in Pseudomonas aeruginosa Aminoglycoside results among -
seven Susceptibility testing procedures. Journal of Clinical Micro---
biology. Vol.27 (10). Pags.: 2277-2285.
- 24.- Vaca P.S. y Cervantes V.C. (1988). Factores de virulencia de Pseudo-
monas aeruginosa. Rev. Lat-amer. Microbiology. Vol.30 Pags.: 87-90..
- 25.- Wilson R., Pitt T., Taylor G., Watson D. (1987). Pyocianin and L-hy-
droxyphenazine produced dy Pseudomonas aeruginosa inhibit the Beating
of Human Respiratory Cilia in vitro. Journal Clinical Investigation.
Vol.79 Pags.: 221-229.