



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**INFECTOLOGIA PEDIATRICA
C M N “20 DE NOVIEMBRE”
I.S.S.S.T.E.**

**CORRELACION DE SENSITIVOS Y RESISTOTIPOS DE
Pseudomonas aeruginosa AISLADOS DE PACIENTES CON
INFECCION NOSOCOMIAL, EN EL CMN “20 DE NOVIEMBRE”**

TESIS DE POSTGRADO

**PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGIA**

**P R E S E N T A:
DR. EVERARDO MONTOYA GUTIERREZ**

**ASESOR DE TESIS:
DR. JOSE FERNANDO HUERTA ROMANO**

MEXICO, D.F. 2007





Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

CORRELACIÓN DE SENSITIVOS Y RESISTOTIPOS DE *Pseudomonas aeruginosa* AISLADOS DE PACIENTES CON INFECCION NOSOCOMIAL EN EL CMN "20 DE NOVIEMBRE"

APROBACIÓN DE TESIS

DR. MAURICIO DI SILVIO LOPEZ
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
CMN "20 DE NOVIEMBRE". I.S.S.S.T.E.

DR. JOSÉ FERNANDO HUERTA ROMANO
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD DE INFECTOLOGIA
CMN "20 DE NOVIEMBRE". I.S.S.S.T.E.

DR. JOSÉ FERNANDO HUERTA ROMANO
ASESOR DE TESIS
CMN "20 DE NOVIEMBRE". I.S.S.S.T.E.

DR. EVERARDO MONTOYA GUTIERREZ
MEDICO RESIDENTE
INFECTOLOGIA PEDIATRICA
CMN "20 DE NOVIEMBRE". I.S.S.S.T.E.

INDICE

HOJA INICIAL	1
HOJA DE FIRMAS	2
RESUMEN	4
SUMMARY	5
INTRODUCCION	6
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	11
DISCUSION	13
BIBLIOGRAFIA	15
GRAFICAS Y CUADROS	17

RESUMEN

Introducción: Un problema actual y grave en el ejercicio médico hospitalario, es la emergencia de cepas de *Pseudomonas* resistentes a los antimicrobianos. Son microorganismos distribuidos ampliamente en la naturaleza y ambientes hospitalarios. Los estudios epidemiológicos en el nivel molecular permiten determinar la relación clonal entre varios aislados de una misma especie; sin embargo son tardados, poco accesibles y caros. Se han descrito mediante patrones de antibiograma coincidentes en tiempo y lugar, cepas con posible relación clonal, que por lectura interpretativa o sistemas expertos, permiten inferir dicha relación.

Material y métodos: Es un estudio observacional, transversal, prospectivo, descriptivo y abierto; se revisaron aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* con determinación de antibiograma en muestras de exudado faríngeo, productos de secreción, secreción bronquial, hemocultivos y urocultivos, de pacientes con Infección Nosocomial del CMN "20 de Noviembre" en los meses de mayo a agosto de 2007. Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva y chi cuadrada.

Resultados: Se reportaron 29 aislamientos; el antibiótico con mejor actividad antipseudomónica fue Cefepime, seguido de meropenem, amikacina y gentamicina ($p < 0.0001$); el fármaco con mayor resistencia fue ofloxacina ($p < 0.0001$) y como grupo la mayor resistencia se observó en quinolonas. Se identificaron cepas coincidentes en antibiograma y relacionadas en tiempo y lugar de aislamiento; 7 en el grupo de betalactámicos con actividad antipseudomónica; 12 en quinolonas y 8 en aminoglucósidos ($p < 0.0001$). Se encontraron 10 cepas (34.4%) resistentes a todos los antimicrobianos.

Discusión: La detección de cepas resistentes a todos los antimicrobianos, incluidos los 3 grupos de mayor actividad antipseudomónica (quinolonas, betalactámicos y aminoglucósidos) sugiere que las cepas estudiadas con estos patrones de resistencia hayan desarrollado mecanismos mediados por bombas de expulsión, independientemente de los mecanismos inherentes a cada grupo. Se detectaron cepas coincidentes en los patrones de resistencia las cuales se relacionaron en tiempo y lugar, lo que permite pensar que existe una relación clonal entre estas cepas coincidentes.

Los resultados mostraron la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en nuestro medio, con patrones de multirresistencia, relacionadas en tiempo y lugar; esto nos obliga a intensificar las acciones de prevención, detección y control de este tipo de microorganismos, así como la

necesidad de un control en el uso racional de antimicrobianos y abrir la puerta a estudios moleculares futuros.

SUMMARY

Introduction: A present problem and burdens in the hospitable medical exercise, is the emergency of resistant stocks of *Pseudomonas* to the antimicrobial ones. Are microorganisms distributed widely in the hospitable nature and atmospheres. The studies epidemiologists in the molecular level allow to determine the clonal relation between several isolated ones of a same species; nevertheless they are taken, accessible and little expensive. Time and place have been described by means of coincident patterns of antibiotipo in, stocks with possible clonal relation, that by interpretative reading or expert systems, allow to infer this relation.

Material and methods: It is observacional, cross-sectional, prospective, descriptive and opened a study; isolations of *Pseudomonas aeruginosa* with determination of antibiograma in fringe exudates samples, secretion products, bronchial secretion, hemocultivos and urocultivos were reviewed, of patients with Nosocomial Infection of CMN "20 of November" in the months of May to August of 2007. The results analyzed by means of square descriptive statistic and chi.

Results: 29 isolations were reported; the antibiotic with better antipseudomónica activity was Cefepime, followed of meropenem, amikacina and gentamicina ($p < 0.0001$); the drug with greater ofloxacina resistance fué ($p < 0.0001$) and as group the greater resistance were observed in quinolonas. Stocks coincident in antibiotipo and related in time and place of isolation were identified; 7 in the group of betalactámicos with antipseudomónica activity; 12 in quinolonas and 8 in aminoglucósidos ($p < 0.0001$). Were 10 stocks (34,4%) resistant to all the antimicrobial ones.

Discussion: The detection of resistant stocks to all the antimicrobial ones, including the 3 groups of greater antipseudomónica activity (quinolonas, betalactámicos and aminoglucósidos) is feasible that the stocks studied with these patterns of resistance have developed half-full mechanisms by expulsion pumps, independently of the inherent mechanisms to each group. Coincident stocks in the patterns of resistance to diverse groups of antimicrobial were detected which were related in time and place of isolation, which allows to think that a clonal relation between these coincident stocks exists.

The obtained results, showed the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in our means, with antimicrobial patterns of multiresistance to specific, related in time and place; this forces to us to

intensify the actions of prevention, detection and control of this type of microorganisms, as well as the necessity of a control in the rational use of antimicrobial and opening the door for future molecular studies.

INTRODUCCION

Un problema actual y grave en el ejercicio médico comunitario y hospitalario es la emergencia de cepas bacterianas resistentes a los tratamientos antimicrobianos habituales.

En forma inicial, la epidemiología de las infecciones nosocomiales (IN), así como de los agentes etiológicos y sus patrones de resistencia se fundamentó en perfiles fenotípicos, mismos que han sido la base para las actuales estrategias en Epidemiología Molecular.

Sin embargo, a pesar de las ventajas de estas últimas, en la mayor parte de hospitales en nuestro medio, no se tiene acceso a ellas, por lo que es imperante considerar las características fenotípicas demostradas por métodos convencionales, que permitan inferir los mecanismos de resistencia y por lo tanto establecer estrategias de detección, prevención y manejo.

En este sentido existen descripciones basadas en la lectura interpretativa del antibiograma ¹ y sistemas expertos, a partir de los cuales se pueden inferir estos mecanismos de resistencia.

El género *Pseudomonas aeruginosa* son microorganismos distribuidos ampliamente en la naturaleza, en tierra, materia orgánica en descomposición, en la vegetación y en el agua. Se encuentran también en el ambiente nosocomial en sitios húmedos, como comida, flores de los jarrones, lavabos, baños, fregaderos, respiradores, equipos de diálisis, incluso en soluciones y jabones desinfectantes. Se caracteriza por sus sencillos requerimientos de crecimiento, puede utilizar compuestos orgánicos como fuentes de carbono y de nitrógeno, y algunas cepas crecen en agua destilada; poseen muchos factores estructurales, enzimas y toxinas que aumentan su virulencia y simultáneamente, los hacen resistentes a los antibióticos frecuentemente utilizados.

Son bacilos Gram negativos, rectos o ligeramente curvos (0.5 a 12 x 1.5 a 5 µm) con flagelos polares que les dan movilidad¹⁵. No son fermentadores, utilizan hidratos de carbono a través del metabolismo respiratorio en que el oxígeno es el aceptor Terminal de electrones. Aunque se definen como aerobios estrictos, pueden crecer en anaerobiosis utilizando nitrato o arginina como aceptor terminal de electrones. Algunas producen pigmentos como piocianina, fluoresceína y piorrubina.

P. aeruginosa tiene muchos factores de virulencia, entre los que se encuentran componentes estructurales (cápsula, Pili, lipopolisacárido, piocianina), toxinas y enzimas (exotoxinas A, S, citotoxina, elastasa, proteasa alcalina, fosfolipasa C, ramnolípido); es difícil conocer el papel que cada factor juega en la enfermedad, por lo que se considera que la virulencia es multifactorial. Es inherentemente resistente a muchos antibióticos y puede mutar a cepas aún más resistentes durante el tratamiento, lo que implica una reducción de las posibilidades terapéuticas. Tiene una capacidad extraordinaria para adquirir nuevos mecanismos de resistencia; la mutación de porinas constituye el principal mecanismo de resistencia¹⁶ ya que la penetración de los antibióticos en el microorganismo se produce a través de poros de la membrana externa. Si las proteínas que forman la pared de esos poros se alteran para restringir el flujo a través de los canales, se puede desarrollar resistencia a muchos tipos de antibióticos. *P. aeruginosa* también produce diferentes betalactamasas que inactivan a muchos antibióticos betalactámicos.

Probablemente el factor más importante sea la presencia de bombas de expulsión sobre todo MexAB-OprM, con capacidad para expulsar antibióticos betalactámicos, tetraciclinas, cloramfenicol, macrólidos, fluoroquinolonas, sulfonamidas y trimetoprim.

Un reto en la práctica diaria es enfrentarse a la emergencia de cepas bacterianas con patrones de resistencia que limitan la posibilidad de tratamiento, en este sentido es importante conocer los mecanismos de resistencia, para los cuales el laboratorio de bacteriología, conjuntamente con la experiencia clínica permiten evidenciar tanto la resistencia clínica, como la resistencia adquirida, definiendo a la resistencia clínica como la discrepancia entre la susceptibilidad *in vitro* y el efecto visto en el hospedero; en tanto que la resistencia extrínseca o adquirida refleja la verdadera alteración genética en la población predominante del microorganismo, con disminución en la acción del antimicrobiano; estos cambios pueden asociarse a mutaciones, desrepresión de genes o selección de clones resistentes y pueden ser permanentes o temporales.

Hoy en día, los sistemas expertos han logrado unificar criterios relacionados con puntos de corte indicadores de susceptibilidad total, parcial o resistencia, con base en métodos convencionales, utilizando agar y dilución en caldo; además, los estudios en el nivel genómico que determinan los mecanismos moleculares de resistencia permiten asociar estos mecanismos con determinados patrones en el antibiograma a partir de los cuales surge la lectura interpretativa ¹.

Se reportan actualmente una cantidad importante de líneas de investigación cuya finalidad a partir de pruebas sencillas es optimizar la detección y caracterización de las cepas microbianas que

sirvan como sustento para la predicción de resistencias. Estos estudios involucran el estudio de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), carbapenemasas, bombas de expulsión y otros factores de resistencia cuya determinación por métodos sencillos permite establecer programas para uso racional de antibióticos, con disminución de los riesgos de presión selectiva y por demás importante, un mejor control de calidad en el laboratorio de Bacteriología ^{2,3}.

Podemos encontrar descripciones acerca de los perfiles fenotípicos en cocos y cocobacilos gram negativos, secundarios al uso de betalactámicos en el tratamiento de Gram positivos, con la consiguiente presión selectiva, en los que se describen los mecanismos de transmisión y recombinación genética, que han originado los diferentes patrones de resistencia reportados a nivel mundial ^{4,5}.

En bacilos Gram negativos, las enterobacterias son las más frecuentemente aisladas y se han descrito sus principales mecanismos de resistencia; de entre ellos, la producción de BLEE, alteración de los sitios blanco, disminución de la concentración de antibiótico por impermeabilidad o por mecanismos de bombeo hacia el exterior ⁶. Dependiendo del género y especies, así como de factores externos como presión selectiva por el uso de antibióticos, pueden presentarse uno u otros mecanismos con distinta frecuencia y estos son los responsables de los fenotipos más comunes. También se han hecho estudios acerca de la resistencia inducida con inductores débiles y fuertes en las que particularmente se ha observado que una vez que se desarrolla una población de microorganismos desreprimidos estos son estables, se acumulan en la atmósfera hospitalaria, facilitan su diseminación y dificultan su control ^{7,8,9,10,11}.

Los estudios epidemiológicos en el nivel molecular de enfermedades infecciosas se han establecido para determinar la relación clonal entre varios aislados de una misma especie. La importancia de esta información resalta en brotes epidémicos causados por cepas multirresistentes, permitiendo determinar el número de clones circulantes, identificar la fuente de contaminación o reservorio y los vehículos de transmisión, evaluar la eficacia de las medidas de control dirigidas a evitar la diseminación de clones y diferenciar entre infección y recidiva ¹².

Los métodos de tipificación se clasifican en dos grandes grupos: Fenotípicos (basados en las características fisiológicas o bioquímicas) y genotípicos (basados en el estudio del ADN). Los fenotípicos son menos reproducibles y con menor poder discriminativo que los genotípicos, ya que son resultado de la interacción del genotipo con el ambiente, y, por tanto, susceptibles de modificarse con las variaciones ambientales.

La electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE) es la técnica estándar de referencia para tipificar la mayoría de bacterias, hongos y parásitos de importancia clínica, con alto poder de discriminación y excelente reproducibilidad. Su inconveniente es su laboriosidad y tiempo (la mayoría de los protocolos requieren más de 4 días para obtener y analizar los pulsotipos) por lo que su uso diario en el laboratorio es poco práctico.

Las técnicas de tipificación basadas en la amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR poseen elevado poder de discriminación, son menos laboriosas, más rápidas y más flexibles que la PFGE y permiten trabajar con mayor número de muestras ^{13, 14}. Estas técnicas permiten diferenciar grupos de cepas no relacionadas clonalmente, pero son menos discriminativas que la PFGE para diferenciar subtipos entre cepas relacionadas clonalmente. Algunas de estas técnicas tienen que ser validadas debido a su baja reproducibilidad (estandarización de protocolos, equipos, reactivos): Otro problema son los criterios para interpretar los patrones de bandas y la dificultad para comparar los patrones de ADN entre varios geles, aunque no son problemas irresolubles. Se han descrito mediante la observación de patrones de antibiograma coincidentes en tiempo, lugar; cepas con relación clonal, lo que permite inferir dicha relación entre esas cepas bacterianas lo que facilita, de forma fácil y eficiente una vigilancia epidemiológica adecuada y la implementación de programas de detección y control microbiológico eficientes.

MATERIAL Y METODOS

Es un estudio observacional, transversal, prospectivo, descriptivo y abierto realizado en el CMN "20 de Noviembre" ISSSTE en la ciudad de México, en el periodo de mayo a agosto de 2007.

Cepas bacterianas y condiciones de cultivo

Se recuperaron cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* en exudado faríngeo, hemocultivos, úlceras, punta de catéter, secreción bronquial y orina, de pacientes con Infección Nosocomial demostrada. Las muestras fueron enviadas al laboratorio en medios de transporte aprobados y estandarizados para los diferentes tipos de muestras de la siguiente manera: Hemocultivos (BD BACTEC) blood culture (*in vitro* diagnostic); productos de secreción (úlceras) medios de transporte de Stuart o medios de transporte BBL™ Culture Swab™ Plus (*in vitro* diagnostic); Orina, punta de catéter y secreción bronquial directamente en recipientes secos estériles y procesados en forma inmediata. Una vez en el laboratorio las muestras de hemocultivos fueron introducidas al sistema BACTEC 2000 en donde se esperó dieran positivos para posteriormente sembrarse en medios de agar Sangre, McConkey y Chocolate e incubados a 37°C en aerobiosis. Las muestras de productos de secreción, orina, punta de catéter y secreción bronquial fueron sembrados directamente en medios de cultivo agar Sangre, McConkey y Chocolate e incubados a 37°C en aerobiosis. Una vez demostrado el crecimiento bacteriano en placa de todas las muestras, se procedió a realizar tinción de Gram y bioquímicas manuales en medios de Kligler, movilidad Indol y ornitina, Lisina, Citrato de Simons, Urea de Christensen y malonato; para proceder a identificación de género y especie por sistema automatizado Vitek con tarjetas de identificación manufacturadas por el laboratorio Biomerieux.

Identificación de cepas susceptibles y resistentes

Una vez identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*, se realizaron pruebas de susceptibilidad con los antibióticos contenidos en la tarjeta (Biomerieux) del sistema Vitek (amikacina, amoxicilina-CA, cefazolin, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima-axetil, cefuroxima-sodium, ciprofloxacino, gentamicina, meropenem, nitrofurantoina, norfloxacina, ofloxacina, piperacilina, ticarcilina-CA, TMP SMX). Se seleccionaron las muestras con patrones de multiresistencia, identificando además aquellas con resistencia a aminoglucósidos, resistencia a betalactámicos y resistencia a quinolonas para determinar su relación en tiempo y lugar.

Pruebas de susceptibilidad

Las MICs se determinaron mediante método automatizado Vitek (con los antibióticos ya descritos).

RESULTADOS

Se aislaron un total de 29 cepas, pertenecientes a pacientes en los que se corroboró infección nosocomial en distintos servicios del hospital. Se aplicaron un total de **493 pruebas** de susceptibilidad, considerando todos los antibióticos contenidos en la tarjeta del Sistema automatizado, dando como resultado un total de **373 determinaciones resistentes (R)**, para un promedio de **75.66 %**, **107 sensibles (S)** para un promedio de **21.70 %** y **13 con sensibilidad intermedia (I)**, con un promedio de **2.63 %**. La similitud de los sensitipos y resistotipos, hace sospechar fuertemente la posibilidad de un origen clonal, ya que son coincidentes en tiempo y lugar de aislamiento, la mayoría de ellas pertenecientes a la Unidad de Terapia Intensiva (**Cuadro 1**).

Debido a que varios de los antibióticos no dan cobertura a *Pseudomonas aeruginosa*, se seleccionan aquellos **antibióticos con probada actividad antipseudomónica**, dando lugar a un total de **290 determinaciones**, con un total de **181 R (62 %)**, **103 S (35 %)** y **6 I (2%)**, lo que muestra un porcentaje muy elevado de resistencias a los antibióticos con actividad antipseudomónica frecuentemente utilizados en el hospital (**Figura 1**). En este caso, también se aprecian 10 cepas con antibiograma similar (resistentes a todos los antibióticos) y otras 6 similares (sensibles a todos los antibióticos); 2 cepas que con diferente antibiograma, pero coincidentes en tiempo y lugar, pueden tener relación y un posible origen clonal con las cepas reportadas de UTI (cepas 12 y 21), y por último, dos cepas similares entre sí, aunque con características muy distintas en el antibiograma al resto de las cepas

Los reportes para el grupo de **betalactámicos con actividad antipseudomónica**, que incluyen a cefepime, ceftazidime, meropenem, piperacilina y ticarcilina, establecen un total de **145 determinaciones**, con **84 R (57.93 %)**, **55 S (37.93 %)** y **6 I (4.13 %)**. Mostrando en este estudio que el antibiótico con mejor sensibilidad, aunque el porcentaje de resistencias es alto, es Cefepime con un promedio de 48.27 %, seguido de meropenem, ceftazidime, piperacilina y ticarcilina (**Figura 2**). Para este grupo de fármacos, 11 cepas son resistentes a todos ellos, 8 se reportan sensibles a todos y se aprecian dos pares de reportes (10 con 22 y 12 con 21) con antibiograma que sugiere un probable origen común para cada par. De las 11 cepas con similitudes en los patrones de resistencia **7 de ellas se relacionaron en tiempo y lugar de aislamiento (Cuadro 2)**.

Para el grupo de **quinolonas**, se realizaron un total de **87 determinaciones**, reportándose **65 R (74.7 %)**, **22 S (25.28 %)**, siendo este grupo farmacológico el que muestra el mayor porcentaje de resistencias en el hospital para este microorganismo. Así mismo se encontraron 19 cepas (65%), con patrones de resistencia similares De las cuales **12 mostraron relación en tiempo y lugar de aislamiento (Cuadro 3)**.

La quinolona para la que se mostró mayor porcentaje de resistencias es ofloxacina con **79.31 %**, seguida de norfloxacin y ciprofloxacina, esta última con promedio de 68.96 %.

Con respecto a **aminoglucósidos**, se realizaron un total de 58 determinaciones, reportándose **32 R (55.17 %)** y **26 S (44.82 %)**, con comportamiento en el antibiograma similar para ambos (gentamicina y amikacina), si acaso, con MICs mayores para amikacina. Se detectaron 16 cepas coincidentes en sus patrones de de resistencia; **8 de ellas se relacionaron en tiempo y lugar de aislamiento (Cuadro 4)**.

DISCUSIÓN

Las técnicas de tipificación bacteriana son esenciales para entender y atender la epidemiología hospitalaria, permiten conocer la fuente de infección y el tipo de patógeno al que nos enfrentamos; si a esto agregamos las técnicas de determinación de antibiogramas que nos permiten conocer la susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos y establecer un posible origen común entre cepas coincidentes, podemos determinar que contamos en la mayoría de los hospitales con herramientas, fáciles de realizar e interpretar, que no requieren de tecnología especializada y son baratas. Aunque las técnicas de biología molecular basadas en amplificación de DNA (PCR) son el "estándar de oro" para estudios epidemiológicos, son poco accesibles en nuestro medio, caros y difíciles de realizar.

Es de primordial importancia buscar; con los medios a disposición en nuestro hospital estrategias que nos permitan inferir los posibles mecanismos de resistencia bacterianos y si las características fenotípicas son fuertemente coincidentes, su posible relación clonal; con la finalidad de detectar cepas patógenas circulantes predecir estos mecanismos para poder establecer estrategias de detección oportuna y control, todo en pro de la salud de los pacientes.

Pseudomonas aeruginosa es frecuentemente relacionada con infecciones nosocomiales con morbilidad y mortalidad elevadas, por lo que se considera un excelente modelo para estudios epidemiológicos.

Se estudiaron 29 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes con diagnóstico demostrado de infección nosocomial, observándose una prevalencia mayor en la Unidad de Cuidados Intensivos, lo que refuerza el conocimiento de que se trata de un microorganismo con comportamiento oportunista en pacientes con larga estancia intrahospitalaria, sometidos a procedimientos diagnósticos y terapéuticos invasivos y habitualmente multitratados con diversos antimicrobianos, lo que induce de manera importante el desarrollo de mecanismos de resistencia bacterianos entre los que destacan; producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEES), y desarrollo de bombas de expulsión de entre otros.

El estudio demostró que actualmente en nuestro medio la sensibilidad mayor de *Pseudomonas aeruginosa* es a Cefepime (cefalosporina de 4ª. generación) lo que nos lleva deducir que las cepas estudiadas, sin bien pueden tener implícita la producción de BLEES, muy seguramente han desarrollado otro mecanismo conocido como Bombas de Expulsión (Efflux pumps); por otra parte se demostró que la mayor resistencia de la bacteria es al grupo de quinolonas que como se sabe

pueden compartir sus características de resistencia con antibióticos no relacionados estructuralmente, o bien con otras quinolonas de última generación y que son de uso frecuente en nuestro medio.

Se detectaron 10 cepas (34%) resistentes a todos los antimicrobianos, incluidos los 3 grupos de mayor importancia terapéutica por su actividad antipseudomónica; quinolonas, betalactámicos y aminoglucósidos; lo que sugiere importantemente la posibilidad de que las cepas estudiadas con estos patrones de resistencia hayan desarrollado mecanismos de resistencia mediados por bombas de expulsión, los cuales han sido descritos en diversos estudios apoyados con pruebas de biología molecular, corroborándose esta relación en patrones de antibiotipos semejantes.

Se detectaron cepas coincidentes en los patrones de resistencia a diversos grupos de antimicrobianos las cuales se relacionaron en tiempo y lugar de aislamiento; en este sentido es importante rescatar el valor de los métodos convencionales con que se cuenta en nuestro medio, ya sea sistemas automatizados o manuales, los cuales adecuadamente interpretados permiten establecer patrones de comportamiento que soportan fuertemente la posibilidad de un origen clonal entre las cepas aisladas, coincidentes en sus características fenotípicas; si bien, esto puede ser discutible y controversial, es el recurso con el que se cuenta en los medios hospitalarios al alcance de la comunidad médica. Para corroborar esta relación clonal es necesario realizar estudios de biología molecular mediante amplificación de DNA y secuenciación de cepas, con la finalidad de establecer fehacientemente esta relación.

En este estudio son evidentes las similitudes de las cepas aisladas, que por su elevada frecuencia y por el hecho de involucrar a los tres grupos de antimicrobianos con actividad antipseudomónica comprobada, nos permiten suponer que independientemente de los mecanismos relacionados con cada uno de ellos (betalactamasas, acetilación, adenilación, fosforilación, alteraciones en la DNA girasa), un mecanismo que puede involucrar a todos ellos es la presencia de Bombas de Expulsión, por lo que este estudio puede ser un soporte para las determinaciones moleculares correspondientes en las cepas aisladas en nuestro medio.

Los resultados obtenidos, mostraron la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* con patrones de multiresistencia a antimicrobianos específicos, relacionadas en tiempo y lugar; esto nos obliga a proponer programas para intensificar las acciones de prevención, detección y control de este tipo de microorganismos, así como la necesidad de un control en el uso de antimicrobianos y abrir la puerta para estudios moleculares futuros.

BIBLIOGRAFIA

1. Crespo MP. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colomb Med* 2002;33:179-193
2. Yu WL, Pfaller MA, Winokur PL, Jones RN: Cefepime MIC as a predictor of the extended-spectrum betalactamase type in *Klebsiella pneumoniae*, Taiwan. *EID* 2002; 8: 1-5.
3. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Russolin GM, Chong Y. Imipenem EDTA disk method for differentiation of metallobeta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2002; 40:3798-3801.
4. Betriu C, Picazo JJ,. Bacterias Gram positivas resistentes a antimicrobianos en Latinoamérica. *Infect Dis Clin Pract* 2002; Suppl: 13-21
5. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR et al. Emergente of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *N Eng J Med* 1999; 340: 493-501.
6. Livermore DM. Beta-lactamases and pumps in Gram-negative bacilli. Abstracts of the 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto; 2000.
7. Bolström A. Cefepime + clavulanic acid (CA) in a E-test configuration for investigating non-determinable ESBL results per NCCLS criteria. Abstract 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego 2002.
8. Black J, Moland S, Thomson KS. A simple disk test for detection of plasmid-mediated AmpC production in *Klebsiella*. Abstract 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego; 2002.
9. Reunión de consenso. La aparición de microorganismos productores de ESBL en América Latina: recomendaciones para su control y tratamiento. *Infect Dis Clin Pract* 2001; Suppl: 3-32.
10. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002; 34: 634-640.
11. Espinal PA, Mantilla JR, Saavedra CH, Leal AL, Alpuche AC, Valenzuela EM. Epidemiología molecular de infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productora de beta-lactamasas de espectro extendido. *Biomédica* 2004;24:252-61.
12. Fernández CF. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;22(6):355-60.

13. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organism. *J Clin Microbiol* 1999;37:1661-9.
14. Gori A, Espinasse F, deplano A, NonhoITC, Nicolas MIL, Struelens MJ. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified DNA polymorphism análisis for typing Extended.spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1996;34:2448-53.
15. Snard S, Diaz O. Identificación y caracterización de bacilos Gram negativos no fermentadores aislados en el medio hospitalario. *Rev. Cub Hig Epidemiol* 1997; 35: 318-25.
16. Labarca J. Utilización del antibiotipo como marcador epidemiológico de infecciones intrahospitalarias: comparación con la epidemiología molecular. *Rev. Chil Infect* 2002; 19: S157-S60.

CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1

Patrones de sensibilidad, resistencia y resistencia intermedia a los antibióticos incluidos en la tarjeta de identificación del sistema automatizado vytek Biomerieux

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17
1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	R	R	I	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R
4	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
5	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
6	R	R	I	I	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
7	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
8	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
11	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
13	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
15	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
16	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
17	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
18	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R
20	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R
21	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
22	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
24	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
25	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
26	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
27	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
28	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
29	R	R	I	I	I	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R

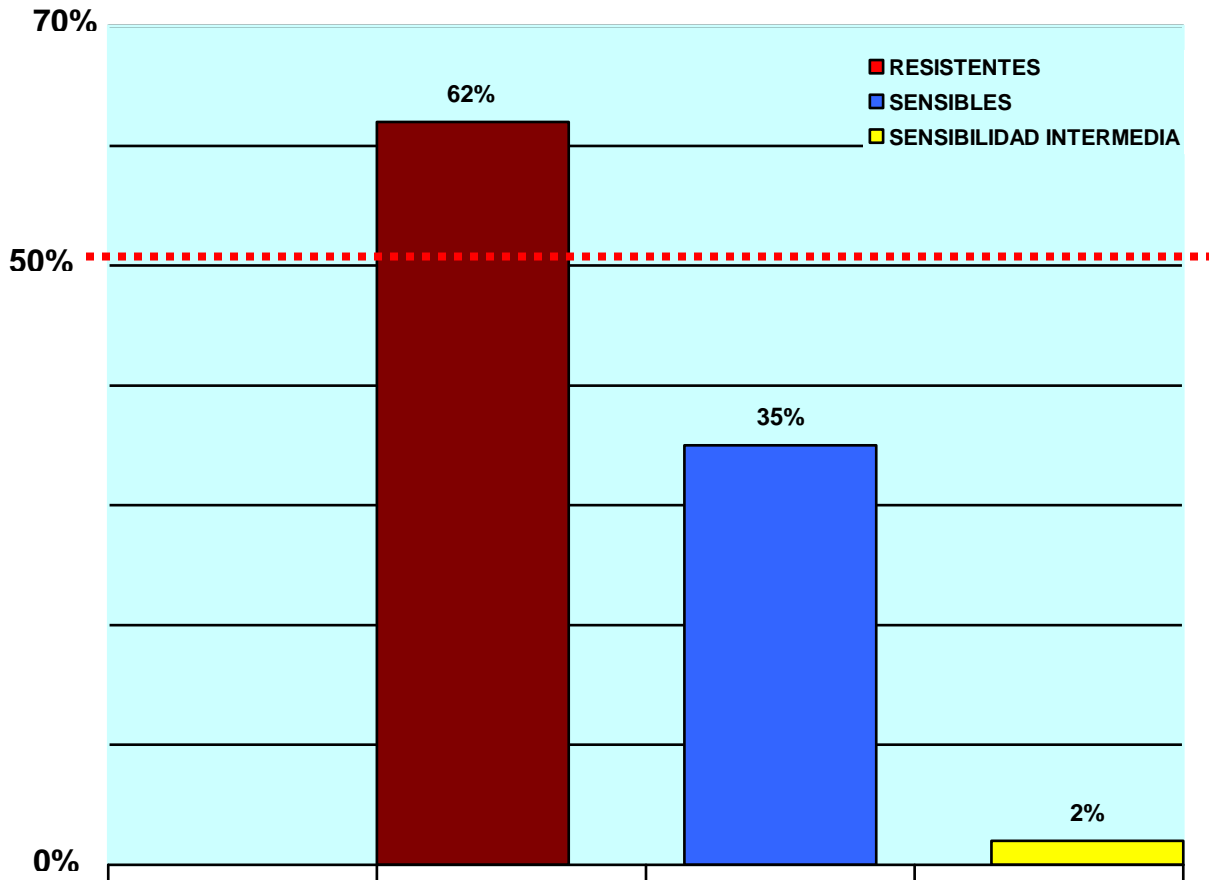
A1 AMOXICILINA-CA	A6 CEFUROXIMA-AX	A11 CIPROFLOXACINO
A2 CEFAZOLIN	A7 CEFUROXIMA-S	A12 NORFLOXACINO
A3 CEFEPIME	A8 MEROPENEM	A13 OFLOXACINO
A4 CEFTAZIDIMA	A9 PIPERACILINA	A14 GENTAMICINA
A5 CEFTRIAXONA	A10 TICARCILINA	A15 AMICACINA
		A16 NITROFURANTOINA
		A17 TMP-SMX

Antibiograma de las 29 cepas aisladas, en el que se puede apreciar que 10 de ellas son similares (resistentes a todos los antibióticos), además de ser coincidentes en tiempo y lugar de aislamiento (cepas 1, 2, 8, 9, 11, 13, 14, 17, 18, 24). Las cepas 4, 5, 26 y 27 también son similares entre sí en su patrón de sensibilidades, aunque solo una de ellas

coincide en tiempo y lugar con las anteriores. Las cepas 12 y 21, son similares en su antibiograma, y coinciden en tiempo y lugar a la mayoría de las cepas multirresistentes.

FIGURA 1

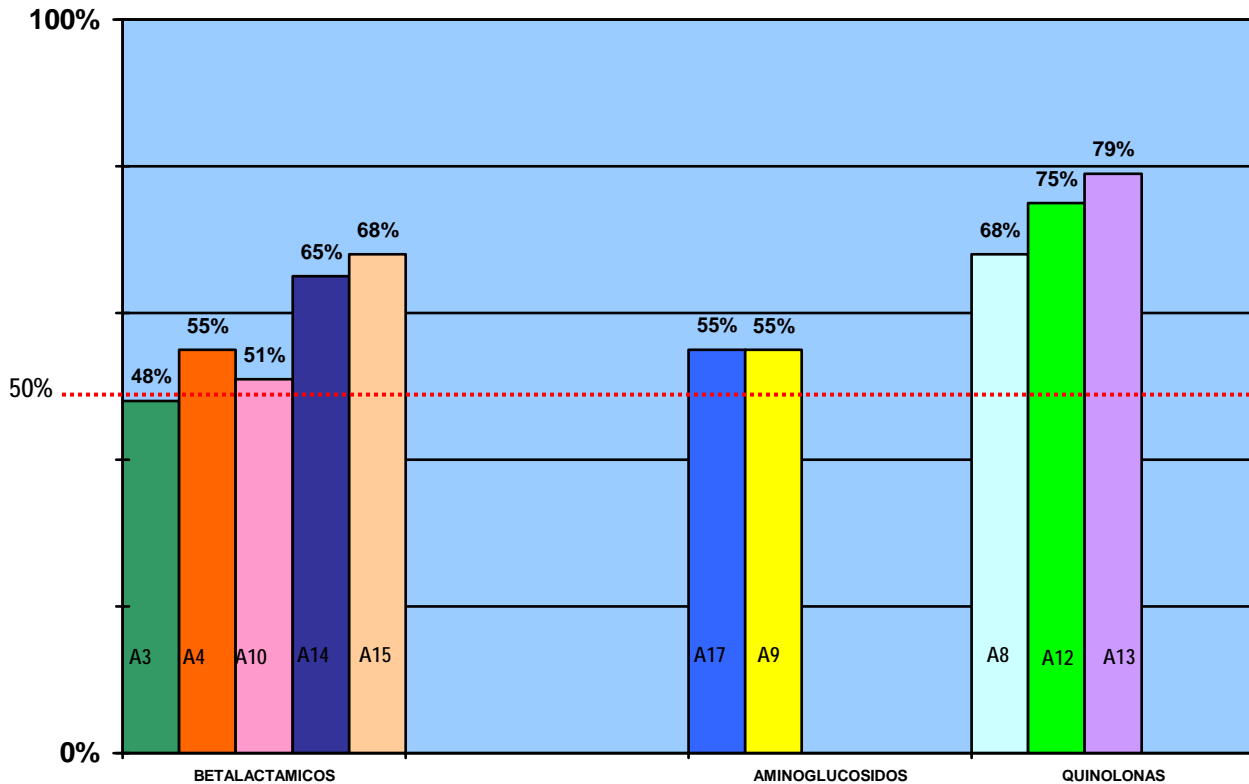
Antibiotipos para antibióticos con actividad antipseudomónica



La gráfica muestra los patrones de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* para antibióticos con actividad antipseudomónica (incluidos betalactámicos, quinolonas y aminoglucósidos) 62% se reportaron resistentes, 35% sensibles y 2% con sensibilidad intermedia. Los antibióticos incluidos en esta categoría son: betalactámicos (Cefepime, ceftazidima, meropenem, piperacilina y ticarcilina); quinolonas (ciprofloxacino, norfloxacino y ofloxacino) y aminoglucósidos (gentamicina y amikacina), de uso relativamente frecuente en el hospital.

FIGURA 2

Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a grupos farmacológicos con actividad antipseudomónica



ANTIBIOTICOS

A3 Cefepime
A9 Gentamicina
A13 Ofloxacina
A17 Amikacina

A4 Ceftazidima
A10 Meropenem
A14 Piperacilina

A8 Ciprofloxacino
A12 Norfloxacina
A15 Ticarcilina-CA

La gráfica muestra el elevado porcentaje de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los grupos farmacológicos con actividad antipseudomónica (Betalactámicos, aminoglucósidos y quinolonas); superior al 50% en la mayoría de los casos, observándose la mayor resistencia a quinolonas (ciprofloxacino 68%, norfloxacina 75% y ofloxacina 79%); solo un betalactámico mostró porcentaje de resistencias por abajo del 50 % (cefepime 48%).

CUADRO 2

Cepas con patrones similares de resistencia a betalactámicos con actividad antipseudomónica

CEPA	CEFEPIME	CEFTAZIDIMA	MEROPENEM	PIPERACILINA	TICARCILINA	LUGAR DE AISLAMIENTOS	FECHA DE AISLAMIENTOS
1	R	R	R	R	R	HEMATOLOGIA	09/05/07
2	R	R	R	R	R	UTI	08/06/07
8	R	R	R	R	R	QX GRAL	11/05/07
9	R	R	R	R	R	UTI	15/05/07
11	R	R	R	R	R	UTI	12/06/07
13	R	R	R	R	R	UTI	22/06/07
14	R	R	R	R	R	UTI	12/06/07
17	R	R	R	R	R	UTI	15/06/07
18	R	R	R	R	R	UTI	15/06/07
23	R	R	R	R	R	UROLOGIA	14/08/07
24	R	R	R	R	R	UROLOGIA	30/07/07

11 Cepas presentaron el mismo patrón de resistencia a betalactámicos con actividad antipseudomónica Y 7 de ellas relacionadas en tiempo y lugar de aislamiento, lo que nos orienta a una probable relación clonal que será necesario corroborar mediante técnicas de biología molecular.

CUADRO 3

Cepas con patrones similares de resistencia a quinolonas

CEPA	CIPROFLOXACINA	NORFLOXACINA	OFLOXACINA	FECHA DE AISLAMIENTO	LUGAR DE AISLAMIENTO
1	R	R	R	09/05/07	HEMATOLOGIA
2	R	R	R	08/06/07	UTI
3	R	R	R	03/05/07	QX CVS
6	R	R	R	07/05/07	UTI
7	R	R	R	15/05/07	UTI
8	R	R	R	11/05/07	QX GRAL
9	R	R	R	15/05/07	UTI
10	R	R	R	22/05/07	UTI
11	R	R	R	12/06/07	UTI
12	R	R	R	12/06/07	UTI
13	R	R	R	22/06/07	UTI
14	R	R	R	12/06/07	UTI
17	R	R	R	15/06/07	UTI
18	R	R	R	15/06/07	UTI
21	R	R	R	15/06/07	UTI
22	R	R	R	27/06/07	HEMATOLOGIA
23	R	R	R	14/06/07	UROLOGIA
24	R	R	R	30/07/07	UROLOGIA
25	R	R	R	31/07/07	MED INT

19 Cepas coincidentes en patrones de resistencia a quinolonas, 12 de ellas con asociación en tiempo y lugar de aislamientos, por demás importante es mencionar que se trata en su mayor parte de pacientes de la Unidad de Terapia Intensiva, lo que sugiere un posible origen clonal. sin embargo estos resultados dan una idea clara y fácil de obtener en nuestro medio con los métodos convencionales con que se cuenta en el hospital.

CUADRO 4

Cepas con patrones similares de resistencia a aminoglucósidos

CEPA	AMIKACINA	GENTAMICINA	LUGAR DE AISLAMIENTO	FECHA DE AISLAMIENTO
1	R	R	HEMATOLOGIA	09/05/07
2	R	R	UTI	08/06/07
8	R	R	QX GRAL	11/05/07
9	R	R	UTI	15/05/07
11	R	R	UTI	12/06/07
12	R	R	UTI	12/06/07
13	R	R	UTI	22/06/07
14	R	R	UTI	12/06/07
15	R	R	UTI	12/06/07
17	R	R	UTI	15/06/07
18	R	R	UTI	15/06/07
21	R	R	UTI	15/06/07
22	R	R	HEMATOLOGIA	27/06/07
24	R	R	UROLOGIA	30/07/07
25	R	R	MED INT	31/07/07
29	R	R	UTIP	09/08/07

16 Cepas coincidentes en patrones de resistencia a aminoglucósidos con actividad antipseudomónica, 8 de ellas con asociación en tiempo y lugar de aislamientos lo que sugiere la posibilidad de un origen clonal.