UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Mortalidad asociada a *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente aislada en puntas de catéter de pacientes pediátricos

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA

BEATRÍZ SOTO RINCÓN

ASESOR: M. en C. SOCORRO SANDRA MARTÍNEZ ROBLES

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2016

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

INDICE

Índice de tablas……1

Índice de figuras……..2

Índice de graficas……3

Abreviaturas……..4

Glosario……5

I Introducción……7

II Infecciones relacionadas con catéter

1 Generalidades……..8

2 Tipos de catéter……9

3. Vías de contaminación del catéter……...12

4. Etiopatogenia……13

5. Factores de riesgo……14

6. Diagnóstico microbiológico……..……15

6.1 Procedimientos microbiológicos de diagnóstico realizado sobre catéteres retirados……..16

6.2 Procedimientos de diagnóstico microbiológico manteniendo el catéter……..19

6.3 Recomendaciones específicas para el diagnóstico microbiológico de las Infecciones Relacionadas con Catéter……22

6.4 Recomendaciones para el uso de procedimientos diagnósticos conservadores ……..23

6.5 Nuevas técnicas diagnósticas……23

7. Manejo terapéutico……24

7.1 Tratamiento antibiótico empírico……25

7.2 Tratamiento antibiótico dirigido……..26

7.3 Tratamiento antibiótico local (sellos) ……27

8. Prevención……..29

III Pseudomonas aeruginosa

1 Generalidades……31

2 Mecanismos de resistencia……..32

3. Lectura interpretativa del antibiograma…….41

4 Elementos genéticos involucrados en la diseminación de genes de resistencia...42

5 Concepto de multiresistencia……48

IV Justificación……50

V Objetivos…….51

VI Metodología……..…….52

VII Resultados……53

VIII Discusión……..……...68

IX Conclusiones…….……73

X Bibliografía……..74

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a mis padres María del Rosario Rincón e Hilario Soto por el apoyo incondicional y esfuerzo que realizaron por años para que pudiera cumplir mis sueños y metas, siendo ellos un gran ejemplo de vida.

A mis hermanos María del Carmen y Eduardo por sus palabras de aliento en momentos difíciles y por el tiempo que pasaron a mi lado sacando mi mejor versión. A mi sobrino Luis Eduardo por adueñarse de todos los videojuegos evitándome distracciones y así poder terminar este proyecto :v.

A mi gran cómplice Eduardo Martínez por seguir siendo el niño con el que comparto mis locuras, el que ha estado conmigo en las buenas y en las malas y por su apoyo durante todos mis años de estudio

A mi asesora Sandra Martínez por aceptar este proyecto junto conmigo e inspirarme durante las clases a ser una profesionista que se supera día a día.

Finalmente a las químicas del HIMFG Lucia Tapia Madrigal, Yolanda Jiménez Tapia, Virginia Alcázar López, Araceli De León Ham e Isabel Franco Hernández por los conocimientos que compartieron a lo largo de mis prácticas profesionales en esta institución.

Índice de tablas

Tabla 1 Tipos de catéter……10

Tabla 2 Resultados de antibiogramas para *Pseudomonas aeruginosa* (periodo 2011-2013)……..57

Tabla 3 Resultados de antibiogramas para *Pseudomonas aeruginosa* (periodo 2014-2015)…….58

Tabla 4 Comparación de antibiogramas de cultivos de puntas de catéter y hemocultivos positivos a *Pseudomonas aeruginosa* antes y después de tratamiento antimicrobiano de pacientes que fallecieron……..61

Tabla 5 Mortalidad general asociada a *Pseudomonas aeruginosa*…….62

Tabla 6 Tasa de mortalidad asociada a *Pseudomonas aeruginosa* por grupo de edad…….63

Tabla 7 Tasa de letalidad asociada a *Pseudomonas aeruginosa* por año…….64

Tabla 8 Tasa de letalidad asociada a *Staphylococcus epidermidis* por año……65

Tabla 9 Resultados de cultivos de puntas de catéter y hemocultivos positivos a *Staphylococcus epidermidis* antes y después del tratamiento antimicrobiano de pacientes que fallecieron……..66

Tabla 10 Tasa de mortalidad asociada a *Staphylococcus epidermidis* por año…..66

Tabla 11 Tasa de mortalidad asociada a *Staphylococcus epidermidis* por grupo de edad…….67

Índice de figuras

Figura 1 Mecanismos de colonización del catéter……13

Figura 2 Esquema de la topología de membrana de OprD……35

Figura 3 Regulación positiva y negativa de OprD……36

Figura 4 Esquema del transportador de reflujo MexAB-OprD……37

Figura 5 Esquema de mecanismos de expulsión de antibióticos……..37

Figura 6 Representación esquemática de la estructura común de un integrón clase I……46

Índice de graficas

Gráfica 1 Microorganismos aislados en puntas de catéter…….53

Gráfica 2 Relación de pacientes con cultivos positivos de *Pseudomonas aeruginosa* de puntas de catéter considerando el sexo…….54

Gráfica 3 Relación de pacientes con cultivos positivos de *Pseudomonas aeruginosa* de puntas de catéter considerando grupo de edad……..55

Gráfica 4 Comparación de la frecuencia de cultivos positivos de puntas de catéter para *Pseudomonas aeruginosa*……...56

Gráfica 5 Comportamiento de los 5 tipos de antibiogramas por año durante el periodo de estudio……..59

Gráfica 6 Comparación de tasa de mortalidad específica de *Pseudomonas aeruginosa* considerando edad y sexo…….63

Gráfica 7 Comparación de tasa de mortalidad específica de *Staphylococcus epidermidis* considerando edad y sexo……..67

ABREVIATURAS

BGN: Bacteria Gram Negativas

BRC: Bacteriemia Relacionada a Catéter.

BRCVC: Bacteriemia Relacionada a Catéter Venoso Central

CAP: Catéter Arterial Periférico

CCIP: Catéter Central insertado Periféricamente

cm: centímetro

CVC: Catéter Venoso Central

CVCIP: Catéter Venoso Central Insertado Periféricamente

CVP: Catéter Venoso Periférico

g:gramos

h: horas

HIMFG: Hospital Infantil de México Federico Gómez

IRC: Infección Relacionada a Catéter

Int: Integrasa

kg: kilogramo

min: minutos

mL: mililitro

pb: pares de bases

SINAVE: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

UCIP: Unidad de Cuidados Intensivos Perinatales

ufc: unidad formadora de colonia

VPP: Valor Predictivo Positivo

GLOSARIO

Catéter venoso central.- Material sintético insertado en las venas tanto por un acceso periférico (vena cefálica, basílica o yugular externa) como central (venas yugular interna, subclavia, axilar o femoral) para infusión de soluciones y medicamentos. Según su duración son de corta estancia cuando se fijan para uso por no más de 30 días y permanentes cuando se utilizan por más de 30 días.

Flebitis (vena periférica).- - Inflamación o eritema con calor y dolor en el punto de entrada y/o en el trayecto del catéter.

Infección del punto de entrada:

- Clínicamente documentada.- signos locales de infección en el punto de entrada del catéter; enrojecimiento, induración, calor y salida de material purulento.

- Microbiológicamente documentada.- signos locales de infección en el punto de entrada del catéter más un cultivo positivo del punto de entrada del catéter, pero sin bacteriemia concomitante

Colonización del catéter.- aislamiento significativo de microorganismos en la punta del catéter (cultivo cuantitativo o semicuantitativo) o en la conexión sin que existan signos clínicos de infección en el punto de entrada del acceso vascular ni signos clínicos de sepsis.

Aislamiento significativo.- > 15 ufc/placa en cultivo semicuantitativo o
>102 ufc/cultivo cuantitativo

Contaminación del catéter.- Punta de catéter con menos de 15 ufc de bacterias según método semicuantitativo. Pueden contaminarse con microorganismos de la piel durante la retirada del mismo.

Bacteriemia relacionada con el catéter:

- Diagnóstico tras la retirada del mismo.- aislamiento del mismo microorganismo (especie e idéntico antibiograma) en el hemocultivo extraído de una vena periférica y en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo de la punta del catéter en un paciente, con cuadro clínico de sepsis y sin otro foco aparente de infección.

-Diagnóstico sin retirada del catéter venoso.- cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, en el que se aísla el mismo microorganismo en hemocultivos simultáneos cuantitativos en una proporción superior o igual a 5:1 en las muestras extraídas a través de catéter respecto a las obtenidas por venopunción, o una diferencia de más de 120 min en el tiempo de detección entre el hemocultivo extraído por el catéter y por una vena periférica (sistemas automatizados).

- Probablemente relacionada con catéter en ausencia de cultivo de catéter.- cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con hemocultivo positivo, en el que desaparece la sintomatología a las 48 h de la retirada de la línea venosa y sin tratamiento antimicrobiano eficaz frente al microorganismo aislado.

- Bacteriemia relacionada con los líquidos de infusión.- cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con aislamiento del mismo microorganismo en el líquido de infusión y en el hemocultivo extraído por vía percutánea.

I INTRODUCCIÓN

Hoy en día es muy común la utilización de catéteres intravasculares con fines diagnósticos o terapéuticos, especialmente al tratar pacientes con patologías agudas o crónicas en estado crítico, dado lo anterior las infecciones asociadas a catéter constituyen la principal causa de bacteriemia nosocomial teniendo una alta mortalidad y morbilidad. Existe una gran diversidad de catéteres o dispositivos intravasculares con características y finalidades diferentes, siendo el CVC la causa del 90% de las infecciones asociadas a catéteres. (Forero, 2004)

La vía que utilizan los microorganismos para alcanzar la superficie del catéter varía en función del tiempo de permanencia del mismo. Los catéteres de duración corta (<8 días) se colonizan por microorganismos de la piel en un 70-90% de los casos. Los microorganismos migran desde la piel hasta alcanzar la superficie intravascular del catéter a través de la fibrina extraluminal que se constituye tras la inserción del catéter desde las conexiones del mismo. Está involucrada en el 10-50% de los casos, la vía hematógena en el 3-10% de los casos y el uso de fluidos contaminados menos del 3%. La vía hematógena adquiere mucha mayor relevancia si nos referimos a los pacientes ingresados en la UCI, aunque sigue siendo poco frecuente. Para los catéteres de duración superior a los 8 días, en los que el grado de manipulación de las conexiones es considerablemente superior, la vía de colonización más frecuente es la endoluminal (66%) seguida de la extraluminal (25%). (Borba, 2007)

Actualmente se prefiere reportar la incidencia por cada 1 000 días de uso de catéter y en ese caso la cifra es de 1.7 a 2.4 infecciones por 1 000 días/catéter. Las microbiotas involucradas con mayor frecuencia en estas infecciones son *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus*, bacilos Gram negativos, *Enterococos* y organismos del género *Candida*. (Ruza, 2006)

II INFECCIONES RELACIONADAS CON CATETER

1.-GENERALIDADES

En los estudios hemodinámicos, la vena antecubital se ha utilizado de manera habitual, por disección o punción percutánea. En la edad pediátrica, el uso de dicha vía, preserva las grandes venas para procedimientos de emergencia y se evitan complicaciones tales como la trombosis venosa profunda, perforaciones yugulares interna o externa y neumo o hemotórax. Se evita igualmente, el acceso venoso axilar, que conlleva cierto riesgo de daño de ramas neurovasculares o compresión nerviosa. (Medina, 2006)

Para lograr un acceso venoso central, se introduce un tubo de silicona o de poliuretano en el sistema venoso, generalmente por la vena subclavia, la vena yugular o con menor frecuencia, la vena femoral. La colocación de un catéter intravascular en el paciente ingresado en la UCI, es el factor de riesgo más importante en la aparición de bacteriemia primaria (sin origen definido o con puerta de entrada en el catéter), siendo ésta en la actualidad, la infección nosocomial más frecuentemente diagnosticada en la UCIP (20-30%).

Los catéteres venosos son imprescindibles en la práctica médica actual, pero su uso conlleva una potencial fuente de complicaciones locales o sistémicas, las primeras comprenden la infección en el punto de entrada, la flebitis y las relacionadas con el procedimiento de inserción; entre las segundas se incluyen las bacteriemias relacionadas con el catéter con o sin producción de complicaciones a distancia como endocarditis, abscesos pulmonares, óseos, cerebrales, etc. Todas estas complicaciones alteran la evolución normal del proceso del paciente añadiendo morbilidad, mortalidad e incrementando la estancia y el gasto sanitario. Los catéteres venosos periféricos son los dispositivos más frecuentemente empleados para el acceso vascular, y aunque la incidencia de infecciones locales o sistémicas asociadas a su utilización es habitualmente baja, ocasionan gran morbilidad por la frecuencia con la que se usan (Alonso 2000).

Una forma de conocer el estado actual del problema en un hospital, con respecto a la incidencia de BRCVC, es utilizar un indicador que muestre la utilidad del programa de prevención de BRCVC implementado. A nivel mundial uno de esos indicadores es la determinación del número de bacteriemias por 1000 días catéter. Se estima que los parámetros aceptables para un buen programa de prevención son los que se observan en el cuadro 1. Estos datos reflejan la tasa de BRCVC la cual se expresa como la división del número de episodios de infección entre los días catéter o días de uso del factor de riesgo la cual es igual a la suma de todos los pacientes que en el período en vigilancia tuvieron colocado un CVC.

Cuadro 1. Parámetros indicadores de efectividad de programas implementados para la prevención de bacteriemias relacionadas a catéter venoso central

Servicio	Bacteriemia por 1000 días catéter
UTIP	8
UCIN mayor a 2 500 g	3.8
1 501 a 2 500 g	4
1 001 a 1 500 g	6.9
menor a 1 000 g	11.3
Resto del hospital	0.5

Tomado de guía para el tratamiento de bacteriemia relacionada a catéteres venosos centrales México 2011

2.- TIPOS DE CATETER

Existen numerosos tipos de catéteres vasculares los cuales pueden clasificarse según su utilización, tamaño, modo de inserción, número de luces que contienen, vena donde se coloca y su riesgo de infecciones asociadas (tabla 1). Aunque la utilización de cualquier tipo de catéter implica un riesgo de desarrollar una infección, los catéteres vasculares centrales están involucrados en el 75% de bacteriemias. (Polderman, 2002)

Tabla 1. Tipos de catéteres

Característica del catéter	Clasificación
Duración	Corta: menos de 30 días
	Larga: más de 30 días
Lugar de inserción	Yugular
	Subclavia
	Femoral
	Periférico
Trayecto en piel	Catéter central insertado periféricamente
	No tunelizado
	Tunelizado
Revestimiento del catéter	Impregnado con heparina
	Impregnado con antiséptico
	Impregnado con antibióticos
Número de luces	Una luz
	Dos luces
	Tres o más luces

Los CVC pueden insertarse de forma percutánea o por medio de un procedimiento quirúrgico, los primeros son los más utilizados en los pacientes hospitalizados y sus lugares de inserción central más comunes son las venas subclavia, yugular o femoral. Los CVCIP son utilizados con mayor frecuencia por la facilidad de inserción, su reducido número de complicaciones y a la tolerancia por parte de los pacientes; al tener un acceso vascular a las venas centrales pueden ser utilizados para la administración de fármacos, inmunosupresores o nutrición parenteral. (González 2004)

A continuación se presenta una breve explicación de las características de los diferentes tipos de catéter así como el riesgo de infecciones de cada uno

Catéteres Venosos Centrales

CVC no tunelizados: Se insertan por vía percutánea pueden ser de poliuretano o de silicona, su utilización generalmente no supera las 6 semanas ofreciendo la posibilidad de ser recambiados mediante un sistema de guías metálicas, puede tener una o varias luces. Ocasiona el 90% de las bacteriemias asociadas a catéteres vasculares en la UCI.

CVC tunelizados: Se insertan mediante un procedimiento quirúrgico, a través de un túnel subcutáneo alejado unos centímetros del punto de acceso de la vena central. La parte exterior del catéter, por lo tanto, no está en contacto con el lugar de la inserción vascular. El anclaje del catéter se realiza mediante un mango que permite la fijación subcutánea del mismo y que posteriormente se fibrosa, proporcionando una barrera para la migración de microorganismos desde el exterior, a través de la superficie externa del catéter, hasta el extremo distal intravascular y con ello condiciona la disminución del riesgo de infecciones.

Una modificación de los CVC tunelizados son los catéteres de Groshong los cuales cuentan con un sistema con una válvula de dos aberturas adyacente que permanece cerrada mientras el catéter no se utiliza, ofreciendo con ello una protección superior frente a la formación de trombosis intraluminal o la infusión de partículas aéreas.

CVC con reservorios implantables: Constan de un dispositivo compuesto de materiales plásticos o de titanio, portador de una membrana conectado a un catéter que se coloca en una vena central (generalmente la vena subclavia). Las complicaciones infecciosas son raras.

Catéteres periféricos

Catéter venoso periférico (CVP): Se inserta en la vena del antebrazo o en la mano es el dispositivo intravascular de corta duración más utilizado. Las complicaciones infecciosas poco frecuentes y potencialmente graves.

Catéter arterial periférico (CAP): Se usa comúnmente para monitorizar el estado hemodinámico y para la determinación de gases en sangre en pacientes críticos, el

riesgo de BRC puede ser similar a los CVCs, son de corta duración y el riesgo de infección es escaso.

Catéter periférico (Catéter Midline) (tamaño 7.6 - 20.3 cm) insertado en la fosa antecubital, en la vena basílica proximal o en la vena cefálica, pero no ingresan en las venas centrales. Están asociados con bajas tasas de infección comparados con los CVCs.

CVC de corta duración es el más comúnmente usado, causante de la mayoría de las BRC.

Catéter pulmonar arterial (Catéter de Swan-Ganz) es insertado a través de un introductor de teflón con una media de duración de 3 días y tienen bajo riesgo de infecciones

Catéter central insertado periféricamente (CCIP) son una alternativa a la cateterización de las venas subclavia o yugular, se colocan en la vena cava superior, a través de las venas cefálica y basílica del espacio antecubital. Tienen el mismo riesgo de infección que los CVCs en pacientes hospitalizados en la UCI.

3. VÍAS DE CONTAMINACIÓN DEL CATÉTER

La contaminación de las superficies endoluminal y/o exoluminal se produce por diferentes mecanismos mostrados esquemáticamente (figura 1).

Contaminación exoluminal

Se da a través de la piel con progresión pericatéter, la inserción del catéter implica la pérdida de integridad de la barrera cutánea. La falta de asepsia durante la inserción o el mantenimiento inadecuado del punto de inserción o bien durante utilización del catéter puede facilitar la infección de tejido subcutáneo que circunda el catéter y provocar la colonización de su cara exoluminal.

Contaminación endoluminal

Puede darse a través de las conexiones, la conexión es una fuente relevante de

colonización de los catéteres endovasculares sobre todo a partir de la primera semana. Una inadecuada manipulación de la conexión en la infusión de líquidos o en el recambio de los equipos de infusión facilita la contaminación. Aunque también puede darse por la infusión de líquidos contaminados en su preparación. Y finalmente por colonización hematógena debida a la bacteriemia generada desde un foco séptico previo que facilita la colonización a distancia del catéter. (Kehrs, 2002)

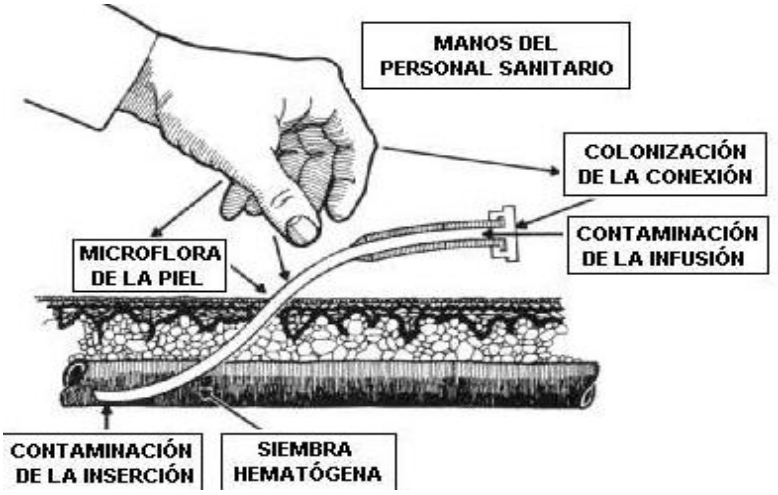


Figura 1. Mecanismos de colonización del catéter (tomado de Nutrición parenteral domiciliaria y sepsis relacionada con el catéter: Prevención y tratamiento México 2010)

4. ETIOPATOGENIA

Los microorganismos involucrados con mayor frecuencia en estas infecciones son *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, Bacilos Gram negativos, Enterococos y organismos del género *Candida*. La BRC es aquella bacteriemia que tiene origen cuando algún microorganismo ha colonizado previamente algún segmento del catéter, para ello es preciso que este alcance la superficie del catéter, interactúe con ella y sea capaz de multiplicarse (colonización) para posteriormente diseminarse y causar infección. (Olaechea, 2007)

No todos los microorganismos poseen la misma capacidad para colonizar los catéteres ya que existen una serie de factores de riesgo favorecedores, tanto de

paciente como del catéter y su manipulación.

La infección relacionada con el catéter incluye 3 entidades: la colonización, la infección del punto de entrada y la BRC. Esta última es la entidad de mayor trascendencia, por la gravedad y el posible impacto sobre el pronóstico de los pacientes. La colonización del catéter es el paso previo a la infección y a su complicación mayor que es la bacteriemia, ésta comienza precozmente, en las primeras 24 h de la inserción del dispositivo .La vía de acceso de los microorganismos al catéter varía según los días de permanencia del mismo.

5. FACTORES DE RIESGO

Relacionados con el paciente

Algunos factores de riesgo asociados a BRC son si el paciente está bajo tratamiento antibiótico, si es ayudado con un ventilador mecánico, edad, malnutrición y como condiciones destacadas se encuentran el estado de inmunosupresión, estado de inmunodepresión y la neutropenia.

Relacionados con el material y diseño del catéter

La capacidad de los microorganismos de adherirse depende del material del que este compuesto el catéter, la mayoría de los catéter que se comercializan actualmente son de poliuretano, aunque también existen a la venta catéteres de teflón, silicona, clorhidrato de polivinilo o polietileno. Se ha documentado menores tasas de infección con catéteres de teflón y poliuretano que con los de polietileno y clorhidrato de polivinilo, en cuanto a los de silicona se sabe que favorecen la adherencia bacteriana. (Cruzeiro, 2006)

En cuanto a la importancia en el diseño los catéteres multilumen representan un mayor riesgo de infección que los monolumen ya que se someten a un mayor número de manipulaciones y de conexiones.

Relacionados con la manipulación del catéter

La aparición de BRC es menor si se inserta el catéter en la vía subclavia, seguido de la vía yugular y finalmente de la femoral, la presencia de heridas o cualquier orificio cercano al punto de inserción facilita la colonización de la piel aumentando el riesgo de infección en caso de las vías femoral y yugular.

La inserción en un área con una asepsia deficiente favorece también la aparición de BRC, el recambio por guía de un catéter es útil porque reduce el riesgo de complicaciones mecánicas, aunque no debe realizarse cuando se sospeche de infección ya que al utilizar el mismo trayecto se facilita la colonización del nuevo catéter. (Brehner, 2003)

El tiempo de cateterización se ha demostrado como un factor de riesgo de gran importancia aunque también lo es el número de manipulaciones ya que esto aumenta la probabilidad de una colonización de los microorganismos.

Relacionados con las conexiones

La manipulación incorrecta de las conexiones favorece el paso de microorganismos a la luz del catéter y puede ser motivo de colonización endoluminal, pudiendo generar bacteriemias

6. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El diagnóstico de las infecciones relacionadas con catéter inicia con la sospecha clínica ante signos locales y/o generales de una infección, debido a que los síntomas pueden ser inespecíficos se recurre a la utilización de técnicas microbiológicas para tener un diagnostico confiable de infección. En la mayoría de los casos, el diagnóstico de IRC conlleva la decisión terapéutica de retirar el catéter, sin embargo, muchos estudios han demostrado que en más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección, el cultivo fue negativo por lo que su retirada no estaba justificada. (Cisneros, 2007)

6.1 PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS DE DIAGNÓSTICO REALIZADO

SOBRE CATÉTERES RETIRADOS

La sospecha o confirmación diagnóstica de la IRC ha conllevado, en la mayor parte de los casos, la decisión de la retirada del mismo. Esto continúa siendo así en cualquier enfermo que cumple uno o más de los siguientes criterios:

1.- Catéteres de los que se puede prescindir

2.- Catéteres fáciles de sustituir

3.- Catéteres en pacientes con bacteriemia que persiste a pesar de tratamiento antimicrobiano correcto

4.- Catéteres con infección en el túnel subcutáneo

5.- Catéteres causantes de émbolos pulmonares o en la circulación mayor

6.- Catéteres causantes de endocarditis

7.- Catéteres infectados por microorganismos difíciles de erradicar sin retirada de los mismos

Cultivo cualitativo de la punta del catéter.

Consiste en cortar asépticamente el extremo distal del catéter e introducirlo en un tubo con medio de cultivo líquido. A pesar de su gran sencillez y sensibilidad, tiene el inconveniente de ser un método que no cuantifica el número de ufc y por tanto no permite diferenciar una colonización significativa de la posible contaminación accidental del catéter en el momento de su retirada, ya que un único microorganismo viable puede dar lugar a un cultivo positivo tras 18 h de incubación a 37ºC, debido a lo anterior no suele ser una técnica utilizada en la actualidad

Cultivo semicuantitativo de la punta del catéter.

Fue descrita por primera vez por Maki y cols. en 1977, la técnica consiste en rodar tres o cuatro veces sobre la superficie de una placa de agar sangre, con la ayuda de unas pinzas estériles, el segmento intravascular del catéter (3-4 cm del extremo distal). Cuando en el cultivo crecen ≥15 ufc por placa, se considera que el catéter está colonizado. El criterio de positividad (≥15 ufc) fue elegido porque la mayoría de los pacientes con recuentos inferiores no presentan datos sugestivos de infección, mientras que todos los casos que cursan con bacteriemia tienen recuentos superiores a 15 ufc. (García, 2003)

Este método, por su sencillez ha sido aceptado por la mayoría de los laboratorios de microbiología y es la técnica de referencia. Sin embargo, tiene algunas limitaciones, ya que la mayoría de los catéteres utilizados son catéteres periféricos y por otra parte es imposible calcular la sensibilidad de la técnica.

Diversos estudios con CVC han demostrado la existencia de casos de sepsis asociados a recuentos inferiores a 15 ufc o incluso negativos por esta técnica, particularmente si la sepsis es de origen endoluminal. La disminución del criterio de positividad de 15 a 5 ufc puede mejorar la sensibilidad de la prueba, pero disminuye su especificidad. Aunque la simplicidad técnica de esta prueba diagnóstica ha generalizado su uso, no hay que olvidar que existe alrededor de un 15% de bacteriemias de origen endoluminal, especialmente en catéteres de larga duración, que podrían no ser diagnosticadas si sólo se realiza el cultivo semicuantitativo. (Mermel, 2009)

Cultivos cuantitativos de la punta del catéter.

En 1980 Cleri y cols. diseñan una técnica de cultivo cuantitativo, que detecta microorganismos de las superficies externa e interna del catéter y que compara los recuentos bacterianos de dos segmentos del catéter, la punta y el segmento intradérmico o subcutáneo. Esta técnica consiste en introducir cada segmento del catéter en 2 mL de caldo nutritivo y lavar tres veces la luz del catéter con la ayuda de una jeringa. Posteriormente, se realiza el recuento del número de bacterias del

caldo por siembra de 0.1 mL de las diluciones 1/10 y 1/100, sobre placas de agar sangre. Esta técnica tiene la ventaja sobre el cultivo semicuantitativo que permite conocer y cuantificar la colonización global del catéter en ambas superficies, externa e interna. Para estos autores, todos los catéteres que se asociaron con bacteriemia tuvieron recuentos superiores a 103 ufc/segmento, por ello se aceptó esta cifra como el valor umbral a partir del cual un catéter se consideraba colonizado. Recuentos inferiores a 103 ufc, se consideran como posible contaminación o en una fase temprana de colonización.

En 1990 Brun-Buisson y cols. simplifican la técnica de Cleri introduciendo el segmento del catéter en un tubo con 1 mL de agua destilada estéril y tras un minuto de agitación en un vórtex siembran 0.1 mL de la suspensión en una placa de agar sangre, se utiliza el mismo punto de corte de Cleri (>103 ufc/mL). En este mismo año Sherertz y cols. describen otro método de cultivo cuantitativo que consiste en sonicar durante un minuto la punta del catéter sumergida en 10 mL de caldo de tripticasa-soya. Posteriormente se siembra 0.1 mL del caldo original así como 0.1 mL de sus diluciones 1/10 y 1/100 en placas de agar sangre para cuantificar la colonización. Con un número de 100 ufc/mL como umbral, permite diagnosticar la IRC y distinguir infección de colonización.

En 1995 Liñares y cols. describen una modificación al método cuantitativo de Cleri que permite conocer la colonización de la luz del catéter, lavando la superficie interna de la punta del catéter con 2 mL de caldo de cultivo, sembrando 0.1 mL en una placa de agar sangre y haciendo diluciones seriadas del caldo de cultivo para contabilizar los microorganismos en la superficie interna del catéter. A continuación el catéter se siembra por el método semicuantitativo de Maki, para conocer la colonización de la superficie externa del mismo. La utilización conjunta de ambas técnicas ha permitido esclarecer las vías patogénicas de la infección asociada a catéteres, sin embargo la aplicación rutinaria de éste método en el laboratorio está limitada por su laboriosidad.

Diferentes estudios prospectivos de infección asociada a catéter encontraron que tanto el método de Maki como el de Brun-Buisson tienen similar sensibilidad y especificidad. En la actualidad la técnica de Maki, por su rapidez y sencillez, sigue siendo la más utilizada en los laboratorios de microbiología clínica.

Técnicas de diagnóstico rápido

Todas las técnicas de diagnóstico de la IRC anteriormente precisan de cultivos microbiológicos y, por tanto, se necesitan como mínimo de 18 a 24 h para conocer el resultado. Existen técnicas rápidas por tinción de la punta del catéter, pero requieren su retirada. Se han descrito diferentes técnicas que utilizan la tinción de Gram y la de naranja de acridina. (Safdar, 2005)

Los catéteres, tras ser teñidos, se observan directamente al microscopio y se considera positiva la presencia de al menos un microorganismo por cada 20 campos observados con objetivo de inmersión.

A pesar de su rapidez diagnóstica, estas técnicas tienen los inconvenientes de exigir la retirada del catéter y que sólo pueden llevarse a cabo sobre catéteres transparentes cuyas paredes no sean gruesas o mediante la utilización de microscopios especiales. Además, su realización no sustituye al cultivo y su aplicación rutinaria en todos los catéteres supone una gran carga de trabajo para el laboratorio de microbiología.

6.2 PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO MANTENIENDO EL CATÉTER

Cultivos superficiales semicuantitativos.

Se basa en la aplicación del conocimiento de las dos vías principales de acceso de los microorganismos a la punta del catéter, la piel circundante al punto de entrada y la conexión como vía de acceso a una progresión endoluminal. La técnica consiste en la detección de microorganismos en cualquiera de los dos puntos (García, 2003).

La técnica consiste en frotar con una torunda la piel que rodea la puerta de entrada del catéter en un área de aproximadamente 1-2 cm de radio. En la conexión o

conexiones se introduce una torunda de alginato que se hace circular 2 o 3 veces por el interior de la misma. Las torundas utilizadas deben cultivarse rápidamente sobre placas de agar sangre para recuento semicuantitativo, extendiéndolas sobre el total de la superficie de las mismas. Se considera que una piel o una conexión son positivas en este recuento semicuantitativo cuando el número de bacterias de una especie determinada por placa es ≥15 ufc.

Una tinción de Gram negativa de los frotis de piel y conexión, prácticamente descartaría al catéter como origen de la infección. Aunque la tinción de Gram presenta escaso VPP aporta información inmediata de gran utilidad en los casos en que la tinción es positiva, ya que la visualización de morfotipos concretos puede hacer que el clínico decida modificar la pauta terapéutica del paciente. Los resultados de dichas tinciones superficiales se confirman a las 24 h al examinar los cultivos correspondientes.

Cultivos y tinciones de sangre aspirada por el catéter.

Estos métodos están basados en la búsqueda de bacterias en la sangre aspirada por un catéter con sospecha de infección, realizando tinciones de preparaciones de la misma o realizando cultivos que son comparados con los tomados de sangre periférica no obtenida por el catéter. (Cisneros, 2007)

La técnica consiste en aspirar una muestra de 50 µL de sangre a través del catéter cuyos eritrocitos se someten a lisis con suero salino hipotónico. Los leucocitos se sedimentan por centrifugación y se prepara una capa rica en los mismos mediante centrifugación. Las preparaciones se tiñen con naranja de acridina y se examinan al microscopio de fluorescencia.

Se considera la prueba positiva cuando se observan bacterias; en este caso, la segunda preparación se tiñe con tinción de Gram para caracterizar de qué tipo de bacterias se trata. Se recomienda que las muestras de sangre obtenidas a través del catéter se deben aspirar por cada una de sus luces. Recuentos >100 ufc/mL en sangre obtenida del catéter en presencia de un hemocultivo cualitativo positivo para el mismo microorganismo en sangre periférica es también altamente sugerente de

BRC.

Técnicas basadas en la velocidad de crecimiento de hemocultivos cualitativos.

Esta técnica utiliza la ventaja de los nuevos sistemas automatizados para el procesamiento de hemocultivos que determinan el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación de los frascos hasta el momento en que se detecta crecimiento significativo. Teóricamente, los hemocultivos que parten de un mayor inóculo bacteriano (los sembrados con sangre obtenida por la luz del catéter) deben tener tiempos de crecimiento más rápido que los inoculados con sangre periférica. Las diferencias en tiempo de crecimiento, por tanto entre hemocultivos simultáneamente tomados por el catéter o de una vía periférica pueden orientar sobre un origen de la bacteriemia en la punta del catéter. Se considera 120 min la diferencia significativa entre las muestras.

El método permite el uso de hemocultivos ordinarios cualitativos y no requiere maniobras especiales en el laboratorio para su procesamiento. Ha sido propuesto para el uso rutinario en la práctica en hospitales que dispongan de sistemas automatizados para la detección de bacteriemia. (Safdar, 2005)

Examen mediante cepillado intraluminal.

Los cepillos se han utilizado fundamentalmente de dos maneras: para movilizar las bacterias englobadas en la biocapa con posterior obtención de cultivos de sangre, o de forma directa, estudiando las bacterias incorporadas al cepillo tras su retirada. Tras retirar el cepillo se introduce en PBS, se sonica y se siembran cuantitativamente alícuotas en placas de cultivo. Los resultados se comparan con los que se obtienen al cultivar la punta del catéter tras su retirada por los métodos de Maki y Cleri.

6.3 Recomendaciones específicas para el diagnóstico microbiológico de las Infecciones Relacionadas con Catéter

Catéteres periféricos venosos

1. Si se sospecha IRC, se debe cultivar la punta por el método semicuantitativo y extraer dos hemocultivos antes del tratamiento antibiótico.

2. Si existen signos de infección local se debe enviar un frotis del exudado para realizar tinción de Gram y cultivo.

CVC no tunelizados

1. No deben retirarse rutinariamente los catéteres en los pacientes con fiebre cuya enfermedad no sea de gravedad.

2. Los CVC deben retirarse y cultivarse cuando el paciente presenta exudado purulento en el punto de salida del catéter o cuando existen síntomas clínicos de sepsis grave o choque séptico. Si el nuevo catéter se ha introducido con una guía de acero y el resultado del cultivo del catéter antiguo es positivo, el catéter nuevo debe retirarse y colocar otro en una nueva localización.

3. El CVC se puede conservar en los pacientes sin evidencia de BRC o cuando no hay sospecha de complicaciones locales o metastásicas.

4. Si la BRC persiste o el paciente no mejora clínicamente después de la retirada del catéter y de la instauración de un tratamiento antimicrobiano adecuado debe sospecharse la presencia de trombosis séptica, endocarditis infecciosa u otras infecciones metastásicas.

5. Se debe vigilar atentamente a aquellos pacientes neutropénicos o con valvulopatías, en los que a pesar de tener hemocultivos negativos tienen cultivos semicuantitativos o cuantitativos del catéter con crecimiento significativo de *Staphylococcus aureus o Candida sp*. Si se considera necesario se realizarán nuevos hemocultivos.

6. En los pacientes con BRC en los que se ha retirado el catéter y se ha instaurado un tratamiento antibiótico adecuado se puede volver a colocar un catéter no tunelizado.

Todas estas recomendaciones son aportadas por los manuales de diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas con catéter (Cercenado, 2004)

6.4 Recomendaciones para el uso de procedimientos diagnósticos conservadores

1.- La primera línea de pruebas cuando intentamos conservar el catéter, reside en los cultivos superficiales en los que debe incluirse una muestra de la conexión y una muestra de la superficie externa de los primeros 2 cm subcutáneos del catéter. Alternativamente, si no puede extraerse el catéter 1 o 2 cm se utilizará un frotis de la piel próxima al punto de entrada. En estas muestras debe realizarse tanto una tinción de Gram como un procesamiento semicuantitativo.

2.- En pacientes con sospecha de BRC, deben realizarse hemocultivos que incluyan al menos una muestra tomada por el catéter y otra de una vena periférica. Los hemocultivos deben procesarse con una técnica que permita la cuantificación del número de ufc/mL de tal manera que puedan compararse los tomados por el catéter con los obtenidos a través de una vena periférica.

3.- En pacientes con sospecha de bacteriemia debe realizarse un frotis de la capa rica en leucocitos en la sangre obtenida retrógradamente por el catéter y teñirlo con naranja de acridina y la tinción de Gram.

4.- No se recomienda el uso de procedimientos basados en el cepillado intraluminal.

6.5 Nuevas técnicas diagnósticas

Aunque la aplicación de la microscopia electrónica al abordaje clínico de la BRC está lejos de implantarse, la aplicación de técnicas de imagen al diagnóstico de colonización de los catéteres ha aportado interesantes datos en el campo de la patogenia.

En algunos estudios se observa que la formación de biofilms en las paredes de los catéteres por microorganismos está presente tempranamente a pesar de que los cultivos son incapaces de detectarla. (Mermel, 2001)

El diagnóstico de certeza de IRC necesita métodos que demuestren que los microorganismos aislados en los distintos segmentos del catéter, en la piel, en los hemocultivos o en el líquido de perfusión son idénticos. El estudio de la sensibilidad antibiótica y la identificación bioquímica de las especies han sido los métodos de tipificación epidemiológica utilizados clásicamente. (Rello, 2000)

Aunque biotipo y antibiotipo son técnicas sencillas y rápidas para la mayoría de los laboratorios clínicos, presentan limitaciones referentes a su reproducibilidad, estabilidad y poder de discriminación, que pueden hacerse extensivas a otras técnicas fenotípicas. Probablemente dichos métodos son suficientes en la práctica rutinaria de un laboratorio de microbiología clínica, sobre todo si los microorganismos involucrados en un caso de IRC no forman parte de la flora cutánea habitual. (Safdar, 2005)

Las técnicas moleculares de tipificación de microorganismos varían desde sencillos análisis de los patrones plasmídicos hasta técnicas más complejas que analizan el polimorfismo generado tras restricción del DNA cromosómico, incluyendo técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa.

7. MANEJO TERAPEÚTICO.

Una vez que se establece el diagnóstico de BRCVC lo primero es plantearse la necesidad de la continuación del dispositivo plástico. Si no es necesario mantenerlo o es posible canalizar al paciente en otra región se debe retirar el dispositivo plástico. (Forero, 2004)

Cuando existe BRC y los microorganismos aislados son *Staphylococcus* coagulasa negativos, *Corynebacterium* sp. o *Streptococcus sp*. se puede ensayar terapéutica local cerrada. Excepto cuando el paciente presenta valvulopatías o inmunosupresión incluyendo neutropenia moderada y profunda.

Se debe retirar el dispositivo si el microorganismo causal es *Staphylococcus aureus, Pseudomonas sp.*, cualquier otro bacilo Gram negativo, *Enterococcus sp.*, o *Candida sp*. por el riesgo alto de recidivas y complicaciones; también deben retirarse en caso de Micobacterias, *Bacillus sp*. y *Aspergillus sp*. por no presentar curación sin retirada del dispositivo. En caso de choque séptico el catéter debe ser retirado y cultivarse la punta al mismo tiempo que se realiza hemocultivo periférico. Si el catéter es permanente y no es posible su retiro de forma inmediata, se debe cerrar y no utilizar nuevamente. (Fowler, 2005)

Si después de retirado el catéter y haber iniciado un tratamiento antibiótico adecuado, persiste el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica se debe abordar al paciente en búsqueda de trombosis séptica, endocarditis infecciosa, neumonía u otras complicaciones infecciosas relacionadas.

7.1 TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO EMPÍRICO

El tratamiento antibiótico empírico inicial se debe utilizar siempre en las siguientes condiciones:

1. Paciente con sepsis o choque séptico.

2. Presencia de infección local supurada.

3. Neutropenia o inmunosupresión.

4. Pacientes con prótesis valvulares cardiacas.

5. Pacientes en hemodiálisis.

El tratamiento inicial se modificará según el microorganismo aislado y su susceptibilidad, siendo la recomendación actual el manejo de descalación que consiste en administrar antibiótico de amplio espectro desde el principio de la infección y posteriormente hacer un cambio a un antibiótico específico dependiendo del resultado obtenido del antibiograma, esto evita la generación de resistencia bacteriana al reducir el espectro de antibióticos al microorganismo que verdaderamente estamos obteniendo. El manejo empírico se realizará con vancomicina a dosis de 40 mg/kg/día en 4 dosis y se ajustará, de ser necesario, en

caso de insuficiencia renal. En el paciente con neutropenia, inmunosupresión y en hemodiálisis se utilizará además cefepime a dosis de 150 mg/kg/día en 3 dosis. (Gómez, 2002)

7.2 TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO DIRIGIDO

Staphylococcus coagulasa negativos

Cuando el aislamiento es un *Staphylococcus* coagulasa negativa y el paciente no tiene sepsis grave o choque séptico, infección concomitante (endocarditis, trombosis séptica), o inmunosupresión (neutropenia), se retira el catéter y se da un tratamiento corto de 5 a 7 días con vancomicina o dicloxacilina o cefalotina o rifampicina con trimetoprim más sulfametoxazol, dependiendo del patrón de susceptibilidad del microorganismo aislado, de preferencia se dejan antibióticos de primera línea. Si presenta complicaciones infecciosas como endocarditis, trombosis o metástasis sépticas se prolongara el tratamiento por 4 semanas posteriores al retiro del catéter. Si está estrictamente indicado mantener el catéter el tratamiento sistémico se prolongará por 14 días más la administración de terapia local cerrada. (Fowler 2005)

Staphylococcus aureus.

Siempre que se aísla *Staphylococcus aureus* como causa de BRCVC, se debe retirar el catéter y el tratamiento antibiótico sistémico se debe prolongar por 14 días después de retirado el catéter, siempre realizando terapia de descalación. Si existen infecciones profundas el tratamiento debe ser por lo menos de 4 a 6 semanas. (Mermel 2001)

Bacilos Gram Negativos

Cuando existe BRCVC por BGN siempre se debe retirar el CVC y el tratamiento se debe prolongar por 10 a 14 días después de retirado el catéter. Los antibióticos más utilizados son los β -lactámicos. En caso de que el patógeno presente resistencia a este grupo de antibióticos la mejor elección son las polimixinas. (Gómez 2002)

***Candida albicans* y otras fungemias.**

Cuando existe fungemia asociada al CVC, se debe retirar el catéter y el tratamiento se prolongará por 14 días después de la desaparición de los síntomas.

El tratamiento es con fluconazol a una dosis de carga de 12 mg/kg/día en una dosis y mantenimiento a 6 mg/kg/día cada 24 h En caso de neonatos, lactantes y preescolares la dosis de mantenimiento se debe ajustar individualmente. Si el paciente tiene neutropenia (≤ 500 células), ha recibido recientemente manejo con Fluconazol, presenta infección por especies o cepas resistentes (*Candida krusei* y *Candida glabrata*), o presenta sepsis grave o choque séptico el manejo es a base de anfotericina B a 1 mg/kg/día. En caso de intolerancia, toxicidad, resistencia o fracaso terapéutico se debe optar por caspofungina o voriconazol. (Pappas 2009)

7.3 TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO LOCAL (SELLOS).

El tratamiento local cerrado o sellos de antibiótico están indicado sólo en las siguientes circunstancias:

• Pacientes con catéteres permanentes para nutrición parenteral, hemodiálisis y quimioterapia.

• Catéteres centrales temporales difícilmente reemplazables.

• No debe presentar sepsis grave, choque séptico, o complicaciones infecciosas agregadas (endocarditis).

• Infección del túnel del catéter que abarque más allá de 2 cm del orificio de entrada.

•La evidencia que existe actualmente no recomienda la utilización de sellos de forma sistemática en otros microorganismos, pero deberá individualizarse cada caso.

• Si a pesar de los sellos el paciente persiste con sintomatología a las 72 y hasta 9h de iniciados se debe retirar el catéter sin importar la especie del microorganismo o la necesidad del mismo por el elevado riesgo de complicaciones metastásicas.

Técnica de sellado con antibiótico

El medicamento de elección para la administración de sellos es la vancomicina y se prepara a una concentración de 5 mg/mL en solución salina (SS) al 0.9%. (se prepara un vial de vancomicina de 500 mg y se afora en 100 mL de SS al 0.9%).

La utilización de heparina en los sellos es opcional. Se añade a la solución anterior 10 mL de heparina sódica al 1% (concentración de 1000 U/mL). Por lo que la concentración final es de Vancomicina a 5mg/mL y Heparina a 100 U/mL. Esta solución envuelta en papel aluminio y guardada a una temperatura entre 2ºC y 8ºC se conserva hasta por 7 días.

Se administran 5 mL de esta solución en cada una de las luces de los catéteres en caso de los tipo Hickman, en los CVC con reservorio subcutáneo se administran 5 mL por aguja. El sellado debe mantenerse por lo menos 12 h al día y el recambio se realiza cada 24 h. Aspirando el contenido del catéter y desechándolo. Si la respuesta clínica es buena y si el cultivo a las 72 h de iniciados los sellos es negativo se mantiene el manejo por 10 a 14 días (De Pablo, 2004)

Técnica de sellado con alcohol *"Ethanol lock therapy"*

Parece ser una técnica segura, bien tolerada y eficaz para tratar las IRC, consiste en cerrar la luz del catéter con 2-3 mL de una solución de etanol al 74% durante 20-24 h. El efecto no depende de la sensibilidad o resistencia de los microorganismos porque está basado en la desnaturalización. El uso del etanol es recomendado porque reduce la utilización de antibióticos de amplio espectro y evita el desarrollo de cepas con resistencia a meticilina o con sensibilidad intermedia a vancomicina en *Staphylococcus aureus* y vancomicina resistentes en *Enterococcus faecalis*. (Raad, 2002)

8. PREVENCIÓN

Aspectos generales

Seguir rigurosamente las técnicas asépticas para el procedimiento y el riguroso lavado de manos previo.

Capacitar a todo el personal de la salud para el correcto manejo de los dispositivos.

Vigilancia continua de los dispositivos en particular y las tendencias epidemiológicas de la unidad.

Cuidados para la Inserción

Usar guantes estériles para la colocación de todos los catéteres.

Destinar personal capacitado para la colocación y cuidado de los dispositivos intravasculares.

Registrar fecha de colocación para un control de su evolución.

Cuidados del sitio de inserción

Inspección del sitio de inserción diario con antisepsia diaria en caso de que este cubierto por apósito o gasa, o a través del apósito trasparente *in situ*.

Reemplazar los apósitos transparentes cuando el mismo se encuentre mojado, suelto o sucio.

Reemplazar los apósitos opacos o gasas con la inspección diaria, o cuando se encuentre mojado, suelto o sucio.

Limpieza del sitio de inserción con algún antiséptico (clorhexidina, yodo-povidona o alcohol) dejando un par de minutos que actúe antes de cubrirlo.

Cuidados de las tubuladuras

Colocar la menor cantidad de llaves de triple vía.

Reemplazar tubuladuras y llaves de triple vía cada 72 h, a menos que se utilicen hemoderivados, o emulsiones de lípidos donde se reemplazarán a las 24 h de iniciada la infusión.

Limpiar los orificios y puertos de inyección con antiséptico antes de acceder a ellos.

Cuidados con los catéteres venosos periféricos

Priorizar las extremidades superiores como sitio de inserción (en pediatría la mano, el cuero cabelludo o el pie).

Reemplazar el catéter cada 48-72h.

Utilizar catéteres periféricos de mayor longitud cuando se estime una utilización superior a los 6 días.

Cuidados con los catéteres venosos centrales

Utilizar catéteres de un lúmen a menos que se requiera una vía exclusiva para nutrición parenteral o drogas vasoactivas.

Utilizar como sitio de inserción (subclavia, yugular, femoral) evaluando riesgos inherentes a la inserción, y posibilidades de mantener el sitio de inserción limpio y seco.

Reemplazar los catéteres siempre que se sospeche de infección.

Reemplazar los catéteres cuando el riesgo de infección sea elevado (fuerte colonización del sitio de infección).

Utilizar catéteres impregnados en antisépticos (sulfadiazina de plata/clorhexidina) o antibióticos (rifampicina/minociclina) en catéteres de corta duración (7 días) y alto riesgo de infección (nutrición parenteral).

III *Pseudomonas aeruginosa*

1 GENERALIDADES

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo aerobio, considerado un patógeno oportunista. Es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C. Estas características le permiten adherirse, sobrevivir en equipos médicos y en otras superficies hospitalarias.

Lo anterior favorece el inicio de infecciones nosocomiales en pacientes inmunocomprometidos. Puede causar neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias, las infecciones por este patógeno son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca, además de su capacidad para adquirir resistencia a diversos antibióticos por lo tanto tienen una alta morbilidad y mortalidad. (Joo, 2011)

Estructura antigénica

Poseen antígenos **O** (somático), **H** (flagelar) y **M** (mucoide), tiene pilis o fimbrias (tipo IV) que se extienden desde la pared celular y permiten la fijación a células epiteliales del hospedador.

El antígeno O forma parte del lipopolisacárido (LPS), el cual está formado por el lípido A (que comprende la endotoxina y por lo tanto es muy tóxico), un centro constituido por polisacáridos y por las cadenas laterales largas de oligosacáridos O que es la parte más externa del LPS. (Hattemer, 2013)

Factores de virulencia

Produce dos hemolisinas, una es una proteína termolábil denominada fosfolipasa C y la otra es un ramnolípido termoestable. Al igual que las proteasas, las hemolisinas pueden contribuir a la invasión tisular mediante sus efectos citotóxicos sobre los tejidos del hospedador. La fosfolipasa C también puede contribuir a la inflamación ya que aumenta la síntesis y liberación de ácido araquidónico.

2 MECANISMOS DE RESISTENCIA

Definitivamente, la estancia hospitalaria prolongada, especialmente en unidades de cuidado intensivo y la presión de selección de los antibióticos son los factores que favorecen la aparición de cepas multiresistentes. Este hecho, convierte a la infección por *Pseudomonas aeruginosa* en un verdadero problema de salud pública que afecta no sólo el curso de la evolución del paciente sino que aumenta la estancia hospitalaria, el uso de antibióticos y los costos de los servicios de salud.

Hay un limitado número de antibióticos activos contra este patógeno y deberá llevarse a cabo una estricta vigilancia en cada hospital en cuanto a los patrones de resistencia que se presenten, así como familiarizarse con los mecanismos por los cuales este organismo es resistente.

Es resistente, tanto de manera natural como adquirida, a un gran número de antibióticos, como Cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad. La resistencia a los antibióticos usualmente activos sucede en el medio hospitalario. Las cepas pueden transmitirse entre ellas el material genético que media la resistencia, incluso a partir de otras bacterias Gram negativas como las Enterobacterias. Otro factor preocupante es su capacidad de tornarse resistente en el curso del tratamiento antibiótico. Los mismos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia que un aislamiento tiene latentes. (Nathwani, 2014)

Se ha evidenciado que en 10.2% de los tratamientos para *Pseudomonas aeruginosa* emerge una cepa resistente que antes del tratamiento era sensible. Esta inducción de resistencia varía dependiendo de cada antibiótico. Por ejemplo, ceftazidima, una cefalosporina de tercera generación con actividad antipseudomonas, tiene el más bajo riesgo de inducir resistencia en bacterias previamente sensibles a ceftazidima; en contraste, imipenem presenta la más alta tasa de emergencia de resistencia después del tratamiento. (Joo, 2011)

Pérdida de porinas

La permeabilidad de la membrana externa de los Gram negativos a diferentes moléculas se debe en gran parte a unas proteínas denominadas porinas, denominadas así porque constituyen canales o poros relativamente inespecíficos que permiten la difusión pasiva de iones y pequeñas moléculas hidrofílicas. La función principal de las porinas es actuar como canales y permitir el paso a través de la membrana externa de sustancias hidrofílicas de una medida inferior a 600Da aproximadamente, por lo tanto son canales pasivos que permiten el transporte en proporción a la concentración de gradiente entre el exterior y el interior de la bacteria. (Saier, 2000)

Las porinas realizan esta función ya que forman canales llenos de agua que permiten el influjo de pequeñas moléculas hidrofílicas como azucares, aminoácidos, péptidos pequeños, iones inorgánicos y antibióticos como β-lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, cloranfenicol y algunas quinolonas y, el reflujo de productos tóxicos como drogas y solventes orgánicos; juegan un papel importante en la resistencia a los antibióticos modulando la variación del tamaño del poro, cambiando la carga y perturbando la difusión del antibiótico.

Las porinas se dividen en 5 tipos: generales o no específicas, porinas sustrato específicas, porinas de reflujo (*efflux* porins o *cannel* tunnels), porinas dependiente de compuertas (*gated porins*) y proteínas de membrana externa no formadoras de poro. (Schulz, 2014)

La OprF es la proteína de membrana externa mayoritaria en *Pseudomonas aeruginosa* siendo ampliamente estudiada por su probable utilidad como componente para la fabricación de vacunas por su papel en la resistencia a drogas antimicrobianas y también por su función como porina.

La OprM es la proteína de reflujo mayoritaria implicada en la resistencia intrínseca a multiples antibióticos, su bloqueo disminuye de 10-1000 veces la susceptibilidad; mutaciones en el gen *nalB* pueden hacer que exista una sobreexpresión de OprM y las proteinasa que forman con ella el sistema de reflujo MexAB-OprM, Mex A y

MexB, lo que proporciona resistencia a múltiples antibióticos como tetraciclina, norfloxacino, ciprofloxacino, cloranfenicol y β- lactámicos.

La OprD es una porina de membrana presente en *Pseudomonas aeruginosa s*u papel primitivo es permitir la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa (Figura 2). Se sabe además, que es capaz de permitir la entrada de carbapenémicos, aunque no de otros β-lactámicos. La afinidad y la capacidad de difusión de imipenem a través de esta porina es casi 70 veces más alta que la de meropenem. El imipenem tiene la capacidad de seleccionar durante el tratamiento cepas que muestran mutaciones en la porina OprD, que demuestran disminución de la afinidad y el transporte de este antibiótico a través de esta proteína. Estas cepas mutantes muestran un aumento de la concentración inhibitoria mínima (MIC del inglés *Minimal Inhibitory Concentration*) para imipenem, lo que las hace francamente resistentes a este carbapenémico. Con respecto a meropenem, estas cepas mutantes también han demostrado un aumento de la MIC a valores, que si bien no demuestran resistencia, si revelan disminución de la susceptibilidad. (Hui, 2011)

Se ha observado que rupturas en los *loops* L1, L2, L5, L6, L7 y L8 no cambian la conformación nativa y las proteínas mutantes resultantes se insertan igualmente en la membrana; por otro lado una ruptura en L3 causa una expresión disminuida de la proteína, por lo tanto esta mutación podría ser importante para el plegamiento de esta y por ende la estructura quedaría afectada de tal manera implicaría una producción de la proteína reducida o un producto inestable.

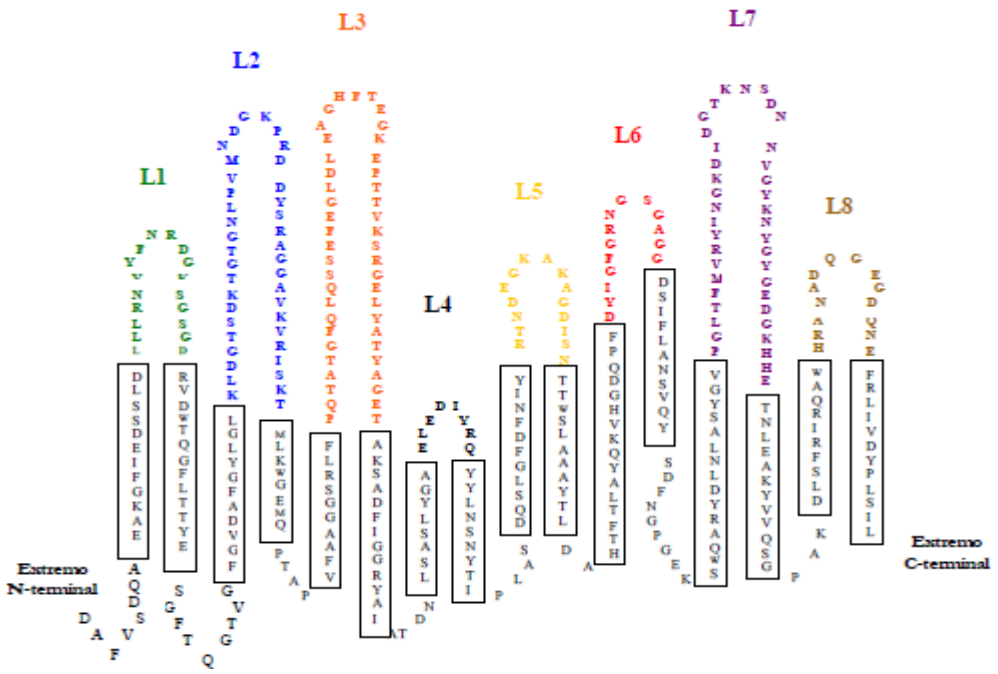


Figura 2 Esquema de la topología de membrana de la OprD (tomado de *Pseudomonas aeruginosa*: aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos Barcelona 2007)

La resistencia a meropenem exige dos mecanismos de resistencia: la mutación del gen que codifica la porina OprD y la activación de bombas de expulsión que toman a meropenem como sustrato. La mutación del gen *OprD* se sospecha ante una cepa resistente a imipenem con susceptibilidad reducida o preservada a meropenem y sin afectar a otros β-lactámicos, a menos que estén presentes otros mecanismos de resistencia. (Lautenbach, 2010)

Se conocen mecanismos de regulación positiva y negativa relacionada a OprD, dentro del primer caso están relacionados algunos aminoácidos (arginina, glutamato y alanina) que actúan sobre un regulador para unirse al operador OprD provocando un incremento en la expresión de esta porina. La expresión de la porina puede suprimirse por dos componentes dentro de los cuales están copSR, czcSR, parSR y el regulador de la bomba de eflujo Mext. Por otra parte estos reguladores pueden aumentar la expresión de la bomba de eflujo. Algunas moléculas, tales como espermidina y espermina pueden bloquear el canal OprD y afectar la entrada de los carbapenémicos (Figura 3).

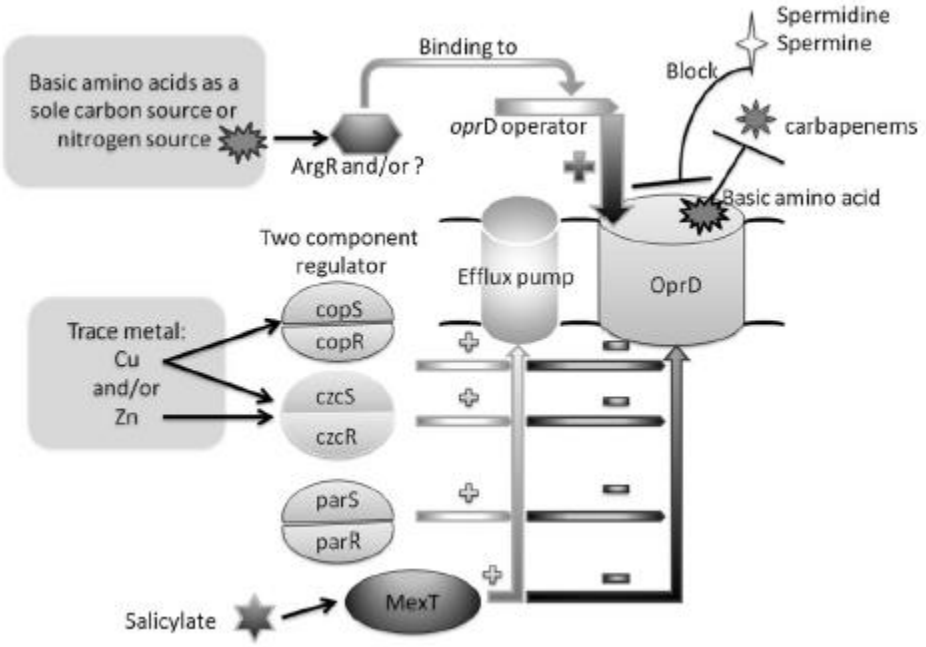


Figura 3 Regulación positiva y negativa de OprD (tomado de Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: From antibiotic resistance to novel therapies 2012)

Bombas de expulsión activa

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana, que expulsan de la célula detergentes y sustancias anfipáticas que de otra manera destruirían la bacteria.

En *Pseudomonas aeruginosa* el mayor número de bombas se incluyen dentro de la familia RND (Resistence-Nodulation-Division). Se han descrito 10 sistemas de RND como bombas de expulsión activa las cuales son: **Mex AB- OprM**, Mex CD-OprJ, Mex EF-OprN, Mex XY-OprM, Mex JK-OprM, Mex JK-OprM/OprH, Mex GHI-OpmD, Mex VW-OprM, Mex PQ-OpmE, Mex MN-OprM y Tri ABC-OpmH.

El complejo llamado MexAB- OprM es el de mayor importancia y se compone de una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa (Figura 4). Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración, β-lactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina,

sulfonamidas, tetraciclinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de la "impermeabilidad" a la mayoría de los antibióticos (Figura 5).

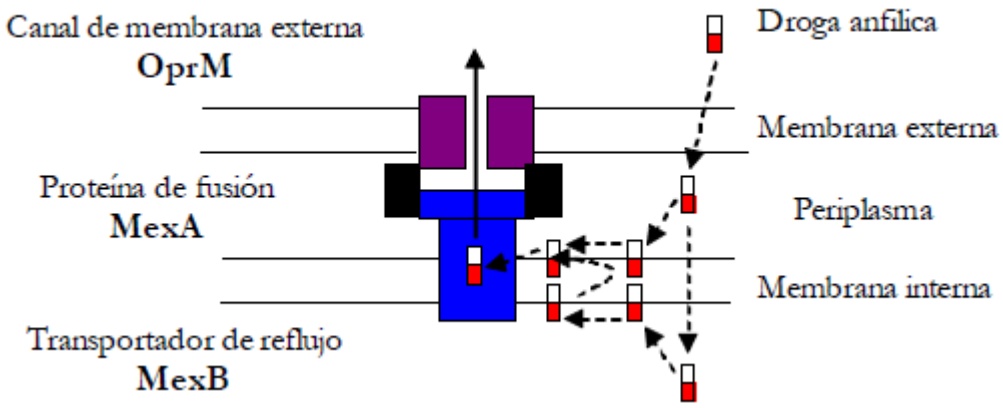


Figura 4 Esquema del transportador de reflujo MexAB-OprM (tomado de Pseudomonas aeruginosa: aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos)

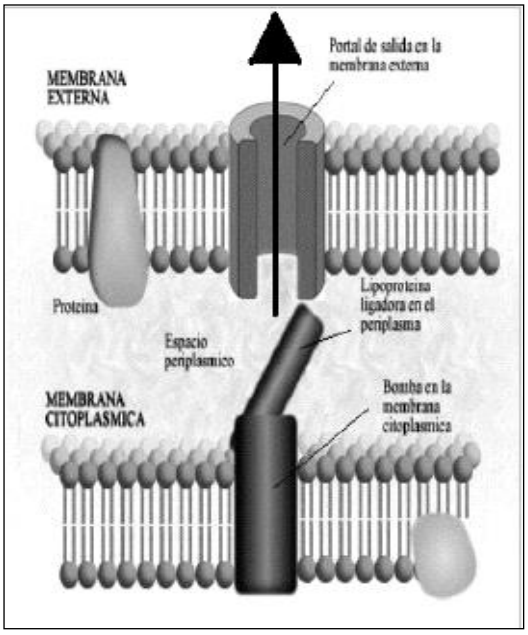


Figura 5 Esquema del mecanismo de expulsión de antibióticos. La flecha indica la vía de salida del antibiótico desde el espacio periplásmico hacia el exterior de la bacteria (Tomado de Mecanismos de Resistencia en *Pseudomonas aeruginosa:* entendiendo a un peligroso enemigo Colombia Bogota 2005)

Las bombas de expulsión, tienen también la capacidad de ser inducidas por antibióticos, especialmente ciprofloxacino; además, los cambios mutacionales, incluso de una sola base nucleotídica en el DNA cromosómico de la bacteria, pueden sobreexpresar estas bombas. La sobreexpresión de MexAB-OprM, compromete la acción de quinolonas, penicilinas, cefalosporinas e incluso meropenem pero no imipenem.

La sobreexpresión de otra bomba de expulsión, MexEF-OprN, confiere resistencia a quinolonas y algunos β-lactámicos, que incluyen meropenem e imipenem. ésta última bomba tiene una importante particularidad debido a que su expresión está estrechamente relacionada con el gen Mex T, que también está involucrado en la mutación que origina la pérdida de la porina OprD. La sobreexpresión de MexXY-OprM afecta a los β-lactámicos, las quinolonas, el meropenem y los aminoglucósidos sin afectar la acción del imipenem. (Hui, 2011)

La resistencia mediada por bombas de expulsión se sospecha por un antibiograma que demuestra resistencia a las penicilinas y cefalosporinas antipseudomonas, que también afecta la susceptibilidad a meropenem, imipenem o aminoglucósidos dependiendo de la clase de bomba. (Amin, 2005)

β-lactamasas

Son enzimas que hidrolizan el anillo β-lactámico de los antibióticos, de esta manera destruyen el sitio activo del antibiótico e impiden su actividad. Las β-lactamasas se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de β-lactámicos, es por esto que algunas subclasificaciones las denominan, penicilinasas, cefalosporinasas o carbapenemasas, dependiendo de la familia de β-lactámicos que tenga mayor susceptibilidad a ser atacadas por la enzima. Así mismo, estas enzimas son susceptibles de ser inhibidas por los inhibidores de β-lactamasas como el clavulanato, el sulbactam y el tazobactam, aunque no todas son susceptibles ni responden de igual forma a esta inhibición. (Saier, 2000)

Pseudomonas aeruginosa posee dos clases de β-lactamasas: Amp-C y las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE). Amp-C está codificada en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios β-lactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. Cuando esto sucede, hay resistencia a penicilinas y cefalosporinas (ceftazidima y cefepime), el grado de resistencia, depende del grado de represión de la Amp-C. El problema radica en que esta enzima, es inducida en cuestión de días, por tanto, antes del tratamiento, los β-lactámicos parecen servir, pero clínicamente el paciente no mejora y se descubre posteriormente la inducción completa de la enzima.

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

Las β-lactamasas más frecuentemente adquiridas por plásmidos son la PSE-1 y la PSE-4. Otras BLEE incluyen la PER-1 que confiere resistencia a ceftazidima pero que pierde su poder al adicionar clavulanato. TEM, SHV y OXA, son BLEE que generan resistencia a monobactámicos, penicilinas, cefalosporinas, pero respetan carbapenémicos.

En los últimos años han aparecido nuevos tipos de β-lactamasas transferibles con un espectro mucho más amplio, dentro de las carbapenemasas de la clase A se han descrito la KPC (KPC-2 y KPC-5) con un espectro sobre todos los β-lactámicos, aunque el espectro de hidrólisis para los carbepenems y monobactam es diez veces menor que para las penicilinas y cefalosporinas y GES/IBC (GES-1 y GES-5) que presentan actividad carbapenemasa y en menor medida actividad sobre los monobactams.

La resistencia mediada por este mecanismo se debe sospechar ante un antibiograma que revele resistencia a todas las penicilinas y cefalosporinas anti-*Pseudomonas*. La opción terapéutica en este caso son los carbapenémicos, siempre que no se trate de una carbapenemasa.

Existen β-lactamasas que a su vez entran en la clasificación de carbapemasas tipo metalo-beta-lactamasas (MBL) plasmídicas (IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, AIM, DIM y KHM) de las cuales las que se presentan con mayor frecuencia son las IMP (IMP-3, IMP-5, IMP-17, IMP-23) y las VIM (VIM-2), en donde las tipo VIM presentan una mayor eficacia en la hidrólisis.

Los mecanismos más importantes implicados en la resistencia a los aminoglucósidos son la inactivación por enzimas modificantes, alteraciones en la permeabilidad y eliminación por bombas de expulsión. Las enzimas más frecuentes son nucleotidiltransferasa ANT 2-I que confiere resistencia a gentamicina, trobamicina, dibekacina y kanamicina y una acetiltransferasa AAC 6-II, cuyo sustrato es gentamicina, trobamicina y netilmicina.(Suarez, 2010)

La sobreexpresión de la bomba de expulsión Mex XY-OprM también confiere resistencia a los aminoglucósidos. La resistencia a fluoroquinolonas puede producirse por alteraciones en las proteínas diana (mutaciones en la ADN girasa y en la Topoisomerasa IV), alteraciones en la permeabilidad o sobreexpresión de bombas de expulsión. (Hui, 2011)

Otros mecanismos de resistencia

Mecanismos de resistencia menos frecuentemente documentados incluyen la resistencia a quinolonas asociadas a mutaciones de sitios blanco. La mutación de la topoisomerasa tipo II, sitio blanco de ciprofloxacino, confiere una resistencia aislada a esta quinolona. Desde el punto de vista epidemiológico este mecanismo se considera menos importante, debido a que en el medio hospitalario el aumento de la resistencia a ciprofloxacino, está asociado con mayor frecuencia a bombas de expulsión que tienen como sustrato a este antibiótico.

3. LECTURA INTERPRETATIVA DEL ANTIBIOGRAMA

Si se hace una apropiada identificación del género y la especie de la bacteria y se selecciona un adecuado perfil de antibióticos en el antibiograma, es posible inferir a partir del mismo, los mecanismos de resistencia subyacentes en un aislamiento particular (cuadro 2) Lo anterior permite, no sólo orientar el tratamiento, sino predecir que antibióticos no son apropiados, teniendo en cuenta el mecanismo subyacente más probable. Otra ventaja es poder indicar antibióticos que se sabe no son sustratos de los mecanismos de resistencia que se sospechan. Estos mecanismos deberían ser confirmados por técnicas de tipificación molecular, para acercarnos de una manera más fiable al perfil genético de los aislamientos, analizar cómo se están transmitiendo y perpetuando dichos mecanismos y tomar medidas adecuadas que impidan la diseminación de la resistencia (Kim, 2014)

Cuadro 2 lectura interpretativa del antibiograma en *Pseudomonas aeruginosa*

ANTIBIOTICO

TIC	PIP	**PIP-TAZ**	CAZ	FEP	ATM	IMP	MEM	INTERPRETACION	TERAPIA
R	R	R	R	S/r	R	S	S	AmpC depreprimida	Carbapenémicos cefepime
S	S	S	S	S	S	R	R	Perdida de la porina OprD	AB que permanezcan
R	r/R	r/R	r/R	R	r/R	S	R	Bombas de expulsión	activos
R	R	R	R	R	R	R	R	Perdida de la porina OprD mas exclusión	Ningún b-lactamico

ATM Aztreonam FEP Cefepime IMP Imipenem CAZ Ceftazidima MEM Meropenem PIP Piperacilina TAZ Tazobactam TIC Ticarcilina (Tomado de Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo Colombia bogota 2005)

4 ELEMENTOS GENÉTICOS INVOLUCRADOS EN LA DISEMINACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA.

Plásmidos.

Son moléculas extracromosómicas de DNA circular de doble cadena, de 1 a 200Kb, se replican independientemente del cromosoma bacteriano, pero dependen de las proteínas de su hospedero, tienen un origen de replicación (ori). Existen plásmidos conjugativos, que pueden ser transferidos por sí mismos, presentan los genes que codifican para proteínas necesarias en el proceso de conjugación. (Schulz, 2014)

Por otro lado, existen los plásmidos móviles que dependen de plásmidos conjugativos; requieren de plásmidos que si lo pueden hacer. Son de menor tamaño que los plásmidos transferibles, esto se debe a que solo necesitan de uno o dos genes *mob*, que codifican para proteínas de transferencia, es decir; toman ventaja de la maquinaria de transferencia dada por los otros plásmidos. Los plásmidos movilizados por conjugación, pueden ser portadores de una amplia variedad de determinantes genéticos, como resistencia, energía, metabolismo, virulencia y diseminación, favoreciendo la sobrevivencia de la célula hospedadora en un ambiente adverso, proporcionándole una ventaja competitiva frente a otros microorganismos (Hattemer, 2013)

Desde el punto de vista de Salud Pública, los plásmidos portadores de determinantes de resistencia, con capacidad conjugativa o de movilización, son las estructuras extracromosomales de mayor relevancia epidemiológica, por su capacidad de promover la diseminación horizontal de un gran número de genes de resistencia, contribuyendo al incremento de las poblaciones bacterianas resistentes y promoviendo la aparición de cepas patógenas multiresistentes. (Launbach, 2010)

Transposones.

Los transposones son segmentos de DNA que pueden moverse en diferentes sitios del DNA dentro de la misma célula o incluso a otra célula, pudiendo llevar genes de resistencia a los antibióticos, y cuando se combinan con eventos de conjugación representan los principales vehículos diseminadores de dichos genes.

Poseen al menos un gen que codifica para una transposasa, enzima que cataliza la reacción de transposición, flanqueados por secuencias de inserción, compuestas de 15 a 25 pb conocidas como repetidos invertidos (IR). El movimiento no es totalmente al azar, existen sitios preferentes en una molécula de DNA en la cual se insertará el elemento genético transponible.

Los transposones no se pueden auto-replicar, por lo que no existen de manera autónoma (a excepción algunos genes transponibles en los fagos) y por tanto, para ser replicados deben ser parte de algún otro replicón. El mecanismo de transposición es mediado por recombinación sitio-específica es decir; la transposición requiere poca o ninguna homología entre la localización actual y el nuevo sitio.

En muchas instancias la transposición del elemento genético transponible resulta en la remoción del elemento de su sitio original y su inserción en un nuevo sitio. Sin embargo, en algunos casos el evento de transposición se acompañan de una duplicación del elemento genético transponible. Una copia permanece en el sitio original y la otra se transpone en el nuevo sitio.

Los transposones conjugativos son segmentos de DNA que tienen la capacidad de transferirse de una bacteria a otra insertándose en el cromosoma, pero pueden abandonarlo y transferirse por ellos mismos de la célula donadora al cromosoma de la célula receptora, además ya se han descrito estos elementos genéticos en plásmidos. (Ruiz, 2007)

Los pasos que involucran la transposición así como la transferencia son: la escisión y formación de un intermediario circular covalentemente cerrado, el cual puede integrarse en cualquier lugar dentro de la misma célula o transferirse e integrarse por sí mismo por conjugación a otra célula .

El mecanismo de transposición de estos elementos genéticos es similar a los transposones no conjugativos en el sentido que ellos se cortan y luego se integran de un lugar del DNA a otro, dentro de los transposones más estudiados están Tn5 y Tn10. (Nathwani, 2014)

Integrones.

La fluidez del genoma así como los rearreglos genéticos, permiten a las bacterias responder rápidamente a nuevas condiciones ambientales. La naturaleza dinámica de su genoma, puede ser atribuida a la capacidad de las bacterias de intercambiar información por sistemas de transferencia genética vía horizontal, como conjugación, transducción, transformación y a procesos de recombinación, que integran, eliminan o translocan genes. Un ejemplo del impacto de esos procesos es la diseminación de la resistencia bacteriana a los antibióticos.

Debido al avance tecnológico y a la aplicación de la biología molecular, se ha demostrado que algunos genes de resistencia a los antibióticos, en bacterias patógenas Gram negativas, se localizan en sitios genéticos los cuales presentan secuencias flanqueantes similares o idénticas, sugiriendo un mecanismo específico que puede favorecer la diseminación genética.

Los integrones son unidades genéticas que se descubrieron en la década de 1980, cuando el estudio molecular de algunos genes de resistencia reveló la existencia de una secuencia común en la región 5´ que contenía un promotor y un gen codificante de una integrasa, similar a la descrita en bacteriófagos, constatándose que estas secuencias formaban parte de una zona conservada (5´) de una estructura genética, a la cual se le llamó integrón (In). (Ruiz, 2007)

Los integrones son definidos como una unidad genética capaz de capturar genes, presentes en elementos llamados *cassetes*, mediante un mecanismo de recombinación sitio específica. Un integrón está conformado por un gen *intI*, que codifica para una integrasa (Int) sitio específica de la familia de las tirosina recombinasas, un sitio adyacente de recombinación attI, en el cual los *cassetes* son integrados, un promotor Pint, para la expresión de int y un promotor Pc, para la expresión de los genes que se encuentran en los casetes, ya que por lo general estos genes no tienen promotor.

Casetes génicos.

Los casetes por lo general incluyen un solo gen y en la posición 3´ presentan un sitio de recombinación específica, conocido como attC, o también denominada elemento de 59 bases, a través del cual se lleva a cabo el reconocimiento y movilización (Figura 6); en un integrón pueden recombinarse varios casetes.

Los casetes por lo general no presentan promotores y los genes presentes se transcriben utilizando el promotor del integrón, dando lugar a un RNA mensajero policistrónico, por lo que habrá una disminución de la transcripción en los genes más distantes al sitio promotor. Pueden ser ensamblados en serie y estar sujetos a reacomodo o rearreglo en un integrón o en un plásmido conjugativo, para posteriormente ser diseminados a través de las poblaciones bacterianas.

Se han identificado más de 60 genes de resistencia asociados a casetes, dentro de los cuales destacan genes que codifican para la resistencia a aminoglucósidos, β-lactámicos, cloranfenicol, trimetoprim, eritromicina, una gran variedad de desinfectantes y antisépticos.

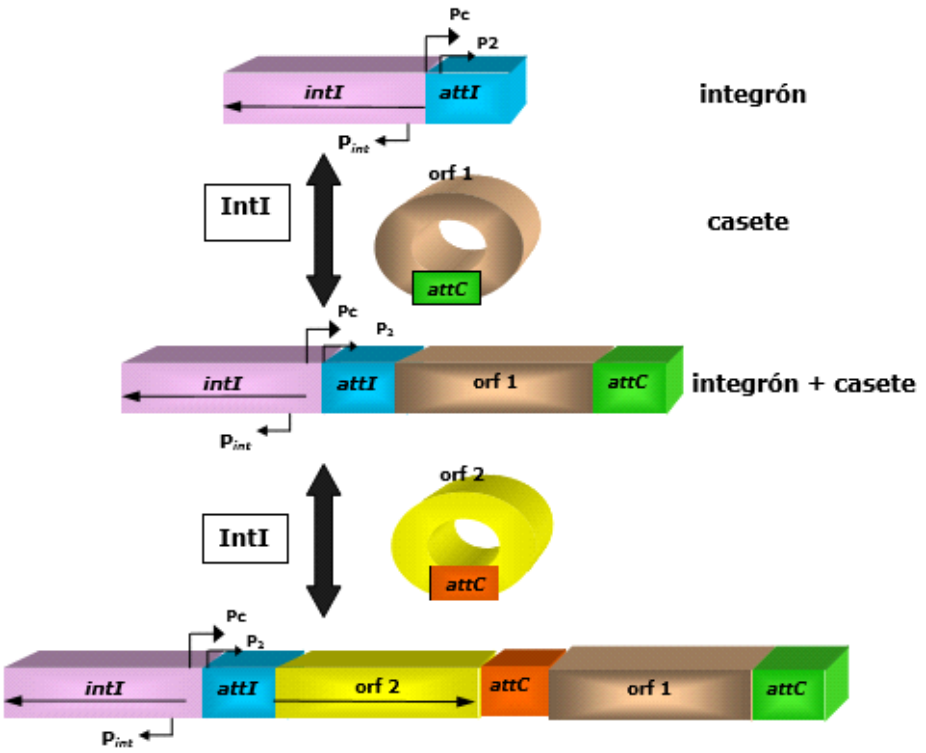


Figura 6

Representación esquemática de la estructura común de un integrón clase I. está presente el gen intl, que codifica para la integrasa Int, la cual se transcribe a partir del promotor P. La recombinación sitio especifica de los casetes se lleva a cabo entre los sitios attC y attI. Los genes en los casetes transcritos a partir del promotor Pc. P2 es un promotor más fuerte. (adaptada de Davis y Waldor 2002)

Sitio att.

El sitio de recombinación attI1 del integrón clase 1, consiste de dos secuencias repetidas en donde se une la integrasa y dos sitios de unión adicionales llamados sitio fuerte y débil, DR1 y DR2 respectivamente. El sitio attI1 está conformado por 65 pares de bases, las cuales incluyen dos regiones correspondientes a los lugares de unión fuerte y débil de la integrasa, así como un lugar de recombinación, en el cual los genes capturados son integrados. (Ruiz, 2007)

La región attC, es el sitio de recombinación que contienen los casetes encontrados en integrones de multirresistencia de clase 1, 2 y 3 Se le ha referido históricamente como el elemento de 59 pares de bases, aunque exista una variación en longitud desde 57 a 141 pb. Esta región se encuentra formada por cuatro sitios principales llamados R', R'', L' y L''. Los sitios R' y R'' son parte de la secuencia consenso RH. Los sitios L' y L'' forman parte de la secuencia consenso LH. (Hui, 2011)

Integrasa.

La recombinación entre los sitios attC y attI es llevada a cabo por una integrasa (Int), la cual pertenece a la familia de las recombinasas, ya que presenta los dos motivos consenso RHRY encontrados en la integrasa del fago λ y en otras recombinasas. Las integrasas de los integrones clase 1, 2 y 3 se denotan IntI 1-3. Mientras que la integrasa 4 se denota VchIntIA, puesto que se encontró en *Vibrio cholerae* (Rowe-Magnus y col., 2001).

Clasificación de los integrones.

Los integrones pueden ser divididos en dos grupos principales: los integrones de resistencia (IR) y superintegrones (SI). Los IR se encuentran habitualmente formando parte de transposones, plásmidos y/o en el cromosoma bacteriano; además de presentar una mayor proporción de genes de resistencia a antibióticos, mientras que los SI se localizan en el cromosoma de ciertas bacterias y contienen genes asociados a múltiples funciones adaptativas

La clasificación de los integrones , se basa en la secuencia de la integrasa, las cuales presentan de un 48 a un 50% de identidad. Se conocen nueve clases, los integrones de las clases 1, 2 y 3 presentan casetes de resistencia a antibióticos, los de las clases 4, 5, 6 y 7 contienen casetes que no codifican para la resistencia a los antibióticos, el integrón de la clase 8 no presenta ningún casete, el de la clase 9 contiene un sólo casete de resistencia a antibióticos. (Saier, 2000)

Los integrones de la clase 1 son los que se encuentran con mayor frecuencia en las cepas aisladas de casos clínicos. Se caracterizan por tener una secuencia conservada que tiene el gen codificante de la integrasa en el extremo 5´ (5´-CS) y la gran mayoría presentan una secuencia conservada en el extremo 3´ (3´-CS), además de presentar el gen que confiere resistencia a compuestos cuaternarios de amonio (qacEΔ1) y un gen de resistencia a sulfonamidas (sul1). La longitud de la secuencia conservada (3´-CS) es variable, lo que se puede constatar en los integrones In1, In2, In3, In4, In5 e In0 .Una gran variedad de integrones de la clase 1 se han localizado en elementos transponibles. (Nathwani, 2014)

Los integrones identificados en diversos serotipos, son compatibles con la presencia de elementos genéticos diseminados mundialmente y además se asocian a fenotipos particulares de resistencia a antibióticos.

La presencia de IR en plásmidos conjugativos y/o transposones diseminados mundialmente y descritos con anterioridad a la era antibiótica, podría explicar su rápida dispersión en las últimas décadas. De hecho, la baja diversidad y gran estabilidad temporal de la estructura de los integrones de clase 1 y 2 en aislados clínicos resistentes a antibióticos de las últimas dos décadas, apoyaría la hipótesis de episodios de selección de un pequeño número de unidades de captura génica ocurrida en el medio hospitalario como consecuencia del uso de antibióticos.(Hui, 2011)

Aunque no se pueda excluir que la adquisición de ciertos integrones proporcione ventajas adaptativas no relacionadas con la resistencia, no debe perderse de vista que también existe una gran heterogeneidad genética y genómica en los integrones, tanto en casetes correspondientes a un mismo gen (blaOXA-132, blaIMP-1-13, aadA1-17 o dfrA1-17) como en la organización de integrones que albergan casetes idénticos habiéndose descrito incluso la presencia de un mismos casete, dfrA1, en integrones de diferentes clases. (Ruiz, 2007)

5 CONCEPTO DE MULTIRESISTENCIA

Dentro de las definiciones de multirresistencia la más utilizada es la presencia de resistencia demostrada ante antibioticos de tres o más familias de antipseudomónicos entre los que se incluyen penicilinas antipseudomónicas (piperacilina), cefalospiras (ceftazidima y cefepime), carbapenemicos (imipenem, meropenem, doripenem), fluoroquinolonas (ciprofloxacino), aminoglucósidos (gentamicina, trobamicina, amikacina), monobactamicos (aztreonam) y polimixinas.(Mermel, 2001)

La importancia de la multiresistencia radica en que provoca un claro aumento de la morbilidad y mortalidad de los pacientes tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio y la repercusión en los costes sanitarios es un problema añadido para la salud pública. Al existir tan alto grado de resistencia se ven limitadas las posibilidades terapéuticas con un déficit claro de antibacterianos efectivos para estos microorganismos. (Kehrs, 2002)

III Justificación

La jefatura del Laboratorio Clínico del HIMFG ha notado que durante el periodo comprendido del 2011-2015 se han presentado muertes en las diferente áreas del hospital, clínicamente adjudicadas a *Pseudomonas aeruginosa*, al ser una bacteria Gram negativa cuyas características importantes son la resistencia a múltiples familias de antibióticos y la fácil adquisición intrahospitalaria, se generó la sospecha de que este patógeno se diseminaba por la sangre, así que se decidió comenzar por analizar las puntas de catéter provenientes de las Unidades de Cuidados Intensivos, Unidades de Terapias Intensivas, Unidades de Cirugía y Unidades de Especialidades Médicas (Neumología, Cardiología, Gastroenterología y Neurología)

A pesar de la importancia que va adquiriendo este patógeno no se encuentran reportes oficiales del SINAVE, lo cual representa un problema, ya que la falta de información provoca un atraso para la implementación de procedimientos contra infecciones adquiridas dentro de los hospitales.

Al conocer el patrón específico de resistencia de las cepas aisladas en la comunidad se podrán proponer estrategias de tratamientos oportunos además de que se conocerá el comportamiento epidemiológico de la bacteria dentro del Hospital para que en conjunto con el tratamiento se prevea la incidencia y se logre disminuir la mortalidad de los pacientes pediátricos que ingresan al hospital por afecciones independientes de *Pseudomonas aeruginosa.*

IV Objetivos

General

Analizar el índice de mortalidad por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente aislada en puntas de catéter en pacientes pediátricos del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) procedentes de Unidades de Cuidados Intensivos, Unidades de Terapias Intensivas, Unidades de Cirugía y Unidades de Especialidades Médicas (Neumología, Cardiología, Gastroenterología y Neurología), mediante un análisis de cohorte.

Particulares

Determinar la frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* mediante un estudio estadístico para conocer si aumentó su presencia en el HIMFG en el periodo comprendido del 2011 al 2015.

Correlacionar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en puntas de catéter con el hemocultivo identificado en el paciente para determinar una posible bacteriemia.

Analizar el comportamiento de *Pseudomonas aeruginosa* ante diferentes familias de antibióticos observando los resultados del antibiograma emitidos por el sistema automatizado VITEK 2XL (Biomerieux).

V Metodología

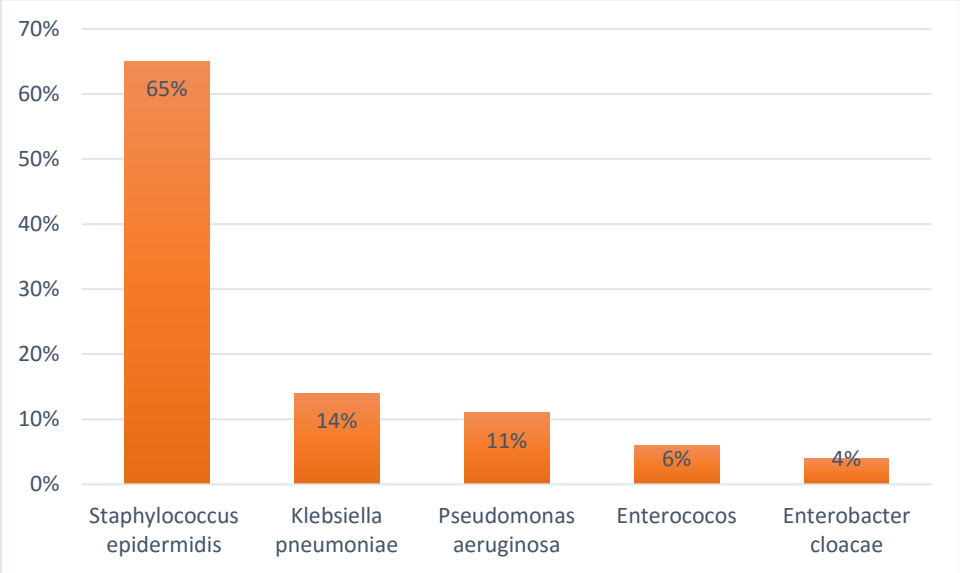
Se realizó la revisión de las bitácoras correspondientes a los años 2011, 2012, 2013, 2014 y 2015 del área de bacteriología dentro del laboratorio central del HIMFG, recabando información de los pacientes con cultivos de puntas de catéter y hemocultivos como nombre, sala de procedencia, edad, sexo y resultados del cultivo.

También se analizaron los resultados del antibiograma determinados de acuerdo a los lineamientos del CLSI, utilizando el sistema automatizado VITEK 2XL (Biomerieux) y el método de Kirby-Bauer como método alterno.

Se buscaron las historias clínicas para conocer el número de pacientes que fallecieron por sepsis, con esta información se procedió a buscar a estos en la bitácora de cultivos post mortem y así poder comprobar la mortalidad y letalidad asociada de *Pseudomonas aeruginosa,* realizando un análisis estadístico considerando las características de los pacientes como edad y sexo.

VI Resultados

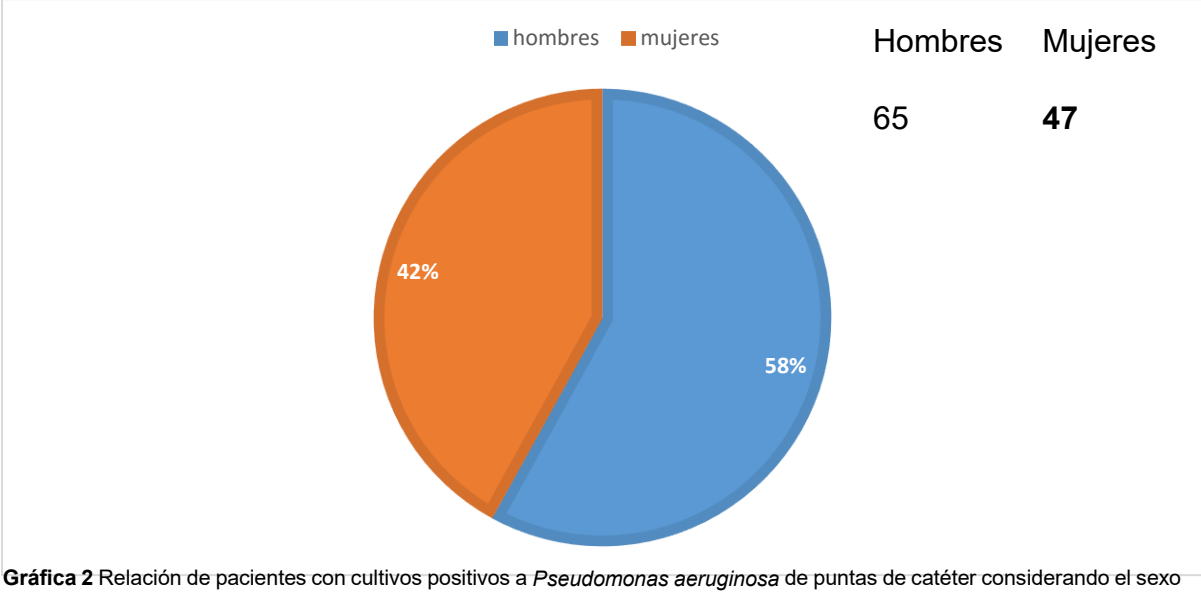
Al revisar las bitácoras lo primero que se observó fue la falta de datos relacionados al paciente como posible diagnóstico clínico y porque se solicita aislamiento a partir de punta de catéter, se inició el procedimiento para conocer los microorganismos presentes y la frecuencia de cada uno durante el periodo de estudio. Según Boucher 2009 en las infecciones relacionadas a catéter se aíslan principalmente un conjunto de bacterias denominado grupo ESKAPE por la primera letra de cada especie (***E****nterococcus faecium,* ***S****taphylococcus sp.,* ***K****lebsiella sp,* ***A****cinetobacter baumannii,* ***P****seudomonas aeruginosa* y **E**nterobacterias), en nuestro estudios tuvimos un total de 1372 pacientes con cultivo positivo de punta de catéter encontrando que 5 de estas fueron las que se aislaron con mayor frecuencia. *Staphylococcus epidermidis* se presentó en el 65% de los casos, *Klebsiella pneumoniae* 14% de los casos, *Pseudomonas aeruginosa* 11% de los casos, Enterococcus 6% de los casos y finalmente *Enterobacter cloacae* en el 4% de los casos (Gráfica 1)



Grafica 1 Microorganismos aislados en puntas de catéter en donde se nota que el microorganismo mayormente aislado es *Staphylococcus epidermidis*

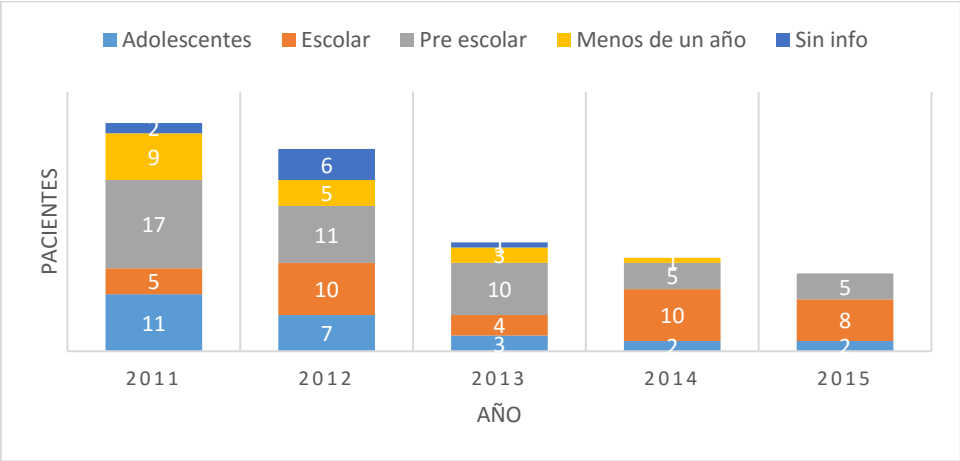
A pesar de que el microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *Staphylococcus epidermidis* el cual es considerado un patógeno oportunista comensal de la piel, se decidió enfocar el estudio en *Pseudomonas aeruginosa* ya que tiene mayores factores de patogenicidad siendo capaz de producir sepsis e inclusive la muerte, además de que la información clínica aportada por la jefatura del laboratorio clínico apuntaba a esta bacteria.

Tomando en cuenta lo anterior el segundo aspecto que se consideró fue el sexo para conocer si este dato pudiera ser un factor determinante para que el patógeno pueda diseminarse, encontrando una mínima diferencia entre hombres con el 58% y mujeres con el 42% de los casos totales como se observa en la gráfica 2.



Gráfica 2 Relación de pacientes con cultivos positivos a *Pseudomonas aeruginosa* de puntas de catéter considerando el sexo

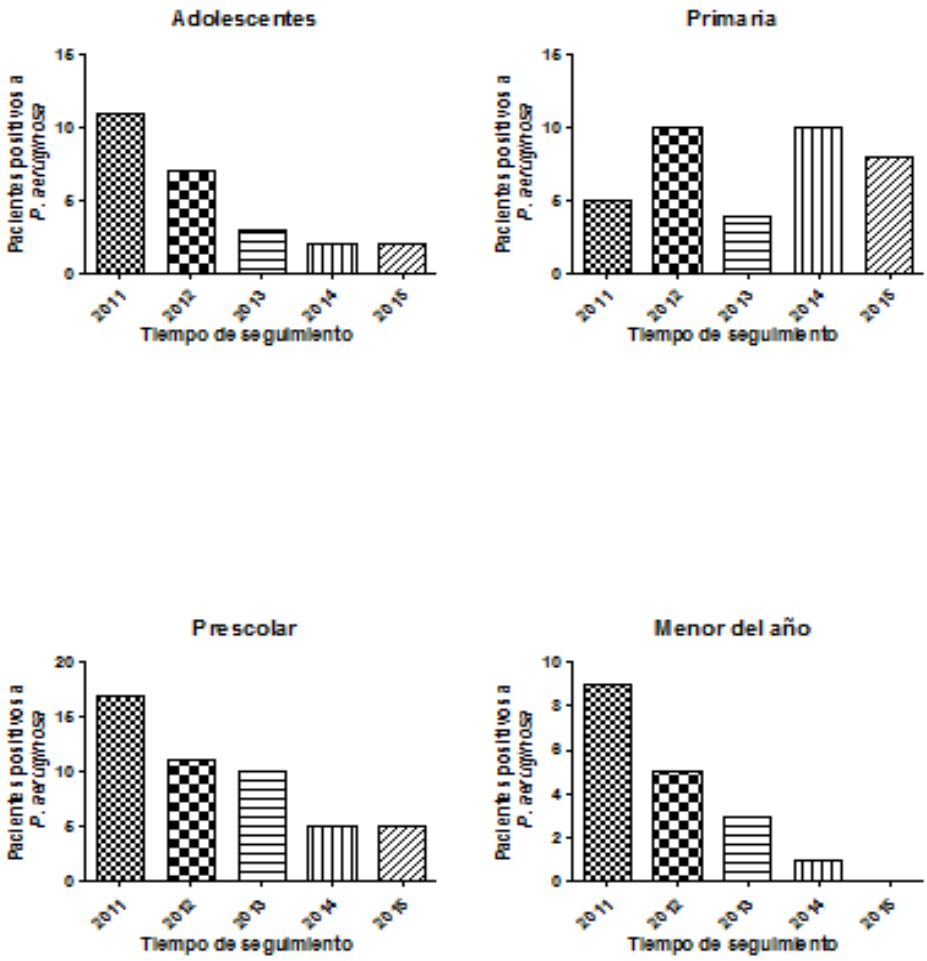
El tercer aspecto que se consideró fue la edad, para lo cual del total se formaron 4 grupos, en donde en el primer grupo se consideraron a los niños menores de un año, el segundo grupo denominado preescolar comprendió edades de 2 a 5 años, el tercer grupo fue el escolar con niños de 6 a 11 años y finalmente el grupo de adolescentes con edades mayores a 12 años, los datos encontrados se observan en el gráfico 3.



Gráfica 3 Relación de pacientes con cultivos positivos de *Pseudomonas aeruginosa* de puntas de catéter BRCVC por grupos de edad

A partir del año 2011 se implementó un nuevo protocolo referente a la higiene del personal en contacto directo con los pacientes, el cual se renueva cada año en donde se incluyen técnicas de lavado de manos para enfermeras y médicos, así como capacitaciones constantes a enfermeras de los cuidados necesarios al manipular los diferentes dispositivos médicos.

Al observar la frecuencia de cultivos positivos de *Pseudomonas aeruginosa* por grupo de edad se ve reflejado el éxito del protocolo de higiene en el grupo de menores de un año, pre escolar y adolescentes, esto debido a que los pacientes de los primeros dos grupos dependen casi por completo de los cuidados del personal del hospital y los pacientes del tercer grupo son más cuidadosos; el posible problema en el grupo escolar es la falta de control de la autonomía de los niños y además los padres interactúan más con ellos y no siguen los protocolos de higiene como se muestra en la gráfica 4.



Grafica 4 Comparación de la frecuencia de cultivos positivos de puntas de catéter para *Pseudomonas aeruginosa* en donde se observa la disminución gradual a través del tiempo.

Posteriormente con ayuda del software del VITEK se buscaron los resultados de los antibiogramas de los pacientes, en donde lo primero que se observó fue un cambio en los antimicrobianos enfrentados a la bacteria, este cambio se debe a que algunos de estos presentan poca eficacia en los tratamientos así que se busca sustituirlos con antimicrobianos que puedan dar resultados positivos siempre y cuando se conserve un esquema que incluya a las familias de antimicrobianos con efecto terapéutico para el microorganismo, obteniendo así 5 tipos de antibiogramas, los primeros 3 correspondientes al periodo del 2011 al 2013 (tabla 2) y los dos restantes

a los años 2014 y 2015 (tabla 3). Cada antibiograma refleja el resultado del patógeno ante 15 antimicrobianos incluyendo aminoglucósidos, carbapenémicos, cefalosporinas y quinolonas.

Tabla 2. Resultados de antibiogramas por *Pseudomonas aeruginosa* (periodo 2011-2013) en donde se observa una resistencia a ampicilina, ampicilina con sulbactam, cefazolina, cefotaxima, nitrofurantoina y trimetropim con sulfametoxasol encontrando también a pacientes con *Pseudomonas aeruginosa* resistente a todo tipo de antimicrobiano.

Antimicrobiano		Antibiograma 1	Antibiograma 2	Antibiograma 3
Aminoglucósidos	Amikacina	S	S	R
	Gentamicina	S	S	R
	Trobamicina	S	S	R
Carbapenémicos	Ampicilina	R	R	R
	Ampicilina/ sulbactam	R	R	R
	Imipenem	S	S	R
Cefalosporinas	Cefazolina	R	R	R
	Cefepime	S	S	R
	Cefotaxima	R	R	R
	Ceftazidima	S	S	R
	Ceftriaxona	R	I	R
Quinolonas	Levofloxacino	S	S	R
	Ciprofloxacino	S	S	R
	Nitrofurantoina	R	R	R
	Trimetropim/ sulfametoxazol	R	R	R
Número de pacientes		83	17	4

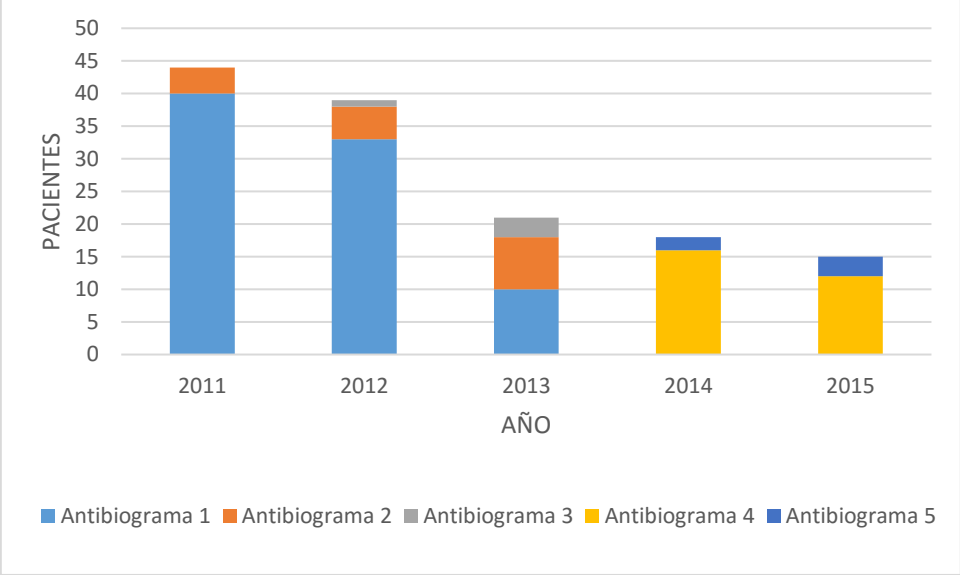
En el segundo perfil de antibiograma se observa el cambio de la amikacina, cefazolina, cefotaxima y levofloxacino por meropenem, tigeciclina, moxifloxacino y piperacilina con tazobactam

Tabla 3.Resultados de antibiogramas por *Pseudomonas aeruginosa* (periodo 2014-2015) en donde se observa una resistencia a ampicilina, ampicilina con sulbactam, ceftriaxona, tigeciclina, nitrofurantoina y trimetropim con sulfametoxasol encontrando también a pacientes con *Pseudomonas aeruginosa* resistente a todo tipo de antimicrobiano.

Antimicrobiano		Antibiograma 4	Antibiograma 5
Aminoglucosidos	Gentamicina	S	R
	Trobamicina	S	R
Carbapenemicos	Ampicilina	R	R
	Ampicilina/sulbactam	R	R
	Meropenem	S	R
	Imipenem	S	R
Cefalosporinas	Cefepime	S	R
	Ceftazidima	S	R
	Ceftriaxona	R	R
Quinolonas	Ciprofloxacino	S	R
	Moxifloxacino	S	R
	Nitrofurantoina	R	R
	Tigeciclina	R	R
	Trimetropim/sulfametoxasol	R	R
	Piperacilina/tazobactam	S	R
Número de pacientes		18	15

Al encontrar antibiogramas con resistencia a todos los antimicrobianos evaluados, se decidió analizar el comportamiento de estos a lo largo del periodo de estudio, observando un leve aumento en el número de pacientes con el antibiograma 2 y el antibiograma 3 y como se reduce significativamente el antibiograma 1 que posee mayor sensibilidad a los antimicrobianos, en cuanto al antibiograma 4 se observa una mínima disminución comparando los años 2014 y 2015, mientras que el antibiograma 5 presenta casi la misma aparición, lo cual demuestra que conforme pasan los años *Pseudomonas.aeruginosa* adquiere mayor resistencia a los antimicrobianos tal y como se muestra en la gráfica 5.

Gráfica 5. Comportamiento de los 5 tipos de antibiogramas por año durante el periodo de estudio en donde se observa en los segmentos azul fuerte y gris que la resistencia de la bacteria aumentó conforme el paso de los años



Para poder confirmar un caso de bacteriemia es necesario contar con un cultivo positivo de punta de catéter y hemocultivo para el mismo patógeno del mismo paciente.

De 137 pacientes positivos a *Pseudomonas aeruginosa* solo 42 fueron positivos en punta de catéter y hemocultivos, de éstos 25 fallecieron, así que se procedió a analizar los resultados, en donde se observó que el patógeno se mantuvo aun después del tratamiento específico, es relevante que dos pacientes presentaron una variación entre sus antibiogramas de hemocultivos y cambio de multiresistencia a panresistencia de ahí que sobreviniera la muerte (tabla 4).

Los primeros 10 pacientes mantienen su perfil de resistencia, se observa que el paciente 5 muestra un antibiograma panresistente solo en el hemocultivo.Los pacientes 11 12 y 14 mantienen el perfil de mutiresistencia de la bacteria, mientras que el 13 y 15 mantienen su perfil de panresistencia. Los pacientes 17 y 18 mantienen su mismo perfil de resistencia, el paciente 16 muestra un cambio de multiresistencia a panresistencia, el paciente 19 presenta diferente perfil de resistencia entre su cultivo de punta de catéter y hemocultivo lo cual sugiere que se trata de dos cepas diferentes, el paciente 20 mantiene su perfil de resistencia, se observa que después del tratamiento el paciente 19 y 20 presentan un resultado de hemocultivo negativo lo cual indica una aparente eficacia en el tratamiento sin embargo ambos fallecen.

El paciente 21 mantiene su perfil de resistencia en punta de catéter, en hemocultivo el resultado es negativo después del tratamiento lo cual indica una aparente eficacia en el tratamiento, los pacientes 22 23 24 y 25 mantienen su perfil de resistencia en las puntas de catéter sin embargo en cuanto a los hemocultivos no se les puede dar un seguimiento adecuado ya que el protocolo de muestras durante el periodo 2011-2013 no exigía el procesamiento de la muestra de punta de catéter y hemocultivo al mismo tiempo

Tabla 4. Comparación de antibiogramas de cultivos de puntas de catéter y hemocultivos antes y después de tratamiento antimicrobiano de pacientes que fallecieron

	Punta de catéter	**Hemocultivo**		**Punta de catéter**	**Hemocultivo**
Paciente 1	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Antibiograma 1
Paciente 2	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Antibiograma 1
Paciente 3	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Antibiograma 1
Paciente 4	Antibiograma 3	Antibiograma 3		Antibiograma 3	Antibiograma 3
Paciente 5	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Antibiograma 3
Paciente 6	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Antibiograma 1
Paciente 7	Antibiograma 2	Antibiograma 2		Antibiograma 2	Antibiograma 2
Paciente 8	Antibiograma 1	Antibiograma 1	T	Antibiograma 1	Antibiograma 1
Paciente 9	Antibiograma 1	Antibiograma 1	R	Antibiograma 1	Antibiograma 1
Paciente 10	Antibiograma 4	Antibiograma 4	A	Antibiograma 4	Antibiograma 4
Paciente 11	Antibiograma 4	Antibiograma 4	T	Antibiograma 4	Antibiograma 4
Paciente 12	Antibiograma 4	Antibiograma 4	A	Antibiograma 4	Antibiograma 4
Paciente 13	Antibiograma 5	Antibiograma 5	M	Antibiograma 5	Antibiograma 5
Paciente 14	Antibiograma 4	Antibiograma 4	I	Antibiograma 4	Antibiograma 4
Paciente 15	Antibiograma 5	Antibiograma 5	E	Antibiograma 5	Antibiograma 5
Paciente 16	Antibiograma 4	Antibiograma 4	N	Antibiograma 5	Antibiograma 5
Paciente 17	Antibiograma 4	Antibiograma 4	T	Antibiograma 4	Antibiograma 4
Paciente 18	Antibiograma 5	Antibiograma 5	O	Antibiograma 5	Antibiograma 5
Paciente 19	Antibiograma 2	Antibiograma 1		Antibiograma 2	Negativo
Paciente 20	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Negativo
Paciente 21	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Negativo
Paciente 22	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Sin información
Paciente 23	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Sin información
Paciente 24	Antibiograma 1	Antibiograma 1		Antibiograma 1	Sin información
Paciente 25	Antibiograma 2	Antibiograma 2		Antibiograma 2	Sin información

Teniendo en cuenta que los 25 pacientes con bacteriemia fallecieron, se procedió a la búsqueda de sus historias clínicas encontrando que en todos la causa de muerte fue la sepsis. Así que se buscaron a estos pacientes en los expedientes de autopsias, en donde a 11 de estos se les realizó cultivos postmortem siendo positivos para *Pseudomonas aeruginosa* todos.

Teniendo en cuenta que se confirmaron muertes por *Pseudomonas aeruginosa* y que esta presentó multiresistencia se procedió a un análisis estadístico, donde primeramente se hizo el cálculo de la mortalidad la cual expresa la magnitud con la que se presenta la muerte en una población cohorte.

Se observa un incremento a lo largo de los 5 años (tabla 5), se consideró la edad como un factor, siendo los grupos escolar y pre escolar los de mayor mortalidad. (tabla 6). En la mortalidad específica se analizó considerando la combinación de edad y sexo (gráfica 6)

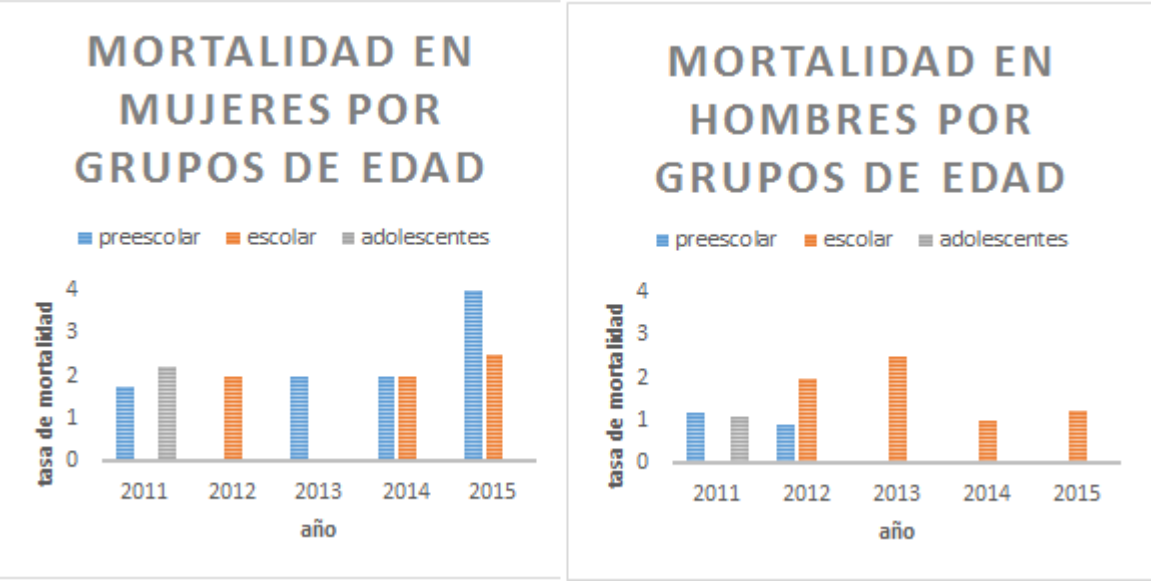
Tabla 5 Mortalidad general asociada a Pseudomonas aeruginosa

Año	Tasa de Mortalidad
2011	1.81
2012	1.28
2013	1.42
2014	2.22
2015	3.33

Tabla 6 Tasa de mortalidad asociada a Pseudomonas aeruginosa por grupo de edad

Grupo de edad	Mortalidad
Pre escolar	2.29
Escolar	2.97
Adolescentes	1.2

Teniendo los datos anteriores se realizó el cálculo de la mortalidad considerando el grupo de edad y el sexo, al hacer la comparación se observa que en el grupo femenino se mantuvieron las cifras uniformes del 2011 al 2014 y se observa un repunte en el año 2015, el grupo más afectado es el pre escolar. Por otro lado en el grupo masculino se observan valores más bajos de mortalidad sin ningún comportamiento específico, en este sector el grupo más perjudicado fue el escolar.



Gráfica 6. Comparación de tasa de mortalidad especifica de *Pseudomonas aeruginosa* considerando edad y sexo

Otro dato que se consideró fue la letalidad que es la proporción de casos de una enfermedad que resultan mortales con respecto al total de casos en un periodo específico. Es importante este dato en este tipo de infecciones ya que los microorganismos más frecuentes no siempre son los más patógenos como es el caso de *Staphylococcus epidermis.* Al calcular el porcentaje de letalidad de *Pseudomonas aeruginosa* se observa un aumento considerable durante el periodo de estudio (tabla 7). Y al considerar a *Staphylococcus epidermidis* se observan valores de letalidad muy por debajo comparado con *Pseudomonas aeruginosa* (tabla 8)

Tabla 7 . Tasa de letalidad asociada a Pseudomonas aeruginosa por año

Año	% letalidad
2011	18.18%
2012	12.82%
2013	14.28%
2014	22.22%
2015	33.33%

Tabla 8 Tasa de letalidad asociada a *Staphylococcus epidermidis* por año

Año	% letalidad
2011	0
2012	0.46%
2013	0.53%
2014	2.67%
2015	2.24%

Considerando que *Staphylococcus epidermidis* fue el patógeno aislado con mayor frecuencia en las puntas de catéter se realizó un análisis para comparar la mortalidad de este patógeno con la de *Pseudomonas aeruginosa,* así que se buscaron los pacientes con bacteriemia asociada a *Staphylococcus epidermidis* que fallecieron y cuya causa de muerte fuera sepsis, encontrando a 7 pacientes con estas características, todos ellos presentaron cultivos positivos de punta de catéter y hemocultivo después del tratamiento (tabla 9). Se buscaron los expedientes de autopsias, en donde solo 2 pacientes tuvieron resultados positivos en los cultivos post mortem.

Los 7 pacientes que fallecieron mostraron cultivos positivos para punta de catéter y hemocultivo antes y durante el tratamiento, lo cual indica que el tratamiento específico no funcionó para erradicar la bacteriemia.

Tabla 9 Resultados de cultivos de puntas de catéter y hemocultivos antes y después del tratamiento antimicrobiano de pacientes que fallecieron

Paciente	Antes del tratamiento		Después del tratamiento	
	Punta de catéter	**Hemocultivo**	**Punta de catéter**	**Hemocultivo**
1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Al igual que con *Pseudomonas aeruginosa* se calculó la mortalidad general para *Staphylococcus epidermidis* la cual aumentó a lo largo de los 5 años (tabla10), en cuanto a la edad los grupos afectados por este patógeno fueron los menores de un año, grupo escolar y grupo preescolar siendo el ultimo el de mayor mortalidad (tabla 11). Considerando la combinación de edad y sexo (grafica 7) se observa un patrón específico de una muerte asociada a *Staphylococcus epidermidis.*

Tabla 10 Tasa de mortalidad asociada a *Staphylococcus epidermidis*

Año	mortalidad
2011	0
2012	0.04
2013	0.05
2014	.26
2015	.22

Tabla 11 Tabla de mortalidad de *Staphylococcus epidermidis* por grupo de escolar

Grupo de edad	Mortalidad
Un año	0.06
Pre escolar	0.12
Escolar	0.09

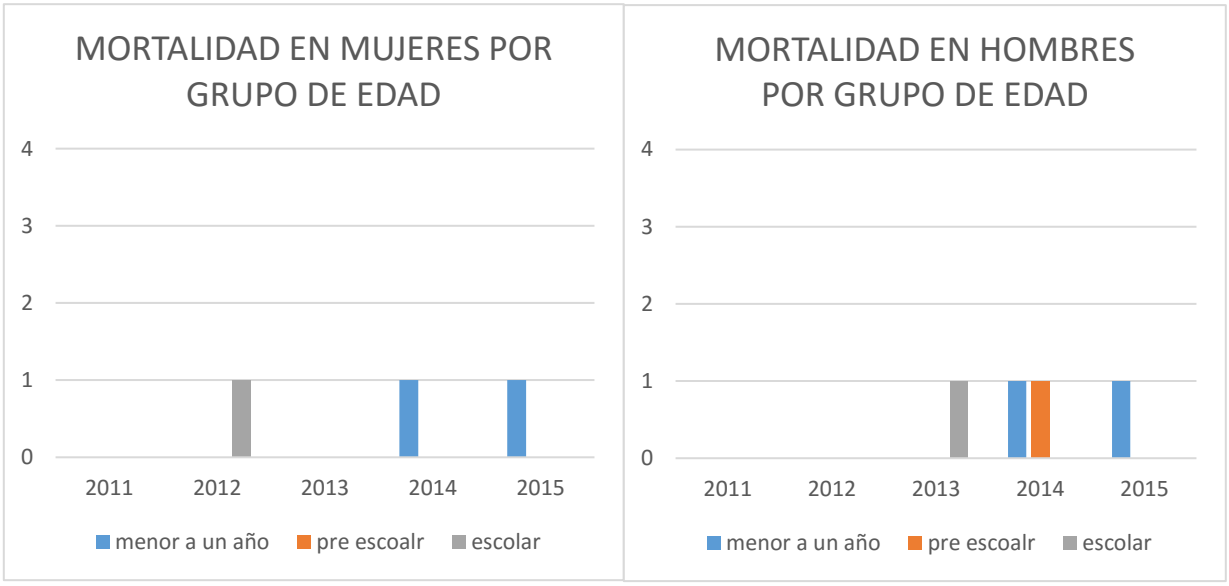


Grafico 7. Comparación de tasa de mortalidad especifica de *Staphylococcus epidermidis* considerando edad y sexo

VII Discusión

Las infecciones nosocomiales o infecciones intrahospitalarias son un problema de salud global que aumenta los costos de atención y facilita la generación selectiva de microorganismos multiresistentes. Al analizar los resultados de las identificaciones de los patógenos de las puntas de catéter se encontró que los más frecuentes pertenecen al grupo ESKAPE los cuales fueron *Staphylococcus epidermidis* (65%)*, Klebsiella pneumoniae* (14%)*, Pseudomonas aeruginosa* (11%)*, Enterobacter cloacae* (6%) y Enterococcus (4%) como se muestra en los gráficos anteriores. Todas estas especies bacterianas mostraron un descenso a lo largo del periodo estudiado ya que se implementaron nuevos protocolos de limpieza de manos para el personal en contacto con pacientes dentro de los hospitales.

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno que hoy en día se presenta con mayor frecuencia en infecciones relacionadas con catéter, en este caso en específico tuvo un considerable aumento ya que en el periodo comprendido del 2008 al 2010 se presentó en el 5.5% de los cultivos correspondientes a las puntas de catéter y hemocultivo, mientras que en el periodo de 2011 al 2015 se presentó en el 13.5% de los cultivos (137 cultivos) siendo el tercer patógeno aislado con mayor frecuencia.

Primeramente se consideraron los factores relacionados con las características de los pacientes -durante el periodo de estudio- observándose que en cuanto al sexo éste no es relevante ya que existió una mínima diferencia entre masculino y femenino obteniéndose el 58% y 42% respectivamente, tomando en cuenta las edades de los pacientes aquí si hubo diferencias significativas, los sectores más afectados son los pacientes en edad preescolar (2-5años) con un 35% y pacientes en edad escolar (6-11 años) con un 20%, lo cual nos indica que tiene que ver con el sistema inmune de los niños y que probablemente también estaban relacionados factores como estado nutricional y sala de procedencia .

En cuanto a la sala de procedencia se determinó que este patógeno es más frecuente en la unidad de Cirugía, Neumología y la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica, lo cual se debe principalmente a que la mayoría de los pacientes se encuentran en un estado de inmunosupresión (cuando el sistema inmunitario de un enfermo se inactiva de forma voluntaria como ocurre en los trasplantes de órganos) o de inmunodepresión (cuando el sistema inmunitario de un enfermo se encuentra disminuido o ausente como consecuencia de algún tratamiento como ocurre en la quimioterapia) como refieren Bello y Franco, por lo tanto el paciente es vulnerable al grupo de microorganismos denominado como patógenos oportunistas en el que se encuentra *Pseudomonas aeruginosa.*

De los 137 aislamientos positivos en puntas de catéter para *Pseudomonas aeruginosa* solo 25 pacientes fallecieron los cuales representan el 18% de la población total. Según Leavell y Clark este dato se refleja como la no rehabilitación, mientras que el 82% restante pasaron a un estado de convalecencia que es el objetivo de una prevención terciaria.

Para conocer la resistencia antimicrobiana de las cepas bacterianas se utilizó el sistema automatizado VITEK 2XL el cual utiliza tarjetas que contienen diluciones estandarizadas de distintos antibióticos, éstas poseen 64 pocillos con sustratos bioquímicos deshidratados que miden diversas actividades metabólicas tales como la acidificación, la alcalinización, hidrólisis enzimática, y el crecimiento en la presencia de sustancias inhibidoras, con lo que se obtiene la identificación bacteriana y la resistencia a antimicrobianos. Con los resultados obtenidos con el equipo se analizó el comportamiento de la bacteria ante diferentes familias de antimicrobianos (aminoglucósidos, carbapenémicos, cefalosporinas, quinolonas, fluoroquinolonas y sulfamidas) con lo cual, se confirmó que las cepas son multiresistentes ya que presentaron resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos. Se presentaron 3 tipos de antibiograma de las cepas de puntas de catéter y hemocultivo.

Al analizar la susceptibilidad antimicrobiana por familias se observó que todas las cepas presentaron resistencia al menos a un medicamento de 3 familias de antibióticos los cuales fueron carbapenémicos, cafalosporinas y sulfamidas; cuando se obtienen antibiogramas con estas características se sospecha que nuestro patógeno es resistente debido a dos clases de β–lactamasas: Amp-C y las β–-lactamasas de espectro extendido (BLEE), Amp-C está codificada en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios β-lactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. Cuando esto sucede, hay resistencia a penicilinas y cefalosporinas lo cual se vio en nuestro caso, el grado de resistencia, depende del grado de represión de la Amp-C. El problema radica en que esta enzima, es inducida en cuestión de días, por tanto, antes del tratamiento, el β-lactámicos parecen servir, pero clínicamente el paciente no mejora y se descubre posteriormente la inducción completa de la enzima, lo cual explica la muerte de los 25 niños.

Otro mecanismo que suele reflejar este tipo de antibiogramas son las bombas de expulsión que suelen ser inducidas por antibióticos o cambios mutacionales incluso de una sola base nucleotídica en el ADN cromosómico de la bacteria, la sobreexpresión de MexAB-OprM, compromete la acción de fluoroquinolonas, tetraciclina, macrólidos, cloranfenicol, novobiocina, trimetoprim y sulfonamidas e incluso meropenem pero no imipenem.

Con respecto a los antibiogramas, se observa como aumentó levemente la aparición del antibiograma 2 y el antibiograma 3 y como se reduce significativamente el antibiograma 1 que posee mayor sensibilidad a los antimicrobianos, en cuanto al antibiograma 4 se observa una mínima disminución comparando los años 2014 y 2015, mientras que el antibiograma 5 presenta casi la misma aparición, lo cual demuestra que conforme pasan los años *Pseudomonas aeruginosa* adquiere mayor resistencia a los antimicrobianos.

Posteriormente se buscaron los expedientes de los 137 pacientes, encontrando que 25 de estos (18.4%) fallecieron siendo la sepsis la causa de muerte, examinando la historia clínica de estos pacientes se encontró que 18 de ellos habían presentado resultados positivos en punta de catéter y hemocultivo para *Pseudomonas aeruginosa* después de recibir tratamiento antimicrobiano especifico, se procedió a comparar los resultados de los cultivos notándose una variación en 3 pacientes, el paciente 5, 16 y 19 los cuales después del tratamiento específico presentaron un cultivos con *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia a todos los antibióticos.

Con los datos anteriores se procedió a buscar los resultados bacteriológicos post mortem para asegurar que esta mortalidad estuviera asociada a *Pseudomonas aeruginosa,* descubriendo que a 11 pacientes se les realizaron estos cultivos siendo todos positivos a este patógeno.

Para conocer la mortalidad asociada a *Pseudomonas aeruginosa* se procedió al cálculo considerando primeramente solo el año encontrando un incremento al pasar de los años encontrando la mayor mortalidad en el año 2015, a pesar de los protocolos de higiene de personal, así que se decidió conocer el comportamiento de la mortalidad tomando en cuenta que esta podría variar entre los subgrupos de la población. Se consideró el sexo y el grupo de edad para saber el comportamiento de la mortalidad frente a estas variables, obteniendo como resultado que el sector más perjudicado fue el comprendido por pacientes de edad pre escolar de sexo femenino.

Otro dato importante que se consideró fue la letalidad que es la proporción de casos de una enfermedad que resultan mortales con respecto al total de casos en un periodo específico. En el periodo de estudio se observó el mismo comportamiento presentado por la mortalidad, también se hizo el cálculo considerando la edad obteniéndose el mayor porcentaje en el grupo escolar.

Para conocer la importancia de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó la comparación de mortalidad y letalidad entre esta bacteria y *Staphylococcus epidermidis* que fue el patógeno aislado en mayor proporción de los casos de BRCVC (913 casos). Se analizaron las historias clínicas de los pacientes encontrando que solo 7 fallecieron por *Staphylococcus epidermidis* y todos ellos presentaban cultivos de punta de catéter y hemocultivos positivos después del tratamiento antimicrobiano. Al realizar el cálculo de mortalidad y letalidad se obtuvieron resultados no significativos.

La diferencia significativa que se observó ante estas dos bacterias se debe a que *Pseudomonas. aeruginosa* es Gram negativa y *Staphylococcus epidermidis* es Gram positiva, siendo su diferencia que la primer bacteria presenta una estructura interna llamada membrana externa que confiere resistencia frente a los factores de defensa del hospedador como la lisozima, la β-lisina y diversas proteínas leucocídicas que son extremadamente tóxicas. Además esta estructura actúa como una barrera impermeable a muchos antibióticos como los macrolidos, la novobiocina o la clindamicina. Además dota a la bacteria de una elevada hidrofobicidad, importante para evitar la fagocitosis y la acción del complemento.

VIII Conclusiones

En el HIMFG *Pseudomonas aeruginosa* es el tercer patógeno causante de infecciones relacionadas a catéter venoso central siendo un factor predisponente a esta condición la nula o poca actividad de sistema inmunitario.

Se observa que la frecuencia de casos reportados por este patógeno disminuyó debido a las medidas de higiene tomadas por el personal en contacto con los pacientes.

Al analizar el comportamiento de *Pseudomonas aeruginosa* ante las diferentes familias de antibióticos mediante el sistema automatizado VITEK 2XL (Biomerieux) se demostró la multiresistencia presente en esta bacteria así como la resistencia que adquiere paulatinamente lo cual lo convierte en un patógeno que debe monitorearse.

Se correlacionaron 42 casos con cultivos positivos para punta de catéter y hemocultivos de los cuales se demostró que 25 muertes fueron causadas por sepsis y el patógeno aislado fue *Pseudomonas aeruginosa.*

Para mejorar le eficacia del tratamiento se deben realizar cultivos bacteriológicos simultáneos de puntas de catéter y hemocultivos desde los primeros signos y síntomas del proceso infeccioso para proponer un tratamiento oportuno, si después de éste el paciente sigue con la misma sintomatología deberá analizarse el resultado del antibiograma y proponer un nuevo tratamiento. El estudio y seguimiento de este patógeno dentro de esta población es de vital importancia ya que es un patógeno intrahospitalario oportunista que cada vez presenta mayor mortalidad dentro de la población infantil.

IX Bibliografía

Alonso A., Flores H., Martínez M. 2000. Prevalencia de infección en pacientes con catéter venoso central. Rev. Enferm IMSS. 8:139-143.

Borba ER., Merchán E. 2007. Infección de corriente sanguínea en pacientes con catéter venosos central en unidades de cuidado intensivo. Rev. Latino-am Enfermagem. 15: 11-47.

Brenner P., Bugedo G., Calleja D., Del Valle G., Fica A., Gómez ME., Jofre L., Sutil L. 2003. Prevención de infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales Programa de Medicina Intensiva, Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica y Sociedad Chilena de Medicina Intensiva. Rev. Chil Infect. 20: 51-69.

Cabrera.R., Morelos R., Galicia A., Melendez E. 2012. Antibiotic Resistance and Biofil Production in *Staphylococcus epidermidis* Strains, Isolated from a Tertiary Care Hospital in Mexico City. Hindawi Publishing Corporation Volume 2013

Cisneros JM., Cobo J., Pujol M. 2007. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guía de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínic (SEIMC). Enf Infec Microbiol Clin. 25:111-130

Cruzeiro PC., Camargos PA., Miranda M. 2006. Central venous catheter placement in children: a prospective study of complications in a Brazilian public hospital. Pediatric surgery international. 22:536-540

De Pablo M., Penas JL. 2004. Prevención de complicaciones infecciosas relacionadas con catéteres intravenosos. Guía para la prevención de complicaciones infecciosas relacionadas a catéteres intravenosos. Guías clínicas de la sociedad Gallega de Medicina Interna 1-17.

El Amin, N. et al.2005 Carbapenem resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa: alterations of porin OprD and efflux proteins do not fully explain resistance patterns observed in clinical isolates. APMIS 113, 187–196

Forero J., Alarcón J., Cassalett G.2004. “Cuidado intensivo Pediátrico y Neonatal”. 2da edición. editorial distribuna.

Fowler VG., Justice A., Moore C. 2005. Risk factors for hematogenous complications of intravascular catheter associated Staphylococcus aureus bacteremia. Clin Infect Dis. 40:695–703.

Joo, E. J. et al. 2011 Risk factors for mortality in patients with Pseudomonas aeruginosa bacteremia: clinical impact of antimicrobial resistance on outcome. Microb Drug Resist

Kim, Y. J. et al. 2014 Risk factors for mortality in patients with Pseudomonas aeruginosa bacteremia; retrospective study of impact of combination antimicrobial therapy. BMC Infect Dis 14, 161

Hattemer, A. et al. 2013 Bacterial and clinical characteristics of health care- and community-acquired bloodstream infections due to Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother

Hui L., Yi-Feng L., Williams B., Timothy S.2011. Structure and function of OprD protein in Pseudomonas aeruginosa: From antibiotic resistance to novel therapies International Journal of Medical Microbiology 302

García P., Paya E., Olivares R., Cotera A., Rodríguez J., Sanz M. 2003. Diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. Sociedad Chilena de Infectología. Rev. Chil Infect 2003; 20: 41-50.

Gómez A. 2002. Profilaxis de las complicaciones infecciosas de los catéteres venosos centrales. Rev Esp. Anestesiol. Reanim. 49:17-33.

González N., Saltigeral P., Macías M. 2004. “Infectología Neonatal”. 2ª edición. México, DF: Editorial Mc Graw Hill; 2004.

Kehrs S., Castillo J., Lafourcade M. 2002. Complicaciones infecciosas asociadas a catéter venoso central. Rev. Chilena de Cirugía. 54:216-224.

Lautenbach, E. et al. 2010 Imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes. Infect Control Hosp Epidemiol 31, 47–53

Medina J., Rodríguez M., Astesiano R., Savios S., González F., Bazett C., Seija V. 2006. Conducta frente a la sospecha de infección relacionada a catéter venoso central para hemodiálisis. Rev Med Uruguay. 22: 29-32.

Mermel LA. 2000. Prevention of intravascular catheter-related infections. Ann Intern Med. 132:391-402.

Mermel LA. 2001. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. Clin Infect Dis. 32:1249- 1272.

Mermel LA., Allon M., Bouza E. 2009. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter Related Infection . Clin Infect Dis. 49:1-45

Nathwani, D., Raman, G., Sulham, K., Gavaghan, M. & Menon, V. 2014. Clinical and economic consequences of hospital-acquired resistant and multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections: a systematic review and meta-analysis. Antimicrob Resist Infect Control

Olaechea PM., Garnacho J., Grau S. 2007. Recomendaciones GEIPC-SEIMC y GTEI-SEMICYUC para el tratamiento antibiótico de las infecciones por cocos grampositivos en el paciente crítico. Enf Infec Microbiol Clin.25:446- 466

Pappas PG., Kauffman CA., Andes D. 2009. Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009. Clin Infect Dis. 48:503-535

Polderman KH. 2002. Central venous catheter use. Intens Care Med. 28:1-28.

Raad I.2002. Intravascular catheter-related infections: New horizons and recent advances. Arch Intern Med. 162:871-878

Rello J., Ochagavia A., Sabanes E., Roque M., Mariscal D., Reynaga E. 2000. Evaluation of outcome of intravenous catheter-related infections in critically ill patients. Am J Respir Crit Care Med. 162:1027-1030.

Ruiz L. 2007 Pseudomonas aeruginosa: aportación al conocimineto de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos.

Ruza F. 2006. “Cuidados Intensivos Pediátricos”. 3ª edición. Madrid, España: Ediciones Norma-Capitel. p.1555, 1556, 1601, 1602,1786.

Safdar N., Fine JP., Maki DG. 2005. Meta-analysis: methods for diagnosing intravascular device related bloodstream infection. Ann Intern Med. 142:451–66.

Saier MH. 2000. Families of proteins forming transmembrane channels. J. Membr Biol 175 (3):165-180

Schulz GE. 2004. The structure of general porins Bacterial and eukaryotic porins: structure, functions, mechanism. Ed. By Roland Benz UCH

Suarez, C. et al. 2010 Influence of carbapenem resistance on mortality and the dynamics of mortality in Pseudomonas aeruginosa bloodstream infection. Int J Infect Dis 14 Suppl 3, e73–78