

24 89



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

## “NEONATOS: PACIENTES SUSCEPTIBLES A INFECCIONES POR Pseudomonas aeruginosa”

### T E S I S

Que para obtener el título de:

Químico-Farmacéutico-Biólogo

**P R E S E N T A:**

**HECTOR TOMAS PINEDA SANDOVAL**

MEXICO,

D.F.

1989

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## INDICE.

	Pag.
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
I. GENERALIDADES	
A) CARACTERISTICAS DE <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	4
B) AISLAMIENTO E IDENTIFICACION	5
C) MECANISMOS DE PATOGENICIDAD	7
1.- Proteasas	8
2.- Sustancias hemolíticas	10
3.- Toxinas	11
4.- Exopolisacáridos de superficie	13
D) SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS	14
E) PRODUCCION DE PIOCINAS	16
F) IMPORTANCIA CLINICA	17
1.- Pacientes comprometidos	17
2.- Neonatos	19
G) ALGUNOS ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS	21
II. PARTE EXPERIMENTAL	
A) MATERIAL	24
1.- Material biológico	24
2.- Medios de cultivo	24
3.- Compuestos adicionales	25
4.- Antimicrobianos empleados	25
5.- Reactivos y soluciones	26

	Pag.
B) METODOLOGIA	27
1.- Produccion de pirocinas	27
2.- Produccion de exoenzimas hidroliticas	28
3.- Sensibilidad a los antimicrobianos	29
III. RESULTADOS	35
IV. DISCUSION DE RESULTADOS	50
V. CONCLUSIONES	65
VI. BIBLIOGRAFIA	68

## INTRODUCCION

El estudio de las infecciones intrahospitalarias ha cobrado una gran importancia, ya que éstas elevan las tasas de mortalidad, los costos de atención y el empleo de antibióticos y exámenes de laboratorio.

Uno de los microorganismos que causa este tipo de problemas en Unidades de Terapia Intensiva y Neonatología es Pseudomonas aeruginosa. Esta bacteria Gram negativa es bien conocida por su facultad para encontrarse en casi cualquier sitio y poseer una gran resistencia a los antibióticos y a las condiciones ambientales.

En pacientes inmuno-comprometidos puede causar diversos padecimientos, debido a que cuenta con una gran variedad de exoenzimas que están relacionadas con sus mecanismos de patogenicidad.

En recién nacidos, donde el riesgo de infección depende de factores predisponentes distintos a los de los adultos (como inmadurez y poco peso al nacer, entre otros) se ha observado que P. aeruginosa y otras bacterias oportunistas ocasionan tasas de morbilidad muy altas.

Para poder desarrollar métodos de prevención es necesario el rastreo epidemiológico, utilizando distintos marcadores. La tipificación por plócinas sigue siendo de gran utilidad en la caracterización de cepas de esta bacteria que se encuentran involucradas en las infecciones intrahospitalarias.

El presente trabajo trata de relacionar, utilizando marcadores epidemiológicos, cepas de P. aeruginosa aisladas tanto de muestras -

Clinicas de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de -  
Pediatría (INP) durante 1986 y 1987 como de otras provenientes de  
un supuesto brote epidémico en la sala de Neonatología en el mes -  
de septiembre de 1987, para así poder establecer el origen de di-  
dicho brote y aquellos mecanismos que pudieran estar involucrados  
en su transmisión.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar la frecuencia de infecciones producidas por P. aeruginosa, aisladas de muestras clínicas diversas del Instituto Nacional de Pediatría.
- 2.- Determinar el patrón pliocínico predominante en el Instituto Nacional de Pediatría.
- 3.- Realizar el estudio bacteriológico de un supuesto brote epidémico por P. aeruginosa en la sala de Neonatología del Instituto Nacional de Pediatría.
- 4.- Caracterizar la resistencia a distintos antimicrobianos de las cepas de P. aeruginosa aisladas de la sala de Neonatología.
- 5.- Caracterizar el poder patógeno de las cepas de P. aeruginosa aisladas de la sala de Neonatología.

## I. GENERALIDADES

A) CARACTERISTICAS DE Pseudomonas aeruginosa.

El género Pseudomonas pertenece a la familia Pseudomonadaceae. Se compone de una gran variedad de especies que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza.

Dentro de las especies más importantes que se asocian a infecciones humanas están P. maltophilia, P. mallei, P. pseudomallei, P. cepacia y P. aeruginosa, siendo ésta última la más frecuente (29,30,51).

Son bacilos Gram (-) que miden de 0.5 a 0.7 u de ancho por 1.5 a 3.0 u de largo. Presentan uno o varios flagelos polares a los cuales deben su movilidad. Aunque son aerobios estrictos porque poseen una cadena respiratoria en la que el Oxígeno es su último -- acceptor de electrones, algunas cepas pueden utilizar alternativamente el nitrato y crecer anaeróbicamente (8,30).

Son catalasa (+), no producen indol ni acetilmetilcarbinol. Dan la prueba de rojo de metilo negativa.

Utilizan los carbohidratos, oxidándolos vía Entner--Doudoroff, con la consiguiente producción de ácido, por lo que no son formadores de gas. No requieren vitaminas o aminoácidos como factores de crecimiento, crecen bien en medios con base mineral que contienen amonio como -- única fuente de Nitrógeno y glucosa como única fuente de Carbono y energía (29, 30).

Contienen 67% moles de Guanina-Gitosina en su DNA.



Algunas de las especies del género se caracterizan por la producción de pigmentos hidrosolubles llamados pioverdinas, que van del color blanco al azul-verde y tiene la capacidad de fluorescer cuando se les expone a la luz ultravioleta de onda corta (254 nm). Están compuestos principalmente de una quinolina (cromóforo) unida a un péptido cíclico cuya composición es distinta dependiendo de la especie. Su producción se ve favorecida por bajas concentraciones de Hierro en el medio (8).

#### B) AISLAMIENTO E IDENTIFICACION

P. aeruginosa puede encontrarse en diversos sitios. En el medio hospitalario puede estar alojado en fregaderos, llaves de agua, baños, pisos, ventiladores respiratorios, soluciones oftálmicas, jabones, cremas para las manos, lociones, cepillos, aparatos de succión, jeringas, etc., los cuales pueden fungir como importantes vehículos para su diseminación (18, 30).

El agar sangre es uno de los medios habituales de aislamiento primario para la detección de Pseudomonas, sin embargo, éste no es esencial, ya que el u.o. crece también en agar MacConkey y agar eosina azul de metileno (EMB) produciendo generalmente colonias incoloras. Con menor frecuencia, también puede aislarse en agar Salmonella-Shigella(SS) y agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD), pero los medios que se utilizan como selectivos son los que contienen Cetrimida o compuestos similares (30).

A las colonias sospechosas de Pseudomonas se transfieren a agar - hierro Kligler. Casi todos los no fermentadores de glucosa producen un plano inclinado alcalino (rojo), por lo que aquellos que - den éste resultado deben confirmarse e identificarse como P. aeruginosa a través de las siguientes pruebas (29,30):

PRUEBA	SIGNO	% POSITIVO
-Flagelos (monotrica polar, menos de 3 por polo)	+	96
-Movilidad	+	96
-Medio OF glucosa abierto, ácido	+	97
-Medio OF melitosa, ácido	-	4
-Indofenol oxidasa	+	100
-L-lisina decarboxilasa	-	0
-L-arginina dihidrolasa	+	99
-L-ornitina decarboxilasa	-	0
-H <sub>2</sub> S, extremo negro en agar hierro de Kligler	-	0
-Crecimiento a 42°C	+	100

P. aeruginosa es la única especie que produce pioctianina. También produce fluoresceína, pigmento de color amarillo verdoso que se - observa con irradiación de luz UV. Esta característica se aprecia mejor en medios con Cetrimida. Algunas cepas elaboran los 2 pig- - mentos mencionados, así como otras sólo uno de los dos (8,30).

Se ha observado que las cepas de P. aeruginosa presentan una gran variación morfológica in vitro, observándose variantes coloniales lisas, rugosas, mucoides, enanas, etc. (26,50).

Seis diferentes tipos coloniales pueden ser descritos en base al tamaño, forma, superficie, orilla, elevación y opacidad. Esta disociación de cepas de P. aeruginosa en múltiples tipos coloniales se cree ocurre tanto in vivo como in vitro, aunque no es propiedad de todas las cepas, y es debida a la captación de profagos, que transforman las variantes no mucoides en mucoides durante la lisogenización (7,27,46).

Este fenómeno fenotípico se presenta muy frecuentemente en pacientes con Fibrosis Quística, donde se ha encontrado que las variantes mucoides y no mucoides en individuos coexisten, y que pertenecen al mismo serotipo, tipo piocínico y tipo fágico, así como propiedades bioquímicas similares (7,26).

Se sabe también que las variantes no mucoides preceden a las mucoides, pero que éstas últimas son seleccionadas por los mecanismos de inmunidad del huésped (46).

In vitro, las cepas mucoides son inestables, aunque Govan demostró que en medio de agar Citrato-Desoxicolato, es posible incrementar su estabilidad (46).

#### C) MECANISMOS DE PATOGENICIDAD.

P. aeruginosa produce una gran variedad de sustancias extracelulares, las cuales pueden estar involucradas en su capacidad para --

invadir y producir daño al huésped. Esta característica puede ser empleada como un marcador epidemiológico en infecciones intrahospitalarias debidas a ésta bacteria (8,26).

Las principales características de las exoenzimas, toxinas y exopolisacáridos que están relacionadas con su patogenicidad, son las siguientes:

1.- Proteasas. P. aeruginosa excreta varias enzimas proteolíticas que, in vitro, son capaces de licuar la gelatina, degradar la caseína ó disolver la elastina y fibrina.

Produce por lo menos dos tipos de proteasas, que difieren en su peso molecular, sustrato específico, punto isoelectrico y pH óptimo. Ambas son metaloproteasas pero son inmunológicamente distintas. Una fué designada como proteasa alcalina (PA) (PM 48 000) -- por su actividad a pH alcalino; la otra como elastasa (Ela) ---- (PM 39 500) porque degrada la elastina (23,25,34,37).

La administración de proteasas intradérmicamente en animales induce lesiones hemorrágicas en unos pocos minutos y en la córnea de conejos y ratones produce ulceración. También causan daño pulmonar cuando son administradas por vía intratraqueal, observándose necrosis en células epiteliales en poco tiempo, con una pronunciada reacción inflamatoria (15,49).

Posteriormente se encontró que la elastasa contribuye en las infecciones agudas y crónicas del pulmón, pero no en infecciones corneales, quizá debido a la presencia de elastina en la córnea del ratón (34,49).

Estudios realizados en pacientes con Fibrosis quística infectados con P. aeruginosa muestran que las proteasas contribuyen a la persistencia del microorganismo, alterando el sistema inmunológico -- del huésped, ya que actúan:

- i) Rompiendo algunos componentes del complemento ( $C_3$ ) y las inmunoglobulinas (iga e iga secretoras) presentes en los bronquiolos -- (14,39,44); y
- ii) Inactivando la acción fagocítica de los polimorfonucleares -- (PMNs), por inhibición de la quimiotaxis y de la quimiluminiscencia mediada por la mieloperoxidasa (14,28,39).

También inactiva a la alfa-1-antiproteasa y al inhibidor mucosal bronquial, que son las dos sustancias inhibitoras de proteasas -- más importantes y que están presentes en el pulmón (14,44).

Otros estudios han mostrado que aquellas cepas de P. aeruginosa -- que producen más elastasa se adhieren mejor a la superficie de la célula huésped, dando como resultado a que más sitios de unión -- sean expuestos, debido a la actividad proteolítica en la superficie bacteriana (16).

Norihara y col. idearon un método para producir un toxoide utilizando la elastasa, empleando un péptido cloroacetilado ( $ClCH_2CO-$  --  $HOLeu-Ala-Gly-NH_2$ ), que tiene la peculiaridad de actuar sobre el sitio activo de la elastasa, inhibiendo su actividad enzimática -- de manera irreversible, pero conservando su inmunogenicidad y -- antigénicidad (31).

Existen controversias en la literatura acerca de si éstas proteasas (PA y Ela) pueden degradar el colágeno.

Schoellmann y Fisher encontraron una enzima aislada de una cepa de P. aeruginosa que rompe el péptido sintético carbobenzoxi-Gly-Pro-Gly-Gly-Pro-Ala en el enlace Gly-Gly. Diener y col. reportaron otra cepa que produce una enzima capaz de degradar el colágeno de tendón bovino. Waldvogel y Swartz probaron 30 cepas para ver si podían degradar películas fibrilares de colágeno tipo I ó colágeno tipo I marcado con glicina [ $^{14}\text{C}$ ], encontrando que sólo una cepa mostró actividad inicial, pero que fué inactiva en pruebas posteriores (20).

Recientemente Heck y col. encontraron que la elastasa degrada los colágenos tipo III y IV con la formación de fragmentos definidos. Convierte también las cadenas beta a monómeros de cadenas alfa de colágeno tipo I. Tanto la elastasa como la proteasa alcalina no presentaron actividad sobre los colágenos tipo II y IV pero, en conjunto, rompieron lentamente el tipo I (20).

2.- Sustancias hemolíticas. P. aeruginosa produce una hemolisina sensible al calor llamada fosfolipasa C, que actúa sobre la lecitina dando fosforilcolina y diacilglicerol (43).

También se conoce un glucolípido que es termoestable y que parece tener la función de detergente, solubilizando los fosfolípidos. La fosfolipasa C inyectada intraperitonealmente en animales produce necrosis hepática así como edema pulmonar. En neumonías produ-

cidas por P. aeruginosa, la fosfolipasa C juega un papel muy importante, ya que actúa sobre el surfactante pulmonar, causando atelectasia y necrosis (49,51).

Stuer encontró tres enzimas con actividad lipolítica: La fosfolipasa C; una esterasa unida a la membrana y una lipasa extracelular. Esta última es una acilglicerol acilhidrolasa (EC 3.1.1.3.) que contiene cantidades apreciables de lipopolisacáridos (LPS) y, se piensa, son los que proporcionan actividad a la enzima (45).

3.- Toxinas. De las toxinas que produce ésta bacteria la más conocida es la exotoxina A. Es secretada como una proenzima que es lábil al calor y es producida por un 80-90% de las cepas (11,49). En ratones, el hígado parece ser el órgano blanco, observándose tumefacción celular, cambios grasos y necrosis. Inyectada intracornealmente produce rápida muerte celular (34). Induce también la supresión de la respuesta inmune en murinos, por lo que sus efectos biológicos pueden ser múltiples (22).

A nivel molecular, inhibe la síntesis de proteínas celular, catalizando la transferencia de la porción adenosin-5-difosfato ribosa (ADPR) de la nicotinadeninucleótido (NAD), al factor 2 de elongación, evitando el alargamiento de la cadena polipeptídica (11, 22,34,49).

La exotoxina A es de naturaleza proteica. Consta de 613 aminoácidos y su estructura comprende tres regiones: i) Una región carboxilo terminal, que comprende un tercio de la molécula y además es la ADP-ribosil transferasa de la toxina; ii) Una región inter-

media compuesto de alfa-hélices; y iii) Una región amino terminal que comprende la mitad de la molécula. Las dos últimas regiones son las que están involucradas en la unión de la exotoxina A a su sitio activo (1).

P. aeruginosa produce una segunda ADP-ribosil transferasa, llamada exoenzima S, que difiere de la primera en que la ADPR no es -- transferida al factor de elongación, pero modifica una ó más proteínas presentes en las células eucarióticas (49).

Su asociación a infecciones no está determinada, sin embargo, se ha observado que la virulencia de las cepas que producen exotoxina A y exoenzima S es mayor a aquellas que producen sólo una de ellas (49).

Scharmann en 1976 describió otra toxina que presentaba actividad biológica semejante a la leucocidina estafilocócica, causando -- cambios morfológicos en los leucocitos de conejo. Posteriormente Lutz la llamó citotóxica, por su efecto destructivo en la mayoría de las células eucarióticas estudiadas in vivo e in vitro (5,6,21) La dosis mínima citotóxica en una población de leucocitos polimorfonucleares (PMNs) ( $1 \cdot 10^6$ ) fué de 13-20 ng (21).

Tiene un efecto destructivo sobre los PMNs, ocasionando cambios -- ultraestructurales tales como: formación de pequeñas vacuolas fagocíticas, agrupaciones de cromatina nuclear, reducción en el número de gránulos citoplasmáticos, y una gradual disolución del -- leucocito (5,6). Su efecto primario es a nivel de membrana, ocasionando la pérdida de  $K^+$  y glucosa, así como la entrada de  $Na^+$  -



al citoplasma, dando como resultado hinchazón y ruptura de la célula (5).

4.- Exopolisacáridos de superficie. La pared celular de P. aeruginosa está constituida como la mayoría de las bacterias gram (-). Contiene un lipopolisacárido (LPS) cuya composición varía según la cepa y estando además íntimamente relacionada con la morfología colonial (variantes lisas y rugosas). Formando parte del LPS se encuentran los antígenos "D", estables al calor (8,38). La aglutinación utilizando sueros específicos dirigidos a éstos antígenos (llamada serotipificación), es un método muy utilizado para ayudar en la caracterización de cepas aisladas en un brote epidémico (8,19).

Se ha encontrado que el LPS contribuye a la virulencia de P. aeruginosa, debido a: i) Su naturaleza tóxica; ii) la facultad de conferir resistencia al suero; y iii) que los anticuerpos contra el LPS proporcionan una alta protección en modelos experimentales (12). La virulencia depende del estado físico del núcleo del LPS y de las cadenas laterales de polisacáridos "D", pero la longitud de dicha cadena no parece influir en la capacidad que tienen de resistencia al suero (12).

P. aeruginosa produce también un exopolisacárido mucóide (MEP), llamado también alginato, por su similitud química con el ácido algínico, y que está presente en variantes mucóides como en no mucóides (38,39). Interviene en la adherencia a células traqueales.

uniéndose a la mucina producida en pacientes con Fibrosis quística que presentan colonización (39).

#### D) SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS.

Muchos de los agentes antimicrobianos de uso común empleados en el tratamiento ocasionadas por P. aeruginosa son inefectivos. Una gran mayoría de cepas son susceptibles a la amikacina, gentamicina, tobramicina, carbenicilina y colistina, pero se desarrollan formas resistentes, especialmente en tratamientos prolongados debido a la presencia de plásmidos de resistencia (R) (8,32,51) que, aun que pueden ser o no transmisibles, pueden también ser acarreados por otros plásmidos que no contengan genes de resistencia (8,32,51).

Se ha observado que la sensibilidad a los antimicrobianos de cepas mucoides de P. aeruginosa es incierta. Govan y Fyfe (43) reportaron que las variantes mucoides fueron más resistentes a la carbenicilina, flucoxacilina y tobramicina que las no mucoides; mientras que Demko y Thomassonn (43,46) encontraron que fueron considerablemente más resistentes las variantes no mucoides que las mucoides hacia la carbenicilina, ticarcilina, gentamicina y tobramicina.

Otros estudios han revelado que los exopolisacáridos y el alginate de las cepas mucoides están cargados negativamente, ocasionando un retardo en la difusión de los antibióticos cargados positivamente (como la netilmicina, gentamicina y neomicina) (43).

Por otro lado, se encontró que cepas de P. aeruginosa en medios deficientes en  $Mg^{+}$ , adquieren una resistencia de tipo no-mutacional ó adaptativa, debido a la propiedad que tiene ésta bacteria de producir una proteína llamada HI y que está influenciada por la baja concentración de  $Mg^{+}$  en el medio (33). La proteína se une a sitios de la membrana externa que también son sitios donde se une el  $Mg^{+}$  y algunos de los antibióticos catiónicos, como la polimixina B, colistina y gentamicina, protegiendo a la célula de la acción bactericida (33).

Actualmente se conocen varios métodos para determinar la sensibilidad a los diversos antimicrobianos, siendo el más usado por los laboratorios de diagnóstico el de difusión en placa (Kirby-Bauer) (29,30). En éstas se utilizan discos impregnados con antibióticos a una concentración conocida, que son colocados sobre la superficie del medio de cultivo sólido previamente inoculado con el microorganismo que se desea ensayar. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente y la concentración va a ser inversamente proporcional a la distancia.

Para determinar si la bacteria es sensible, se miden los diámetros de las "zonas de inhibición" alrededor del disco y se consultan tablas ya establecidas, que correlacionan el diámetro de la zona con la sensibilidad ó resistencia.

El método es cualitativo, pero controlando varios parámetros como concentración del inóculo, grosor de la placa de agar, pH, temperatura y tiempo de incubación, se pueden obtener resultados repr

ducibles, seguros y confiables (29,30).

Debido al múltiple uso que se les da a los antimicrobianos en el tratamiento de infecciones generadas por ésta bacteria y al aumento en la aparición de cepas multirresistentes, es posible utilizar un patrón de resistencia a los antibióticos que, junto con otros parámetros como la serotipificación y la producción de piocinas, ayuden a la caracterización epidemiológica de cepas de P. aeruginosa.

#### E) PRODUCCION DE PIOCINAS.

Las piocinas forman parte de un grupo de proteínas llamadas bacteriocinas, que son producidas por cepas de P. aeruginosa y que tienen una acción letal sobre otras cepas de la misma especie (8,19,48). Se conoce un tipo R que tiene una estructura muy similar a la cola de ciertos fagos contráctiles, por lo que pueden mostrar una reacción inmunológica cruzada, y además son insensibles a la acción proteolítica de algunas enzimas. Se conoce también un tipo S, de apariencia amorfa, sensible a la proteólisis y de peso molecular bajo (8,19).

Se han encontrado otros dos tipos de piocinas también de bajo peso molecular. Una llamada A2, asociada con endotoxinas de pared celular, y A3, derivada del protoplasma (19). Todos éstos tipos pueden ser producidos sólo o en combinación, pero las cepas son inmunes a sus piocinas producidas.

Se ha observado que las piocinas tipo S difunden más fácilmente -

en los medios de cultivo, observándose una zona de inhibición más amplia alrededor de la cepa que la produce. También se encontró - que, adicionando al medio ácido yodo-acético  $10^{-5}M$ , citrato de ag dió 0.1% y fosfato hidrogenado dipotásico 0.1%, se evita la ac--- ción de ciertas sustancias inhibidoras de la producción de piocina (19,48).

La tipificación piocínica puede realizarse de dos maneras: Determinando el tipo de piocina producida por la cepa en estudio con-- tra una colección de cepas indicadoras sensibles; ó por ensayo de la sensibilidad de la cepa a piocinas conocidas. El primero es co múnmente usado y es descrito por Govan (8,9,19). Da resultados re producibles debido a su constancia en la producción de piocinas - después de almacenamiento prolongados y/ó subcultivo in vitro, y es importante para caracterizar cepas de P. aeruginosa con fines epidemiológicos, ya que puede ser usada para determinar la inci-- dencia de infecciones adquiridas por vía exógena y endógena, y pa ra elucidar las fuentes, reservorios y modos de transmisión del - organismo en el medio ambiente hospitalario (19).

#### F) IMPORTANCIA CLINICA.

1.- Pacientes comprometidos. P. aeruginosa es uno de los microor-- ganismo oportunista más frecuentemente asociado a infecciones in-- trahospitalarias. Los padecimientos que causa casi siempre se de-- ben a un factor que predispone y hace susceptible al huésped (18, 30). Las infecciones adquiridas se producen en pacientes sometidos

a procedimientos de instrumental ó manipulación, como cateterizaciones uretrales, traqueostomías, punciones lumbares e infusiones intravenosas (18,30).

Se encuentran contaminando heridas quirúrgicas, úlceras por decúbito, abscesos, quemaduras, fistulas con drenaje, infecciones del oído y pulmones, donde el agente etiológico primario de éstas infecciones se eliminan por la acción de los agentes antimicrobianos y P. aeuginosa se convierte en el nuevo patógeno.

A continuación se presenta la siguiente tabla que muestra algunos de los factores predisponentes a infecciones debidas a ésta bacteria (18).

FACTOR PREDISPONENTE	INFECCION ASOCIADA
-Deficiencia de inmunoglobulinas	-Septicemia
-Neutropenia	-Septicemia, focos localizados
-Cáncer	-Neumonía, septicemia
-Infusión intravenosa	-Bacteremia por infusiones contaminadas ó tromboflebitis supurativa.
-Catéter urinario	-Infecciones del tracto urinario, septicemia.
-Quemaduras	-Infecciones localizadas, septicemia, neumonía.
-Traqueostomía	-Infección traqueal y bronquial
-Transplante de órganos	-Septicemia.

## FACTOR PREDISPONENTE

## INFECCION ASOCIADA

-Cirugía del Sistema nervioso central.

-Úlcera corneal

-Terapia con antibióticos

-Fibrosis quística

-Adicción a drogas

-Diabetes

-Nadadores

-Meningitis.

-Panofthalmitis.

-Neumonía, infecciones del tracto urinario, septicemia.

-Infección bronquial y peribronquial.

-Endocarditis y osteomielitis.

-Otitis externa maligna.

-Otitis externa.

2.-Neonatos. Un factor sumamente importante que influye marcadamente en la frecuencia de aparición y terminación fatal de los procesos infecciosos neonatales son: El tiempo de vida intrauterina y el bajo peso al nacer. Los niños prematuros se caracterizan por su inmadurez orgánica, y las dificultades que de ella derivan las cuales se acentúan más cuando más corta ha sido la vida intrauterina. Así puede hablarse de dos grupos de niños prematuros: --  
 i) Aquellos de más de 2 Kg y de 33 a 37 semanas de gestación; y --  
 ii) los de menos de 2 Kg de peso y de 32 semanas de gestación, en los cuales la diferencia de madurez establece la capacidad para adaptarse a la vida extrauterina, mayores riesgos por ello y, consecuentemente, morbilidad y mortalidad mayores en quienes son más inmaduros (3,13).

El prematuro típico es un niño de aspecto frágil, de piel delgada y rubicunda, brillante, cuyo desarrollo y tono muscular son escasos y que presentan dificultad respiratoria en mayor ó menor grado, problemas para controlar su temperatura, facilidad de sangrado, tanto por fragilidad vascular como por la deficiencia de factores de coagulación, problemas metabólicos, edema (por dificultades para el manejo de líquidos y electrolitos), acidosis metabólica, respiratoria ó más frecuentemente mixta, ictericia acentuada y prolongada por inmadurez de enzimas hepáticas e infecciones por gérmenes debido a deficiencias en los mecanismos de defensa tanto inmunológicos como tisulares. La mayor parte de anticuerpos son de origen materno y su transmisión más importante ocurre en el tercer trimestre. Antes de las 32 semanas de gestación el nivel de IgG fetal es menor al 50% de los valores maternos. La actividad del complemento es del 50 al 75% del valor en el adulto. La baja actividad del complemento y la falta de anticuerpos tipo específico, provoca una deficiente opsonización, especialmente para bacterias capsuladas. Esto dificulta la fagocitosis y limita la depuración de bacterias por los macrófagos del sistema reticuloendotelial. La poca reserva de polimorfonucleares y su baja capacidad de migración ó quimiotaxis, provoca una deficiente respuesta inflamatoria en neonatos; además, existe una tendencia a la depresión de la médula ósea en presencia de sepsis (3).

Se ha visto que aún en países con alto nivel de desarrollo, éste tipo de neonatos tiene hasta 4 veces más infecciones y 10 veces -



más índices de mortalidad que los nacidos a término que presentan peso adecuado (3,13,36).

Dentro de salas de recién nacidos se ha observado que hasta un 70% de los niños internados en ellas, adquieren algún proceso infeccioso banal (rinitis, conjuntivitis) ó trascendentes (meningitis, enteritis, neumonía) en algún momento de su estancia hospitalaria (3,13).

Diferentes estudios en México han reportado tasas de infección nosocomial muy altas en recién nacidos: de 25% en el Hospital Infantil de México y de 34% en el Hospital Pediátrico del IMSS. Esta tasa de infección son más altas que las reportadas en Estados Unidos de Norteamérica, donde el promedio es de 23.9% (3,13).

Los factores relacionados al ambiente del hospital que elevan el riesgo de infección nosocomial son: La duración de la hospitalización, que aumenta la exposición a microorganismos multirresistentes; el personal infectado ó portador; los procedimientos invasivos con fines diagnósticos ó terapéuticos; la administración de líquidos por vía enteral ó parenteral; la terapia respiratoria; y el excesivo uso de antibióticos (3,13,36).

#### G) ALGUNOS ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS.

Para el control y prevención de una infección nosocomial deben tomarse en cuenta varios aspectos, que a continuación mencionaremos. En primera instancia, se define una infección intrahospitalaria ó nosocomial a aquélla que ha sido adquirida 48 horas después de la

hospitalización, no indicando necesariamente que el hospital ó -- los miembros de su personal sean responsables de élla. Aquéllas - infecciones que se están incubando en el momento de admisión al - hospital se definen como comunitarias, y suelen confundirse e incluirse dentro de las nosocomiales (3,30,41).

El tiempo de hospitalización del paciente antes del aislamiento - del patógeno es una manera para distinguir entre éstas infeccio-- nes, pero es inapropiado usar un intervalo arbitrario entre la admisión al hospital y la iniciación de la infección como único criterio para distinguirlas (4,30).

La frecuencia de las infecciones intrahospitalarias varían de un hospital a otro, dependiendo también de los tipos de procedimientos y tratamientos usados, así como en la efectividad de los programas destinados a su control.

La posibilidad de que una persona adquiera una infección nosoco-- mial específica depende de tres factores: La susceptibilidad a la infección; la virulencia del agente infectante; y la naturaleza - de la exposición de la persona al microorganismo. Algunos medica-- mentos importantes, como los corticoesteroides, agentes quimio-- terapéuticos anticancerosos y los antibióticos, influyen en la su-- ceptibilidad (4,30).

Pueden adquirirse de fuentes endógenas, donde el microorganismo - es transportado asintóticamente durante largos períodos hasta - que, debido a algún factor asociado a la hospitalización, puede - producirse la enfermedad. También puede adquirirse por vía exogena

existiendo cuatro formas de transmisión: i) Por vectores, importante en regiones con climas tropicales; ii) Por contacto, que es el mecanismo más importante de transmisión. Se lleva a cabo en forma directa de persona a persona, ó indirecta, a través de secreciones; iii) A través de vehículos contaminados, que es la segunda forma de diseminación más importante de los patógenos nosocomiales; y iv) Por transmisión aérea (3,30).

Cuando se produce un brote epidémico es necesario saber que tanto se ha difundido el microorganismo en estudio. Deben elegirse para los cultivos aquéllos sitios en los que la bacteria prefiere colonizar. Por lo general se usan medios selectivos para evitar el crecimiento excesivo de la flora habitual.

Cuando el personal participa en la transmisión de infecciones debidas principalmente a bacterias gram (-), es generalmente porque sus manos se han contaminado mientras cuidan a pacientes infectados (3,41). La demostración microbiológica no sólo confirma el mecanismo de infección cruzada, sino que también es un recurso educacional para convencer al personal de la importancia en el lavado de manos así como las medidas de higiene apropiadas. Es importante contar con un programa de vigilancia y control de las infecciones intrahospitalarias que se ajuste a las características de cada hospital, para evitar que ocurran éste tipo de padecimientos, así como un trabajo conjunto entre el laboratorio de Bacteriología, médicos y enfermeras para obtener resultados satisfactorios (3,40, 41).

## II PARTE EXPERIMENTAL

### A) MATERIAL

#### 1.- Material biológico.

Se emplearon cepas de P. aeruginosa aisladas de muestras clínicas diversas de pacientes hospitalizados del Instituto Nacional de Pediatría (INP).

#### 2.- Medios de cultivo.

##### a) Para el aislamiento:

-Medio Mac Conkey (Merck)

-Medio Cetrimida (Merck)

##### b) Para la identificación bioquímica:

-Medio BHI (Merck)

-Medio Citrato de Simmons (BBL)

-Medio Descarboxilasa base Moeller (BBL)

-Medio Kligler (Merck)

-Medio OF base (BBL)

##### c) Para la biotipificación:

-Medio DNasa (Merck)

-Medio Elastina\*

-Medio Gelatina nutritiva (BBL)

-Medio leche descremada

-Medio Sangre de carnero

-Medio Tween 80

-Medio Yema de huevo

\*ver anexo

d) Para la susceptibilidad antimicrobiana:

-Medio Mueller-Hilton (Merck)

e) Para la producción de piocinas:

-Medio nutritivo (Merck)

-Medio soya-triptona

f) Para la conservación:

-Medio de Liu\*

3.- Compuestos adicionales.

a) Carbohidratos:

-Glucosa

-Maltosa

-Xilosa

A una concentración del 10%

b) Aminoácidos:

-Arginina

-Lisina

-Ornitina

Al 1% para descarboxilasa base Moeller

4.- Antimicrobianos empleados.

-Amikacina	30 $\mu\text{g/ml}$	(Bigaux)
-Carbencilina	100 $\mu\text{g/ml}$	(Bioclin)
-Gentamicina	10 $\mu\text{g/ml}$	(Bigaux)
-Kanamicina	30 $\mu\text{g/ml}$	(bigaux)
-Netilmicina	30 $\mu\text{g/ml}$	(Scheramex)

\*ver anexo

5.- Reactivos y soluciones.

a) Reactivos:

- Ácido clorhídrico
- Citrate de sodio
- Cloruro de sodio
- Fosfato dipotásico
- Fosfato monopotásico
- Nitrato de potasio
- Sulfato ferroso
- Sulfato de magnesio

b) Soluciones:

- Ácido iodo-acético  $10^{-5}M$
- Solución salina isotónica 0.85%

## B) METODOLOGIA

El aislamiento de P. aeruginosa se efectuó a partir de muestras - diversas (Líquido cefalorraquídeo, urocultivo, hemocultivo, caté- - teres, etc.) obtenidos de niños, empleando agar MacConkey con el fin de obtener colonias aisladas. La identificación bioquímica -- fué la recomendada por la Asociación Americana de Microbiología y que se describe en capítulos anteriores. Su conservación se reali- zó en medio de Liu y se almacenaron a 4°C hasta su utilización.

## 1.- Producción de piocinas.

Para la determinación de los patrones piocínicos se utilizaron 8 cepas indicadoras para los tipos y 5 complementarias para los sub- tipos de Govan y Gillies, que fueron proporcionadas por el CDC de Atlanta.

La metodología se inició con la siembra de las cepas problema en 7 ml de caldo soya tripticase, incubándose durante 18 h a 35-37°C. Posteriormente éste cultivo se depositó en cajas petri vacías y - estériles para ser sometidas a irradiación con luz ultravioleta - durante 30 seg para estimular la producción de piocinas. Efectua- do éste paso se tomó un inóculo por medio de un hisopo y se sem- braron cajas con agar soya tripticase que contenía una solución - de ácido yodo-acético  $10^{-5}$ N, citrato de sodio 0.1% y fosfato dipo- tásico 0.1%, realizando una sola estria recta y central. Después de 18 h de incubación a 32°C, se desprendió el cultivo con el bor- de de un portaobjetos esterilizado y se agregaron 3 ml de cloro-

Formo a la cubierta de la caja petri invertida durante 15 min con el fin de matar las bacterias restantes, habiéndose difundido las plocinas en el medio. Con las cepas indicadoras, cultivadas en 7 ml de caldo nutritivo con nitrato de potasio al 1% a 37°C durante 4-6 h, se efectuó la siembra en forma perpendicular a la inculación inicial. Se volvió a incubar a 37°C 18 h y luego se compararon los resultados con los 105 patrones de inhibición conocidos - (esquema #1).

## 2.- Producción de exoenzimas hidrolíticas.

Las cepas de P. aeruginosa fueron primeramente sembradas en 3 ml de caldo nutritivo y se incubaron durante 4-6 h a 37°C en agitación. Luego se prosiguió a la biotipificación con distintos sus--tratos. Los medios utilizados fueron los siguientes:

- Agar leche descremada, para el ensayo de proteasas;
- Agar DNasa para el ensayo de la DNasa;
- Agar sangre de carnero para hemolisinas;
- Agar yema de huevo para lecitinasas;
- Medio de gelatina nutritiva para gelatinasa (colagenasa modifi--cado);
- Medio de elastina para elastasa; y
- Medio de tween 80 para lipasas.

La siembra se efectuó utilizando un replicador de Steers, con un inóculo de 0.2-0.4 ml. Se incubaron todos los medios a 37°C de --24 a 48 h, excepto para la DNasa (que fué de 18-24 h), prosiguien--do luego a la lectura en base a las siguientes observaciones:



La presencia de un halo transparente alrededor de la colonia en agar leche descremada indicó una prueba (+) para proteasas.

Para la DNasa, una prueba (+) fué cuando se presentó un aclaramiento alrededor de la colonia.

En agar sangre de carnero, fueron (+) aquellas colonias que presentaron halos de hemólisis.

Una prueba lecitinasasa (+) fué cuando se observó un halo blanquecino alrededor de la colonia en agar yema de huevo.

Para la gelatinasa (colagenasa), la presencia de licuefacción del medio aún después de someterse un tiempo a refrigeración se consideró una prueba (+).

En el medio con elastina, una prueba (+) fué al observar un halo transparente alrededor de la colonia.

Por último, la presencia de lipasa se observó cuando se presentó una aureola turbia alrededor de la colonia en el medio de tween - 80 (éste se apreció mejor después de someterse a refrigeración un día, posterior a la previa incubación).

### 3.- Sensibilidad a los antimicrobianos.

Las cepas de P. aeruginosa, previamente aisladas e identificadas fueron sometidas al ensayo frente a distintos antimicrobianos empleando la técnica de Kirby-Bauer.

Se tomó una asada de la cepa pura y se resuspendió en 3 ml de caldo nutritivo, incubándose por 4-6 h a 37°C. Posteriormente se procedió a ajustar la turbidez de los tubos a una concentración ----

aproximada entre  $1$  y  $5 \times 10^8$  UFC/ml, utilizando el tubo estándar -- 0.5% de la serie de Mac Farland. Luego de éste paso se incubaron las placas de agar Mueller-Hinton, con ayuda de un hisopo estéril aplicando una capa uniforme sobre toda la superficie y, acto seguido, se colocaron los sensidiscos sobre la placa. Se tomó el -- cuidado de que la superficie se encontrara seca al momento de colocar los discos, que no fueron más de 6 por caja. Se procedió a una incubación a  $37^\circ\text{C}$  durante 16-20 h y al término de éste tiempo se observaron los resultados, midiendo las "zonas de inhibición" con la ayuda de una regla ó vernier (esquema #2).

La interpretación se realizó por comparación de resultados con las tablas del método estándar de Kirby-Bauer (30).

NOTA: En ésta prueba se utilizó como control una cepa de P. aeruginosa ATCC 27657.

En la sala de Neonatología del Instituto Nacional de Pediatría se presentó un supuesto brote epidémico por P. aeruginosa, por lo -- que se procedió de la manera siguiente:

Se tomaron muestras del personal médico y paramédico asignado a -- dicha sala. Estas consistieron en muestras de manos y exudados fa -- ringeos. También se procedió al muestreo de la sala, soluciones -- usadas para el lavado de manos, agua, lavabos, agujas estériles e instrumental. A los neonatos se les tomó muestras de piel, copro -- cultivo y exudado faríngeo.

Se realizó el aislamiento e identificación bioquímica y se les --

(31)

determinó, posteriormente, su patrón bioquímico, producción de ex enzimas hidrolíticas y el patrón de resistencia a antibióticos, utilizando la metodología descrita anteriormente (esquema #3).

(ESQUEMA #1)

PRODUCCION DE PIGCINAS

CEPAS DE P. aeruginosa PREVIAMENTE  
CARACTERIZADAS

↓  
SEBRAR EN 7 ml DE CALDO SOYA TRIPTICASE  
(CST) 18 h A 37°C

↓  
VACIAR EN CAJAS PETRI ESTERILES E IRRA  
DIAR CON LUZ UV 30"

↓  
SEBRAR CON UN HISOPO UNA SOLA ESTRIA  
RECTA Y CENTRAL EN AGAR SOYA TRIPTICASE  
(AST) 18 h A 32°C

↓  
DESPRENDER EL CRECIMIENTO BACTERIANO CON  
PORTAOBJETOS ESTERILES. AGREGAR 3 ml DE  
CHCl<sub>3</sub> A LA CUBIERTA DE LAS CAJAS POR 15'

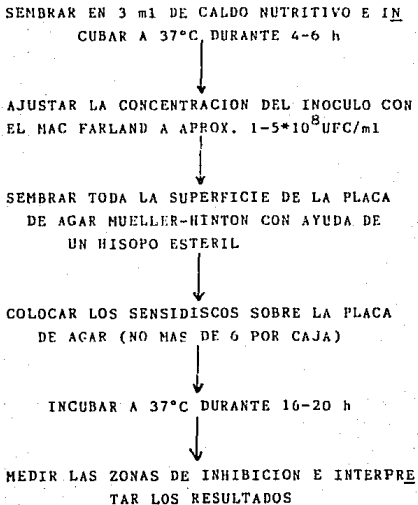
↓  
SEBRAR LAS CEPAS INDICADORAS PREVIAMENTE  
CRECIDAS EN 7 ml DE (CST) DURANTE 4-6 h A  
37°C EN FORMA PERPENDICULAR A LA SIEMBRA  
INICIAL. INCUBAR POR 18 h A 37°C

↓  
COMPARAR LOS RESULTADOS CON LOS PATRONES  
DE INHIBICION CONOCIDOS

(33)

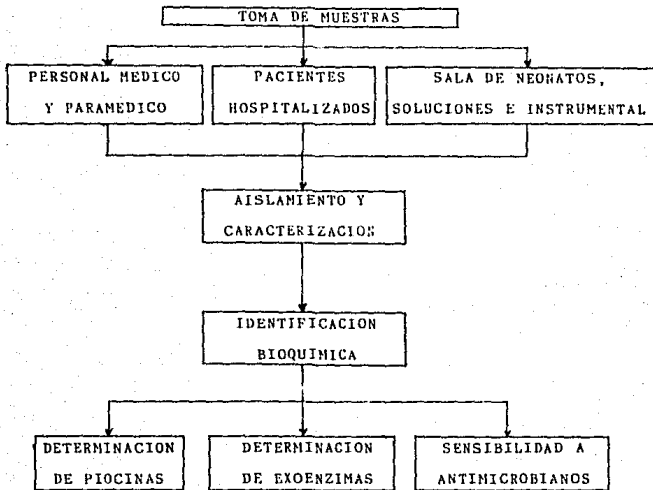
(ESQUEMA #2)

SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS



(34)

(ESQUEMA # 3).



## III RESULTADOS

Durante los años de 1986 y 1987 se encontró que la frecuencia de aislamiento de P. aeruginosa a partir de muestras clínicas de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Pediatría fue la mostrada en el cuadro #1, en el cual se observa el porcentaje más elevado para los catéteres y el menor para los urocultivos y hemocultivos.

Los resultados obtenidos fueron no tomando en cuenta la repetición de aislamientos de las muestras del mismo paciente.

## PATRON PIOCINICO.

De un total de 224 cepas aisladas a partir de mayo de 1986 hasta septiembre de 1987, los patrones piocínicos más frecuentemente encontrados fueron los siguientes:

-Para los TIPOS se encontró al tipo 1 (35.26%) ser el más frecuente, seguido del tipo 5 (8.92%), del tipo 29 (8.48%), etc.. (ver el cuadro #2).

-Para los SUBTIPOS los más importantes fueron el subtipo "f" (41.96%) y el subtipo "y" (26.33%) (cuadro #2-A).

Haciendo un rearrreglo de tipos y subtipos se encontró que los patrones más frecuentes en el (IMP) son el "1f" (14.28%), el "1y" (13.39%), "29f" (6.25%), "5f" (4.46%) y "4f" (4.01%). (cuadro #2-B)

## SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS.

Se determinó la resistencia de las cepas de P. aeruginosa frente a 5 distintos antimicrobianos que fueron: amikacina, gentamicina,

kanamicina, netilmicina y carbenicilina. Se encontró que 64 de 77 cepas ensayadas, 62 (96%) fueron resistentes a la kanamicina, 42 (65%) a la gentamicina, 21 (32%) a la amikacina y sólo 15 (23%) - a la netilmicina y a la carbenicilina.

Los patrones de resistencia más frecuentes son para Gm-Km, seguido de Km (ver cuadro #3).

#### PERFIL ENZIMATICO.

Tratando de caracterizar las cepas por medio de otro marcador se determinó también la actividad hidrolítica de algunas de las enzimas producidas por P. aeruginosa, en la que se encontró que, de las 77 cepas probadas, el 98% fueron capaces de degradar la caseína y el colágeno, el 92% tuvieron actividad sobre la lecitina y los lípidos, el 90% actividad hemolítica, el 53% actividad elastolítica y sólo el 46% tuvo actividad sobre el DNA.

Los arreglos más frecuentes se observan en el cuadro #4.

#### BROTE EPIDEMICO.

Tratando de establecer el origen de un brote epidémico en la sala de Neonatología del (INP) ocurrido durante el mes de septiembre de 1987, se estudiaron 14 recién nacidos de los cuales a 8 se les pudo aislar P. aeruginosa en muestras de exudado faringeo y/o coprocultivo y líquido cefalorraquídeo (LCR) Cuadro #5). Se encontró - también que 7 de éstos neonatos se designaron como prematuros de alto riesgo, presentando poco peso al nacer así como otros facto-



res predisponentes a una infección (cuadro #6).

Del personal médico y paramédico se logró aislar una cepa, con patrón piocínico "6f". En cuanto al muestreo realizado en la sala - se encontraron los patrones "1f" y "1y" ser los más frecuentes.

De las 35 cepas aisladas durante la epidemia, se observó que el 100% fueron capaces de degradar la caseína, el colágeno y la lecitina, en tanto que su actividad sobre lípidos fué del 71%, su actividad de DNasa del 88%, su actividad hemolítica del 51% y únicamente el 11% tuvieron actividad elastolítica. Los rearrreglos más comunes fueron los observados en el cuadro #7.

A 23 de las 35 cepas se les determinó la resistencia a los antimicrobianos usados anteriormente, encontrándose que el 100% fueron resistentes a la kanamicina, el 61% a la gentamicina, el 30% a la amikacina, el 17% a la carbenicilina y sólo el 4% a la netilmicina. Los marcadores más frecuentes fueron Gm-Km, y Km. (cuadro #8).

CUADRO # 1

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE P. aeruginosa EN PACIENTES  
HOSPITALIZADOS EN EL (INP) DURANTE 1986 Y 1987.

MUESTRA	CASOS (+) %		CASOS (+) %	
	1 9 8 6		1 9 8 7	
HEMOCULTIVOS	18 (224)	7.37	22 (290)	7.58
UROCULTIVOS	10 (155)	6.45	12 (152)	7.89
SECRECIONES	18 (183)	9.83	25 (248)	10.08
CATETERES	72 (441)	16.32	78 (678)	11.50
TOTAL	118 (1003)	11.76	137 (1368)	10.01

( ) = NUMERO TOTAL DE AISLAMIENTOS EN EL AÑO.

(39)

CUADRO # 2

TIPOS PIOCINICOS MAS FRECUENTEMENTE ENCONTRADOS EN 224  
CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DE MAYO DE 1986 A SEPTIEM  
BRE DE 1987.

TIPO PIOCINICO	NO. DE CEPAS	PORCENTAJE
1	79	35.26
5	20	8.92
29	19	8.48
4	14	6.25
2	10	4.46
43	8	3.57
10	7	3.12
6	6	2.67
40	5	2.23
31	3	1.33
33	3	1.33
54	3	1.33
63	3	1.33

CEPAS INDICADORAS DE GOVAN ET. AL..

## CUADRO # 2-A

SUBTIPOS PIOCINICOS MAS FRECUENTEMENTE ENCONTRADOS EN 224  
CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DEL (INP) DE MAYO DE 1986  
A SEPTIEMBRE DE 1987.

SUBTIPO PIOCINICO	NO. DE CEPAS	PORCENTAJE
f	94	41.96
y	59	26.33
v	17	7.58
u	13	5.80
m	13	5.80
s	7	3.12
a	6	2.67
o	5	2.23

## CUADRO # 2-B

PATRONES PIOCINICOS MAS FRECUENTEMENTE ENCONTRADOS EN 224  
 CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DEL (INP) DE MAYO DE 1986  
 A SEPTIEMBRE DE 1987.

PATRON PIOCINICO	NO. DE CEPAS	PORCENTAJE
1f	32	14.28
1y	30	13.39
29f	14	6.25
5f	10	4.46
4f	9	4.01
1m	8	3.57
5y	7	3.12
2a	5	2.23
6f	4	1.78
29y	4	1.78

## CUADRO # 3

PATRONES DE RESISTENCIA DE CEPAS DE P. aeruginosa HACIA ALGUNOS  
AMINOGLUCOSIDOS Y CARBENICILINA.

NO. CEPAS	PORCIENTO	NO. MARCADORES	MARCADORES	NO. CEPAS
12	19.0	5	AkGmKmNetCb	12
2	3.2	4	AkGmKmNet	1
			GmKmNetCb	1
7	12.7	3	AkGmKm	5
			GmKmCb	1
			GmKmNet	1
23	36.8	2	GmKm	20
			AkKm	1
			AkGm	1
			KmCb	1
20	28.6	1	Ak	1
			Km	19

Ak= AMIKACINA; Gm= GENTAMICINA; Km= KANAMICINA; Net= NETILMICINA;  
Cb= CARBENICILINA.

## CUADRO # 4

PRODUCCION DE EXOENZIMAS HIDROLITICAS POR CEPAS DE P. deruginosa  
 AISLADAS DEL (INP).

NO. CEPAS	CAS	ELA	COL	LIP	LEC	HEM	ADNasa
18	+	+	+	+	+	+	-
18	+	-	+	+	+	+	-
16	+	+	+	+	+	+	+
9	+	-	+	+	+	+	+
2	+	-	+	+	-	+	+
2	+	+	+	+	+	-	+
2	+	-	+	-	+	+	-
1	+	+	+	+	+	-	-
1	+	+	+	+	-	+	+
1	+	+	+	-	+	-	+
1	+	+	+	-	+	+	-
1	+	-	-	+	+	-	+
1	+	-	+	+	+	-	+
1	+	+	+	+	-	+	-
1	-	-	+	-	-	+	+
1	+	-	+	-	+	+	+
1	+	-	+	+	-	-	+

CAS= CASEINASA; ELA= ELASTASA; COL= COLAGENASA; LIP= LIPASA;

LEC= LECITINASA; HEM= HEMOLISINA; Y ADNasa= DESOXIRIBONUCLEASA.

## CUADRO # 5

PATRONES PIOCINICOS ENCONTRADOS EN 8 PACIENTES HOSPITALIZADOS  
EN LA SALA DE NEONATOLOGIA DEL (INP) EN SEPTIEMBRE DE 1987.

PACIENTE (# EXPED.)	FECHA DE INGRESO	FECHA DE EGRESO	SITIO DEL AIS LAMIENTO	PATRON PIOCINICO
295305	8/VII/87	19/X/87	ex. faringeo	1f
295106*	2/VII/87	7/X/87	LCR	ly
296700	19/VIII/87	12/IX/87	ex. faringeo	ly
296583	15/VIII/87	6/X/87	coprocultivo y ex. faringeo	if, 4f, ly
297228	4/IX/87	15/IX/87	ex. faringeo	1f, 6f
296488	13/VIII/87	15/IX/87	coprocultivo y ex. faringeo	1f
296989	26/VIII/87	10/IX/87	coprocultivo y ex. faringeo	1f
296342	5/VIII/87	28/IX/87	ex. faringeo	1f



## CUADRO # 6

POSIBLES FACTORES PREDISPONENTES EN 8 NEONATOS QUE PRESENTARON AISLAMIENTO POSITIVO PARA P. aeruginosa EN SEPTIEMBRE DE 1987.

PACIENTE (# EXPED.)	FACTORES PREDISPONENTES
295305	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Presentó parto en condiciones sépticas.</li> <li>-Peso 950 g, talla 40 cm.</li> <li>-Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo.</li> <li>-Ingresó a los 101 días de vida extrauterina (eu), presentando Enfermedad Isquémica Intestinal.</li> </ul>
295106*	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Presentó parto por cesárea con complicaciones.(uno de dos gemelos).</li> <li>-Peso 1600 g, talla no referida.</li> <li>-Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo.</li> <li>-Ingresó a los 27 días de vida (eu) presentando una Neuroinfección por <u>Pseudomonas</u>.</li> </ul>
296700	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Presentó ruptura prematura de membranas con 4 días de evolución.</li> <li>-Parto por cesárea con traumatismo.</li> <li>-Peso 1720 g, talla no referida.</li> <li>-Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo.</li> <li>-Ingresó a los 30 min. de vida (eu), presentando Equimosis en la cara (por traumatismo en el parto).</li> </ul>

## CUADRO # 6

(CONT.)

PACIENTE (# EXPED.)	FACTORES PREDISPONENTES
296583	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Parto natural atendido en domicilio.</li> <li>-Peso y talla no referidos.</li> <li>-Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo.</li> <li>-Ingresó al día de vida (eu) presentando Síndrome de Insuficiencia Respiratoria a Enfermedad por Membrana Hialina.</li> </ul>
297228**	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Presentó ruptura precoz de membranas antes de nacer.</li> <li>-Peso 1070 g, talla no referida.</li> <li>-Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo.</li> <li>-Ingresó a los 2 días de vida (eu) con Sobrecarga de Líquidos y Electrolitos (por mal manejo).</li> </ul>
296488**	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Parto por cesárea, presentando complicaciones (sufrimiento fetal).</li> <li>-Peso 3525 g, talla no referida.</li> <li>-Se designó recién nacido de término de alto riesgo.</li> <li>-Ingreso al día de vida (eu) presentando dificultad Respiratoria, Policitemia y Síndrome Dismorfológico.</li> </ul>
296989	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Presentó ruptura precoz de membranas con 6 h de evol.</li> <li>-Parto atendido en domicilio. (gemelos con 1 placenta)</li> <li>-Peso y talla no referidos</li> <li>-Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo.</li> <li>-Ingresó presentando una Ictericia Multifactorial.</li> </ul>

\*\*= Neonatos que fallecieron

## CUADRO # 6

(CONT.)

PACIENTE (# EXPED.)	FACTORES PREDISPONENTES
296242**	-Parto natural atendido en domicilio. -Peso 950 g, talla no referida. -Se designó recién nacido prematuro de alto riesgo. -Ingresó a los 4 días de vida (cu) por presentar Apnea e Ictericia Fisiológica.

\*\*= Neonatos que fallecieron.

## CUADRO # 7

PRODUCCION DE EXOENZIMAS HIDROLITICAS POR CEPAS DE P. aeruginosa  
AISLADAS DE LA SALA DE NEONATOLOGIA DEL (INP).

NO. CEPAS	CAS	ELA	COL	LIP	LEC	HEM	ADNasa
12	+	-	+	+	+	-	+
10	+	-	+	+	+	+	+
4	+	-	+	+	+	+	+
3	+	+	+	-	+	+	+
3	+	-	+	+	+	-	+
2	+	-	+	-	+	+	+
1	+	+	+	-	+	+	+

CAS= CASEINASA; ELA= ELASTASA; COL= COLAGENASA; LIP= LIPASA;  
LEC= LECITINASA; HEM= HENOLISINA; Y ADNasa= DESOXIRIBONUCLEASA.

## CUADRO # 8

PATRONES DE RESISTENCIA DE CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DE LA SALA DE NEONATOLOGIA DEL (INP) HACIA ALGUNOS AMINOGLUCOSIDOS Y CARBENICILINA.

NO. CEPAS	PORCIENTO	NO. MARCADORES	MARCADORES	NO. CEPAS
1	1.6	5	AkGmKmNetCb	1
1	3.2	4	AkGmKmCb	1
4	6.4	3	AkGmKm GmKmCb	3 1
11	16.0	2	GmKm KmCb AkKm	8 1 2
6	11.2	1	Km	6

Ak= AMIKACINA; Gm= GENTAMICINA; Km= KANAMICINA; Net= NETILMICINA;  
Cb= CARBENICILINA.

## IV. DISCUSION DE RESULTADOS.

En el presente trabajo se encontró que la frecuencia de aislamiento de P. aeruginosa en el Instituto Nacional de Pediatría fué de 11.76% en 1986 y 10.01% en 1987. Estos resultados concuerdan con los reportados por Padilla Barrón en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional (CMN) del IMSS (Tabla I). (36).

La frecuencia relativa de Pseudomonas aisladas de infecciones intrahospitalarias de acuerdo al sitio de infección reportadas fué la mostrada en la Tabla II. (36,47).

Considerando que las cateterizaciones intravenosas e intraarteriales son los principales factores de riesgo para contraer una infección post-venopunción y bacteremia, (47) se observa entonces que la frecuencia encontrada en el INP (16.32% en 1986 y 11.50% en 1987) es un poco inferior a la encontrada en el Hospital de Pediatría del CMN, IMSS (20.1%), en tanto que para los hemocultivos (bacteremias) es inferior a la reportada por Padilla Barrón (44). Sin embargo, Vargas Origel (47) reporta una media de 12.04% de -- 1979 a 1983 (Tabla II). Para los urocultivos se observaron porcentajes parecidos, en tanto que las secreciones no se pudieron correlacionar con algunos de los tipos de infección mencionados en la Tabla II.

Para el estudio de las infecciones intrahospitalarias causadas -- por P. aeruginosa se utilizan diversos marcadores. Los que más -- frecuentemente se usan son: La serotipificación, la fagotipia, la

producción de bacteriocinas (piocinas), el patrón de resistencia a antibióticos y, la biotipificación. Entre éstos, los más recomendados son los tres primeros, sin embargo, considerando algunos de ellos difíciles de realizar por un laboratorio de rutina, la determinación de la sensibilidad y producción de piocinas sigue siendo el marcador epidemiológico de elección.

El estudio que realizamos nos permitió identificar un TIPO piocínico predominante (tipo 1). Los porcentajes de los tipos más frecuentemente encontrados en las distintas ciudades del mundo se muestran en la Tabla III, observándose que los resultados obtenidos concuerdan, excepto el tipo 3, que no fue encontrado en dicho estudio. Los subtipos más frecuentes fueron el "f" y el "y" que nos permitió clasificar a las cepas caracterizadas más estrechamente. No obstante, un sólo marcador no es suficiente para establecer el origen de un brote epidémico, por lo que se emplearon también otros marcadores complementarios, como el patrón de resistencia a antibióticos y el ensayo de exoenzimas (biotipificación). Las cepas mostraron una mayor resistencia hacia la kanamicina (96.87%), seguidas de la gentamicina (65.62%), amikacina (32.81%) y por último la netilmicina y carbenicilina (23.43%). Estos resultados varían con los reportados por distintos investigadores (Tabla IV).

La gran variedad que se observa a los distintos antimicrobianos se explica, ya que cada hospital cuenta con distintos programas de vigilancia y control para el tratamiento de las infecciones --

nosocomiales así como diferentes tipos de pacientes, por lo que es necesario normar el empleo de los antibióticos, basándose en la epidemiología de cada hospital (2,3,4,40,41).

Se sabe, por otra parte, que la capacidad de resistencia hacia los antibióticos que tienen éstas bacterias es mediada por plásmidos, siendo otra razón más por la cual se debe establecer un control estricto en el empleo de los antibióticos (9,32).

En cuanto al ensayo de exoenzimas hidrolíticas, se observó que la mayoría de las cepas poseen una gran actividad enzimática, por lo que se encuentran altamente capacitadas para infectar al huésped y producir daño (26).

Tratando de hacer una caracterización fenotípica de las cepas aisladas a partir de muestras clínicas del INP y tomando en cuenta los cuatro patrones piocínicos más frecuentes (1f; 1y; 4f; 20f), se observó que los patrones de resistencia a los antibióticos es variado, no encontrándose relación alguna con el tipo piocínico (ver Tablas V, VI, VII, y VIII).

Una menor variación la observamos en las exoenzimas hidrolíticas, especialmente en las proteasas, lipasas y hemolisinas, no sucediendo lo mismo con la elastasa y AUNasa, las cuales dieron resultados positivos y negativos independientemente del patrón piocínico encontrado (Tablas V, VI, VII, y VIII).

Aplicando todo lo anteriormente expuesto, durante el mes de septiembre se presentó un brote infeccioso por P. aeruginosa en la sala de Neonatología del INP. Se sospechó en un principio que ---



pudo haberse originado por el ingreso de un neonato al cual se le determinó una Neuroinfección por Pseudomonas, ya que de varias muestras de LCR se logró aislar e identificar a dicha bacteria como causante del cuadro. El patrón piocínico encontrado en el recién nacido fue "ly".

Acto seguido, se procedió al muestreo de los demás neonatos asignados a la sala de Neonatología, lográndose el aislamiento en 8 de 14 niños. Se encontró que 4 presentaron el patrón "lf", 1 el "ly" y 2 neonatos más de un patrón piocínico (ver el cuadro # 5 en resultados). Esto descartó la posibilidad de que el recién nacido antes mencionado haya sido el que originó el brote epidémico. Por otra parte, el patrón más frecuentemente encontrado, tanto en las cepas provenientes de muestras clínicas de pacientes hospitalizados como de los neonatos de la sala fué el "lf", por lo que podemos pensar que éstos pacientes pudieron adquirir la P. aeruginosa con dicho patrón por infección cruzada, a través de las manos del personal, que es la forma de transmisión más importante en infecciones intrahospitalarias, de tal modo que contar con las medidas higiénicas apropiadas, como el control estricto en el lavado de manos después de cada contacto con los pacientes (10,30,36,40).

Sin embargo, no podemos confirmar que éste haya sido el mecanismo de transmisión debido a que el muestreo realizado al personal médico y paramédico asignado a la sala reportó un sólo aislamiento de P. aeruginosa cuyo patrón fué "6f".

En cuanto al perfil enzimático, se observó que el 100% de las cepas tuvieron actividad sobre las proteasas (caseína y colágeno), así como a la lecitinasa y en general, al igual que las demás cepas aisladas de distintos pacientes, una gran diversidad enzimática. Aunque esta característica no se puede correlacionar con la capacidad de invasividad al huésped, numerosos estudios nos indican que las exoenzimas están involucradas en procesos infecciosos ocasionados por P. aeruginosa (26).

Además, su producción no se encuentra sujeta a cambios potenciales inducidos por plásmidos, como lo es la resistencia a antibióticos, por lo que es de gran utilidad como un marcador epidemiológico.

El patrón de resistencia a los antimicrobianos de las cepas provenientes de la epidemia presentaron la menor resistencia hacia la carbenicilina (17%) y netilmicina (4%), por lo que se recomiendan en el trato de las infecciones producidas por esta bacteria en el INP durante la época del estudio.

Aunque no pudimos relacionarlo con el patrón picnótico ya que varían, como lo indican las Tablas V, VI, VII y VIII, hay que tomar en cuenta que el uso indebido de los antibióticos ocasiona la aparición de cepas multirresistentes, por lo que una caracterización epidemiológica que incluya el patrón de resistencia a los antimicrobianos nos pueden ayudar en el perfeccionamiento de las medidas terapéuticas.

La caracterización fenotípica no nos asegura que se trate de una sola cepa sin embargo, pareciera ser que las cepas 405, 406 y 441 tuvieran un origen común. La 441 y 442 provienen del mismo niño y varían sólo en la resistencia a la amikacina (ver Tablas V, VI, VII y VIII).

Tomando en cuenta el estado biológico en que se encontraban los recién nacidos infectados por P. aeruginosa se encontró que presentaban varios factores predisponentes. De los 8 neonatos infectados 7 fueron designados prematuros de alto riesgo debido al estado clínico con que ingresaron al INP y a su poco peso al nacer; 3 fueron partos atendidos en domicilio, por lo que las condiciones asépticas no fueron las adecuadas; 3 presentaron ruptura de membranas antes de nacer; 3 provinieron de parto por cesárea y 3 no lograron sobrevivir.

Por último, se sabe que el ingreso de pequeños con mayor riesgo como aquellos que presentan inmadurez, poco peso al nacer, insuficiencia respiratoria, cirugía temprana, así como el uso indiscriminado de antibióticos, falta de organización interdisciplinaria y la deficiencia de los laboratorios de Microbiología y su falta de integración con la clínica, dan como resultado un incremento en las infecciones nosocomiales, morbilidad y mortalidad (2,4). También se sabe que los servicios que agrupan recién nacidos son los que presentan mayor número de infecciones nosocomiales como lo indica la Tabla IX.

TABLA I.

FRECUENCIA RELATIVA DE P. aeruginosa AISLADAS DE INFECCIONES  
INTRAHOSPITALARIAS. HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN, INSS.

GERMEN	P O R C E N T A J E				
	1981 (913)	1982 (903)	1983 (946)	1984 (586)	1985* (385)
<i>Pseudomonas</i> sp.	10.3	8.0	11.2	10.7	9.4

\*ENERO-AGOSTO.

( ) = NUMERO TOTAL DE AISLAMIENTOS CADA AÑO.

TABLA II  
 FRECUENCIA RELATIVA DE P. aeruginosa AISLADOS EN INFECCIONES  
 INTRAHOSPITALARIAS DE ACUERDO AL TIPO DE INFECCION.

TIPO DE INFECCION	NO. DE INFECCIONES DETECTADAS	HOSP. PEDIATRIA CMN, IMSS (82-85). (%)	( * ) (%)	INP	
				1986 (%)	1987 (%)
-SECUNDARIAS A VENO PUNCION.	626	5.3			
-BACTEREMIAS (HEMOCUL TIVOS).	561	14.8	12.04	7.37	7.58
-CATETERES**.		20.1		16.32	11.50
-VIAS URINARIAS (URO CULTIVOS).	178	5.0		6.45	7.89
-SNC	143	7.0			
-HERIDAS QUIRURGICAS	722	11.6			
-ONFALITIS	136	8.0			

( \* )= HEMOCULTIVOS DE PACIENTES DE LA SALA DE NEONATOLOGIA DEL HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL CMN, IMSS DURANTE (1979-1983).

\*\*CATETERES= HERIDAS SECUNDARIAS A VENOPUNCION + BACTEREMIAS.

TABLA III

TIPOS PIOCINICOS MAS FRECUENTES DE P. aeruginosa EN 12 CIUDADES  
USANDO EL METODO DE GOVAN Y GILLIES (10,19).

CIUDAD	% DE LOS TIPOS PIOCINICOS MAS FRECUENTES				REFERENCIA
	1	3	10	5	
AUSTRALIA					
-Victoria	30	21	11	4	-Tagg & Mushin (1971).
-New South Wales	37	16	23	2	-Tagg & Mushin (1971).
SINGAPUR	47	10	17	-	-Tagg & Mushin (1971).
CANADA					
-Toronto	46	8	10	3	-Duncan & Booth (1975).
-Kingston	43	10	9	4	-Tritathy & Chadwick (1971)
ESCOSIA	34	25	3	8	-Govan & Gillies (1969).
HUNGRIA	29	20	15	6	-Csizsar & Lanyi (1970).
INGLATERRA	42	11	11	5	-Al-Dujaili & Harris (1974).
HOLANDA					
-Amsterdam	33	11	4	3	-Siem (1972).
-Arnhem	33	23	8	7	-Siem (1972).
ALEMANIA	18	16	7	9	-Neussel (1971).
ISRAEL	40	8	11	5	-Mushin & Ziv (1973).
NORWAY	32	20	6	14	-Bergan (1973).
USA					
-Albania	31	10	8	14	-Baltoh & Griffin (1972).
-Milwaukee	52	7	11	3	-Heckman et. al. (1972).
MEXICO					
-Morelia	37	17.2	11.1	5.5	-Cervantes Vega y col. (1986)
NUESTRO ESTUDIO	35.2	-	3.1	8.9	

TABLA IV.

RESISTENCIA A AGENTES ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE P. aeruginosa  
AISLADAS DE DISTINTAS INSTITUCIONES (9,17,47). (%).

AGENTE	SALA DE NEONATOLOGIA DEL HOSP. DE PEDIATRIA DEL CMN, IMSC.					INP 86-87	H.R. LEÑERO	H. N. GEA GONZALEZ	H DEL NIÑO LIMA, PERU.
	79	80	81	82	83				
	AMIKACINA	&	41.6	75.4	100				
GENTANICINA	86.6	75.0	73.6	96.6	80.4	65.62	64.6	24.4	48.7
CARBENICILINA	&	16.6	68.4	53.4	86.0	23.43	60.3	21.7	37.5
NETILMICINA	-	-	-	-	-	23.43	-	-	-
KANAMICINA	-	-	-	-	-	96.87	-	-	87.0

&= NO SE EVALUO SU SENSIBILIDAD.

-- NO SE REPORTARON EN ESTAS REFERENCIAS.

TABLA V.  
 CARACTERIZACION FENOTIPICA DE CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DE  
 MUESTRAS CLINICAS Y DE UN BROTE EPIDEMICO EN EL INP.

CEPA NO.	CAS	ELA	COL	LIP	LEC	HEM	ADNasa	PIOCINAS	RESISTENCIA
389	+	+	+	+	+	+	-	1f	AkGmKmNetCb
348	+	+	+	+	+	+	-	1f	Km
384	+	+	+	+	+	+	+	1f	AkGmKmNetCb
388	+	-	+	+	+	+	+	1f	AkGmKmNetCb
400	+	-	+	+	+	+	-	1f	AkGmKmNetCb
401	+	-	+	+	+	+	-	1f	AkGmKm
405	+	-	+	+	+	+	-	1f	GmKm
406	+	-	+	+	+	+	-	1f	GmKm
441*	+	-	+	+	+	+	-	1f	GmKm
442*	+	-	+	+	+	+	-	1f	AkGmKm
445*	+	-	+	+	+	+	-	1f	AkGmKm
468*	+	-	+	+	+	+	+	1f	GmKm Cb
475*	+	-	+	+	+	-	+	1f	Km

CAS=CASEINASA; ELA= ELASTASA; COL= COLAGENASA; LIP= LIPASA; LEC= LECITINASA; HEM= HEMOLISINAS; ADNasa= DESOXIRRIBONUCLEASA; Ak= AMIKACINA; Gm= GENTAMICINA; Km= KANAMICINA; Net= NETILNICINA; Cb= CARBENICILINA. \* = CEPAS DEL BROTE EPIDEMICO.



TABLA VI.  
 CARACTERIZACION FENOTIPICA DE CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DE  
 MUESTRAS CLINICAS Y DE UN BROTE EPIDEMICO EN EL INP.

CEPA NO.	CAS	ELA	COL	LIP	LEC	HEM	ADNasa	PIOCINAS	RESISTENCIA
46	+	-	+	+	+	+	+	ly	GmKm Cb
332	+	+	+	+	+	-	+	ly	AkGm
380	+	-	+	+	+	+	+	ly	AkGmKmNetCb
402	+	-	+	-	+	+	+	ly	AkGmKmNet
444*	+	-	+	+	+	+	-	ly	GmKm
474*	+	-	+	+	+	+	+	ly	.Km

PARA LAS ABREVIATURAS VER TABLA V.

TABLA VII  
 CARACTERIZACION FENOTIPICA DE CEPAS DE P.aeruginosa AISLADAS DE  
 MUESTRAS CLINICAS Y DE UN BROTE EPIDEMICO EN EL INP.

CEPA NO.	CAS	ELA	COL	LIP	LEC	HEM	ADNasa	PIOCINAS	RESISTENCIA
61	+	+	+	-	+	-	+	4f	GmKm
381	+	+	+	+	+	+	-	4f	AkGmKmNetCb
478*	+	-	+	+	+	+	+	4f	GmKm
479*	+	-	+	+	+	+	+	4f	Km Cb

(67)

PARA LAS ABREVIATURAS VER TABLA V.

TABLA VIII.

CARACTERIZACION FENOTIPICA DE CEPAS DE P. aeruginosa AISLADAS DE  
MUESTRAS CLINICAS Y DE UN BROTE EPIDEMICO EN EL INP.

CEPA NO.	CAS	ELA	COL	LIP	LEC	HEM	ADN <sub>asa</sub>	PIOCINAS	RESISTENCIA
340	+	+	+	+	+	+	-	29f	Km
359	+	+	+	+	+	+	-	29f	GmKm
364	+	-	+	+	+	+	-	29f	AkGmKm
367	+	-	+	+	+	+	-	29f	Km
368	+	+	+	+	+	+	+	29f	GmKm
369	+	+	+	+	+	+	-	29f	AkGmKm
379	+	+	+	+	+	+	+	29f	GmKm
383	+	-	+	+	+	+	+	29f	GmKm
386	+	-	+	+	+	+	+	29f	Km

PARA LAS ABREVIATURAS VER TABLA V.

TABLA IX.

TASAS DE INCIDENCIA DE LAS INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS POR  
 DIVISION Y SERVICIOS CLINICOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN,  
 IMSS (4,36).

DIVISION Y SERVICIOS CLINICOS	P O R C E N T A J E				
	1981	1982	1983	1984	1985*
-NEONATOLOGIA	33.9	34.0	29.0	36.2	34.1
-GASTROENTEROLOGIA	15.0	39.4	24.9	26.5	13.4
-INFECTOLOGIA	14.8	20.5	26.3	18.5	13.9
-HEMATOLOGIA	23.8	16.3	17.3	11.6	20.9
-NUTRICION	6.8	8.9	14.4	24.8	33.0
-CUIDADOS INTENSIVOS	10.9	12.8	10.6	15.5	16.6
-NEUMOLOGIA	3.5	2.7	2.5	11.4	15.2
-ONCOLOGIA	13.2	8.3	4.9	9.0	5.7
-NEFROLOGIA	3.9	3.0	3.5	5.2	7.8
-PEDIATRIA GENERAL	6.1	4.4	2.2	2.4	5.3
-ENDOCRINOLOGIA	1.3	0.6	1.6	0.0	2.8

\*ENERO-AGOSTO.

V. CONCLUSIONES.

- 1.- La frecuencia de aislamiento de P. aeruginosa a partir de --- muestras clínicas obtenidas de pacientes hospitalizados en el INP fué de 11.76% en 1986 y 10.01% en 1987.
- 2.- El patrón bioquímico que predominó en la caracterización de -- las 224 cepas aisladas en el período de mayo de 1986 a sep--- tiembre de 1987 fué el TIPO 1 (35.26%). Tomando en cuenta los TIPOS y SUBTIPOS, los patrones bioquímicos más frecuentes fueron el "1f" (14.28%) y el "1y" (13.39%).
- 3.- En el estudio del brote epidémico en la sala de Neonatología del INP durante el mes de septiembre de 1987, se concluye lo siguiente:
  - A). El patrón bioquímico predominante de las cepas aisladas durante la epidemia fué el "1f".
  - B). Las cepas aisladas presentaron una gran actividad enzimática, estando ampliamente capacitadas para infectar al -- huésped y producir daño.
  - C). Las cepas presentaron una gran sensibilidad hacia la Carbenicilina y Netilmicina, al igual que las aisladas de -- las muestras clínicas.
  - D). El mecanismo más probable de transmisión de dicho brote - pudo deberse al contacto directo, a través de las manos - del personal.

## ANEXO.

## I. MEDIO DE ELASTINA (42).

## SOLUCION "A".

-Fosfato dipotásico	25 g
-Fosfato monopotásico	25 g
-Agua destilada	250 ml

## SOLUCION "B".

-Sulfato de magnesio, $7H_2O$	10 g
-Cloruro de sodio	0.5 g
-Sulfato de hierro, $7H_2O$	0.5 g
-Sulfato de magnesio, $4H_2O$	0.5 g
-Agua destilada	250 ml

## SOLUCION "C".

-Elastina	10 g
-Agua destilada estéril	100 ml

## Preparación:

Disolver 1.5 g de agar en 87.5 ml de agua y esterilizar a  $121^{\circ}C$  por 15 min.. Por separado, mezclar 0.5 ml de la solución "A", 0.5 ml de la solución "B" y 10 ml de la solución "C". Esterilizar por filtración y adicionarla al agar. Enfriar hasta  $40^{\circ}C$  y vaciar en placas.

II. MEDIO DE LIU.

Composición: (g/l)

-Proteasa peptona	10 g
-Extracto de carne	10 g
-Agar	9 g

pH= 7.4

Preparación:

Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar sin solidificar (40°C) y vaciar en tubos inclinados.

## VI. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Allured, V.S., Collier R.J., Carroll S.F., & McKay D.B..  
"Structure of exotoxin A of Pseudomonas aeruginosa at 3.0  
Angstrom resolution". Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 1320-  
1324 [1986].
- 2.- Arredondo, G.J., Solórzano F., Conde G.C.. "Infección nosoco-  
mial en una unidad de cuidados intensivos neonatales: Como  
influye el uso de antibióticos". Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.  
45: 42-46 [1988]
- 3.- Avila, F.C.. "Infecciones nosocomiales en recién nacidos".  
Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 45: 411-414 (1988).
- 4.- Avila, F.C., Ramirez G.L., Alouche A.C., Arredondo G.J. & San-  
tos P.J.. "Infecciones nosocomiales en un hospital pediátrico"  
Salud Pública Mex. 28: 599-610 (1986).
- 5.- Baltch, A.L., Hammer N.C., Smith R.P., Obrig T.G., Conroy J.  
V., Bishop M.B., Egly M.A. & Lutz F.. "Effects of Pseudomonas  
aeruginosa cytotoxin on human serum and granulocytes and their  
microbiological, phagocytic and chemotactic functions".  
Infect. Immun. 48: 498-506 (1985).
- 6.- Baltch, A.L., Obrig R.P., Smith R.P., Hammer N.C., Conroy J.V.  
& Lutz F.. "Production of cytotoxin by clinical strains of  
Pseudomonas aeruginosa". Can. J. Microbiol. 33: 104-111 (1987).
- 7.- Bergan, T., & Hóiby N.. "Epidemiological markers for Pseudomo-  
nas aeruginosa". Acta Path. Microbiol. Scand. [B] 83: 553-560  
(1975).



- 8.- "BERGEY'S MANUAL OF SISTEMATIC BACTERIOLOGY". Baltimore, USA Editores, Williams & Wilkins Co. (1984).
- 9.- Carbajal, G. y Flores W. "Nuevos picocinttipos de Pseudomonas aeruginosa en infecciones infantiles". Bol. of Saint. Panam. 98: 156-162 (1985).
- 10.-Cervantes-Vega, C., Chávez J., Padilla M.E., Rivera N., & Vaca S. "Pyocin types of clinical strain of Pseudomonas aeruginosa isolated in Morelia, México (1980-1984)". Rev. Lat-amer Microbiol. 28: 287-291 (1986).
- 11.-Cross, A.s., Sadoff J.C., Iglewski B.H. & Sokol P.A. "Evidence for the role of toxin A in the pathogenesis of infection with Pseudomonas aeruginosa in humans". J. Infect. Dis. 142: 538-546 (1980).
- 12.-Cryz Jr, S.J., Pitt T.L., Furer E. & Germanier R. "Role of lipopolysaccharide in virulence of Pseudomonas aeruginosa". Infect. Immun. 44: 508-513 (1984).
- 13.-Díaz del Castillo, E. "Pediatría perinatal". Ed. Interamericana na 2e Ed. (1984).
- 14.-Doring, G., Dalhoff A., Vogel O., Brunner H., Droge U & Botzenhart K. "In vivo activity of proteases of Pseudomonas aeruginosa in a rat model". J. Infect. Dis. 149: 532-537 (1984).
- 15.-Doring, G., Goldstein W., Roll A., Schidtz P.O., Hóiby N., & Botzenhart K. "Role of Pseudomonas aeruginosa exoenzymes in lung infections of patients with cystic fibrosis". Infect.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Immun. 49: 557-562 (1985).
- 16.-Elsheikh, E.L., Abaas S. & Wrethind B., "Adherence of Pseudomonas aeruginosa to tracheal epithelial cells of mink". Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. [B] 93: 417-422 (1985).
  - 17.-Garcia, G.R., Osuna D.M., Sánchez S.T., Mejía G.E. y Mendoza H.P., "Sensibilidad in vitro de Pseudomonas aeruginosa". Infectologia 6: 94-100 (1986).
  - 18.-Could, I.M. & Wise R., "Pseudomonas aeruginosa: Clinical manifestations and management". Lancet nov. 30: 1224-1229 (1985).
  - 19.-Govan, J.R.W., "Pyocin typing of Pseudomonas aeruginosa": p61-91 In Bergan T & Norris J.R. (ed) Methods in Microbiology vol. 10 Academic Press, London (1978).
  - 20.-Heck, L.W., Morihara K., Mc Rae W.B. & Muller E.J., "Specific cleavage of human type III and IV collagens by Pseudomonas aeruginosa elastase". Infect. Immun. 51: 115-118 (1986).
  - 21.-Hirayama, T., Kato I., Matsuda F. & Noda M., "Crystallization and some properties of leukocidin from Pseudomonas aeruginosa". Microbiol. Immunol. 27: 575-588 (1983).
  - 22.-Holt, P.S. & Nisfeldt M.L., "Variables which affect suppression of the immune response induced by Pseudomonas aeruginosa exotoxin A". Infect. Immun. 52: 96-100 (1986).
  - 23.-Howe, T.R., Wretling B. & Iglewski B.H., "Comparison of two methods of genetic exchange in determination of genetic locus of the structural gene for Pseudomonas aeruginosa elastase". J. Bacteriol. 156: 58-61 (1983).

- 24.-Jacquot, J., Tournier J.M. & Puchelle E.. "In vitro evidence that human airway lysozyme is cleaved and inactivated by Pseudomonas aeruginosa elastase and not by human leukocyte elastase". Infect. Immun. 47: 555-560 (1985).
- 25.-Jagger, K.S., Bahner D.R. & Warren R.L.. "Protease phenotypes of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients with cystic fibrosis". J. Clin. Microbiol. 17: 55-59 (1983).
- 26.-Janda, J.M. & Bottone E.J.. "Pseudomonas aeruginosa enzyme profile: Predictor of potential invasiveness and use as an epidemiological tool". J. Clin. Microbiol. 4: 55-60 (1981).
- 27.-Janda, J.M., Sheenan D.J. & Bottone E.J.. "Recovery of Pseudomonas aeruginosa colonial dissociants on a protease detection medium". J. Clin. Microbiol. 15: 178-180 (1982).
- 28.-Kharazmi, A., Hóiby N., Doring G. & Valerius N.H.. "Pseudomonas aeruginosa exoproteases inhibit human neutrophil chemiluminescence". Infect. Immun. 44: 587-591 (1984).
- 29.-Koneman, E.W., Allen S.D., Dowell V.R. & Sommers H.M.. "Diagnóstico Microbiológico". Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires (1983).
- 30.-Lennette, E.H., Ballows A., Hausler W.J. & Truant J.P.. "Manual de Microbiología Clínica". Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires (1982).
- 31.-Morihara, K. & Homma J.Y.. "New method of preparing elastase toxoid from Pseudomonas aeruginosa". J. Clin. Microbiol. 23: 53-55 (1986).

- 32.-Mucha, D.K. & Farrand S.K.. "Diversity of determinants encoding carbencillin, gentamicin and tobramycin in nosocomial Pseudomonas aeruginosa". Antimicrob. Agents. Chemother. 30: 281-289 (1986).
- 33.-Nicas, T.I. & Hancock R.E.W.. "Outer membrane protein H-1 of Pseudomonas aeruginosa: Involvement in adaptative and mutational resistance to ethylenediaminetetraacetate, polymixin B and gentamicin". J. Bacteriol. 143: 872-878 (1980).
- 34.-Ohman, D.E., Burns R.P. & Iglewski B.H.. "Corneal infections in mice with toxin A and elastase mutants of Pseudomonas aeruginosa". J. Infect. Dis. 142: 547-555 (1980).
- 35.-Pacifico, L., Chiesa C., Renzulli, F., Cianfrano V., Chiavelli S. & Midulla M.. "In vitro dissociative behavior of Pseudomonas aeruginosa". J. Infect. Dis. 152: 852 (1985).
- 36.-Padilla, B.G., Guiscafré G.H., Martínez G.M., Vargas R.R., Palacios T.J. y Muñoz H.O.. "Epidemiología de las infecciones nosocomiales en un hospital pediátrico". Salud Pública Mex. 28: 599-610 (1986).
- 37.-Parmely, M.J. & Horvat R.T.. "Antigenic specificities of Pseudomonas aeruginosa alkaline protease and elastase defined by human T' cell clones". J. Immunol. 137: 988-994 (1986).
- 38.-Pier, G.B., Desjardins D., Aguilar T., Barnard N. & Speert D. P.. "Polysaccharide surface antigens expressed by nonmucoid isolates of Pseudomonas aeruginosa from cystic fibrosis patients". J. Clin. Microbiol. 24: 189-196 (1986).

- 39.-Pier, G.B.."Pulmonary disease associated with Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis: current status of the host-bag-terium interaction". J. Infect. Dis. 151: 575-580 (1985).
- 40.-Ponce de León, R.S., García G.M. y Volkow F.P.."Resultados iniciales de un programa de infecciones nosocomiales en los Institutos Nacionales de Salud". Salud Pública Mex. 28: 583-592 (1986).
- 41.-Ponce de León, R.S., Romero O.M., Sandoval G.N. y Ruiz P.C.."Eficacia de un programa de control de infecciones nosocomiales: Una posibilidad real para mejorar la calidad de atención médica". Salud Pública Mex. 28: 593-598 (1986).
- 42.-Sbarra, A.J., Gilfillan R.F. & Bardawil W.A.."A plate assay for elastase". Nature (London) 188: 322-323 (1960).
- 43.-Slack, M.P.E. & Nichols W.W.."The penetration of antibiotics through sodium alginate and through the exopolysaccharide of a mucoid strain of Pseudomonas aeruginosa". Lancet sept. 5: 502-503 (1981).
- 44.-Suter, S., Schaad U.B., Roux L., Nydegger U.E. & Waldvogel F.A.."Granulocyte neutral proteases and Pseudomonas elastase as possible causes of airway damage in patients with cystic fibrosis". J. Infect. Dis. 149: 523-531 (1984).
- 45.-Stuer, W., Jaeger K.E. & Winkler U.K.."Purification of extracellular lipase from Pseudomonas aeruginosa". J. Bacteriol. 168: 1070-1074 (1986).

- 46.-Thomassen, M.J., Demko C.A., Boxerbaum B., Stern R.C. & Kuchembrod P.J. "Multiple isolates of Pseudomonas aeruginosa with differing antimicrobial susceptibility patterns from patients with cystic fibrosis". J. Infect. Dis. 140: 873-880 (1979).
- 47.-Vargas, O.A., Escobedo Ch.E. & Mercado A.A. "Epidemiología de las bacteriemias en una unidad de cuidado intensivo neonatal". Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 42: 306-309 (1985).
- 48.-Wahba, A.H. "The production and inactivation of pyocines". J. Hyg. (Camb) 61: 431-441 (1963).
- 49.-Woods, D.E., Schaffer M.S., Eabin H.R., Campbell G.D. & Sokol P.A. "Phenotypic comparison of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from a variety of clinical sites". J. Clin. Microbiol. 24: 260-264 (1986).
- 50.-Zierdt, C.H. & Schmidt P.J. "Dissociation in Pseudomonas aeruginosa". J. Bacteriol. 87: 1003-1010 (1964).
- 51.-Zinsser, H., Jokhk K.W., Willett P.H. & Amos B.D. "Microbiología". Editorial Médica Pnamericana, 17a Ed. (1983).