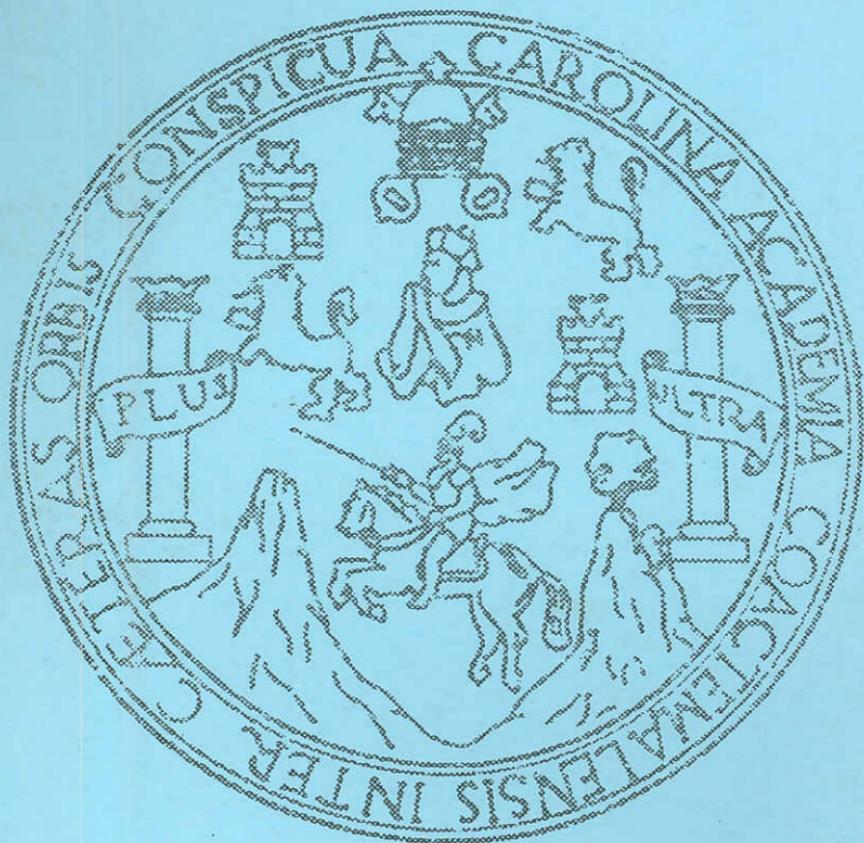


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

RESISTENCIA DE *PSEUDOMONAS* A DIFERENTES
ANTIBIOTICOS EN EL PACIENTE PEDIATRICO



MIRIAM VERÓNICA RUANO

MEDICA Y CIRUJANA

INDICE DE CONTENIDOS

	Página
I. Introducción	3
II. Definición y Análisis del Problema	4
III. Justificación	6
IV. Objetivos	7
V. Revisión Bibliográfica	8
VI. Material y Métodos	31
VII. Presentación de Resultados	39
VIII. Análisis y Discusión de Resultados	57
IX. Conclusiones	63
X. Recomendaciones	64
XI. Resumen	65
XII. Referencias Bibliográficas	66
XIII. Anexos	69

I. INTRODUCCION

En los últimos años a pesar de la diversidad de antibióticos, los microorganismos han presentado patrones de resistencia que no permiten una respuesta adecuada con los tratamientos existentes. Ejemplo de esto son las *Pseudomonas*, microorganismos Gram negativos encontrados más frecuentemente a nivel hospitalario y que presentan una amplia variedad de resistencia antimicrobiana. Hasta el momento el Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital Roosevelt proporciona muy escasa información acerca de la resistencia de *Pseudomonas* en los pacientes pediátricos. Debido a esta razón el presente trabajo de investigación de carácter descriptivo, da a conocer la resistencia que presentan las *Pseudomonas* en el Departamento de Pediatría del mencionado hospital. Para la realización de dicho estudio se obtuvieron 30 muestras de cultivos positivos para *Pseudomonas* de pacientes ingresados en los diferentes servicios de Pediatría durante los meses de mayo y junio de 1999. A las muestras se les realizó susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de tira reactiva y de disco.

Durante el estudio se determinó que varía de manera significativa en algunos antibióticos la resistencia de *Pseudomonas* al ser evaluada por el método de discos y el de tira reactiva. Mediante el método de discos en algunas ocasiones no se presenta resistencia alguna, mientras que mediante la tira reactiva si la hay. También se puede mencionar que en algunos antibióticos la resistencia fue igual en ambos métodos. La frecuencia de multi-resistencia de *Pseudomonas* es elevada.

Este estudio proporciona datos de resistencia de *Pseudomonas* actuales, que beneficia de manera significativa a todo paciente que ingrese a los diferentes servicios del Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt, a quienes sea necesario darles tratamiento para infecciones causadas por este microorganismo.

II. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

Desde el descubrimiento de los antibióticos en la medicina se pensó que todos los procesos o enfermedades infecciosas serían controladas, sin embargo, los gérmenes o microorganismos han venido evolucionando y desarrollando una variedad de mecanismos de resistencia. En las últimas dos décadas se ha identificado un incremento en la resistencia a muchos antibióticos, lo que se considera secundario al uso indiscriminado de éstos. Entre los gérmenes en que se ha visto un aumento en la resistencia antimicrobiana están los Gram negativos que afectan principalmente a pacientes ingresados en áreas hospitalarias. Las especies que se encuentran más frecuentemente implicadas son los bacilos Gram-negativos entéricos como las Enterobacterias, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Serratia* y los bacilos no entéricos como *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (28). Dentro de los bacilos no entéricos, *Pseudomonas* es un microorganismo que genera alta resistencia y por ende una alta morbi-mortalidad y un elevado costo en los servicios de salud. Es de mucha importancia conocer los patrones de susceptibilidad de estos gérmenes para tener un control antimicrobiano apropiado, que incluya la óptima selección, dosificación y duración de tratamiento, así como el control del uso de antibióticos, para prevenir o disminuir la resistencia antimicrobiana (6,24).

En 1996, el Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital Roosevelt dió a conocer datos de sensibilidad y resistencia de bacilos Gram negativos de adultos y pediátricos conjuntamente; los cuales son los últimos datos pediátricos que se tienen de resistencia antimicrobiana.

El Comité de Infecciones Nosocomiales tiene como actividad conocer la situación de la institución, a través de programas de vigilancia epidemiológica por detección del nivel de infección. Se requiere de un Coordinador del Comité, el cual debe de promover una vigilancia epidemiológica adecuada y discutida con las enfermeras de este y presentar en forma regular a los miembros del Comité y las autoridades. Así mismo debe obtenerse en forma regular datos de resistencia bacteriana que pueden ser de utilidad al Comité de Terapéutica para promover el mejor uso, de los antimicrobianos (15).

En 1996, se propuso por parte del Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital Roosevelt la conformación del mismo con personal presupuestado

que requiera aproximadamente 2 plazas medicas y 4 de enfermería para lograr un control que podría ahorrar al Hospital mas de 1.5 millones de quetzales cada año en antibióticos que no serian necesarios. Este proyecto ha sido avalado por las autoridades hospitalarias, pero aun no se tiene respuesta de estas para su formación desde hace mas de un año (16). Esta circunstancia conlleva a que el Comité de Infecciones Nosocomiales no cumpla con su labor de realizar estudios de susceptibilidad antimicrobiana y análisis de estos en cada Departamento del Hospital Roosevelt.

La resistencia a los antibióticos es un fenómeno muy extenso y explica la importancia de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana para los patógenos aislados en los enfermos. Los métodos que se utilizan para determinar la resistencia a los antibióticos se realizan con base a las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) del antibiótico, que pueden ser determinadas por los siguientes métodos: diluciones, discos y tira reactiva.

El método por diluciones es más preciso que el de discos, pero conlleva mucho tiempo y trabajo.

La técnica por discos se utiliza más frecuentemente, y aunque es un método sencillo y económico, ofrece datos incompletos; esto debido a que cada disco tiene una sola concentración del antibiótico ya determinada en microgramos. Al depositar el disco del antibiótico en el medio de cultivo con determinado microorganismo éste da un halo inhibitorio, dependiendo del tamaño del halo en milímetros se dice que el microorganismo es resistente, intermedio o sensible al antibiótico. Al realizar este método no se tienen datos cuantitativos de las CIM, sino únicamente la medición del halo inhibitorio.

El método por tira reactiva tienen varias concentraciones del antibiótico en microgramos por mililitro, las cuales nos van a dar cuantitativamente las CIM de ese antibiótico, mediante una zona inhibitoria de crecimiento en la cual se observa un halo que intercepta con la tira en la cantidad de antibiótico necesaria para la inhibición del crecimiento bacteriano (1). Posteriormente dependiendo de la cantidad en microgramos/mililitro que se reporte se dice si este germen es resistente o sensible al antibiótico en estudio. En esta técnica las CIM estan dadas cuantitativamente, proporcionándonos resultados más precisos que los dados por discos.

III. JUSTIFICACION

El Comité de Infecciones Nosocomiales debe de realizar estudios de susceptibilidad antimicrobiana constantemente en los servicios de un Hospital para así proveer información terapéutica y epidemiológica útil (6,11) para prevenir o disminuir la resistencia antimicrobiana (24). Lastimosamente la falta de recursos económicos y de personal capacitado en el Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital Roosevelt ha hecho difícil la realización y cumplimiento de sus labores en todos los Departamentos de dicho Hospital. Por estas razones es de beneficio la realización de estudios de resistencia antimicrobiana para poder brindar ayuda a los pacientes que estén ingresados en los servicios del Hospital con infecciones.

Al tener conocimiento de la existencia de que un germen es resistente a determinado antibiótico, se evita el uso innecesario de éste, ayudando así a evitar el incremento de resistencia antimicrobiana y el gasto económico al hospital. Con este tipo de estudio también se obtiene beneficio al proveer información sobre el antibiótico que sí es sensible para determinado germen, y que se puede utilizar con éxito para dar tratamiento a los pacientes con infecciones por éste, ya sea que se sospeche o se compruebe.

Dentro de los gérmenes que ocasionan infecciones hospitalarias se encuentran principalmente *Staphylococcus* y bacilos Gram negativos que pueden ser multi-resistentes. Dentro de los gérmenes Gram negativos las *Pseudomonas* se encuentran como la segunda causa de infección entre los bacilos Gram negativos en el Hospital Roosevelt (15); siendo un germen muy virulento y que genera fácilmente resistencia a los antibióticos, es importante conocer la susceptibilidad antimicrobiana de éste. Con los resultados de susceptibilidad se puede ofrecer un tratamiento antimicrobiano más eficaz en aquellos pacientes que tengan una infección por este microorganismo.

La tira reactiva conlleva menos trabajo y tiempo para su realización, con una sensibilidad de un 95-98% a bacterias Gram negativas y *Staphylococcus aureus* respectivamente al compararlo con el método de diluciones y discos (20). Por el contrario la tira reactiva por ser un método de reciente ingreso al mercado guatemalteco tiene un costo sumamente elevado al compararlo con los otros métodos de susceptibilidad antimicrobiana.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- 1- Establecer la resistencia antimicrobiana que presentan las *Pseudomonas* a diferentes antibióticos en los servicios de Pediatría del Hospital Roosevelt.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1- Determinar la frecuencia actual de *Pseudomonas* multi-resistentes a gentamicina, ceftazidima, imipenem, ciprofloxacina y ticarcilina, en los servicios de Pediatría del Hospital Roosevelt.
- 2- Comparar la resistencia antimicrobiana de *Pseudomonas* por el método de discos y la tira reactiva, utilizando únicamente los parámetros de sensible o resistente.

V. REVISION BIBLIOGRAFICA

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia antimicrobiana primero es detectada por métodos de susceptibilidad, los que proporcionan la resistencia de un patógeno y los que tienen implicaciones prácticas para el tratamiento del paciente (13). Las bacterias han evolucionado y han creado una variedad de mecanismos para convertirse en resistentes a los antibióticos y se han adaptado para diseminar esta resistencia al ser adquirida. Análisis de organismos de la era preantibiótica sugieren la evolución de plásmidos R multi-resistentes desde hace 50 años, período que coincide con el descubrimiento y el amplio uso de agentes antimicrobianos (24). Razones por las cuales se cree lo que dice Lewis A. Barnes, M.D.: "Las bacterias son tan inteligentes: que desarrollan resistencia casi simultáneamente con el desarrollo del primer antibiótico." (10).

La detección rápida de resistencia y la identificación de patógenos es crítica para el uso racional de agentes antimicrobianos y la implementación de medidas de control para infecciones. En ausencia de ésta información, el tratamiento es empírico, usualmente involucrando antibióticos de amplio espectro, los que aumentan el desarrollo de resistencia (13). El aumento en el uso de terapias antimicrobianas tiene dos posibilidades de explicarse: 1- aumento en las enfermedades infecciosas, especialmente en niños y especialmente en los inmunocomprometidos; 2- o el uso inapropiado de antibióticos en infecciones virales y enfermedades no infecciosas. Independientemente de la validez o intención, el uso de antibióticos está asociado con el surgimiento de microorganismos resistentes (13).

La noción que un individuo debe de ser responsable de monitorizar la naturaleza y la frecuencia de infecciones hospitalarias se originó en Inglaterra a mediados de los 1,950. El concepto fue transplantado a los Estados Unidos y fue primero aplicado en Stanford en 1,962. Para 1,976 cualquier hospital acreditado por la Joint Commission on Accreditation of Hospitals, tenía que tener a una persona quien su responsabilidad principal era de identificar y con-

trolar las infecciones en un hospital (3). En Guatemala fue el Hospital Roosevelt el que dio el primer paso en la conformación del Comité de Control de Infecciones Nosocomiales en los años 70 y su funcionamiento dependió en mayor o menor medida de la voluntad del personal que allí trabajaba y el mayor o menor apoyo que recibían de las autoridades hospitalarias (16).

ESTRUCTURA DE LA BACTERIA

Para que un agente antibacterial inhiba o destruya un microorganismo susceptible, debe de penetrar la pared bacteriana para alcanzar su sitio de acción, unirse al objetivo de acción que es regularmente esencial en la función bacteriana y eliminarlo. Es crucial comprender la estructura de la bacteria para comprender la resistencia antibacteriana. La bacteria es un microorganismo unicelular clasificado como procariote, que a diferencia de los eucariotes poseen una pared celular compleja. En el citoplasma de la bacteria hay proteínas, enzimas, nutrientes esenciales, ribosomas y DNA. El DNA de la bacteria o el genoma consiste en una sola tira circular, cromosomas enlazados doblemente que codifican para funciones esenciales como crecimiento y división celular. El genoma está en el nucleolo, no está rodeado por una membrana; por lo que ambas transcripción (síntesis de RNA mensajero) y traducción (síntesis proteica) ocurren en el mismo sitio y algunas veces simultáneamente, lo que permite un crecimiento bacteriano rápido. Algunas bacterias poseen plásmidos, circulares extracromosomales, de doble DNA más pequeños en tamaño que el DNA del genoma. Los plásmidos se replican independientemente del genoma y codifican para genes de los cuales el producto no es esencial para la sobrevivencia de la célula pero ofrece beneficio, como factores de virulencia o resistencia antimicrobiana. La síntesis proteica ocurre en las proteínas y complejos de RNA llamados ribosomas. El ribosoma bacteriano 70S, consiste en subunidades 50S y 30S. La membrana citoplásmica o membrana plasmática actúa como una barrera selectiva. Las proteínas en la doble capa de fosfolípidos facilitan el transporte al otro lado de la membrana. Las enzimas se involucran en la reacción metabólica, incluyendo fosforilación oxidativa y el transporte de electrones en bacterias aerobias, síntesis de la pared celular, de la cápsula y la secreción de productos extracelulares.

La pared celular, es rígida, compleja que actúa como una barrera permeable para moléculas grandes, protege el contenido hipertónico citoplasmático del ambiente, y define la forma de la bacteria. Es llamada también la capa de peptidoglicano. Está compuesta de cadenas alternas de azúcares (N-acetil glucosamina y ácido N-acetilmurámico) ligadas por cadenas de tetrapéptidos alternando D- y L-amino ácidos para formar una matriz rígida tridimensional. El grosor de la capa de peptidoglicano depende del tipo de bacteria. Bacterias Gram negativas producen una segunda membrana por fuera de la capa de peptidoglicanos llamada la membrana exterior. Esta membrana está compuesta por una capa doble de fosfolípidos en la cual los fosfolípidos de la capa externa han sido sustituidos por moléculas de lipopolisacáridos (LPS). La composición de LPS varía entre las bacterias Gram negativas.

Entre la membrana citoplásmica y la membrana exterior de las bacterias Gram negativas hay un espacio periplasmático, en el cual hay muchas proteínas y enzimas, incluyendo las necesarias para el transporte activo de nutrientes y metabolitos así como enzimas inactivadoras antibacterianas. Hay otras estructuras bacterianas pero estas no son blanco para los agentes antimicrobianos actuales (10,11, 14).

MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA

RESISTENCIA GENETICA

La bacteria posee una variedad de mecanismos genéticos de resistencia antimicrobiana. Pueden tener mutaciones cromosómicas, expresar un gen cromosómico resistente o adquirir nuevo material genético resistente por medio de cambio directo de DNA (por conjugación), por un bacteriófago (transducción), por plásmidos de DNA extracromosómico (por conjugación), o por la adquisición de DNA por transformación (24).

La información codificada en este material genético le permite a la bacteria desarrollar resistencia por tres grandes mecanismos: producción de una enzima que va a inactivar o destruir el antibiótico; alteración del lugar objetivo del antibiótico para evadirlo; o prevención en el acceso del antibiótico al objetivo de acción. No es raro encontrar que una cepa bacteriana encontrada en un hospital posea varios de estos mecanismos de resistencia simultáneamente. Algunas resistencias pueden adquirirse de una sola mutación genética que puede ocurrir espontáneamente, como la alteración en el objetivo de la DNA girasa que resulta en la resistencia a las fluoroquinolo-

nas. Otros mecanismos de resistencia son mas complejos y consisten en genes que codifican la producción de enzimas altamente específicas que inactivan varios antibióticos (ej. Betalactámicos o aminoglucósidos) (10,24).

Los plásmidos son elementos genéticos extracromosomales de doble tira de DNA y son comunes en bacterias. Son autónomos y se replican por sí solos; tienen un origen de replicación y regiones que facilitan su mantenimiento en el huésped bacteriano. Los plásmidos pueden contener genes de resistencia, virulencia y otras funciones, pueden presentarse como únicas o múltiples copias o hasta diferentes plásmidos en un organismo. Algunos plásmidos grandes son conjugados (plásmidos R), ellos se pueden transferir entre organismos y en adición a los genes resistentes, contienen genes para replicación y conjugación. Los genes resistentes en plásmidos pueden diseminarse por extensión en el huésped (24).

Los transposones son elementos genéticos móviles de un lugar del cromosoma a otro, o en diferentes cromosomas o plásmidos. Son incapaces de replicación autónoma y pueden replicarse como parte del cromosoma o plásmido. Los transposones pueden movilizarse de una bacteria a otra (transposones conjugantes) y pueden ser responsables de la resistencia en las bacterias Gram positivas (10,13,24). Una clase de transposones, llamados integrones, consisten en segmentos de DNA conservados que poseen una región central en la que "cassettes" que codifican funciones de resistencia antimicrobiana puedan ser insertados. Los integrones tienen diferentes estructuras y pueden ser parte de plásmidos o transposones. Se conocen por lo menos 50 genes cassettes. Pueden existir libres en una forma circular o como parte de un integrón (13).

La extensión vertical de resistencia antimicrobiana o diseminación clonal, resulta cuando la bacteria resistente es dividida por fusión binaria en 2 células hijas, cada una con copias del genoma y DNA extracromosómico. La diseminación horizontal de información genética de una bacteria a otra puede ocurrir por transformación de DNA, transducción de bacteriófagos o conjugación. El nuevo DNA adquirido puede ser incorporado en el cromosoma de la célula receptora o ser mantenido como plásmido. La transformación involucra la incorporación de DNA soluble exógeno o extraño en el cromosoma bacteriano. La transducción es mediada por plásmidos y en la conjugación se necesita contacto de célula con célula (10).

COLONIZACION

Colonización es cuando el organismo no desencadena una serie de procesos para eliminar a un microorganismo debido a que éste se encuentra en tan pocas cantidades, que no causa daño por el momento al que las presenta. El acercamiento mas conservativo que se tiene con el paciente colonizado, es el de aislarlo, debido a que estos pueden ser un reservorio para transmisión y eventualmente infección de otros pacientes o del personal de salud. Por otro lado estos pacientes son difíciles de identificar, debido a que tienen cantidades pequeñas de microorganismos en comparación a los pacientes infectados, y por esto es muchas veces poco probable que sean fuente de transmisión. Los pacientes colonizados con microorganismos resistentes deben de ser tratados clínicamente como infectados (24).

INFECCION

Una infección es cuando el organismo desencadena una serie de procesos para neutralizar o eliminar, por ejemplo la producción de anticuerpos, antitoxinas, la reacción local de los tejidos, etc.. En una infección el germen se debe de multiplicar un número suficiente de veces para producir manifestaciones clínicas, que le produzcan daño al paciente. Las infecciones pueden permanecer circunscritas a una determinada zona o propagarse por los tejidos vecinos, por la sangre, linfa, conductos, etc. (4).

FACTORES PREDISPONENTES DE INFECCION

No todos los pacientes tienen el mismo riesgo de una infección. Es probable que el determinante mas importante de dicho riesgo sea la resistencia inherente del enfermo a una infección. Las edades extremas, un mal estado nutricional, la gravedad de la enfermedad subyacente y las alteraciones en la integridad de la piel y mucosas aumentan el peligro de una infección. La segunda influencia en el riesgo de infección en el hospital son las manipulaciones diagnóstico y terapéuticas que se llevan a cabo en beneficio del paciente (16,25).

Los antibióticos para combatir infecciones pueden considerarse armas de dos filos. Aunque su uso no suele implicar un aumento del riesgo de complicaciones infecciosas, cuando ocurren nuevas infecciones durante la

antibioticoterapia, los patógenos suelen ser resistentes a los antibióticos (se denominan suprainfecciones) (4).

Los trastornos heredados o adquiridos que afectan a los sistemas de defensa del huésped, son los que mas predisponen a las infecciones, entre estos podemos mencionar a: trastornos de la función o del número de leucocitos, síndrome de inmunodeficiencia congénita o adquirida, neoplasias malignas, inmunosupresión y trasplante, fibrosis quística, diabetes mellitus, malnutrición, deficiencia del complemento, etc. (5,16).

MODO DE TRANSMISION DE INFECCIONES

Los patógenos pueden encontrarse en el ambiente animado e inanimado del hospital. Muebles, ropas de cama, cortinas y otras superficies inanimadas en el hospital muy rara vez alojan microorganismos que causan infecciones en el paciente. Aun pueden establecerse reservorios de patógenos en áreas inanimadas del hospital, en especial en cuidados especializados. El ambiente inanimado de un hospital ha disminuido como fuente de infección o colonización, se estima que cada año ocurren mas de 100,000 infecciones que se relacionan con dispositivos o aparatos. Los dispositivos médicos son ejemplos de imaginación de la tecnología médica que ofrece nuevos beneficios a los pacientes. El ambiente animado del hospital consiste en los pacientes y quienes los cuidan. Estas personas son las fuentes de la mayor parte de los patógenos, y la intimidad de los cuidados del paciente con frecuencia da por resultados que comparta flora bacteriana. Las manos de enfermeras y médicos se contaminan en forma pasajera cuando atienden a un enfermo, y a continuación llevan los patógenos al siguiente (proceso denominado en la Gran Bretaña "infección cruzada"). Con anterioridad la transmisión aérea era un factor importante en la diseminación de patógenos en el hospital. Las bacterias que causan infecciones en heridas se originan en la flora residente de los pacientes en si o del personal del quirófano (25).

PSEUDOMONAS

El grupo *Pseudomonas* está constituido por bastoncillos aerobios Gram negativos móviles, rectos pero que a veces se pueden presentar curvos. Son quimo-organotropos con un metabolismo respiratorio. No fermentan carbohidratos, no son fotosintéticos. Pueden crecer en una variedad de substratos orgánicos excepto en un compuesto de carbono. Algunos de los

cuales producen pigmentos solubles en agua. Se encuentran distribuidas con amplitud en el suelo, agua, plantas y los animales. Hay varias especies reconocidas en este género, las especies son agrupadas en cinco grupos similares basándose en su similitud del RNA ribosómico. Estas crecen con facilidad en medios simples, no necesitan factores orgánicos de crecimiento especiales. Pueden crecer con otros microorganismos. Muchas de las encontradas en los suelos son fluorescentes. Tienen un flagelo polar. El sodio estimula su crecimiento y pueden requerirlo, son sensibles al compuesto vibrio-estático 0129. Producen lipasa y fermentan D-manitol (11,14,18). Las siguientes *Pseudomonas* son aisladas de las muestras de seres humanos, de esta manera se clasificaban anteriormente:

GRUPO	GENERO Y ESPECIE
Fluorescente	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. putida</i>
<i>Pseudomallei</i>	<i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>P. cepacia</i>
Otros	<i>P. maltophilia</i> , <i>P. pseudoalcaligenes</i> , <i>P. putrefaciens</i> , <i>P. stutzeri</i> (11).

PSEUDOMONA AERUGINOSA

Se encuentra distribuida en la naturaleza, y es frecuente descubrirla en los ambientes húmedos de los hospitales. Puede colonizar al ser humano, en el cual es un microorganismo saprofito. Produce enfermedad en personas inmunológicamente comprometidas. La *P. aeruginosa* mide más o menos 0.6 por 2 micrómetros, se encuentra de manera aislada en parejas y ocasionalmente en cadenas cortas. En cultivos es un aerobio obligado que crece con facilidad en muchos tipos de medios de cultivo, y produce en ocasiones un olor dulzón o de uvas. Algunas cepas hemolizan la sangre; esta forma colonias redondas lisas con color verdoso fluorescente. A veces producen el pigmento azuloso no fluorescente piocianina, que se difunde en agar. También elaboran el pigmento fluorescente pioverdina que imparte un color verdoso en agar. Algunas cepas producen el pigmento rojo oscuro piorrubina o el pigmento negro piomelanina.

Esta puede producir muchos tipos de colonias diferentes, las que también tienen actividades bioquímicas y enzimáticas distintas y diversos patrones de

sensibilidad, a los agentes antimicrobianos. Crece a una temperatura que oscila entre 37° - 42° C, su crecimiento a 42° C ayuda a distinguirla de otras especies de *Pseudomonas*. Es positiva a la oxidasa. No fermenta los carbohidratos, pero muchas cepas oxidan la glucosa.

En la *P. aeruginosa* se extiende un pili (fimbrias) desde la superficie celular que fomentan la fijación a las células epiteliales del huésped. El lipopolisacárido, que existe en inmunotipos múltiples, es el causante de muchas de las propiedades endotóxicas del microorganismo. La mayor parte de los aislamientos de *P. aeruginosa* de infecciones clínicas producen enzimas extracelulares, entre ellas la elastasa, proteasa y dos hemolisinas: una fosfolipasa C termolábil y un glucolípido termoestable. Muchas cepas producen exotoxina A, causa de necrosis tisular mortal. En algunos sueros se encuentran antitoxinas contra la exotoxina A, entre ellos los pacientes que se han recuperado de infecciones graves por esta. La *P. aeruginosa* es patógena sólo cuando se introduce en zonas desprovistas de defensas normales (ej. Cuando se alteran mucosas y piel por lesión tisular directa); la bacteria se fija a las mucosas y las coloniza, las invade de manera local y produce enfermedad general. La *P. aeruginosa* produce infecciones de heridas, quemaduras, meningitis, infecciones urinarias, neumonía necrosante, infecciones oculares, otitis externa, septicemia, infecciones por catéteres, etc.. Para su tratamiento se utiliza una penicilina activa - ticarcilina, mezlocilina y piperacilina - combinada con un aminoglucosido por lo general gentamicina, amikacina o tobramicina. Otros medicamentos eficaces son aztreonam, imipenem, quinolonas. Los patrones de sensibilidad varían desde el punto de vista geográfico y deben efectuarse pruebas de sensibilidad como auxiliares de la selección de la terapéutica antimicrobiana (11,14,27). En el siguiente cuadro se incluyen algunos de los mecanismos de resistencia de este germen:

GERMEN	MEC. ESPECIFICO	LOCALIZACION DEL GEN	COMENT.
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	- Betalactamasa alteración de la proteína D2. - Resistente a la DNA girasa. - Eflujo (13,24).	Plásmidos Cromosomal	Específica para Imipenem.

BURKHOLDERIA (PSEUDOMONAS)
CEPACIA Y OTRAS ESPECIES DE
BURKHOLDERIA

El género de las *Burkholderias* fue propuesto en 1,992 para siete especies que eran previamente en el grupo II de las *Pseudomonas*. Todos son patógenos animales o de plantas pero no son patógenos significantes en el ser humano. Como las *Pseudomonas*, *Burkholderia* se encuentran en el suelo y el agua; son productoras de catalasa y no fermentan la glucosa. Las especies se distinguen primariamente en las bases de su fenotipo (producción de pigmento, morfología de las colonias, motilidad y estructura flagelar) y características bioquímicas (incluyendo patrones de fermentación de carbohidratos y producción de indofenol oxidasa, dihidrolasa de arginina y descarboxilasa de lisina). Todas son resistentes a polimixina (13). Las infecciones por estas especies son las siguientes:

ORGANISMO	ENFERMEDAD	ENF. CAUSADA POR	SITIO DE INF.
<i>B. CEPACIA</i>	Fibrosis quística Granulomatosis Crónica Inmunodeficiencia		Pulmones Septicemia Nódulos Linfáticos
<i>B. PSEUDOMALLEI</i>	Diabetes Mellitus Insuficiencia Renal	Melioidosis	Septicemia Pulmones Piel/Músculos Huesos
<i>B. MALLEI</i>		Muermo	Septicemia Piel Peritoneo Nódulos Linfáticos
<i>B. GLADIOLI</i>	Fibrosis quística		Pulmones (13).

B. CEPACIA

Esta es un patógeno primariamente nosocomial y relativamente sin virulencia en el ser humano sano. Las infecciones asociadas a esta son debidas a contaminación de soluciones endovenosas, equipo de broncoscopia y catéteres urinarios, los cuales causan una baja morbilidad. Esta crece en muchos líquidos desinfectantes por lo que es común la contaminación por estos. Pacientes con fibrosis quística y granulomatosis crónica son muy

susceptibles a infecciones por ésta la cual puede ser fatal. La infección mas común por ésta es bacteriemia. Es muy resistente a los antibióticos por lo que es difícil erradicarla. El organismo es resistente a aminoglicosidos y polimixina por la estructura de la pared. Las quinolonas, trimetoprima, cloranfenicol y ceftazidima son efectivos contra este microorganismo (13).

B. PSEUDOMALLEI

Estas son bastoncillos pequeños móviles, aerobios y Gram negativos que se parece a otras *Pseudomonas* no pigmentadas, diferente antigénica, produce la enfermedad melioidosis. Esta ocurre en Birmania, Vietnam, Guam, Filipinas y en el Hemisferio Occidental. Esta causa en estas regiones un 19% de los casos y un 40% de las muertes por septicemia. Están en alto riesgo los pacientes con Diabetes Mellitus é Insuficiencia Renal. Se encuentran en el suelo, el agua y las plantas. La infección humana se origina por contaminación de abrasiones cutáneas y posiblemente por ingestión o inhalación. La melioidosis se puede manifestar como enfermedad pulmonar aguda o crónica y producir abscesos y septicemia tiene una mortalidad elevada si no se trata. También puede causar infección en la piel, músculos e infecciones óseas. Se cree que el tratamiento de elección consiste en 2-3 gramos de cloranfenicol al día en combinación con un aminoglicosido o una tetraciclina. Estudios recientes sugieren que la piperacilina, amoxicilina/ácido clavulanico y cefalosporinas de tercera generación son efectivas. Con frecuencia aparece resistencia a los fármacos (11,13,14).

B. MALLEI

Esta es un bastoncillo pequeño, no móvil ni pigmentado, aerobio y Gram negativo que crece con facilidad en la mayor parte de los medios bacteriológicos. Produce muermo, enfermedad de los caballos transmisible al hombre; el organismo se encuentra presente en las secreciones nasales de los caballos o secreciones pustulosas y se transmite al tener contacto con estas. Puede ser mortal, suele iniciarse como úlcera de la piel o las mucosas seguida por linfangitis y sepsis. Se trata con eficacia con tetraciclina y un aminoglicosido (11,13,14).

B. GLADIOLI

Debido a su pigmentación y su habilidad para crecer en agar selectivo es confundida muchas veces con la *B. cepacia*. Es identificada bioquímicamente debido a que es negativa para la indofenol oxidasa y no produce una reacción ácida a la lactosa o maltosa. Esta ha sido aislada en el esputo de pacientes con fibrosis quística, pero su significado clínico se desconoce (13).

STENOTROPHOMONAS (XANTHOMONAS) MALTOPHILLA

Esta fue originalmente clasificada como *Pseudomonas*, transferida al género de las *Xanthomonas* debido a su reacción química común con estas. Recientemente transferida a su propio género *Stenotrophomonas*, esto debido a su diferencia marcada en apariencia de las otras. Reacciones químicas incluyen indofenol oxidasa negativa y un patrón del metabolismo de los carbohidratos.

Muchas requieren metionina para crecer, tiene una reacción positiva a la ADNasa en agar. Se encuentra frecuentemente en el suelo y agua, y mas común es la causa de infecciones hospitalarias en pacientes inmunocomprometidos. Puede causar colonizaciones en pacientes hospitalizados, bacteriemia, neumonía, endocarditis, infecciones urinarias, infecciones de heridas y otras. Los pacientes en unidades de cuidados intensivos tienen mas riesgo de infección. Es muy resistente al tratamiento antibiótico. Este organismo es resistente al imipenem, aztreonam y a los aminoglicosidos. Los antibióticos mas activos son trimetoprima-sulfametoxazol, minociclina y doxiciclina (13).

OTRAS PSEUDOMONAS

Otras *Pseudomonas* incluyendo *P. putida*, *P. fluorescens* y *P. stutzeri* pueden causar infecciones nosocomiales esporádicas, pero no han sido identificadas como un patógeno de significancia en el ser humano. En las dos décadas pasadas la *S. paucimobilis* ha sido reconocida como un agente etiológico en la septicemia e infecciones localizadas como de la piel, peritonitis e infecciones post-quirúrgicas. Este microorganismo es sensible a los aminoglicosidos, quinolonas y cloranfenicol. El diagnóstico lo efectúa mediante cultivo de las bacterias e identificación de las mismas por las reac-

ciones diferenciales de un grupo complejo de sustratos bioquímicos. Muchos de estos microorganismos tienen patrones de sensibilidad a los agentes antimicrobianos distintos a los de *Pseudomonas aeruginosa* (11, 13,14).

INFECCIONES POR PSEUDOMONA EN PACIENTES EN UNIDADES DE CUIDADOS INTENSIVOS

INFECCIONES DE VIAS URINARIAS

Las infecciones de vías urinarias se consideran las más comunes y causan en un 30-40% de todas las infecciones adquiridas en el hospital. El sondaje uretral, particularmente con sondas permanentes, sobrepasa la barrera mucosa y con frecuencia tiene como resultado la infección del sistema urinario. Cuanto más tiempo permanezcan colocadas, mas probable es que ocurra una infección; casi 5% de pacientes con una sonda desarrolla diario bacteriuria (5,25). Casi todas las infecciones nosocomiales de vías urinarias son asintomáticas o leves, pero una de cada 200 infecciones origina bacteriemia. Por lo regular pacientes con infección de vías urinarias puede presentar disuria, poliuria, globo vesical, fiebre y orina maloliente (4,5,7,23). Muchas infecciones son causadas por cepas de bacterias resistentes a los antibióticos, especialmente en cuidados intensivos en donde pueden diseminarse con facilidad a otros pacientes muy graves. Los microorganismos mas comunes que producen infecciones de vías urinarias en unidades de cuidados intensivos incluyen *E. coli* (30%), *Enterococos* (16%), *Pseudomona* (12%) y *Klebsiella* (6%) (4,5,25). El diagnóstico de infección de vías urinarias debe de realizarse por medio de cultivo de orina, se pueden utilizar 2 medios: agar sangre como medio general no selectivo y un medio selectivo para enterobacterias como agar Mac-Conkey o agar eosina-azul de metileno (EMB), los cuales permiten una diferenciación, entre fermentadores de lactosa y no fermentadores, e inhibe el crecimiento de organismos Gram positivos (8,14,19,29). El diagnóstico de infección nosocomial de vías urinarias es positivo cuando: se encuentran >de 100,000 microorganismos/ml en un paciente con un urocultivo o exámen de orina simple negativo, paciente con infección urinaria previa a quien el siguiente urocultivo demuestra un nuevo microorganismo (>100,000 microorganismos/ml), o bien paciente con síntomas de infección urinaria y piuria (>10 leucocitos/campo) que no estaba presente con anterioridad (3). Una vez aislados los organismos, pueden realizarse pruebas de concentracio-

nes inhibitorias mínimas de diferentes antibióticos. El tratamiento de estas va a depender del germen que se aisle y de la enfermedad subyacente que presente el paciente. Si el tratamiento se inicia antes de disponer de los resultados del cultivo y el antibiograma, se administra una sulfamida de acción corta, como el sulfisoxazol (100-125mg/kg/24hrs. Repartido en 4 dosis), durante 7-10 días, será eficaz contra la mayoría de las cepas de *E. coli*. La nitrofurantoina (5-7mg/kg/24hrs. Repartido en 3-4 dosis) es también muy eficaz y además es activa contra *Klebsiella*, *Enterobacter*. También se pueden usar ampicilina y gentamicina (u otro aminoglucosido) o una cefalosporina de tercera generación por vía parenteral (4,5). Se debe de repetir un cultivo de orina 48-72 horas después de iniciado tratamiento, el cual debe de estar estéril o con una reducción substancial en el recuento bacteriano (8).

Es de mucha importancia asegurarse que las sondas solo se utilicen en pacientes que en realidad requieren drenaje vesical continuo (25).

BACTERIEMIA

Las bacteriemias son las infecciones nosocomiales más importantes. Esta se define como la presencia de bacterias en la sangre, documentada por cultivo de sangre. La bacteriemia puede estar en relación con una infección focal (neumonía, osteomielitis, endocarditis, meningitis). Cuya presencia puede sospecharse o confirmarse rápidamente mediante la anamnesis, la exploración física y los estudios radiográficos o de laboratorio. La identificación del origen de una bacteriemia secundaria permite tratar el foco y también la bacteriemia y evitar recurrencias. Una bacteriemia primaria debe llevar siempre una revisión amplia de todas las venoclisis del paciente y otros dispositivos intravasculares, ya que son fuentes frecuentes de infecciones del torrente sanguíneo. Estas infecciones por venoclisis se deben a microorganismos que penetran en el sistema durante su uso (contaminación extrínseca). El principal sitio de contaminación es el de la canulación. Cuanto más tiempo permanezca colocado el catéter, más probable es que ocurra una infección (4, 5, 25).

La bacteriemia en el niño inmunológicamente normal sin un foco claro de infección frecuente se debe a *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes* (*Streptococo beta hemolítico del grupo A*), *E. coli* y *Salmonella*. Los patógenos que se cultivan con mayor frecuencia en infecciones por venoclisis son: *S. aureus* y *S. epidermidis*, pero un grupo de bacilos Gram

negativos y las especies de *Cándida* también se relacionan con esta (5).

Antibióticos de amplio espectro deben de ser iniciados para cubrir microorganismos Gram negativos y Gram positivos, antes de identificar a la bacteria causal. La terapia para Gram negativos incluye un aminoglucosido y una penicilina anti-*Pseudomonas* (ticarcilina o piperacilina) o una cefalosporina de tercera generación (como ceftazidime). El tratamiento de infecciones nosocomiales debe de estar dirigido al conocimiento que se tenga de la susceptibilidad antimicrobiana de la bacteria en el hospital. Cuando se sospecha de *S. aureus* y *S. epidermidis* resistente a la meticilina, se debe de agregar vancomicina. Bacteriemia anaerobia se da frecuentemente por complicación de infecciones de la boca, abdomen, recto, o pelvis y requiere terapia con clindamicina o metronidazol, además de un antibiótico activo para patógenos entéricos Gram negativos. El identificar a la bacteria específica y el realizar un método de susceptibilidad antimicrobiana, nos ayuda a disminuir la utilización de antibióticos con bajo espectro antimicrobiano, evitar la resistencia bacteriana y reducir la toxicidad de los antibióticos (4).

INFECCION POR CATETERES VENOSOS

Los aspectos esenciales de la prevención de las infecciones por catéteres, se inicia con una técnica aséptica meticulosa al insertar el catéter, el rotar regularmente y el introducir nuevos catéteres en diferentes sitios. Se debe de anotar la fecha en los apósitos; los catéteres periféricos no deben dejarse más de 72 horas a menos que no haya alternativa., las venoclisis se cambian con regularidad; no deben colgar más de 24 horas. El sitio de inserción del catéter se protege con el mismo apósito por el tiempo en que se use el catéter; ya no se considera útil cambiar a diario los apósitos y utilizar ungüentos de antibiótico (25). Los bacilos Gram negativo se han incrementado progresivamente en este tipo de procesos infecciosos, donde gérmenes como *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas cepacia* y *Citrobacter freundii*, hacen en la posibilidad de infusiones contaminadas (15, 17).

NEUMONIA

Las neumonías han sido una enfermedad frecuente y seria durante la historia. Se han hecho exámenes histológicos de las momias egipcias (1,250-1,000 B.C.), donde se encuentran cambios de hepatización en el pulmón compatible con neumonía (8). Neumonía es una inflamación del tejido

pulmonar y esta asociado con consolidación de los alvéolos. Bronquitis es un termino general que se utiliza para describir la inflamación del pulmón que puede estar o no estar asociada a la consolidación (4, 5). Las infecciones de vías respiratorias adquiridas en el hospital (como neumonía y bronquitis), causan el 10-15% de las infecciones nosocomiales. Casi 1% de pacientes que ingresan al hospital desarrollan neumonía. Los pacientes que reciben ventilación mecánica tienen mayor riesgo de adquirir neumonías nosocomiales. Estas infecciones suelen prolongar la permanencia del paciente en el hospital por siete días o más, originar una morbilidad importante y contribuir a la mortalidad de pacientes graves (4, 5, 25). Muchas veces la neumonía nosocomial a diferencia de la adquirida en la comunidad, suele ser una infección mixta que incluye a más de un microorganismo. Los bacilos Gram negativos aerobios causan más de 50% de los casos e incluyen *P. aeruginosa* que produce neumonía necrotizante, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *E. coli* y *Acinetobacter*, entre otros; este último se relaciona en particular con pacientes ventilados en unidades de cuidados intensivos abrumados. Entre los microorganismos Gram positivos, se encuentra con regularidad *S. aureus*, los *Pneumococos* causan 3% de las neumonías nosocomiales. Bacterias anaerobias son las más frecuentes en neumonías por aspiración y abscesos pulmonares. Otros microorganismos que ocasionan neumonía son *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis* y *Salmonella*. Aunque en una unidad de cuidados intensivos de un hospital puede desarrollarse un patógeno predominante, la lista de bacterias es grande. El paciente con neumonía puede presentar: taquipnea, tos, retracción costal, fiebre y secreciones purulentas (4, 5). El diagnóstico se debe de hacer mediante los signos y síntomas de infección respiratoria (fiebre, esputo purulento); sin tener cultivo ni radiografía de tórax, cultivo de esputo o aspirado traqueal en un paciente con signos y síntomas de neumonía o una radiografía de tórax positiva, fiebre y una radiografía positiva sin otra explicación, o que se encuentre un nuevo patógeno en el cultivo de esputo o aspirado en un paciente que tenga una neumonía progresiva (3). La aspiración de secreciones bucofaringeas es el principal acontecimiento inicial de una neumonía nosocomial, los pacientes con deterioro del reflejo nauseoso, sedación, o alteración de la conciencia tienen mayor propensión a la aspiración. Entre menos invasivo sea un procedimiento se tiene menos probabilidad de causar infección nosocomial al paciente (4). El tratamiento de las neumonías debe de estar dirigido al agente causal, entre los antibióticos que mas se usan incluyen amoxicilina, ceftriaxone, eritromicina-sulfadiazina,

meticilina, ticarcilina, clindamicina, vancomicina, etc. (4, 5, 8). La colocación del paciente con la cabeza elevada puede reducir un poco la aspiración. El lavado escrupuloso de las manos inhibe la transmisión de patógenos nosocomiales. La conservación meticulosa del equipo de ventilación y el aseo pulmonar asiduo por las enfermeras reduce los riesgos (6).

OTRAS INFECCIONES CAUSADAS POR PSEUDOMONAS

Entre otras infecciones nosocomiales podemos mencionar a las infecciones de herida quirúrgica, oculares y las transfusiones de sangre y productos hematológicos.

Las infecciones de heridas quirúrgicas corresponden a más del 20% de las infecciones nosocomiales. Si el paciente está desnutrido, su edad esta en uno de los dos extremos de la vida o tienen enfermedades subyacentes importantes, es mas probable que la herida se infecte. Los cocos Gram positivos que se cultiva con mayor frecuencia en infecciones de heridas es el *S. aureus* resistentes a la metilina y especies estreptococica que son sensibles a la mayoría de los antibióticos betalactámicos. Otros microorganismos que contribuyen a estas infecciones incluyen *Enterococos*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *Bacteroides fragilis* (30). Se debe de iniciar tratamiento con antibióticos que cubran el germen aislado, o si se desconoce el germen se debe de utilizar un antibiótico de amplio espectro para cubrir ambos microorganismos Gram negativos y Gram positivos (30). Para evitar estas infecciones se debe de tener un conjunto de técnicas iniciando desde el aseo del quirófano y el personal que proceda a operar, como del personal que tiene a su cuidado al paciente (6).

TRATAMIENTO

Cuando sea posible, se debe de administrar sólo un agente antimicrobial, y el espectro antimicrobial debe de mantenerse lo mas angosto posible. El uso de múltiples antibióticos de amplio espectro está asociado con colonizaciones y sobreinfecciones por organismos resistentes y esto lo hace más caro económicamente. Aunque cuando los pacientes se encuentran en unidades de cuidados intensivos y los que tengan defensas muy bajas, deben de administrarse antibióticos de amplio espectro y estar pendientes de los resultados de los cultivos (7). A continuación se mencionan algunos antibióticos de uso común en pacientes ingresados en el hospital, usados para

cubrir una amplia variedad de gérmenes, especialmente *Pseudomonas*:

AMINOPENICILINAS

El mecanismo de acción de los antibióticos betalactámicos es que se unen a las enzimas de la bacteria e inhiben la síntesis de la pared de estas. Ampicilina y amoxicilina son las más usadas aminopenicilinas. Su espectro de actividad es similar al de la penicilina natural, pero estas son más activas para *Enterococos*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, betalactamasas negativas *Haemophilus influenzae* y algunas *E. coli* y *Proteus*. La resistencia a estas se da por los siguientes mecanismos: 1. Alteraciones estructurales en las uniones de las proteínas de las penicilinas, llevando a disminución en la unión del antibiótico; 2. Disminución en la permeabilidad del antibiótico, como se ha visto en organismos Gram negativos; y 3. Inactivación antimicrobiana (la más común) por la producción de betalactamasa, una enzima bacteriana (7,9,21).

OTROS ANTIBIOTICOS BETALACTAMICOS

Estos son agentes con una estructura betalactámica que no son penicilinas ni cefalosporinas. El imipenem es el agente disponible más activo contra una amplia variedad de bacterias. Se comercializa en combinación con cilastatina, que inhibe la degradación del imipenem por una dipeptidasa tubular renal. Su mecanismo de acción es unirse a las proteínas de unión con la penicilina, interrumpe la síntesis de la pared bacteriana y produce la lisis de los microorganismos susceptibles. Es muy resistente a la hidrólisis por la mayoría de betalactamasas. La actividad contra las Enterobacteriaceae es excelente, inhibe a la mayoría de cepas de *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. La *P. maltophilia* es resistente, inhibe a microorganismos anaerobios, incluyendo al *B. fragilis*. Las náuseas y vómitos son las reacciones adversas más comunes, aunque puede producir convulsiones al administrar dosis altas. Tienen una vida media de 1 hora. Esta combinación de imipenem y cilastatina parece tener una utilidad especial en el tratamiento de infecciones mixtas causadas por microorganismos nosocomiales (7,9). La bacteria puede adquirir resistencia a los betalactámicos debido a la alteración del sitio objetivo, disminución de la permeabilidad celular, elaboración de enzimas inactivas y por tolerancia. El blanco de los betalactá-

micos son las enzimas, referidas como proteínas de unión a la penicilina que son vitales para la división celular, su forma e integridad estructural. Algunos Gram negativos son resistentes a ciertos betalactámicos debido a que estos agentes no pueden penetrar la membrana exterior. Otros como la *P. aeruginosa* y su resistencia al imipenem está dada por mutación en la estructura de los poros conllevando a la disminución de la permeabilidad. Esto sólo da como resultado una resistencia moderada, pero al ser combinada con la producción de enzimas se alcanzan altas resistencias (10).

CEFALOSPORINAS

El mecanismo de acción de estas es similar al de las aminopenicilinas. Las cefalosporinas de primera generación (cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefazolina, cefradina y cefadroxil) son activas en contra de bacterias Gram positivas, incluyendo los que producen betalactamasa como los *Staphylococos*. Bacterias adquiridas en la comunidad como *E. coli*, *Klebsiella* y *Proteus* son usualmente sensibles. Las cefalosporinas de segunda generación (cefamandol, cefoxitina, cefaclor, cefuroxima, cefuroxima axetil, cefonicid, cefotetan y ceforanida) tienen incluido el espectro de las de primera y además cubren varias bacterias Gram negativas. *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Haemophilus*, *Neisseria* algunos *Enterobacter* y *Serratia*, muchos anaerobios son inhibidos. Entre cada una de las cefalosporinas de segunda generación se tiene una leve diferencia entre sensibilidad a determinado microorganismo. Las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefoperazona y ceftazidima) debido a su estabilidad en contra a los betalactamasas y su habilidad de penetrar a la membrana de los bacilos Gram negativos, tienen una gran efectividad en contra de las Enterobacterias. La cefotaxima fue la primera cefalosporina de tercera generación disponible. Tiene una resistencia elevada a las betalactamasas bacterianas y es activa contra muchas bacterias aerobias Gram positivas y Gram negativas. No tiene buena acción contra el *B. fragilis*, tiene una vida media plasmática de 1 hora y debe administrarse cada 4 a 8 horas para las infecciones graves. La ceftriaxona tiene una actividad antimicrobiana similar a la cefotaxima, una vida media de 8 horas, es su rasgo sobresaliente. La ceftazidima tiene un 25-50% de la actividad de la cefotaxima, su característica principal es su buen desempeño contra *Pseudomonas*. Su vida media plasmática es de alrededor 1.5 horas y no se metaboliza (7,9,21).

AMINOGLUCOSIDOS

El mecanismo de acción de los aminoglucoisidos es unirse a la subunidad 30S de las bacterias e inhibir la síntesis proteica de estas. Estos son primariamente activos en contra de bacilos gram negativos aerobios, incluyendo a las *Enterobacterias*, *Pseudomona aeruginosa* y especies *Acinetobacter* y *Providencias*. Estos no deben de usarse solos para tratar bacterias Gram positivas, se deben usar en conjunto con una betalactamasa o vancomicina, las cuales producen sinergismo, especialmente en contra de los *Staphylococos*, *Enterococos*, *Streptococos viridans* y *Listeria*. Los aminoglucoisidos no son efectivos para tratar enfermedades causadas por anaerobios. Pueden producir nefro y ototoxicidad. El mecanismo de resistencia mas común es por vía de modificaciones enzimáticas de la droga. El espectro de actividad antimicrobiana de la amikacina es el más amplio del grupo y tiene un papel especial en los hospitales donde prevalecen microorganismos resistentes a la gentamicina y tobramicina por su singular resistencia a las enzimas inactivadoras de aminoglucoisidos (7,9,22,24). La *P. aeruginosa* puede convertirse en resistente debido a varios mecanismos que interfieren con el transporte citoplasmático. Menos común son las alteraciones en los poros de la membrana exterior y el mas común de estos es por mutaciones en el lipopolisacárido (10, 13).

FLUROQUINOLONAS

El mecanismo de acción de estas es inhibir la DNA girasa, enzima necesaria para la replicación del DNA de la bacteria. Su efecto es bactericida. Su resistencia se debe a mutaciones de los genes que codifican las subunidades de la DNA girasa. Su espectro cubre a las *Enterobacterias* y otras bacterias Gram negativas (9,24). Solo se ha encontrado resistencia particularmente a *Estafilococos*. Eflujo activo de las quinolonas se ha encontrado en cepas susceptibles de *E. coli* y va aumentando en otros bacilos Gram negativos como la *P. aeruginosa* (13).

TETRACICLINAS

La tetraciclina inhibe la síntesis proteica de las bacterias se une a la subunidad 30s de los ribosomas bacterianos. Las tetraciclina poseen amplio rango de actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram

negativas. Entre las tetraciclina tenemos a la metaciclina, demeclociclina, doxiciclina, clortetraciclina, y minociclina, siendo esta última la más activa. Efectos indeseados en niños como el desarrollo de una coloración marrón de las piezas dentarias (2 meses-5 años), depresión del 40% en el crecimiento óseo en lactantes, ha hecho que no se usen en pacientes pediátricos hasta en la adolescencia (9). Los mecanismos de resistencia incluyen un sistema de eflujo (cuando el organismo es capaz de bombear hacia fuera el antibiótico que va entrando a la célula), en el cual la concentración intracelular del agente es reducida; protección ribosómica o por inactivación antibiótica. La resistencia a una tetraciclina implica resistencia a todas, pero el grado de resistencia varía con cada una. La resistencia es transportada por plásmidos o transposones (10,13).

METODO DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

TIRA REACTIVA

La tira reactiva es una técnica cuantitativa para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana en microorganismos Gram negativos y Gram positivos bacterias aeróbicas como las *Enterobacterias*, *Pseudomona*, *Staphylococco* y *Enterococos*, *Pneumococo* y especies de *Haemophilus*. El sistema comprende un gradiente antimicrobiano establecido que se usa para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) en microgramos por mililitro de antibióticos individuales en contra de bacterias que se cultiven en los medios de agar (1).

Los métodos actuales de susceptibilidad antimicrobiana están basados ya sea en técnicas de diluciones o discos. Test de diluciones basados en series de 2 diluciones de antibióticos en medio de agar proporcionan la mejor estimación de las CIM, con menos de 3 pasos de diluciones. La CIM es el valor de determinado antibiótico el cual, bajo ciertas condiciones experimentales, va a inhibir el crecimiento de una bacteria en particular. Las CIM se da como criterio de referencia para definir la sensibilidad de un determinado microorganismo (1).

La tira reactiva está basada en una combinación, de los conceptos de ambos test de dilucion y discos. La tira reactiva se diferencia de los métodos convencionales de discos por el uso de las concentraciones de un antibiótico preformado y establecido. La tira reactiva consiste en una tira de plástico delgada de 5mm de ancho por 50mm de largo. De un lado de la tira están

marcadas las CIM en una escala de microgramos por mililitro. Un código de dos letras designa a el antibiótico. Un gradiente exponencial predefinido del antibiótico, estabilizado y seco, está inmovilizado en el otro lado, con concentraciones máximas cerca de las iniciales del antibiótico y concentraciones mínimas en el lado contralateral a esta. El gradiente de concentraciones va desde rangos de 0.0016 a 256 mcg/ml o 0.002 a 32 mcg/ml, dependiendo del antibiótico. Este rango corresponde a 15 diluciones dobles en un método convencional de CIM.

Cuando la tira se deposita en un plato de agar inoculado hay un efecto de distribución del antibiótico inmediato de la tira a la matriz del plato. Después de el período de incubación de determinada bacteria, se forma un halo simétrico inhibitorio alrededor de la tira. Este halo intersecciona la tira en el valor de la CIM dada en microgramos por mililitro (1).

Las tiras reactivas están divididas en 2 grupos para almacenamiento: Todos los antibióticos betalactamasa son almacenados en el Grupo 1 y deben de ser almacenados en un congelador (-20°C). Otros antibióticos, marcados en el Grupo 2, también deben de ser almacenados en un congelador (-20°C) siempre pendientes de las recomendaciones de almacenamiento finales. Todos los paquetes que no se han abierto deben de almacenarse a temperaturas de -20°C hasta la fecha de expiración. La vida de estos antibióticos se extiende hasta 1-2 años desde el día que fueron hechos. No deben de usarse si las tiras si ya están vencidas, además se debe de evitar todo tipo de humedad que pueda penetrar a la tira o a los compartimentos donde se almacenan. Al sacarse del congelador se debe de dejar el paquete a que llegue a temperatura ambiente por unos 20 minutos. La humedad que se condensa a su alrededor debe de dejarse que se evapore antes de abrirse. Antes de abrirse debe de revisarse el paquete que no tenga rajaduras o agujeros. No se debe de utilizar si tiene algún daño. Al remover las tiras se debe de tener cuidado de no tocar el lado que tiene las concentraciones del antibiótico, o sea la cara contraria a los números, con los dedos (1,2).

Los platos de agar deben de ser incubados inmediatamente. La temperatura de incubación y la atmósfera seleccionada debe ser óptima para la especie de bacteria que se va a evaluar y para la combinación particular bacteria/antibiótico en estudio. Se dan las siguientes recomendaciones:

35°C/16-18 horas/ambiente atmosférico
Aerobios no facultativos y anaerobios facultativos.

35°C/18-24 horas/5% CO₂ si es necesario para el crecimiento
Bacterias como *Haemophilus*, *Streptococcus* y especies de *Pneumococcus*.

35°C/24-48-72 horas/condiciones anaerobias (80-85% N₂, 5-10% CO₂, 10% H₂)

El período de incubación va a depender de las características de crecimiento dependerán particularmente de la especie anaerobia en estudio.

35°C/24 horas/ambiente atmosférico
Meticilina y Oxacilina determinación de MIC con las especies de *Staphylococcus*.

Después del período de incubación requerido y cuando el crecimiento bacteriano se haga visible, se lee el valor de CIM en el punto de inhibición de crecimiento de la bacteria. El tipo de combinación entre bacteria/antibiótico puede afectar la zona de inhibición. Los agentes bactericidas generalmente dan diferentes inhibiciones, mientras los antibióticos bacteriostáticos, en particular las sulfonamidas y trimetoprima, pueden dar zonas de inhibición difusas en la intersección con las CIM. La densidad del inóculo puede afectar el apareamiento de la zona de inhibición de ciertos antibióticos. Un inóculo muy concentrado tiende a dar una línea de intersección menos clara. Si la zona de inhibición está muy difusa o si se forma una zona doble, en la cual se dificulte definir el valor de CIM ya que abarca varios valores, la densidad del inóculo debe de no aceptarse y la muestra debe de repetirse. La técnica con la que se inocula también afecta la zona de inhibición. Muestras mojadas o platos en los que no se dispersa bien la muestra, pueden causar zonas de contacto no lineales. Es de mucha importancia dejar que se seque la muestra en agar antes de aplicar la tira reactiva. Como todo estudio de sensibilidad antimicrobiana, el medio en el que se cultiva tiene efectos en las CIM en varios aspectos. El medio con altos niveles de antagonismo, como timidina y timina, afectaran los resultados de las sulfonamidas y trimetoprima. Variaciones significantes en la osmolaridad y en los niveles de cationes tienen influencia significativa en los valores de CIM de los antibióticos betalactámicos, aminoglucosidos y tetraciclinas. Por lo que es esencial usar un medio de sensibilidad antimicrobiana estándar bien definido para obtener

un resultado fidedigno de CIM. Los mecanismos de acción antibiótica y resistencia pueden resultar en diferentes patrones de crecimiento. Colonias grandes, aisladas mutantes pueden estar presentes en las intersecciones de la zona inhibitoria y la tira, en los antibióticos betalactámicos. En la clindamicina, el halo inhibitorio simétrico puede ocasionalmente estar distorsionado en la zona inhibitoria, dando una apariencia de "bombilla". En los casos de metilina y oxacilina como consecuencia de una resistencia heterogénea, diferentes características de crecimiento pueden verse adentro del halo inhibitorio. Micro y macro colonias, o colonias heterogéneas fuera del halo deben de tomarse como evidencia de resistencia y el valor más alto de CIM debe de ser reportado. Cuando el crecimiento ocurre en toda la tira (no se visualiza halo inhibitorio), la CIM debe de ser reportada como mayor al valor más alto de la escala. Cuando el halo de inhibición está por debajo de la tira (la zona de inhibición no intersecta la tira), la CIM debe ser reportada como menor al valor más bajo de la escala (1,2).

En un estudio que se realizó para evaluar la efectividad y reproductibilidad de la tira reactiva para probar la susceptibilidad del *Streptococo pneumoniae* a la penicilina, cefotaxima y ceftriaxona se obtuvieron excelentes resultados al compararlo con los métodos de microdiluciones, además se comprobó que la resistencia del *Pneumococo* a la penicilina da un pronóstico desfavorable para la respuesta de este a las cefalosporinas (12,26).

VI. MATERIAL Y METODOS

A. METODOLOGIA

1. TIPO DE ESTUDIO

El presente trabajo es de carácter descriptivo.

2. SUJETO DE ESTUDIO

El estudio se realiza en cultivos de pacientes ingresados a los diferentes servicios del Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt, positivos para *Pseudomonas*, que no estén recibiendo tratamiento antibiótico al momento de tomar la muestra.

3. MUESTRA DE ESTUDIO

Para el estudio se tomara una muestra de 30 pacientes que estén ingresados en los servicios del Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt con colonización o infección por *Pseudomonas*. La formula que se utilizó fue la siguiente:

$$M = \frac{N \times p \times q}{(N-1) \frac{(Le)^2}{4} + p \times q}$$

N = Muestra

p = Proporción del problema, si se desconoce es de 0.5.

q = (p-1) 0.5.

Le = Límite de error 0.05 (95%).

N = Muestra de 66 cultivos positivos para *Pseudomonas* en 6 meses en los servicios del Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt. (Libros de cultivos del Laboratorio de Microbiología del Hospital Roosevelt).

$$M = \frac{66 \times 0.5 \times 0.5}{(66-1) \frac{(0.05)^2}{4} + 0.5 \times 0.5}$$

$$M = \frac{16.50}{(65) \frac{(0.0025)}{4} + 0.25}$$

$$M = \frac{16.50}{(65) (0.0006) + 0.25}$$

M = $\frac{16.50}{0.289} = 9$ cultivos positivos para *Pseudomonas* al mes en el Departamento de Pediatría.

4. CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION DE SUJETOS DE ESTUDIO

A. CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes menores de 11 años.
- Pacientes ingresados en los servicios del Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt.
- Pacientes con cultivo positivo a *Pseudomonas*.
- Pacientes con más de un cultivo positivo a *Pseudomonas*, se tomará sólo una muestra.

B. CRITERIOS DE EXCLUSION

No hay.

5. VARIABLES A ESTUDIAR

Las variables que fueron consideradas para el estudio son las siguientes:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA	TIPO DE VARIA.
RESISTENCIA BACTERIANA	Capacidad de la bacteria para no ser inhibido su crecimiento por medio de un antibiótico.	POR DISCOS Se cultiva la bacteria en la caja de Petri y posterior a esto se colocan los distintos antibióticos concentrados en papel absorbente, se dejan en incubación y luego se interpretan dependiendo de el tamaño del halo inhibitorio.	Método de Bauer-Kirby con el estándar de Mac-Farland para medir la resistencia de las bacterias a los antibióticos en estudio. - Ciprofloxacina resistente < o = 12mm - Imipenem < o = 15mm - Gentamicina < o = 14mm - Ceftazidima < o = 14mm - Ticareilina < o = 15mm	Cuantitativa.
		TIRA REACTIVA Se cultiva la bacteria en la caja de Petri y posterior a esto se colocan las distintas tiras con concentraciones de antibiótico ya estables y se interpretan dependiendo en la cantidad de antibiótico que se necesita para inhibir el crecimiento bacteriano. En esta área de inhibición se formara una zona de contacto inhibitoria entre la bacteria y el antibiótico, dada por un halo.	La resistencia mediante la tira reac. se puede observar al tener un halo inhibitorio simétrico que se distorsione en la intersección de las CIM en forma de "bombilla". También se pueden observar difetes características de crecimiento de las bacterias como micro-macro colonias y otras colonias heterogéneas dentro del halo deben de tomarse como resistentes. Se deben de tomar como resis-	Cuantitativa.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIO OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA	TIPO DE VARIA.
----------	--------------------------	--------------------------	------------------------	----------------------

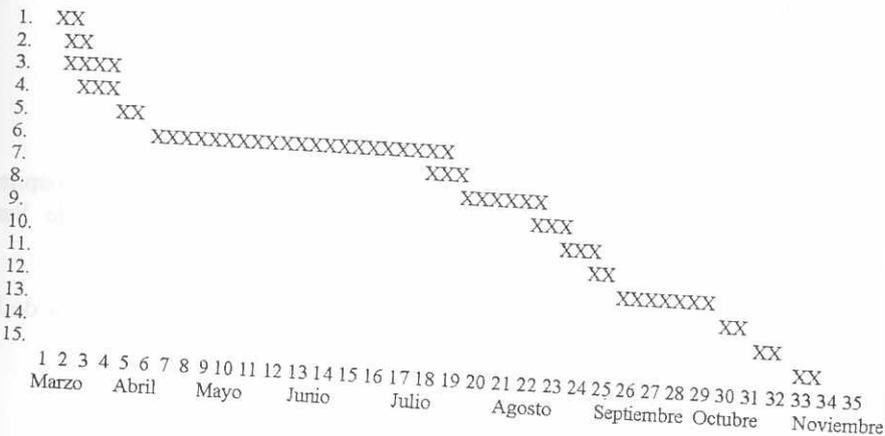
tentes donde
no se presen-
te ningún halo
de crecimiento.
- Ciprofloxacina
resistente
> o = 08 mcg/ml
- Imipenem
> o = 16 mcg/ml
- Gentamicina
> o = 32 mcg/ml
- Ceftazidima
> o = 32 mcg/ml
- Ticarcilina
> o = 128 mcg/ml

6. EJECUCION DE LA INVESTIGACION

Para llevar a cabo la investigación se procedió a hacer un cronograma de actividades, donde aparecieron las diferentes etapas de la investigación. Para esto se aplicó la gráfica de Gantt, que consta de una línea horizontal que ejemplifica las semanas y otra vertical que ejemplifica el número de actividades.

1. Selección del tema del proyecto de investigación.
2. Elección del asesor y revisor.
3. Recopilación del material bibliográfico.
4. Elaboración del proyecto conjuntamente con asesor y revisor.
5. Aprobación del proyecto por el comité de investigación del Hospital Roosevelt y Laboratorio Multidisciplinario de Universidad de San Carlos.
6. Aprobación del proyecto por la Coordinación de Tesis.
7. Diseño de los instrumentos que se utilizaran para la recopilación de la información y capacitación de los encuestadores.
8. Ejecución del trabajo de campo o recopilación de tablas y gráficas.
9. Procesamiento de los datos, elaboración de tablas y gráficas.
10. Análisis y discusión de resultados.
11. Elaboración de conclusiones, recomendaciones y resumen.
12. Presentación del informe final para correcciones.
13. Aprobación del informe final.
14. Impresión del informe final y trámites administrativos.
15. Exámen público de defensa de la tesis.

GRAFICA DE GANTT



3. RECURSOS

1. HUMANOS

- Personal médico.
- Personal de laboratorio.
- Pacientes ingresados a los servicios de Pediatría del Hospital Roosevelt.

2. MATERIALES FISICOS

- Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorios de Microbiología del Hospital Roosevelt.
- Biblioteca de la Universidad de San Carlos de Guatemala, del Hospital Roosevelt, Personal e Internet.
- Tiras reactivas.
- Discos de antibióticos.
- Isopos.
- Cajas de Petri.
- Tubos de ensayo.
- Equipo de transporte.
- Boletas de recolección de datos.

3. ECONOMICOS

- | | |
|---|---|
| a. Discos de Agar y
Equipo de transporte | Proporcionados por Laboratorio
Multidisciplinario. |
| b. Tiras Reactivas | Q3,052.00 \$2.50 c/u
Proporcionado por estudiante. |
| c. Discos de Antibióticos | Q60.00 Proporcionado por estudiante. |
| d. Impresión | Q800.00 |
| e. Otros gastos | Q150.00 |
| Total | Q4,062.00 |

CUADRO No. 1

Distribución por grupo etáreo y sexo de pacientes pediátricos con colonización o infección por *Pseudomonas*, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

EDAD	FEMENINO	MASCULINO	TOTAL
< 28 DIAS	5	5	10
28 DIAS - < 1 AÑO	5	2	7
1 - 4 AÑOS	4	3	7
5 - 9 AÑOS	3	2	5
10 - 11 AÑOS	0	1	1
TOTAL	17	13	30

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

CUADRO No. 2

Distribución por tipo de cultivo y servicio pediátrico, de pacientes con colonización o infección por *Pseudomonas*, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

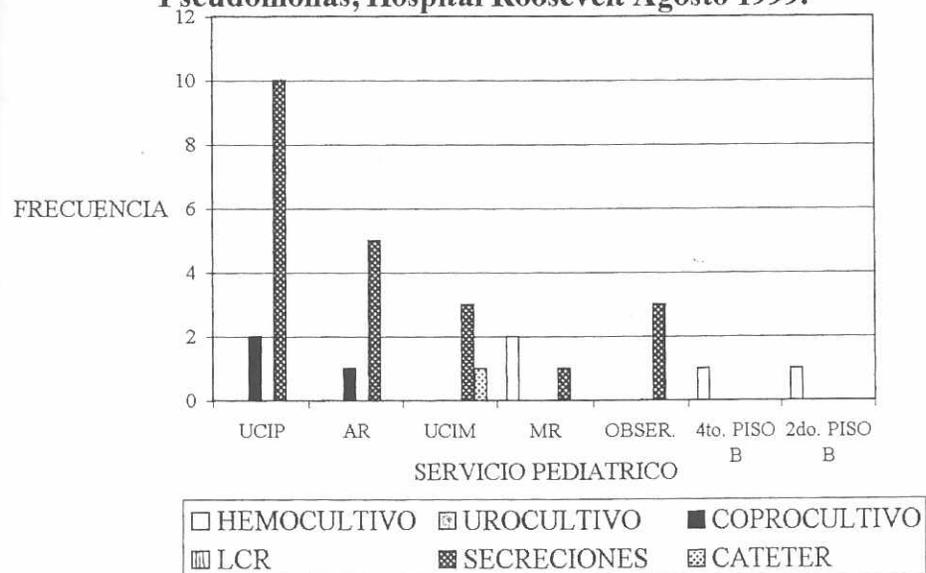
CULTIVO	UCIP	AR	UCIM	MR	OBSER.	4to. PISO "B"	2do. PISO "B"	TOTAL
HEMO-CULTIVO	0	0	0	2	0	1	1	4
UROCU-LTIVO	0	0	0	0	0	0	0	0
COPRO-CULTIVO	2	1	0	0	0	0	0	3
LCR	0	0	0	0	0	0	0	0
SECRE-CIONES	10	5	3	1	3	0	0	22
CATETER	0	0	1	0	0	0	0	1
TOTAL	12	6	4	3	3	1	1	30

UCIP: Unidad de Cuidados Intensivos, pacientes de 9 días a 11 años.
 AR: Alto Riesgo de Neonatología, pacientes < 8 días.
 UCIM: Unidad de Cuidados Intermedios, pacientes de 9 días a 11 años.
 MR: Mínimo Riesgo de Neonatología, pacientes < 8 días.
 OBSER.: Observación, pacientes de 9 días a 11 años.
 2 do. PISO "B": Pacientes < de 1 año.
 4to. PISO "B": Pacientes Hematológicos.
 LCR: Líquido Cefalorraquídeo.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

GRAFICA No.1

Distribución por tipo de cultivo y servicio pediátrico, de pacientes con colonización o infección por *Pseudomonas*, Hospital Roosevelt Agosto 1999.



Fuente: Cuadro No.2

CUADRO No. 3

Tipos de *Pseudomonas* aisladas en 30 cultivos de pacientes pediátricos, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

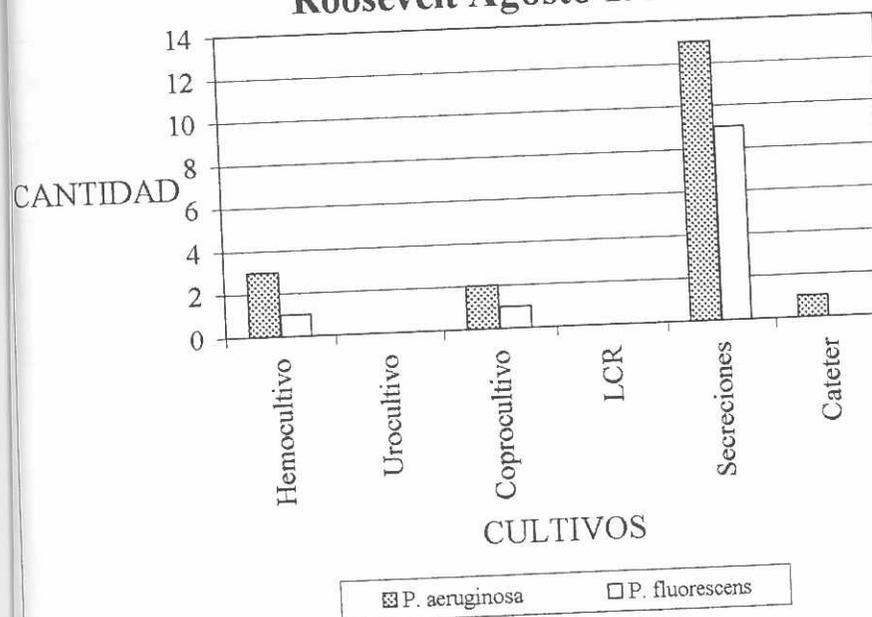
TIPOS	HEMO-CULTIVO	UROCULTIVO	COPRO-CULTIVO	LCR	SECRE-CIONES	CATETER	TOTAL
<i>P. aeruginosa</i>	3	0	2	0	13	1	19
<i>P. fluorescens</i>	1	0	1	0	9	0	11
TOTAL	4	0	3	0	22	1	30

LCR: Líquido Cefalorraquídeo.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

GRAFICA No.2

Tipos de *Pseudomonas* aisladas en 30 cultivos de pacientes pediátricos, Hospital Roosevelt Agosto 1999.



Fuente: Cuadro No.3.

CUADRO No. 4

Resistencia de *Pseudomonas* en 30 pacientes pediátricos, mediante discos de susceptibilidad, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

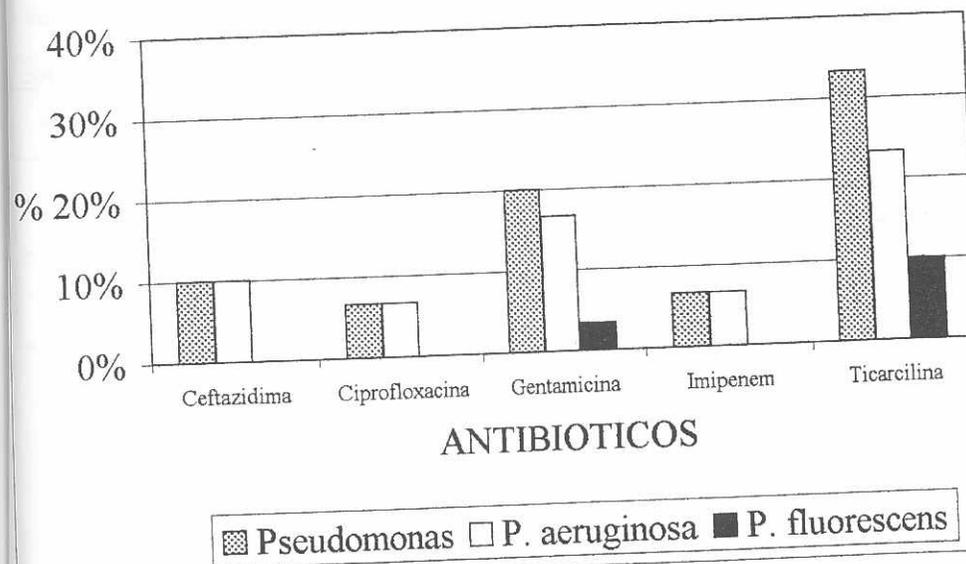
TIPO	Ceftazidima		Ciprofloxa- cina		Gentamicina		Imipenem		Ticarcilina	
	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.
<i>Pseudomonas</i>	10%	3	6.66%	2	20%	6	6.66%	2	33.3%	10
<i>P. aeruginosa</i>	10%	3	6.66%	2	16.6%	5	6.66%	2	23.3%	7
<i>P. fluorescens</i>	0%	0	0%	0	3.33%	1	0%	0	9.99%	3

Frec: Frecuencia de resistencia de 30 cepas.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

GRAFICA No.3

Resistencia de *Pseudomonas* en 30 pacientes pediátricos, mediante discos de susceptibilidad, Hospital Roosevelt Agosto 1999.



Fuente: Cuadro No.4.

CUADRO No. 5

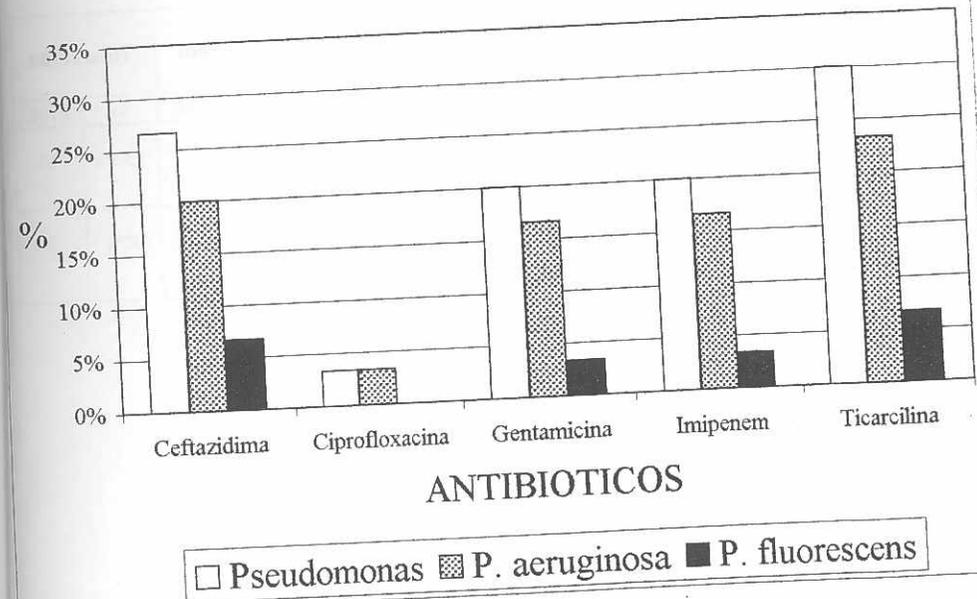
Resistencia de *Pseudomonas* en 30 pacientes pediátricos, mediante tira reactiva, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

TIPO	Ceftazidima		Ciprofloxa-Cina		Gentamicina		Imipenem		Ticarclina	
	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.
<i>Pseudomonas</i>	26.6%	8	3.33%	1	20%	6	20%	6	30%	9
<i>P. Aeruginosa</i>	20%	6	3.33%	1	16.6%	5	16.6%	5	23.3%	7
<i>P. Fluorescens</i>	6.66%	2	0%	0	3.33%	1	3.33%	1	6.67%	2

Frec.: Frecuencia de resistencia de 30 cepas.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo)

GRAFICA No.4
Resistencia de *Pseudomonas* en 30 pacientes pediátricos, mediante tira reactiva, Hospital Roosevelt Agosto 1999.



Fuente: Cuadro No.5.

CUADRO No. 6

Comparación de resistencia de *Pseudomonas* en 30 pacientes pediátricos, mediante discos de susceptibilidad y tira reactiva, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

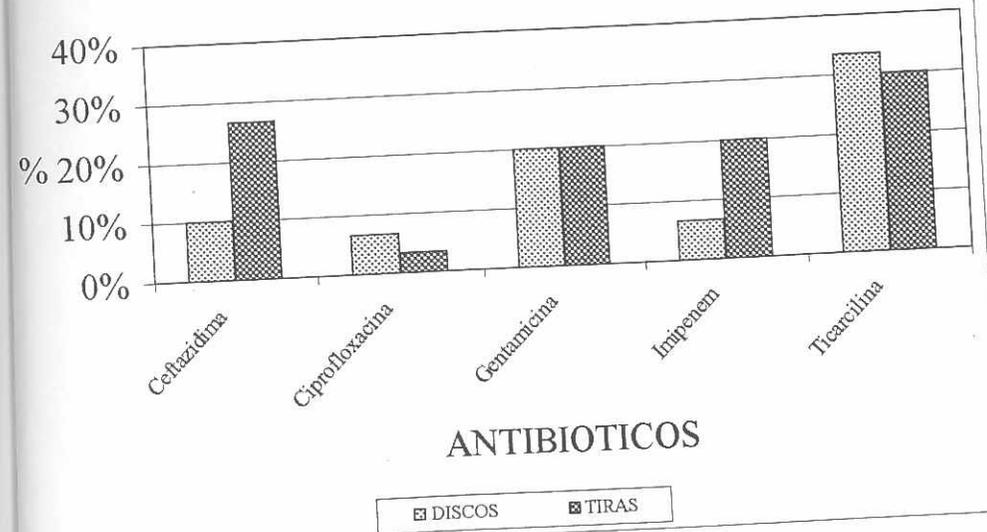
Prueba	Ceftazidima		Ciprofloxa- Cina		Gentamicina		Imipenem		Ticarcilina	
	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.
Discos	10%	3	6.66%	2	20%	6	6.66%	2	33.3%	10
Tiras	26.6%	8	3.33%	1	20%	6	20%	6	30%	9

Frec.: Frecuencia de resistencia de 30 cepas.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

GRAFICA No.5

Comparación de resistencia de *Pseudomonas* en 30 pacientes pediátricos, mediante discos de susceptibilidad y tira reactiva, Hospital Roosevelt Agosto 1999.



Fuente: Cuadro No.6.

CUADRO No. 7

Frecuencia de *Pseudomonas* multi-resistentes en 30 cepas de pacientes pediátricos, mediante discos de susceptibilidad, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

TIPO	FRECUENCIA
<i>P. aeruginosa</i>	6
<i>P. fluorescens</i>	1
TOTAL	7

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

CUADRO No. 8

Frecuencia de *Pseudomonas* multi-resistentes en 30 cepas de pacientes pediátricos, mediante tira reactiva, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

TIPO	FRECUENCIA
<i>P. aeruginosa</i>	7
<i>P. fluorescens</i>	3
TOTAL	10

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo)

CUADRO No. 9

Prueba de Chi – cuadrado al comparar resistencia de *Pseudomonas*, mediante tira reactiva y discos, en pacientes pediátricos, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

SUSCEPTIBILIDAD	TIRA		DISCO		TOTAL	
	%	Frec.	%	Frec.	%	Frec.
SENSIBLE	41%	123	45%	134	86%	257
RESISTENTE	9%	27	5%	16	14%	43
TOTAL	50%	150	50%	150	100%	300

Frec.: Frecuencia de 30 cepas.

Test de Chi-cuadrado

Estadística de Chi-cuadrado (sin corrección de Yates) = 3.285

Con un grado de libertad.

El valor de P es 0.0699, considerado no significativo.

No hay asociación significativa entre filas y columnas.

Radio = 0.543

95% de intervalo de confianza: 0.2797 a 1.058.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo).

CUADRO No. 10

Frecuencia y determinación de CIM mediante tira reactiva en pacientes pediátricos con colonización o infección por *Pseudomonas*, Hospital Roosevelt Agosto 1999.

TIPO	CEFTAZIDIMA		CIPROFLOXACINA		GENTAMICINA		IMPENEM		TICARCILINA	
	Mcg/ml	Frec.	Mcg/ml	Frec.	Mcg/ml	Frec.	Mcg/ml	Frec.	Mcg/ml	Frec.
<i>Pseudomonas</i>	0.75	1	0.064	1	2	2	1.5	2	0.32	1
	1	7	0.125	17	3	14	2	7	8	1
	1.5	10	0.19	3	4	6	3	8	12	1
	2	1	0.5	1	6	1	4	7	16	6
	3	1	0.75	1	8	1	6	2	24	4
	4	1	1	1	>256	6	8	1	32	7
	5	1	2	1			>32	3	48	1
	32	6	3	2					>256	9
	48	1	4	2						
	>256	1	8	1						

CIM: Concentraciones Inhibitorias Mínimas.

Mcg/ml: microgramos por mililitro.

Frec.: Frecuencia.

Fuente: Boleta de recolección de datos. (Anexo)

VIII. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio es muy poca la diferencia que existe entre ambos sexos en cuanto a la frecuencia de adquirir una infección o colonización por *Pseudomonas*. Por esta razón no se puede generalizar que el sexo femenino tenga más predisposición para adquirirlas.

Según la distribución por grupo etáreo, se observa que la mayoría de pacientes infectados o colonizados son neonatos. Los neonatos antes del desarrollo de su propia inmunología están en mayor riesgo de contraer infecciones a diferencia de los preescolares y escolares (4).

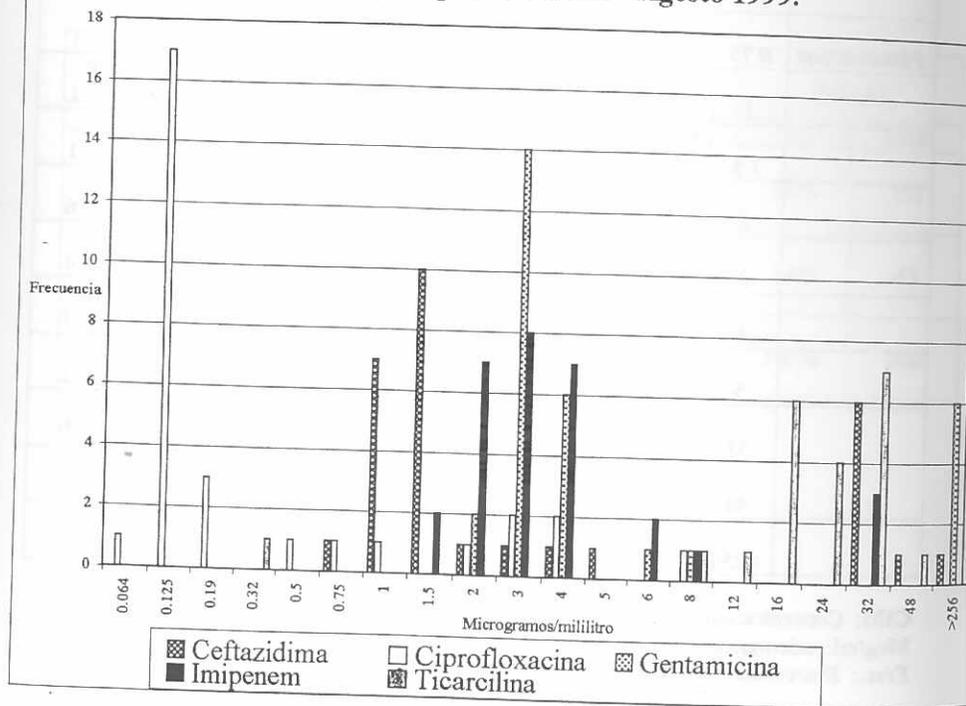
Como podemos observar a medida que aumenta la edad del paciente disminuye la frecuencia de infección o colonización por *Pseudomonas*; debido a que la respuesta inmune del huésped varía según la edad.

La susceptibilidad del huésped a un agente infeccioso específico es una consecuencia directa de la madurez del sistema inmune, la exposición a agentes infecciosos potentes, y la presencia de otra patología coadyuvante (6).

Los servicios pediátricos con mayor frecuencia de aislamientos por *Pseudomonas* son los de intensivo de Pediatría como de Neonatología. En estas áreas se encuentran los pacientes críticos, los cuales se encuentran inmunologicamente comprometidos, y que necesitan muchas veces de ventilación mecánica, la colocación de sondas u otros procedimientos invasivos que hacen más fácil la colonización o infección por diversos gérmenes (17). El tipo de cultivo en el que se aislaron más *Pseudomonas* fueron los provenientes de secreciones, en su mayoría muestras de Intensivo de Pediatría (UCIP) y de Neonatología (AR). Estas altas frecuencias se deben a que la mayoría de estos pacientes se encuentran con ventiladores mecánicos, los cuales proporcionan un medio ambiente húmedo que favorece el crecimiento de *Pseudomonas*. De esta manera se hace fácil el acceso de *Pseudomonas* al Aparato Respiratorio aumentando así el riesgo de adquirir neumonías (5,25). La conservación meticulosa del equipo de ventilación y el aseo pulmonar asiduo reduce los riesgos de adquirir neumonías (6). Otra razón por la cual existe una alta frecuencia de

GRAFICA No.5

Frecuencia y determinación de CIM mediante tira reactiva en pacientes pediátricos con colonización o infección por *Pseudomonas*, Hospital Roosevelt Agosto 1999.



Fuente: Cuadro No. 10.

colonización o infección en estos pacientes se debe a que son manipulados por varias personas (médicos, residentes, estudiantes de medicina, personal de terapia pulmonar, enfermería, etc.) los cuales se contaminan las manos en forma pasajera cuando atienden a un enfermo y a continuación llevan los patógenos al siguiente (proceso denominado en Gran Bretaña "infección cruzada") (25). Acá radica la importancia de hacer énfasis a todo el personal de un hospital sobre los métodos de prevención de contaminaciones, para evitar la propagación de infecciones.

En segundo lugar, se aislaron *Pseudomonas* en hemocultivos, produciendo bacteriemias en los pacientes. Las bacteriemias son las infecciones nosocomiales más importantes (5,25). Con menos frecuencia se aislaron *Pseudomonas* en coprocultivos de pacientes ingresados en Intensivo de Pediatría y de Neonatología; estos pacientes por lo regular se encuentran colonizados por *Pseudomonas* y sirven de foco para la diseminación a otros pacientes. La diseminación puede ser por medio del personal de enfermería, que cuida de la higiene de los pacientes, los cuales muchas veces no se lavan las manos antes de cambiarle la ropa a los distintos pacientes. De esta misma manera los estudiantes de medicina pueden ser responsables de la diseminación de infecciones o colonizaciones, cuando toman las muestras de los cultivos utilizando malas técnicas.

Únicamente se aislaron dos tipos de *Pseudomonas*, *P. fluorescens* y *P. aeruginosa*. Esta última es la más frecuente actualmente y en años anteriores es la única que se reporta (15,17). Ambas se aislaron con mayor frecuencia en cultivos de secreciones. La *P. aeruginosa* se encuentra con más frecuencia debido a que está distribuida en la naturaleza y en los ambientes húmedos de los hospitales (14,17). La *P. fluorescens* se conoce como causante de infecciones nosocomiales esporádicas (14). Es de mucha importancia mencionar que no se tienen reportes de que en el área de Pediatría se aislara *P. fluorescens* (15,17); lo que nos puede dar a conocer que en efecto sólo se presenta en infecciones nosocomiales esporádicas y ésta es una de ellas, o que no se reporta en el laboratorio de microbiología. Otros tipos de *Pseudomonas* que se encuentran frecuentemente en el ambiente hospitalario son la *Burkholderia cepacia* y *Stenotrophomonas* (13) de las cuales no se aisló ninguna cepa.

La resistencia que se reporta de *Pseudomonas* mediante discos es relativamente baja en antibióticos como ciprofloxacina, imipenem y ceftazidima; y alta en gentamicina y ticarcilina. Con estos datos ciprofloxacina e imipenem son los antibióticos de elección para tratar infecciones por *Pseudomonas*, podemos también incluir a ceftazidima para tratar infecciones por *P. fluorescens*. Se tienen datos de resistencia de *P. aeruginosa* mediante discos de Diciembre de 1996 – Febrero de 1997 (17) los cuales son un poco difícil de comparar con los datos actuales, esto se debe a que no se tienen datos de antibióticos como gentamicina y ticarcilina sin ácido clavulánico, además no se tienen datos de otro servicio mas que intensivo. Si se toman del estudio únicamente las 19 cepas de *P. aeruginosa* y se tratan de comparar con los datos anteriores existe un incremento en antibióticos como: ceftazidima, ciprofloxacina e imipenem (17). Este aumento se debe al incremento en el uso de estos antibióticos al tratar *P. aeruginosa*, especialmente con ceftazidima, esto se debe a su buen desempeño contra esta (7).

Mediante la tira reactiva se obtuvo alta resistencia de *Pseudomonas* para la ceftazidima y ticarcilina, lo que se relaciona con el amplio uso de estos medicamentos a nivel hospitalario. Los patrones de resistencia se dan en parte debido a que ya se tienen regímenes establecidos para dar tratamiento a los pacientes pediátricos para cada servicio hospitalario. Por ejemplo, muchas salas de pediatría usan un betalactámico y un aminoglucósido como su primera línea de tratamiento para infecciones, por lo que se ven a veces epidemias de resistencia de microorganismos para ampicilina o gentamicina. La utilización de nuevas cefalosporinas y amikacina desde los años 80 nos ha llevado a tener resistencia también a estos antibióticos (28). En el hospital Roosevelt por lo regular se administra ceftazidima y un aminoglucósido para dar tratamiento a *Pseudomonas*. La resistencia actual de *Pseudomonas* para ceftazidima y gentamicina son elevados por lo que podemos confirmar que el uso frecuente de estos antibióticos nos ha llevado a tener una alta resistencia. La ciprofloxacina es el antibiótico más efectivo actualmente para *Pseudomonas*, pero su uso puede producir efectos adversos como náuseas, malestar abdominal, cefalea y mareos; también pueden ocurrir erupciones, reacciones de fotosensibilidad, atropatía en varias especies de animales inmaduros por lo que su uso no se recomienda a niños preñados ni mujeres embarazadas (9).

Al comparar la resistencia de *P. aeruginosa* mediante ambos métodos, la ceftazidima e imipenem mediante la tira reactiva proporcionan una resistencia de más de el doble que las presentadas por los discos. Esto se debe a que mediante la tira se proporcionan datos del antibiótico exactos en microgramos/mililitro de la cantidad necesaria para inhibir el crecimiento de las *Pseudomonas* (1,2), los cuales en su mayoría fueron cantidades menores a las que se tienen ya concentradas en los discos, lo que puede proporcionar errores en los datos por su elevada concentración. Lo contrario sucedió con ciprofloxacina la tira reactiva proporciona menor resistencia que el disco, la tira da datos más confiables que los discos ya que proporciona las CIM de cada antibiótico para el germen en estudio. La ciprofloxacina se considera que es el medicamento con menos resistencia en los pacientes pediátricos del Hospital Roosevelt, mediante ambos métodos; su sensibilidad se debe a que no se usa en pacientes pediátricos frecuentemente por los efectos adversos que se cree que puede presentar. La gentamicina y ticarcilina presentan alta resistencia mediante ambos métodos, por lo que se debe de tratar de disminuir su uso y de esta manera recuperar una sensibilidad adecuada.

Para establecer la frecuencia de *Pseudomonas* multi-resistentes se tomaron en cuenta las 30 cepas en estudio, de las cuales se seleccionaron únicamente las cepas con resistencia a dos o más antibióticos. La frecuencia de *Pseudomonas* multi-resistentes mediante ambos métodos es elevada. La *P. aeruginosa* presenta más multi-resistencia que la *P. fluorescens*, esto se debe a que se aísla con mayor frecuencia por lo que se ha expuesto más a diferentes antibióticos creando de esta manera resistencia a ellos. La multi-resistencia presentada en orden de mayor a menor: ceftazidima, ticarcilina, gentamicina, imipenem y ciprofloxacina. La ceftazidima y gentamicina se utilizan conjuntamente para tratar infecciones por *Pseudomonas* por lo que su resistencia es conjuntamente elevada. Esta multi-resistencia obliga a los médicos a que utilicen nuevos medicamentos con más amplio espectro o más especificidad para *Pseudomonas* y a la disminución en la utilización de los actuales por un tiempo determinado para tratar de recuperar valores de sensibilidad adecuados.

Se aplica la prueba de chi-cuadrado a este estudio para evaluar si existe

diferencia entre ambos métodos en cuanto a la determinación de sensibilidad o resistencia de los antibióticos en estudio. Se realizó la prueba con un valor crítico de 0,95 para 1 grado de libertad lo que proporciona un intervalo de confianza de 3,84; al realizar la prueba con los totales de cada método da como resultado un intervalo de confianza de 3,285 lo que implica que la prueba no es significativa. Esto significa que para determinar la resistencia o sensibilidad de un germen no hay diferencia alguna al utilizar el método de discos de susceptibilidad o el de tira reactiva. Esto es de mucha importancia debido a que el método de tira reactiva tiene un costo muy elevado al compararlo con el método de discos de susceptibilidad y de esta manera se ahorra el hospital gastos innecesarios. El beneficio claro que tiene la tira reactiva y no se puede determinar con esta prueba es el proporcionar las CIM del antibiótico en mcg/ml y así proporcionar cantidades de este adecuadas a determinado paciente. A cada antibiótico se le realizó el Test exacto de Fisher's, debido a que es la recomendada cuando se tienen parámetros < 5 en una celda. En todos los antibióticos se proporcionaron datos no significativos. Lo que comprueba que ambos métodos nos proporcionan datos confiables para realizar la susceptibilidad antimicrobiana, únicamente al determinar sensibilidad o resistencia.

La CIM es la cantidad del antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento de la bacteria (2). La tira reactiva nos proporcionó las CIM del antibiótico en microgramos/mililitro, las cuales variaron dependiendo de cada cepa. La ceftazidima nos proporciona en su mayoría CIM en cantidades considerablemente pequeñas de antibiótico con las cuales se puede inhibir a las *Pseudomonas*. La ciprofloxacina proporcionó CIM por debajo de los valores observados en los demás antibióticos en estudio para inhibir a las *Pseudomonas*. La gentamicina e imipenem presentan cantidades sensibles en su mayoría pero se puede observar que estos valores han ido incrementando poco a poco, esto es si se toma en consideración que ninguna es sensible al valor más bajo. Debido a lo anterior podemos observar que las CIM de ambos antibióticos están elevándose, lo que nos indica que poco a poco llegarán a concentraciones resistentes. Si la cantidad de CIM se eleva, así también va a incrementarse la resistencia del germen a determinado antibiótico, hasta que este ya no se pueda utilizar para su tratamiento. El conocer las CIM en cantidades (mcg/ml) nos

proporciona una idea acerca del estado en que se encuentra el antibiótico para determinado germen, en cuanto a si éste va incrementando su resistencia o no. El conocer la cantidad del antibiótico necesaria para inhibir a *Pseudomonas*, nos beneficia debido a que nos hace ver si estamos proporcionando a los pacientes las cantidades de ese antibiótico suficientes para su buen funcionamiento.

IX. CONCLUSIONES

1. Mediante la tira reactiva se logró establecer la resistencia de *Pseudomonas* para ceftazidima, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem y ticarcilina en pacientes pediátricos del Hospital Roosevelt.
2. Al comparar la resistencia obtenida entre ambos métodos de susceptibilidad antimicrobiana no se encontró ventaja entre el método de tira reactiva y el método de discos de susceptibilidad.

X. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda al Comité de Infecciones Nosocomiales la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana con más frecuencia en pacientes pediátricos, para obtener datos actualizados y proporcionar un tratamiento eficaz a los pacientes.
2. Utilizar el método de tira reactiva para obtener datos de susceptibilidad antimicrobiana cuantitativos sobre la evolución de la resistencia de *Pseudomonas*.
3. Realizar estudios con mayor número de antibióticos, para ampliar el conocimiento de la multi-resistencia de *Pseudomonas*.
4. Determinar la resistencia de *Pseudomonas* en diferentes áreas del Hospital Roosevelt para tener un conocimiento global del estado de susceptibilidad de dicho germen.
5. Realizar estudios "in vivo" para estudiar la resistencia de *Pseudomonas* en pacientes y compararla con estudios "in vitro" como el actual.

XI. RESUMEN

El presente trabajo de investigación es un estudio descriptivo, prospectivo de resistencia de *Pseudomonas* a diferentes antibióticos, llevado a cabo en el Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt durante el período de mayo a junio de 1999. Fueron evaluadas 30 cepas de *Pseudomonas* provenientes de pacientes ingresados en los diferentes servicios de Pediatría, a las cuales se les realizaron pruebas de susceptibilidad con disco y con tira reactiva.

De las 30 cepas de *Pseudomonas* que se aislaron más del 50% corresponden a *P. aeruginosa* y un pequeño porcentaje a *P. fluorescens*. Mediante la tira reactiva se demostró una resistencia de ceftazidima, ticarcilina, gentamicina e imipenem elevadas, mientras que se obtuvieron datos de resistencia bajos de ciprofloxacina. La frecuencia de multi-resistencia es elevada. Al comparar los porcentajes de resistencia obtenidos por ambos métodos de susceptibilidad, la tira reactiva nos proporcionó valores de resistencia de ceftazidima e imipenem mayores que por disco, de ciprofloxacina y ticarcilina por debajo y sólo por gentamicina los valores fueron iguales. En ambos métodos es la ciprofloxacina la alternativa ideal para tratar *Pseudomonas* actualmente.

Al aplicar la prueba de chi-cuadrado para comparar ambos métodos de susceptibilidad, no se demuestra que haya ventaja al realizar el método de tira reactiva o el método de discos de susceptibilidad.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AB Biodisk. Etest for MIC determinations of antibiotics; Etest Technical Support Form. New Jersey: 1992. (p. 11).
2. AB Biodisk y Hakan, Hanberger. Technical Support Service. Etest@biodisk.se
3. Barret, Connor et al. Epidemiology for the Infection Control Nurse. Missouri: Mosby, 1978. (p. 321).
4. Behrman y Kliegman. Nelson Essentials of Pediatrics. 2ed. Philadelphia: Saunders, 1994. (p. 795).
5. Behrman, R. E. y Vaughan V.C. Nelson Tratado de Pediatría. 13ed. Madrid: Interamericana, 1989. (p. 1767).
6. Committee on Infectious Diseases. 1994 Red Book. 23ed. Illinois: American Academy of Pediatrics, 1994. (p. 687).
7. Department of Medicine Children's Hospital, Boston. Manual of Pediatrics Therapeutics. 6ed. Philadelphia: Lippincott-Rsaven, 1997. (p.643).
8. Feigin y Cherry. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Philadelphia: Saunders, 1981. (p. 1060).
9. Goodman, Alfred et al. Goodman Las Bases Farmacologicas de la Terapeutica. 8ed. Mexico, D.F.: 1991. (p. 1751).
10. Hickey, Sheila M. Y Nelson, John D. Mechanisms of Antibacterial Resistance. Advances in Pediatrics. 1997. Vol. 44: 1-40.
11. Jawetz, E. et al. Microbiologia Medica. 14ed. Mexico, D.F.: Manual Moderno, 1991. (p. 700).
12. Kiska, Deanna L. et al. Comparison of Antimicrobial Susceptibility Methods for Detection of Penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae. Journal of Clinical Microbiology. 1995. Jan; 33 (1): 229-231.
13. Lony, Sarah S. et al. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone. 1997. (p. 1821).
14. Madigan, Michael T. et al. Brock Biología de los Microorganismos. 8ed. Madrid: 1997. (p. 1064).
15. Mejía, Carlos Rodolfo et al. El Comité de Control de Infecciones Nosocomiales, su Papel y la Vigilancia Epidemiológica. Boletín Hospital Roosevelt (Guatemala) 1997. Enero; 1 (1): 1-4.
16. Mejía, Carlos Rodolfo et al. Infecciones Nosocomiales un Reto para los Hospitales. Boletín Hospital Roosevelt (Guatemala) 1997 agosto; 1 (3): 1-4.
17. Mejía, Carlos Rodolfo et al. Quién es el responsable del Control de las Infecciones Nosocomiales? Boletín Hospital Roosevelt (Guatemala) 1997 Mayo; 1 (2): 1-8.
18. Microbionet. Pseudomonadaceae. <http://www.sciencenet.com.au/frames/profiles/negative/families/pseudomo/family.htm>
19. Norbert, W. Tietz. Clinical Guide to Laboratory Test. Philadelphia: 1983. (p. 695).
20. Platsouka et al. Acta Microbiologica Hellenica. <http://www.mednet.gr/greek/500/emc/am4834>
21. Randich, Cesar y P. H. Chandrasekar. Antibiotic Update: Part I. Hospital Phisician. 1997. Jan; 33 (1): 19-30.
22. Randich, Cesar y P. H. Chandrasekar. Antibiotic Update: Part II. Hospital Phisician. 1997. Feb; 33 (2): 42-46.

23. Rushton, H. G. Work-up of the Child Presenting with Urinary Infection. En: Common Problems in Pediatric Urology. Missouri: Mosby, 1991. (pp. 423-440).
24. Shlaes, David et al. Society for Healthcare Epidemiology of América and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on Prevention of Antimicrobial Resistance: Guidelines for the Prevention of Antimicrobial Resistance in Hospitals. Clinical Infectious Diseases. 1997. Sept. 2 (25): 584-599.
25. Schaffner, William. Prevención y control de infecciones adquiridas en el hospital. En: Cecil Tratado de Medicina Interna. Wyngaarden et al. 19ed. Mexico D.F.: Interamericana, 1994. Vol. 2. (pp. 1849-1856).
26. Skulnik, Martin et al. Evaluation of Accuracy and Reproducibility of Etest for Susceptibility testing of Streptococcus pneumoniae to Penicillin, Cefotaxime, and Ceftriaxone. Journal of Clinical Microbiology. 1995. Sept.; 33 (9): 2334-2337.
27. Tibbo, Jamie. Pseudomona Aeruginosa. <http://www.ucs.mun.ca/~jtibbo/anti.htm>
28. Toltzis, Philip et al. Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria In the Critical Care Setting. Pediatrics Clinics Of North America. 1995. June; 42 (3): 687-699.
29. Uyuch, Mattew et al. Metodo de Laboratorio. 2ed. Mexico: Interamericana. 1987. (pp. 984-985).
30. Wesley Alexander y Patchen E. Dellinger. Infecciones Quirúrgicas. En: Tratado de Patología Quirúrgica. Sabiston. 14ed. Mexico D. F.: Interamericana, 1991. Vol. I. (pp. 252-283).

XIII. ANEXOS

RESISTENCIA DE *PSEUDOMONAS* A DIFERENTES ANTIBIOTICOS
EN EL PACIENTE PEDIATRICO

BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

No. Boleta:

No. Registro:

Fecha:

No. Cultivo:

NOMBRE: _____ SEXO: ___ EDAD: _____.

SERVICIO: _____.

CULTIVOS: H. HEMOCULTIVO
U. UROCULTIVO
C. COPROCULTIVO
L. LCR
S. SECRECIONES
A. CATETER

GERMEN AISLADO . Identificar con la letra especifica para determinar el lugar de donde proviene la muestra.

- _____ *Pseudomona aeruginosa*
- _____ *Burkholderia (cepacia, pseudomallei, mallei, gladioli).*
- _____ *Stenotrophomonas*
- _____ *Otras (P. fluorescens, P. putida, P. stutzeri, P. paucimobilis).*

RESISTENCIA:

Resistente = R Sensible = S
CIM (TIRA) CIM (DISCOS)
Mcg/ml (R o S) mm (R o S)

ANTIBIOTICO

1. CEFTAZIDIMA
2. CIPROFLOXACINA
3. GENTAMICINA
4. IMIPENEM
5. TICARCILINA

MIRIAM VERONIA RUANO CARNET # 9310524