

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA
MENCION MICROBIOLOGIA**

***DETERMINACION DEL PERFIL DE SENSIBILIDAD
ANTIMICROBIANO DE CEPAS QUE PRESENTAN
MULTIRESISTENCIA, AISLADAS EN MUESTRAS
PROCESADAS EN EL LABORATORIO DE
BACTERIOLOGÍA DEL HOSPITAL OBRERO N° 1
DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DEL 2005.***

Elaborado por:

Univ. Daniel Alvarez Villca

Asesor:

Dr. Juan Edgar Callisaya H. Msc

(Tesina presentada para optar al Título de Licenciatura en Bioquímica)

**La Paz – Bolivia
2006**

DEDICADO

A Dios por la oportunidad de vivir y por haberme concedido la dicha de llegar a este momento.

A mis queridos padres que con cariño depositaron en mi fuerza y confianza para dejarme la mejor herencia, una profesión.

Por el amor, apoyo y comprensión brindada en todo momento para poder culminar mis estudios logrando así uno de mis grandes anhelos.

Daniel Alvarez Villca

AGRADECIMIENTOS

- ✓ *A mi asesor Dr. Juan Callisaya H. Msc por la valiosa colaboración y asesoramiento brindado para la ejecución de este trabajo.*
- ✓ *A todos los docentes de la facultad los cuales me impartieron conocimiento durante mi formación.*
- ✓ *A la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas que por tantos años ha sido mi segundo hogar.*
- ✓ *Al personal del Laboratorio del Hospital Obrero N° 1 por toda la enseñanza brindada y el apoyo incondicional.*
- ✓ *Y a todas las personas que de una u otra manera hicieron posible la elaboración del presente trabajo y la culminación de mi carrera profesional.*

Daniel Alvarez Villca

TABLA DE CONTENIDO

I INTRODUCCION.	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Justificación	3
1.3 Planteamiento del problema	3
1.4 Marco teórico	5
1.4.1 Resistencia Bacteriana	5
1.4.2 Bases genéticas de la resistencia	5
1.4.2.1 Mutación en un gen cromosómico	5
1.4.2.2 Selección de Mutantes Resistentes	6
1.4.2.3 Resistencia por intercambio genético	7
1.4.3 Mecanismos Bioquímicos implicados en la Resistencia a los Antibióticos	8
1.4.3.1 Disminución de la permeabilidad celular hacia el antibiótico	9
1.4.3.1.1 Modificación de una barrera preexistente	9
1.4.3.1.2 Mecanismo de extrusión activa del antibiótico	9
1.4.3.2 Inactivación Enzimática del Antibiótico	10
1.4.3.2.1 β -lactamasas de origen plasmídico	11
1.4.3.2.2 Resistencia al Cloranfenicol	12
1.4.3.2.3 Resistencia a ciertos Aminoglucósidos	12
1.4.3.3 Modificación Química de la Diana del Antibiótico	13
1.4.3.3.1 Resistencia a la Estreptomicina	13

1.4.3.3.2 Resistencia a la Eritromicina	13
1.4.3.3.3 Síntesis de una nueva enzima resistente	14
1.4.3.3.3.1 Resistencia a Sulfamidas	14
1.4.3.3.3.2 Resistencia a Trimetoprim	14
1.4.3.3.3.3 Resistencia a Meticilina	14
1.4.4 Detección De Mecanismos De Resistencia	14
1.4.4.1 β -lactamasas	14
1.4.4.2 Métodos rápidos de detección de la producción de β -lactamasa	15
1.4.4.3 Inhibidores de beta-lactamasas (IBL)	16
1.4.5 Antibiograma	16
1.4.5.1 Método de dilución en placa o en caldo: es el Gold Standard de los Test in Vitro.	16
1.4.5.1.1 Control de Calidad: Prueba de Difusión en Agar Bauer - Kirby	17
1.4.5.1.1.1 Medio Agar Mueller - Hinton.	17
1.4.5.1.1.2 Preparación.	17
1.4.5.1.1.2.1 Agar Mueller – Hinton.	17
1.4.5.1.1.2.2 pH.	18
1.4.5.1.1.2.3 Humedad.	18
1.4.5.1.1.2.4 Efectos de Timidina y Timina	19
1.4.5.1.1.2.5 Efectos de cationes divalentes	19
1.4.5.1.1.2.6 Prueba en bacterias fastidiosas	20
1.4.5.1.1.3 Conservación de los Sensidiscos	20
1.4.5.1.1.4 Estándar de turbidez para preparación del inóculo	21
1.4.5.1.1.5 Procedimiento	22
1.4.5.1.1.5.1 Preparación del inóculo	22

1.4.5.1.1.5.1.1 Método de crecimiento	22
1.4.5.1.1.5.1.2 Método directo de suspensión de colonias	22
1.4.5.1.1.6 Inoculación de las placas	23
1.4.5.1.1.7 Aplicación de los discos a las placas inoculadas	23
1.4.5.1.1.8 Lectura de las placas e interpretación de los resultados	24
1.4.5.1.1.9 Interpretación de los resultados de la prueba de Difusión en Disco.	25
1.4.5.1.1.9.1 Estándares de interpretación de zonas de diámetro	25
1.4.5.1.1.9.2 Categorías interpretativas	25
1.4.5.2 Test de Dilución en Agar.	26
1.4.5.3 Método de difusión en disco.	26
1.4.5.4 E-test.	26
1.4.6 Infecciones por <i>Escherichia coli</i> .	27
1.4.7 Infecciones producidas por <i>Klebsiella spp</i>	30
1.4.8 Infecciones producidas por <i>Enterococos</i> .	34
1.4.9 Infección producida por Estafilococos	36
1.4.10 Infecciones causadas por <i>Pseudomona spp</i> .	39
1.4.11 Infecciones producidas por <i>Acinetobacter</i>	42
II OBJETIVOS	46
a Objetivo general	46
b Objetivo específico	46
III DISEÑO METODOLOGICO	47
3.1 Tipo de estudio	47
3.2 Universo y muestra	47
3.3 Criterios de inclusión exclusión	47

3.3.1 Criterios de inclusión	47
3.3.2 Criterios de exclusión	48
3.4 Aspectos éticos	48
3.5 Variables y su medición	48
3.5.1 Variable dependiente	48
3.5.2 Variable independiente	48
3.6 Materiales y reactivos	49
3.7 Técnicas y procedimientos	49
3.8 Procesamiento y análisis de los datos	50
3.9 Operacionalización de variables	51
IV RESULTADOS	52
V DISCUSIÓN	69
VI CONCLUSIONES	77
VII RECOMENDACIONES	81
VIII BIBLIOGRAFIA	82
ANEXOS	

LISTA DE TABLAS Y GRAFICOS

Tabla1. Microorganismos aislados según el tipo de muestra.	53
Gráfico1. Microorganismos aislados según el tipo de muestra.	54
Tabla 2. Distribución de microorganismos según el servicio.	56
Gráfico 2. Distribución de microorganismos según el servicio.	57
Tabla 3. Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos de las cepas multirresistentes.	59
Gráfico 3. Perfil de susceptibilidad de <i>E. coli</i> a los antimicrobianos.	60
Gráfico 4. Sensibilidad a los antimicrobianos en cepas de <i>S. aureus</i> .	61
Gráfico 5. Sensibilidad a antimicrobianos en cepas de <i>Staphylococcus coagulasa negativos</i> .	62
Gráfico 6. Sensibilidad a antimicrobianos de <i>Klebsiella spp.</i>	63
Gráfico 7. Sensibilidad a antimicrobianos de <i>Enterobacter spp.</i>	64
Gráfico 8. Sensibilidad a antimicrobianos de <i>Enterococcus spp.</i>	65
Gráfico 9. Sensibilidad a antimicrobianos de <i>Acinetobacter spp</i>	66
Gráfico 10. Sensibilidad a antimicrobianos de <i>Proteus spp.</i>	67
Gráfico 11. Sensibilidad a antimicrobianos de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .	68

RESUMEN.

La resistencia bacteriana es un tema de importancia en la salud pública. Por ello, el conocimiento de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana debe orientar a la elaboración de esquemas de tratamiento más eficaces y además, la información proporcionada por la vigilancia debe servir de insumo para la elaboración de un programa de uso racional de antibióticos.

La presente investigación permitirá describir la resistencia a los antimicrobianos y los principales microorganismos involucrados en Infecciones Intra hospitalarias en el Hospital Obrero la cual permitirá una terapéutica antimicrobiana dirigida en función a los perfiles de resistencia y sensibilidad, podremos clasificar además a los antimicrobianos de acuerdo a su sensibilidad en antimicrobianos de: primera elección (con posible utilización empírica)

Se realizó un estudio descriptivo, longitudinal y prospectivo de 1768 muestras que presentaban infección, las cuales se procesaron en el laboratorio de bacteriología del Hospital Obrero N° 1 de la ciudad de La Paz. Se utilizaron las normas de la NCCLS para la realización del antibiograma.

Por los resultados obtenidos, el tipo de muestra, el mayor número de aislamientos se obtuvo de las muestras de orina, secreción de herida, líquido seminal, abscesos y tubo endotraqueal.

En relación al servicio hospitalario, los servicios donde se aislaron el mayor número de patógenos hospitalarios fueron: urología, urgencias, unidad de terapia intensiva, traumatología y cirugía. Los microorganismos multirresistentes más frecuentemente aislados fueron: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Klebsiella spp*, *Enterococcus spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp* y *Pseudomona aeruginosa*.

Daniel Alvarez Villca

Los antimicrobianos de primera elección (con sensibilidad mayor al 70%) para el tratamiento de *E. coli* son: amikacina, nitrofurantoína, cefoperazona y en casos excepcionales: imipenem y polimixina B (colistina). Para el tratamiento de *S. aureus* son: vancomicina, gentamicina, nitrofurantoína, amikacina y cloranfenicol. Para el tratamiento de *Staphylococcus coagulasa negativos* son: vancomicina, nitrofurantoína, gentamicina, cloranfenicol, y oxacilina o cloxacilina. Para el tratamiento de *Klebsiella spp* son: imipenem, polimixina B (colistina) y amikacina. Para el tratamiento de *Enterobacter spp* son: imipenem, polimixina B (colistina) y amikacina. Para el tratamiento de infecciones por *Enterococcus spp* son: vancomicina, amoxicilina+ácido clavulánico y cloranfenicol. Para el tratamiento de *Acinetobacter spp* son: polimixina B (colistina), imipenem y cefoperazona+sulbactam. Para el tratamiento de *Proteus spp* son: amikacina, cloranfenicol y cefotaxima o ceftriaxona. Para el tratamiento de *Pseudomona aeruginosa* son: imipenem y amikacina.

I. INTRODUCCION.

1.1 Antecedentes

La resistencia de los microorganismos a los antibacterianos es un problema mundial de salud pública generando en los últimos 50 años, debido principalmente al uso inapropiado de los antibióticos; porque con esto se favorece la multiplicación de microorganismos resistentes y, al mismo tiempo, la supresión de los susceptibles, haciendo más fácil el tratamiento de las infecciones que causan. Las consecuencias negativas se ven tanto en términos de salud como en el costo económico.¹

La vigilancia de la resistencia bacteriana es fundamental para proponer medidas sobre el uso racional de los antibacterianos y controlar así el desarrollo de la resistencia en todo el mundo.²

La relación entre uso de antimicrobianos y resistencia parece obvia a primera vista; aunque la mayoría de los estudios publicados así lo indican, en algunos casos no se ha podido demostrar. Ello puede deberse a problemas metodológicos pero también a que la aparición de resistencias, no depende exclusivamente del uso de los antimicrobianos, sino de otras variables (farmacocinéticas, clínicas, epidemiológicas).³

La selección del antibiótico correcto exige conocer la bacteria responsable de la enfermedad del paciente. El diagnóstico bacteriológico requiere el aislamiento de la bacteria y el estudio de su sensibilidad o resistencia frente a los antibióticos.⁴

El uso de antimicrobianos de amplio espectro en el medio hospitalario favorece la aparición de resistencias por eliminación de la flora saprofita sensible. En un reciente estudio, el uso de amoxicilina+cefotaxima en una UCI neonatal favoreció la colonización por bacterias Gram-negativas

multirresistentes. Por otra parte, algunos antimicrobianos seleccionan microorganismos naturalmente resistentes: p. ej. las cefalosporinas favorecen la selección de enterococos y de bacilos Gram-negativos no fermentadores (*Acinetobacter*,...).⁵

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) que originan los organismos resistentes tienen un gran impacto sobre los enfermos, pues resultan en mayor mortalidad o en tratamientos y hospitalizaciones más prolongados y, por tanto, en alza de los costos.⁶

La flora intrahospitalaria difiere de la comunitaria, en que consiste sobre todo de gérmenes multirresistentes que se han seleccionado por diversos factores ecológicos, entre los que se destaca el uso correcto o no de múltiples antibióticos con fines terapéuticos o profilácticos. El paciente hospitalizado, y sobre todo el recluido en la UCI, tiende a modificar su flora endógena debido a la colonización por microorganismos propios de la flora nosocomial, de gran potencialidad patogénica. La trasgresión iatrogénica de las barreras naturales de defensa, que va desde ejemplos como el uso de sondas vesicales, y otros instrumentos urológicos, catéteres intravasculares, dispositivos de asistencia respiratoria hasta los menos conocidos como las modificaciones del pH gástrico con el fin de evitar el sangrado digestivo por estrés y, sin duda, la hospitalización prolongada, son algunos de los factores que se destacan en la patogenia de este tipo de infecciones. Los gérmenes que se aíslan con más frecuencia en estas circunstancias son los bacilos Gram negativos y los estafilococos, con variaciones según el tipo de infección y la institución donde se presenta.⁷

1.2 Justificación

La resistencia bacteriana es un tema muy importante en el estudio de la antibiótico terapia, porque su comprobación implica la forma como se aplicara la terapia, la resistencia antibiótica por parte de los microorganismos está relacionada con el uso extensivo y muchas veces indiscriminado de los antibióticos. Sin embargo, las relaciones de causalidad no son siempre evidentes, puesto que los microorganismos pueden poseer complejas agrupaciones genéticas que les permiten desarrollar resistencia frente a varios antibióticos. Así, la utilización de un agente antimicrobiano puede seleccionar cepas resistentes a otros antibióticos, perpetuando el fenómeno. Si bien la resistencia bacteriana frente a todos los antibióticos conocidos parece ser inevitable, la velocidad a la cual aparece puede ser reducida mediante el uso racional de estos medicamentos.

La presente investigación permitirá describir la resistencia a los antimicrobianos y los principales microorganismos involucrados en Infecciones Intra hospitalarias en el Hospital Obrero la cual permitirá una terapéutica antimicrobiana dirigida en función a los perfiles de resistencia y sensibilidad podremos clasificar además a los antimicrobianos de acuerdo a su sensibilidad en antimicrobianos de: primera elección (con posible utilización empírica) y antimicrobianos alternativos (cuya utilización debe ser en función al antibiograma), conoceremos si otros antimicrobianos según su eficacia podrían ser incluidos en el vademécum institucional.

Daniel Alvarez Villca

1.3 Planteamiento del problema

La resistencia bacteriana es un tema de importancia en la salud pública. Su extensión a nivel mundial, desarrollo de resistencia a nuevos agentes antimicrobianos, así como su presencia en patógenos relacionados con enfermedades prevalentes, como son la enfermedad diarreica aguda, las infecciones respiratorias agudas y las infecciones intra hospitalarias, le dan el carácter de problema prioritario. Por ello, el conocimiento de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana debe orientar a la elaboración de esquemas de tratamiento más eficaces y además, la información proporcionada por la vigilancia debe servir de insumo para la elaboración de un programa de uso racional de antibióticos. Considerando estos aspectos preliminares, se desprende que la vigilancia de la resistencia antimicrobiana es necesaria, pero es fundamental asegurar la calidad de los resultados de laboratorio, siendo indispensable por tanto, estandarizar los procedimientos, ello involucra desarrollar normas técnicas, capacitar al personal de los laboratorios y supervisar y participar en un programa de control de calidad externo.

El Hospital Obrero es el principal centro hospitalario de la Caja Nacional de Salud. Este hospital hasta el momento no dispone de información de perfiles de sensibilidad a los antimicrobianos y por tanto la terapéutica antimicrobiana se realiza en función a perfiles de sensibilidad de la bibliografía internacional y por la experiencia del médico tratante; por otro lado, el Vademécum institucional no está actualizado en función a la aparición de nuevos antimicrobianos y a otros no tan nuevos pero que podrían tener adecuados resultados para el tratamiento de infecciones. Esto repercute negativamente en la salud de los pacientes ya que se ha visto, que muchos de ellos por falta de una adecuada terapéutica antimicrobiana han llegado a fallecer por sepsis y bacteriemia, muchos de los pacientes han aumentado su estadía hospitalaria. Este hecho nos ha motivado a realizar una descripción de la etiología y el perfil de sensibilidad de los microorganismos y muestra prevalentes en el hospital utilizando además los antimicrobianos que figuran en el vademécum institucional y disponible en el mercado.

Daniel Alvarez Villca

1.4 Marco teórico

1.4.1. Resistencia Bacteriana

La resistencia bacteriana se define como "una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico.⁸ La resistencia bacteriana obliga al desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos, que son más costosos y a veces más tóxicos que los empleados habitualmente. Cuando se lanza al mercado un fármaco antibacteriano, se define el espectro de microorganismos sobre los cuales es eficaz, pero luego este patrón va cambiando a medida que la droga se utiliza clínicamente, llegando en algunos casos a caer en el desuso.

1.4.2 Bases genéticas de la resistencia

Una de las aplicaciones prácticas más interesantes de los avances realizados en las últimas décadas en el campo de la Genética Bacteriana ha sido comprender los mecanismos genético-moleculares de la resistencia a antibióticos, lo que está permitiendo un "ataque" más racional a este problema clínico.⁹ Una cepa bacteriana puede volverse resistente a un antibiótico por dos tipos principales de mecanismos:

1.4.2.1 Mutación en un gen cromosómico

Introducción de un plásmido R de resistencia. Este segundo mecanismo supone el problema más serio, ya que: está muy extendido; puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez; a diferencia del mecanismo mutacional, no suele suponer una desventaja adaptativa (no disminuye la tasa de crecimiento de la bacteria ni le hace perder sus propiedades de virulencia).

1.4.2.2 Selección de Mutantes Resistentes

Las mutaciones génicas se dice que son espontáneas cuando ocurren sin intervención de procedimientos mutagénicos experimentales. Las mutaciones bacterianas espontáneas son aleatorias, y afectan a un gen cualquiera con frecuencias dentro del rango de 10^5 a 10^{10} por célula y división.

En los años 50 se observó el siguiente fenómeno: cuando un cultivo bacteriano de una cepa sensible a un antibiótico se pone en contacto con ese antibiótico, al cabo del tiempo se comprueba que todo el cultivo consta de bacterias resistentes.

Esta es precisamente la base genética del surgimiento de ciertas cepas patógenas resistentes a antibióticos: el fármaco inhibe o mata las bacterias silvestres sensibles, pero no afecta a los pocos individuos que por mutación espontánea hayan adquirido un alelo resistente; estos individuos se multiplican, de modo que al final son los más prevalentes.

El conocimiento de la frecuencia de aparición de mutación a resistencia a un quimioterápico o antibiótico en una determinada especie bacteriana, así como el sitio de acción de dicho fármaco, son factores importantes para una aproximación racional a la quimioterapia.

Así pues, en este tipo de casos hay que tratar con varios quimioterápicos simultáneamente (la probabilidad de resistencias múltiples basadas en mutaciones espontáneas equivale al producto de las probabilidades individuales).¹⁰

1.4.2.3 Resistencia por intercambio genético

La principal amenaza al éxito de la quimioterapia está representada por la transmisión genética de plásmidos de resistencia a antibióticos (plásmidos R). Veamos un poco de historia: en los años 50, poco después de la introducción de los primeros antibióticos, se detectó en Japón un espectacular aumento de pacientes de disentería bacilar resistentes al tratamiento con varios de estos antibióticos. Las cepas de *Shigella dysenteriae* aisladas de estos pacientes poseían el fenotipo Su^R , Str^R , Cm^R , Tet^R . Se comprobó que los genes correspondientes a esas resistencias formaban parte de un gran plásmido. Los plásmidos de este tipo se denominan plásmidos R. Pero aún más: los mismos pacientes tenían en sus intestinos cepas de *Escherichia coli* (que como sabemos ya, es un simple comensal que forma parte de nuestra flora endógena) que eran igualmente resistentes a esos antibióticos. Ello sugería que este tipo de plásmidos se podía transferir de unas especies a otras. La explicación estribaba en un fenómeno de intercambio dependiente de contactos célula-célula, llamado conjugación.

Existen plásmidos R de distintos grupos de incompatibilidad. Son abundantes en *Pseudomonas* y en *Enterobacterias*, desde donde pueden ser transferidos a una amplia gama de bacterias Gram-negativas (plásmidos promiscuos). Aparte de los plásmidos R conjugativos existen otros no conjugativos, que sin embargo pueden ser transferidos entre distintas bacterias por otros medios:

Los plásmidos no conjugativos movilizables pueden ser transferidos por otro plásmido conjugativo compatible residente en la misma célula, por transducción por transformación (ADN desnudo del plásmido puede ser captado por una bacteria sensible receptora)

Los plásmidos R han evolucionado en respuesta a presiones selectivas ambientales (antibióticos usados por los humanos o inhibidores presentes en los medios naturales de las bacterias).

Son capaces de conferir varias resistencias simultáneamente a las bacterias que los adquieran.

Tienen capacidad de diseminarse epidérmicamente de modo "horizontal" (es decir, entre células distintas de la misma especie o - en el caso de los promiscuos- distintas especies).

Están constituidos por "módulos" móviles (transposones: de modo que tienen flexibilidad para adquirir nuevos módulos a partir de otras especies

No tienen apenas efectos negativos sobre los demás caracteres de la bacteria (incluyendo, en las patógenas, su poder virulento).

Muchos de ellos responden a mayores concentraciones del antibiótico aumentando su número de copias (amplificación del número de copias en los plásmidos de control relajado).

Como se puede comprender, el estudio epidemiológico de los plásmidos R reviste actualmente un gran interés de cara a la salud pública. Este tipo de estudios recurre principalmente a dos tipos de enfoques: por detección de grupos de incompatibilidad (algo complejo); por análisis de restricción y comparación de mapas físicos (más fácil y rápido).¹¹

1.4.3 Mecanismos Bioquímicos implicados en la Resistencia a los Antibióticos

Los principales mecanismos se pueden agrupar de la siguiente manera:

- Disminución de la permeabilidad hacia el antibiótico.
- Inactivación enzimática del antibiótico
- Modificación química de la diana sobre la que actúa el antibiótico
- Síntesis de una enzima resistente.

Daniel Alvarez Villca

1.4.3.1 Disminución de la permeabilidad celular hacia el antibiótico

1.4.3.1.1 Modificación de una barrera preexistente

Como ya sabemos, la membrana externa de Gram-negativas supone una barrera natural que hace que muchas bacterias de este grupo sean insensibles a varios antibióticos (p. ej., la vancomicina y la bacitracina no pueden atravesar las porinas). No todas las bacterias Gram-negativas son igualmente impermeables a los mismos antibióticos:

Entre las menos impermeables están *Haemophilus* y *Neisseria*, que dejan pasar a numerosos β -lactámicos. Las Enterobacterias suelen ser intermedias.

Las bacterias del género *Pseudomonas* son insensibles a la mayoría de antibióticos β -lactámicos, porque no pueden pasar a través de la membrana externa. Se han aislado mutantes que se han vuelto resistentes a los β -lactámicos de última generación: el cambio ha afectado a una determinada porina que ahora no deja pasar a estos nuevos antibióticos.

En otros casos, la resistencia se debe a alteraciones en la cápsula: algunos neumococos resistentes a estreptomina y eritromicina dependen de este tipo de mecanismo.¹²

1.4.3.1.2 Mecanismo de extrusión activa del antibiótico

El ejemplo más típico estriba en la resistencia a las tetraciclinas desarrollada por muchas bacterias. Como sabemos, el efecto inhibitor de las tetraciclinas depende de la acumulación activa de este tipo de antibióticos por parte de las

bacterias. Pues bien, ciertos plásmidos R poseen transposones (como el Tn10 o el Tn1721) que codifican un sistema para "bombear" tetraciclina desde el interior bacteriano hacia el exterior, en contra del gradiente de concentración. Igualmente se conocen resistencias a sulfamidas dependientes de un mecanismo específico de impermeabilidad.

Alteración del mecanismo de transporte del antibiótico

Cuando el antibiótico accede al interior bacteriano por algún mecanismo de transporte específico, una mutación que afecte a dicho sistema de transporte supondrá una mayor resistencia al antibiótico. Por ejemplo, en *E. coli* la cicloserina entra aprovechando el sistema de transporte de la valina o la glicocola. Determinados mutantes incapaces de transportar estos aminoácidos son resistentes a la cicloserina.

1.4.3.2 Inactivación Enzimática del Antibiótico

Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de plásmidos R. Los ejemplos típicos son las resistencias a β -lactámicos, la resistencia al cloranfenicol y las resistencias a aminoglucósidos.

Resistencia a β -lactámicos por acción de β -lactamasas

Como ya sabemos, ciertas bacterias producen penicilinasas (β -lactamasa), capaz de abrir el anillo β -lactámico de la penicilina para dar ácido peniciloico, que carece de actividad antibacteriana. Lo mismo ocurre con las cefalosporinas, donde la β -lactamasa (cefalosporinasa) genera un producto inestable inactivo que se descompone rápidamente. Sin embargo, la naturaleza de la cadena lateral (grupo acilo, R) influye notablemente en la susceptibilidad de rotura del anillo β -lactámico por las lactamasas.

β -lactamasas codificadas por cromosoma y de bajo nivel (β -lactamasas de tipo TEM).

Están muy distribuidas entre bacterias Gram-negativas, y confieren resistencia a cefalosporinas y penicilinas. La base de la resistencia en muchos casos es la siguiente: cuando se expone la bacteria al β -lactámico durante mucho tiempo, pueden seleccionarse determinadas mutaciones en genes cromosómicos que codifican proteínas parecidas de tipo PBP, de modo que adquieren un fuerte promotor que permite su expresión a alto nivel. Este tipo de β -lactamasa es excretada al medio, donde inactiva al antibiótico.

1.4.3.2.1 β -lactamasas de origen plasmídico.

En la Gram-positiva *Staphylococcus aureus* existen cuatro variantes, responsables del espectacular aumento de cepas resistentes de esta especie surgidas en los años 50. Se trata de enzimas inducibles: el gen que codifica la β -lactamasa se induce por pequeñas cantidades de penicilina o cefalosporina, y se producen enormes cantidades del antibiótico, que se excreta, de modo que inactiva al β -lactámico en el entorno de la bacteria. El gen responsable es portado por plásmidos de tipo R (que llevan genes de resistencia para otros antibióticos).

En las Gram-negativas se han descubierto unos 20 tipos de β -lactamasas de codificación plasmídica. Suelen ser enzimas de síntesis constitutiva que se expresan a bajos niveles, y cuya localización es periplásmica; esta localización permite que el antibiótico sea inactivado antes de que llegue a la membrana citoplásmica, donde se localizan las proteínas diana de los β -lactámicos. Algunas de ellas vienen codificadas por genes plasmídicos que forman parte de transposones (p. ej., el Tn1 o el Tn4).

1.4.3.2.2 Resistencia al cloranfenicol

La resistencia al cloranfenicol suele deberse a una enzima inactivante de dicho antibiótico, denominada cloranfenicol-acetiltransferasa (CAT), que normalmente está codificada por genes plasmídicos. Uno de los genes de CAT de Gram-negativas más estudiados forma parte del transposón Tn9.

La CAT convierte el cloranfenicol en su derivado 3-acetoxi, usando el acetil-CoA; a continuación una reacción química (no catalizada por enzima) hace que el grupo acetoxi pase a la posición 1; finalmente ocurre una segunda acetilación catalizada enzimáticamente, que genera el producto final, 1,3-diacetoxi-cloranfenicol. Los derivados mono o diacetilados del cloranfenicol son inactivos como antibióticos.

1.4.3.2.3 Resistencia a ciertos aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son un grupo amplio y abundante de antibióticos, por lo que no es sorprendente que las bacterias hayan evolucionado distintos mecanismos para inactivarlos; se pueden agrupar en tres tipos:

- Fosforilación
- Adenilación
- Acetilación

Las fosforilaciones y adenilaciones se dan sobre grupos -OH susceptibles, mientras que las acetilaciones recaen sobre determinados grupos -NH₂.

La modificación enzimática de los aminoglucósidos ocurre en el espacio periplásmico o en la membrana citoplásmica, y produce un doble efecto: el antibiótico modificado covalentemente ya no puede

usar el mecanismo de transporte facilitado a través de la membrana; por lo tanto, accede en menor cantidad al citoplasma; el compuesto modificado ya no puede afectar al ribosoma, por lo que no ejecuta acción inhibitoria sobre el crecimiento de la bacteria.

1.4.3.3 Modificación Química De La Diana Del Antibiótico

1.4.3.3.1 Resistencia a la estreptomicina

La mutación cromosómica *strA* produce una proteína ribosómica S12 alterada que impide la unión de la estreptomicina.

1.4.3.3.2 Resistencia a la eritromicina

Ciertos plásmidos de cepas de *Staphylococcus aureus* y de *Streptococcus* codifican una metilasa de ARN inducida por la presencia de eritromicina: esta enzima modifica por metilación un determinado nucleótido del ARNr 23S de la subunidad grande del ribosoma. Concretamente introduce dos metilos en el N de una determinada adenina, usando S-adenosilmetionina (SAM) como donador. Esto produce un cambio conformacional en el ribosoma que disminuye su afinidad hacia la eritromicina y hacia la lincomicina (resistencia cruzada a los dos antibióticos).

El mecanismo genético subyacente al carácter inducible de la metilasa es muy interesante; en lugar de un mecanismo a nivel transcripcional, como es habitual en las bacterias, se trata de un mecanismo de regulación traduccional: en las bacterias en ausencia de eritromicina el ARNm de la enzima posee una estructura secundaria que evita su traducción por los ribosomas, pero en presencia de eritromicina este ARNm cambia de conformación y puede ser leído, produciéndose la metilasa que inactivará la diana del antibiótico.

1.4.3.3.3 Síntesis de una nueva enzima resistente

1.4.3.3.3.1 Resistencia a sulfamidas

Determinados plásmidos R portan genes de resistencia a sulfamidas (Su^R), que codifican una dihidropteroico sintetasa muy resistente a la acción de estos quimioterápicos, debido a que tienen una afinidad 10 000 veces menor que la enzima normal codificada por el cromosoma.

1.4.3.3.3.2 Resistencia a trimetoprim

Muchos plásmidos R llevan un gen que codifica una dihidrofolatorreductasa (DHFR) muy resistente al trimetoprim.

1.4.3.3.3.3 Resistencia a meticilina

En muchos hospitales medran cepas muy peligrosas de *Staphylococcus aureus* resistentes al β -lactámico meticilina. Estas cepas producen una forma especial de proteína PBP2 (la llamada PBP2a) que posee una baja afinidad por los β -lactámicos, incluyendo la meticilina. Parece que el gen codificador correspondiente reside en un transposón.

1.4.4 Detección De Mecanismos De Resistencia

1.4.4.1 β -lactamasas

Las β -lactamasas son enzimas producidas por microorganismos capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo β -lactámico de las penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos β -lactámicos dando lugar a compuestos sin actividad antibacteriana. En ocasiones, es necesario conocer, incluso antes del resultado de las pruebas de sensibilidad, si un aislamiento produce este tipo de enzimas. Para ello, se han desarrollado diferentes métodos rápidos de detección de β -lactamasas que, con una información preliminar, contribuyen a una correcta elección del antimicrobiano. Asimismo, y aunque son más de cuatrocientas las enzimas caracterizadas

y muy diversos los perfiles de sustrato que determinan, existen ejemplos, sobre todo en microorganismos Gram-negativos, en los que la síntesis de estas enzimas se asocian a patrones fenotípicos de sensibilidad y resistencia constantes.¹³

1.4.4.2 Métodos rápidos de detección de la producción de β -lactamasa

Este tipo de pruebas es útil en *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Bacteroides fragilis*, *Saphylococcus aureus* e incluso en *Enterococcus* spp. En ellos es posible definir la resistencia a determinados β -lactámicos cuando el resultado es positivo.

En otros microorganismos, *Enterobacteriaceae* o *Pseudomonas aeruginosa*, no deben emplearse, ya que la posible producción simultánea de diversas enzimas impide relacionar el resultado positivo con la resistencia a un determinado antibiótico o grupo de antibióticos. La mayoría de los métodos rápidos se basan en la detección del producto resultante de la hidrólisis del anillo β -lactámico por el enzima. Los más difundidos son:

- (1) El método acidimétrico que detecta ácido peniciloico después de la hidrólisis de la penicilina y su presencia se pone de manifiesto mediante un indicador de pH;
- (2) El método yodométrico que utiliza yodo-yoduro potásico que reacciona con el ácido peniciloico, impidiendo que se forme el complejo iodo-almidón de intenso color azul; y
- (3) El método más difundido, el cromogénico, que detecta la presencia de β -lactamasa al hidrolizarse una cefalosporina cromogénica (nitrocefín o PADAC). El color inicial del nitrocefín no hidrolizado, amarillo-naranja, cambia al rojo intenso al hidrolizarse. Existen discos y tiras comerciales con nitrocefín que permiten en pocos segundos demostrar la producción de β -lactamasa. En todos los casos deben utilizarse cepas control.

1.4.4.3 Inhibidores de beta-lactamasas (IBL)

También llamados inhibidores "suicidas" pues su acción reside principalmente en la unión irreversible a las beta-lactamasas lo que permite que el antibiótico que lleva asociado ejerza su acción, aunque también pueden tener algo de efecto antibiótico, tienen estructura de BL. El espectro de acción sobre las beta-lactamasas dependerá del antibiótico que lleve asociado.

1.4.5. Antibiograma

La apropiada selección y uso de un agente antimicrobiano están basados en las características del organismo etiológico y en el patrón de susceptibilidad, el huésped y el fármaco.

Los antibiogramas son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y están indicados para cultivos bacterianos clínicamente relevantes (por ejemplo: fluidos normalmente estériles o sitios clínicamente infectados) cuando la susceptibilidad no puede ser predecida. Existen ahora numerosos métodos estandarizados por el National Commite for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).¹³

1.4.5.1 Método de dilución en placa o en caldo: es el Gold Standard de los test in vitro.

En este un inóculo bacteriano (usualmente 10^5 unidades formadoras de colonias) determinado se expone a diluciones seriadas del antibiótico por 18 a 24 horas. El resultado se expresa en concentración inhibitoria mínima (MIC) que es la menor concentración en microgramos por mililitro que inhibe el crecimiento de microorganismos. En general la susceptibilidad es definida como una MIC que es equivalente o menor a de un dieciseisavo a un cuarto de la concentración pico sérico. Esta información es cuantitativa.

1.4.5.1.1 Control de Calidad: Prueba de Difusión en Agar Bauer - Kirby

1.4.5.1.1.1 Medio Agar Mueller - Hinton.

De los muchos medios disponibles, se considera el Agar Mueller - Hinton como el mejor para pruebas de susceptibilidad de rutina de bacterias no fastidiosas por las siguientes razones:

- Reproducibilidad aceptable lote a lote para ensayos de susceptibilidad.
- Es bajo en inhibidores de sulfonamida, trimetoprim, y tetraciclina.
- Crecimiento satisfactorio para la mayoría de los patógenos no fastidiosos.

Aunque el agar Mueller - Hinton es confiable generalmente para pruebas de susceptibilidad, los resultados obtenidos con algunos lotes, en ocasiones, varían significativamente. Si el lote del medio no soporta un adecuado crecimiento de organismos de prueba, las zonas obtenidas en un disco de difusión usualmente son más grandes que lo esperado y pueden exceder los límites de control de calidad aceptable. Sólo las formulaciones del medio Mueller - Hinton que han sido controladas con la cepa de referencia de acuerdo al NCCLS pueden ser usados.

1.4.5.1.2. Preparación.

1.4.5.1.2.1 Agar Mueller – Hinton.

El agar Mueller - Hinton debe ser preparado a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Inmediatamente después de autoclavar dejar enfriar en un baño de agua a 45 - 50°C.

Verter el preparado fresco y tibio a una placa petri de vidrio o plástica, de fondo plano en un nivel, superficie horizontal para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm. Esto corresponde a 60 - 70 ml de

medio por placa de diámetro de 150 mm y 25- 30 ml para placas de 100 mm de diámetro.

El medio de agar debe dejarse que enfríe a temperatura ambiente, y a menos que la placa se use el mismo día, debe guardarse en refrigerador (2 - 8° C).

Las placas deberían usarse en un lapso de 7 días después de la preparación a menos que se hayan tomado adecuadas precauciones, tal como envolver en plástico, para minimizar el secado del agar y que al menos hayan mostrado correcto funcionamiento con los organismos de control de calidad.

Una muestra representativa de cada lote de placas debería ser examinada para esterilidad por incubación a 30 - 35° C por 24 horas o más.

1.4.5.1.2.2. pH.

El pH de cada lote de agar Mueller - Hinton debería ser chequeado cuando el medio es preparado. El agar debe tener un pH entre 7,2 y 7,4 después de gelificar a temperatura ambiente. Si el pH es muy bajo, ciertas drogas parecería que pierden potencia (por ej. aminoglicósidos, quinolonas y macrólidos), mientras otros agentes pueden presentar excesiva actividad (por ej. tetraciclinas). Si el pH es muy alto, puede esperarse efectos opuestos.

El pH puede ser controlado por ejemplo macerando una cantidad suficiente de agar para sumergir la punta del electrodo.

1.4.5.1.2.3 Humedad.

Un exceso de humedad justo antes del uso se presenta en la superficie del agar, las placas deberían ponerse en un incubador (35°C) o una cámara de flujo laminar con las placas entreabiertas hasta que el

exceso de humedad se haya perdido por evaporación (usualmente 10 a 30 minutos). La superficie debe ser húmeda, pero sin gotas de humedad en la superficie del medio o en la tapa de la placa antes de ser inoculada.

1.4.5.1.2.4. Efectos de Timidina y Timina

El medio que contiene excesiva cantidad de Timidina o Timina puede invertir los efectos inhibitorios de sulfonamidas y trimetoprim, dando zonas más pequeñas, menos nítidas o ninguna zona., lo que podría resultar en un falso informe de resistencia. El agar Mueller - Hinton a usar debe ser de tan bajo contenido en Timidina como sea posible. Para evaluar un nuevo lote de agar se utiliza la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, o alternativamente con discos de trimetoprim / sulfametoxazole. Un medio satisfactorio dará esencialmente zonas nítidas de inhibición de ≥ 20 mm.

1.4.5.1.2.5. Efectos de cationes divalentes

La variación en cationes divalentes, principalmente Magnesio y Calcio, afecta los resultados de ensayo de aminoglicosidos y tetraciclinas con cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

La concentración de en el medio de cultivo debe ser:

- Ca : 20 – 25 mg/L
- Mg : 10 – 12,5 mg/L

Un contenido excesivo de cationes reduce el tamaño de las zonas, mientras que el bajo contenido podría resultar en un tamaño inaceptable de la zona de inhibición. Se prueba con la cepa *P. aeruginosa* ATCC 27853 con gentamicina y debe dar una lectura de 16 - 21 mm.

1.4.5.1.2.6. Prueba en bacterias fastidiosas

El agar Mueller-Hinton sin suplemento sólo debería usarse para probar bacterias aeróbicas o facultativas que crezcan bien en él. Especies fastidiosas tales como *Haemophilus spp*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*, y *S. viridans* y *Streptococcus* β-hemolítico requieren suplementos o diferentes medios para crecer y ellos deberían ser probados en los medios específicos.

1.4.5.1.3 Conservación de los Sensidiscos

Los discos deben ser almacenados como sigue:

- Refrigerar los viales a 8°C o menos, o congelar a -14°C o más bajo, en un freezer "non Frost o frost free".
- Viales de discos sellados que contienen drogas de la clase β-lctámicos deben ser almacenados congelados, excepto pequeñas cantidades para trabajo inmediato, las que pueden ser refrigeradas sólo para una semana. Algunos agentes como por ej. combinaciones de imipenem, cefaclor, clavulanato pueden conservar mayor estabilidad si se almacenan congelados hasta el día de uso.
- Los viales de discos que no han sido abiertos deben ser sacados del refrigerador, 1 o 2 horas antes de usar para que igualen su temperatura a la del ambiente antes de abrir. Este procedimiento minimiza la cantidad de condensado que se forma cuando aire caliente toca los discos fríos.
- Una vez que un vial de discos se ha sacado de su paquete sellado, debe ser puesto en un desecador bien sellado. Cuando se usa un dispensador de discos, éste debe ser puesto con una cubierta ajustada y con un adecuado agente desecante. El dispensador debe alcanzar la temperatura ambiente antes de abrir. La excesiva humedad se debe evitar remplazando el desecante cuando el indicador cambia de color.

Daniel Alvarez Villca

- Sólo aquellos discos con fecha de expiración del fabricante dentro del plazo pueden ser usados.

1.4.5.1.4. Estándar de turbidez para preparación del inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo para una prueba de susceptibilidad, se utiliza estándar de turbidez de BaSO_4 , equivalente a un estándar 0.5 McFarland o su equivalente óptico. Un estándar de 0.5 McFarland de BaSO_4 se prepara como sigue:

- Una alícuota de 0,5 ml de 0,048 m/L de BaCl_2 (1,175% p/v $\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) se agrega a 99,5 ml de H_2SO_4 de 0,18 mol/L (1% v/v) con agitación constante para mantener la suspensión.
- La densidad correcta del estándar de turbidez debería verificarse usando un espectrofotómetro con una celda de 1 cm. de paso de luz con una cubeta de calibración para determinar la absorbancia. La absorbancia a 625 nm debe ser 0,08 a 0,10 para el estándar de 0,5 McFarland.
- La suspensión de Sulfato de Bario debe transferirse en alícuotas de 4 a 6 ml a tubos con tapa atornillada del mismo tamaño que aquellos que se usan para el crecimiento o dilución del inóculo de bacterias.
- Estos tubos deben ser bien sellados y almacenados en la oscuridad a temperatura ambiente.
- El estándar de turbidez debe ser bien agitado en un vortex mecánico antes de usar y se debe revisar que haya una apariencia turbia uniforme. Si aparecen partículas grandes debe ser reemplazado. Suspensiones de partículas de latex pueden agregarse para agitar invirtiendo el tubo suavemente sin usar vortex.
- El estándar de Sulfato de Bario debe ser reemplazado o verificado su densidad mensualmente.

1.4.5.1.5 Procedimiento

1.4.5.1.5.1. Preparación del inóculo

1.4.5.1.5.1.1 Método de crecimiento

- Al menos 3 a 5 colonias bien aisladas y de del mismo tipo de morfología se seleccionan de un agar de cultivo. Se toca la colonia por arriba con un asa y el crecimiento se transfiere a un tubo con 4 a 5 ml de un medio de cultivo adecuado, tal como caldo soya tripticasa.
- El caldo de cultivo es incubado a 35°C hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar de 0.5 McFarland (usualmente 2 a 6 horas). Esto resulta en una suspensión que contiene aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UCF/mL.
- La turbidez del caldo se ajusta con solución salina estéril o con caldo para obtener una turbidez óptimamente comparable a un estándar de 0,5 McFarland. Para realizar este paso apropiadamente, se puede hacer ya sea usando un espectrofotómetro o, si se hace visualmente debe tener luz adecuada para comparar el inóculo con el estándar de 0,5 McFarland contra un fondo blanco con líneas negras contrastantes (Anexo).

1.4.5.1.5.1.2 Método directo de suspensión de colonias

- Como una alternativa conveniente al método de crecimiento, el inóculo puede ser preparado haciendo directamente un caldo o suspensión salina de colonias aisladas de una placa de agar de 18 a 24 horas (un medio no selectivo, tal como agar sangre). La suspensión se ajusta hasta 0,5 McFarland de turbidez como se indicó en la sección 5.1.1.
- Esta aproximación es el método recomendado para probar organismos fastidiosos, *Haemophilus spp.*, *Neisseria gonorrhoeae*, y *Streptococcus*, y para prueba de *Staphylococcus* para determinar resistencia a meticilina o oxacilina.

1.4.5.1.6. Inoculación de las placas

- En un lapso de tiempo óptimo de 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, una tórula de algodón se sumerge en ella. La tórula debe ser rotada varias veces y presionada firmemente contra la pared interna del tubo sobre el nivel de líquido. Esto remueve el exceso de inóculo.
- Se inocula la superficie de una placa de agar Mueller -Hinton por rayado con la tórula sobre toda la superficie. Este procedimiento es repetido rayando dos o más veces, rotando la placa aproximadamente 60° C cada vez para asegurar una distribución constante del inóculo. Como paso final se pasa sobre los bordes del agar.
- La tapas de la placa pueden quedar entreabiertas por 3 a 5 minutos, pero no más de 15, para permitir que un exceso de humedad de la superficie se absorba antes de aplicar el disco con la droga impregnada.
- Se debe evitar excesos en la densidad del inóculo. Nunca usar caldos de cultivo de la noche anterior sin diluir u otro inóculo no estandarizado.

1.4.5.1.7. Aplicación de los discos a las placas inoculadas

- Los sensidiscos se dispensan sobre la superficie del agar. Cada disco debe ser presionado para asegurar contacto pleno con la superficie del agar. Ya sea que el disco se ponga individualmente o con un dispensador, deben ser distribuidos en forma constante y no debe quedar a menos de 24 mm de distancia entre centros. No más de 12 discos se deben poner por placa de 150 mm o no más de 5 en placas de 100 mm. Debido a que algunas drogas difunden casi instantáneamente, un disco no debe ser relocalizado una vez que haya tomado contacto con la superficie del agar.
- Las placas son invertidas y puestas en un incubador a 35°C en el lapso de 15 minutos después de aplicados los discos. Las placas no se deben incubar en un ambiente de CO₂ porque los estándares de interpretación fueron

Daniel Alvarez Villca

desarrollados usando aire ambiente y el CO₂ alterará significativamente el tamaño de las zonas de inhibición de algunos agentes.

1.4.5.1.8. Lectura de las placas e interpretación de los resultados

- Después de 16 a 18 horas de incubación, cada placa es examinada. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento. Si aparecen colonias individuales, el inóculo estaba muy diluído y la prueba debe ser repetida. Los diámetros de la zona de inhibición completa (a ojo desnudo son medidos en mm. pasando por el centro del disco. La placa petri se mantiene a una distancia de pocos centímetros sobre un fondo negro no reflectante y se ilumina con luz reflejada. Si se agregó sangre al agar base (como para *Streptococcus*), las zonas son medidas en la superficie superior del agar iluminado con luz reflejada sacando la tapa. Si el organismo de prueba es un *Staphylococcus spp.* o *Enterococcus spp.*, se requieren 24 horas de incubación y luz transmitida (placa se mantiene hacia la luz) se usa para examinar la zona de oxacilina y la zona de vancomicina buscando ligeros desarrollos de colonias resistentes a metilicina o vancomicina.
- El margen de las zonas debe ser tomado como el área donde no se observa crecimiento visible. Un crecimiento pobre de pequeñas colonias, las que se detectan con lente de aumento al borde de la zona de crecimiento inhibido, son ignoradas. Sin embargo, colonias discretas creciendo dentro de la zona clara de inhibición deben ser identificadas y probadas nuevamente. Con *Proteus spp.*, el delgado velo de población en una obvia zona de inhibición debe ser ignorado. Con trimetoprim y las sulfonamidas, pueden aparecer zonas de crecimiento leve; por lo tanto, no se considera y se mide los márgenes más obvios para determinar el diámetro de la zona. Cuando se usa medio suplementado con sangre para probar *Streptococcus spp.*, se debe ser cuidadoso en medir la zona de inhibición y no la de hemólisis.

Daniel Alvarez Villca

- Los tamaños de las zonas de inhibición son interpretados en las Tablas NCCLS para ser informado como susceptible, intermedio, o resistente a los antimicrobianos que se han probado. Estas tablas deben ser actualizadas periódicamente.

1.4.5.1.9 Interpretación de los resultados de la prueba de Difusión en Disco.

1.4.5.1.9.1 Estándares de interpretación de zonas de diámetro

Existen tablas específicas NCCLS las que indican los criterios para interpretar los diámetros de zonas para categorizar exactamente los niveles de susceptibilidad de los microorganismos a diferentes agentes antimicrobianos.

Las tablas NCCLS utilizadas deben ser las vigentes, ya que son periódicamente publicadas y pueden contener variaciones.

1.4.5.1.9.2 Categorías interpretativas

- **Sensible**

La categoría "sensible" implica que una infección debido a una cepa puede ser apropiadamente tratada con la dosis de agente antimicrobiano recomendado para ese tipo de infección y especie infectante.

- **Intermedio**

La categoría "Intermedio" incluye aislamientos con agentes antimicrobianos con un CIM que se aproximan usualmente a nivel de tejido y sangre disponible y para los cuales su velocidad de respuesta puede ser más lenta que la de los aislamientos susceptibles. La categoría "Intermedia" implica eficacia clínica en sitios del cuerpo donde la droga es fisiológicamente concentrada (por ej. quinolonas y β -lactámicos en orina) o cuando una dosis mayor que lo normal de una droga puede ser usada (por ej. β -lactámicos).

- **Resistente**

Las cepas resistentes no son inhibidas por la concentración sistémica usualmente alcanzable de un agente cuando los esquemas de dosificación normal son usados. Pueden tener CIM que caen dentro del rango donde están disponibles mecanismos de resistencia específicos (por ej. β -lactámicos) y la eficacia clínica no ha sido confiable en tratamientos estudiados.

1.4.5.2 Test de dilución en agar.

Sigue los mismos principios excepto que las bacterias son inoculadas en platos. La MIC es definida como la menor concentración a la cual no se observan colonias, tiene como desventaja el mayor costo y el no brindar una información cuantitativa.

1.4.5.3 Método de difusión en disco.

Se emplean discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada. Observando el tamaño del halo de inhibición de crecimiento se puede obtener resultados semicuantitativos. La sensibilidad está determinada por el diámetro del halo cuya lectura viene estandarizada.

1.4.5.4 E-test.

Se emplea un cultivo en el cual se coloca una tira de antibiótico con un gradiente de concentración, permite estudiar la MIC mediante el análisis del halo de inhibición producido cuando los métodos tradicionales de medición de ésta no son confiables. Se emplea generalmente para estudio de gérmenes difíciles como *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* y anaerobios.

1.4.6 Infecciones por *Escherichia coli*

E. coli es una enterobacteria generalmente móvil, reductora de nitritos, catalasa positivo y oxidasa negativa y, en su mayoría, fermentadora de la lactosa. Otras pruebas bioquímicas para su identificación son la positividad al indol y al rojo de metilo y la negatividad a la reacción de Voges-Proskauer, a la ureasa y a la fenilalamina dasaminasa¹³

E. coli es un colonizante habitual del tracto digestivo de los animales y hombre. Produce infección en personas sanas, siendo la puerta de entrada más común la vía urinaria, o en pacientes debilitados o inmunodeprimidos, en los que puede colonizar la piel y diferentes mucosas y ocasionar una variedad de síndromes clínicos. Es el agente causal más frecuente de las infecciones desarrolladas durante la estancia hospitalaria de los enfermos.

E. coli es una bacteria presente en forma usual en el tracto digestivo humano. La infección del tracto urinario se produce por el paso del microorganismo a la zona periuretral y con posterioridad a la vejiga a travez de la uretra. Desde esta localización se ocasionan la mayoría de las bacteriemias por *E. coli* e incluso otros síndromes clínicos como osteomielitis, abscesos o meningitis.

Las infecciones entericas causadas por *E. coli* pueden ser debidas a cinco variedades distintas que actúan por mecanismos diferentes. Las cepas enterotoxigenicas de *E. coli* (ETEC) son una causa importante de la diarrea del viajero, las cepas enteroinvasivas (EIEC) ocasionan una disentería similar a la causada por *Shigella*, las cepas enterohemorragicas (EHEC) causan una colitis hemorrágica y se han asociado con síndromes hemolítico – uremico en los niño, las cepas enteroadherente (EAEC) producen diarrea del viajero en México y en y en el norte de África y las cepas enteropatogenicas (EPEC) son una causa importante de la diarrea infantil.

E. coli es la causa más frecuente de infecciones urinarias en humanos, produciendo una amplia variedad de procesos, desde uretritis no complicada hasta cistitis sintomática, pielonefritis o sepsis. Las infecciones complicadas (pielonefritis y sepsis) se asocian generalmente a obstrucciones del flujo urinario (por ejemplo cateterización uretral) y por ello se observan con una frecuencia similar en ambos sexos, no requiriendo de forma específica la existencia de factores de virulencia por parte de *E. coli*¹⁴. Las infecciones no complicadas (cistitis fundamentalmente) se observan sobre todo en mujeres sexualmente activas con colonización intestinal por una cepa uropatogena de *E. coli*. La existencia de factores de adherencia hace que se colonice la zona periuretral y durante el acto sexual pueda producir una progresión hasta la vejiga de dicho microorganismo.

El factor de adherencia relacionado con las cepas de *E. coli* uropatogénico es el llamado fimbria P capaz de unirse al antígeno del grupo sanguíneo P que está presente en las células uroepiteliales del 99% de la población.

La mayoría de infecciones urinarias están causadas por un número reducido de serogrupos O (O4, O6, O75), aunque los mismos son los más prevalentes en el tracto digestivo. La presencia del antígeno K se relaciona con infecciones del tracto urinario superior.

Las infecciones respiratorias por *E. coli* son consideradas como oportunistas y se observan sobre todo en pacientes debilitados o inmunodeprimidos, a menudo durante su estancia en el hospital. La mayoría de neumonías por *E. coli* se producen como consecuencia de microaspiraciones de secreciones faríngeas que están colonizadas por este microorganismo. Son en general, de adquisición nosocomial aunque también pueden afectar a pacientes diabéticos, alcohólicos o bronquíticos crónicos a nivel comunitario.

En el primer mes de vida la meningitis bacteriana están causadas fundamentalmente por *E. coli* o por *Streptococcus agalactiae*. La presencia del antígeno capsular K1 es el factor de virulencia de *E. coli* asociado a la meningitis neonatal, a diferencia de lo observado en la población adulta. El mecanismo de patogenicidad no está bien estudiado, aunque se conoce que existe una mayor colonización durante el embarazo por estas cepas de *E. coli* y que la existencia de las mismas en el tracto digestivo de los neonatos podría condicionar una bacteriemia y la meningitis subsiguiente¹⁵.

E. coli es uno de los microorganismos más frecuentes de bacteriemia. Las de adquisición comunitaria se originan en sumatoria en infecciones complicadas del tracto urinario, particularmente cuando existe una obstrucción al flujo de orina, y en menor grado en infecciones del tracto biliar. *E. coli* ocasiona un número importante de sepsis de adquisición nosocomial, siendo sus focos primarios el material protésico, en forma de catéteres endovenosos o tubos endotraqueales, o los tractos urogenital, gastrointestinal o respiratorio¹⁶.

E. coli puede producir abscesos en cualquier localización. Son de moderada frecuencia los localizados a nivel del tejido celular subcutáneo secundarios a la infección de las heridas operatorias, a isquemia arterial de las extremidades inferiores o a lesiones repetidas por inyecciones subcutáneas de insulina u otros medicamentos. En general la etiología es polimicrobiana y la presencia de *E. coli* ocasiona de forma característica la producción de gas en los tejidos, que se detecta por crepitación o por estudios radiológicos. *E. coli* ocasiona de forma excepcional un gran número de infecciones como artritis sépticas, endoftalmitis, tiroiditis supurativa, abscesos cerebrales, endocarditis, osteomielitis, prostatitis, sinusitis y tromboflebitis séptica, entre otras.

El tratamiento antibiótico de las infecciones por *E. coli* depende de su localización, de su gravedad y de los resultados de las pruebas de sensibilidad de las cepas aisladas, si los mismos están disponibles.

Daniel Alvarez Villca

En la diarrea infecciosa la rehidratación y el aporte de electrolitos es la terapéutica de elección, los antibióticos, fundamentalmente quinolonas, se reservan para los casos de curación prolongada de la sintomatología o para aquellos pacientes con cuadros graves de la enfermedad. Las infecciones no complicadas de las vías urinarias generalmente evolucionan de forma favorable con un tratamiento en dosis única o durante tres días de antibióticos del tipo de cotrimoxazol, amoxicilina-acido clavulánico, fosfomicina o cefalexina. En los casos de infecciones complicadas la duración del tratamiento antibiótico no ha de ser inferior a los siete días, siendo recomendable una pauta de entre 10 y 15 días.

Las infecciones graves por *E. coli* requieren a menudo de tratamiento con cefalosporinas de espectro ampliado, como cefalosporinas de espectro ampliado, como cefotaxima o ceftriaxona, o con otros betalactámicos que tienen un excelente actividad frente a dicho microorganismo y buena penetrabilidad tisular. Los aminoglucósidos, como gentamicina o tobramicina, debido a su posible toxicidad se reservan para la terapia de infecciones en pacientes neutropénicos o en caso de neumonías graves, siempre en asociación con un betalactámico.

1.4.7 Infecciones producidas por *Klebsiella* spp.

El género *Klebsiella* está formado por un grupo de bacterias con dos especies que producen enfermedades en el hombre. *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. Las especies del género *Klebsiella* son bacterias inmóviles, negativas con el indol (excepto *K. oxytoca*), positivas con la reacción de Voges-Proskauer, capaces de crecer en KCN y en medios con citrato como única fuente de carbono. Todas las especies fermentan la lactosa y ninguno es productora de ácido sulfhídrico¹⁷.

En la tinción Gram, las bacterias del género *Klebsiella* se distinguen por su gran tamaño y por la propiedad de formar grandes colonias mucoides en los medios con agar, debido a su prominente cápsula de naturaleza polisacárica. Esta cápsula es un importante factor de virulencia y mediante el serotipado del antígeno K cápsulas se ha identificado más de 70 tipos diferentes.

El género *Klebsiella* coloniza el tracto gastrointestinal del hombre y es responsable de infecciones de las vías urinarias, respiratorias y sepsis. La mayoría de estas infecciones son de adquisición intrahospitalarias y generalmente se observan en pacientes debilitados por enfermedades crónicas, a excepción de las que afectan al tracto urinario.

K. pneumoniae es un agente relacionado con la aparición de brotes de infección hospitalarias, sobre todo unas cepas que muestran resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro. La transmisión de paciente a paciente por medio del contacto con el personal sanitario es el principal mecanismo de diseminación de estas epidemias¹⁸.

Los factores de virulencia de *Klebsiella* son la capsula, presente en todas sus especies que es capaz de evitar la fagocitosis y la migración de los leucocitos al área de la infección y la endotoxina propia de las bacterias gramnegativas. No está demostrada la relación entre un determinado tipo capsular y una mayor predisposición a ocasionar un tipo concreto de infección.

La neumonía lobar por *K. pneumoniae* es una manifestación clínica característica de este microorganismo, aunque globalmente no representa más del 1% de todas las neumonías adquiridas en la comunidad. Esta localización se observa en personas con alteraciones de los mecanismos defensivos respiratorios como alcohólicos, diabéticos o bronquíticos crónicos.

A nivel pulmonar se produce una necrosis tisular que ocasiona una expectoración oscura o sanguinolenta característica. Afecta predominantemente al lóbulo superior derecho, pudiendo extenderse desde aquí a otros lóbulos pulmonares. En la radiografía de torax se observa una condensación lobar con aumento del volumen del parenquima pulmonar afectado y abombamiento de la cisura, hallazgos comunes aunque no específicos de las neumonías por *K. pneumoniae*.

En la actualidad la mayoría de las infecciones respiratorias por *Klebsiella* se diagnostican en pacientes hospitalizados, en especial en aquellos con algunas de las circunstancias predisponentes mencionadas o que se encuentran en el postoperatorio inmediato, sometidos a ventilación mecánica asistida o con graves déficits neurológicos. Los tipos capsulares 1, 3, 4, y 5 se han relacionado con las infecciones respiratorias de los pacientes hospitalizados.

K. pneumoniae puede ocasionar hasta un 10% de las infecciones urinarias, afectando de forma habitual a pacientes con obstrucción de las vías urinarias, diabéticos o con antecedentes de antibioterapia previa no activa frente a este microorganismo.

K. pneumoniae es el segundo agente causal de bacteriemia nosocomial dentro de los bacilos gramnegativos, por detrás de *E. coli*¹⁹. Los focos de origen más comunes son el tracto urinario, las vías respiratorias inferiores, el tracto biliar, las infecciones de las heridas operatorias y los catéteres intravasculares^{20, 21}.

Las infecciones de las vías biliares y los abscesos intra abdominales son en ocasiones causados por *K. pneumoniae*, en general asociada a otros microorganismos de origen entérico aerobio y anaerobio. Otras manifestaciones clínicas inusuales son la otitis media crónica, la mastoiditis crónica y la meningitis que se puede observar en neonatos o en pacientes sometidos a procedimientos neuroquirúrgicos. Existe un cuadro clínico

infrecuente de infección por *K. pneumoniae* que se diagnostica en pacientes diabéticos y que ocasionan una endoftalmitis hematogena asociada con abscesos hepáticos.

K. rhinoscleromatis es un agente causante del rinoscleroma, enfermedad granulomatosa crónica de las mucosas de las vías respiratorias superiores que en ocasiones, produce una invasión del tejido óseo y una obstrucción de vías aéreas. La presencia en la submucosa de unas células grandes espumosas que su interior contiene bacilos gramnegativos (denominadas células de Mikulicz) es un hallazgo histopatológico esencial para establecer el diagnóstico de rinoscleroma.

La ozena es una rinitis atrófica crónica cuya etiología se atribuye a *K. azoena*. En esta enfermedad se produce una destrucción de la mucosa y una rinorrea mucopurulenta fétida. No está demostrado el papel etiológico de este agente en la ozena, ya que su erradicación no comporta mejoría de la sintomatología clínica.

Los betalactámicos asociados a inhibidores de las betalactamasas o las cefalosporinas son los fármacos de elección en las infecciones por *Klebsiella*, dado que la casi totalidad de las cepas muestra resistencia a la ampicilina. En las infecciones nosocomiales es necesario conocer la sensibilidad antimicrobiana para instaurar una terapia adecuada, debido a la frecuente multiresistencia que puede presentar estas bacterias adquiridas en el ambiente hospitalario^{22, 23}. La estreptomina, las tetraciclinas y el cotrimoxazol, durante seis a ocho semanas, son los fármacos utilizados para el tratamiento del rinoscleroma. En ocasiones, será necesario realizar una extirpación quirúrgica de los tejidos lesionados. El tratamiento antibiótico para la ozena no ha demostrado eficacia para el control de la infección.

La estreptomycin, las tetraciclinas y el cotrimoxazol, durante seis a ocho semanas, son los fármacos utilizados para el tratamiento del rinoscleroma. En ocasiones, será necesario realizar una extirpación quirúrgica de los tejidos lesionados. El tratamiento antibiótico para la ozena no ha demostrado eficacia para el control de la infección.

1.4.8 Infecciones producidas por Enterococos.

El género *Enterococcus*, desde hace años clasificado independientemente de los estreptococos, consta de apenas 12 especies de cocos anaerobios facultativos capaces de crecer en condiciones extremas, el reservorio más importante es el tracto gastrointestinal del humano y de los animales, como parte de su flora habitual, aunque puede encontrarse en el suelo, agua y alimentos. Los más importantes en los aislamientos clínicos son *E. faecalis* (80% a 90%) y *E. faecium* (5% a 10%).

Los enterococos no tienen un gran poder patológico intrínseco, pero su resistencia natural a múltiples antibióticos les permite sobrevivir, proliferar, transmitirse, colonizar y finalmente causar infección en pacientes hospitalizados, lo que los coloca entre las 3 primeras causas de infección nosocomial. Los principales factores de riesgo para la adquisición de una infección enterocócica nosocomial son la terapia antibiótica, especialmente con cefalosporinas y aminoglucósidos, enfermedades graves subyacentes, cirugía previa, hemodiálisis o diálisis peritoneal, catéteres urinarios o vasculares y estancia en una unidad de cuidados intensivos.

Las infecciones urinarias son la manifestación clínica más frecuente de enfermedad por enterococos, la mayoría de ellas nosocomiales y en relación con catéteres vesicales o instrumentalización. Las bacteriemias en las que se aísla un enterococo suelen ser polimicrobianas, raramente se complican con shock séptico o coagulación intravascular diseminada, pero se asocian a alta

mortalidad por ocurrir en pacientes muy debilitados. Los enterococos suponen el 5% - 15% de las endocarditis infecciosas, la mayoría de los casos causadas por *E. faecalis*. Suelen darse en pacientes con patología valvular previa o prótesis valvulares, y son característicamente de curso subagudo e indolente, indiferenciables clínicamente de las producidas por el grupo viridans o el grupo D. Ningun antibiotico es bactericida frente a *Enterococcus*. En principio se eligiria las penicilinas o la ampicilina en el tratamiento de las infecciones enterococicas. La vancomicina se utiliza en cepas resistentes a penicilinas y en individuos alergicos. En los casos de infecciones graves como endocarditis debe utilizarse terapia con penicilinas, ampicilina o vancomicina junto con aminoglicosidos, por el efecto sinérgico que produce su combinación. La incidencia de infecciones nosocomiales por enterococos resistentes a vancomicina (ERV) se esta incrementando en los ultimos años, de forma que actualmente alcanza hasta un 20% - 30% de los aislamientos hospitalarios. Este dato es preocupante ya que a mayor de los ERV son concomitantemente resistentes a penicilinas y aminoglicosidos –mediada por un plasmado común-, con la dificultad terapéutica que con ello conlleva y además tiene la capacidad de transferir los genes determinantes de la resistencia a otras bacterias con mayor poder patogénico, como *Staphylococcus aureus*. La resistencia de alto grado [CMI] > 2000 mg/L a los aminoglicosidos es más frecuente en *E. faecalis*, y esta codificada para gentamicina y estreptomycinina por genes separados que pueden no coincidir en la misma cepa. Se han descrito diferentes fenotipos de resistencia a vancomicina: las cepas con fenotipo VanA muestran alto nivel de resistencia a vancomicina y teicoplanina; al fenotipo VanB lo define una moderada o alta resistencia a vancomicina con susceptibilidad a teicoplanina, finalmente, una baja resistencia a vancomicina sin resistencia a teicoplanina determina el fenotipo VanC. La asociación de quinupristina con dalfopristina (synercid) es activa frente a *E. faecium* (incluyendo cepas resistentes a la vancomicina), pero no frente a *E. faecalis*. Las nuevas oxazolidinonas (linezolid) son activas frente a cepas de de *E. faecalis* y *E. faecium* multirresistentes.

Daniel Alvarez Villca

1.4.9 Infección producida por Estafilococos.

El genero patogénico humano *Staphylococcus*, perteneciente a la familia *Micrococcaceae*, esta constituido por cocos grampositivos que constituyen uno de los agentes infecciosos mas importantes de la patología humana.

El termino *Staphylococcus* proviene de la expresión griega *Staphyle*, que significa “racimo de uvas”, ya que microscópicamente se caracterizan por ser cocos de un diámetro entre 0,7 y 1,2 μm y que tiene tendencia a formar grupos dado que la división celular no conduce a la separación completa de las células hijas. No son formadoras de esporas y viven bien en los medios ordinarios, sobre todo sólidos.

Dentro del genero *Staphylococcus* se distinguen fundamentalmente por su importancia patogénica 3 especies: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. *S. aureus* es el que mayor importancia tiene por su frecuencia y su potencia patogénica y se caracteriza por su capacidad coagulante del plasma (son coagulasa positivos). Los otros 2, que son coagulasa negativos, solo son patógenos en algunas circunstancias.

S. aureus es una de las más resistentes dentro de las bacterias no formadoras de esporas, pueden sobrevivir en condiciones ambientales poco favorables. Desde el momento de su nacimiento el neonato se puede colonizar por sus congéneres inmediatos y se puede encontrar en el muñón umbilical, zona perineal, piel y a veces en el tracto gastrointestinal. También lo podemos encontrar en ropas de cama, vestidos y atmósfera. Parte de los niños y adultos van a ser portadores, siendo el reservorio mas frecuente la fosa nasal anterior por una adherencia especial de *S. aureus* mediada por su contenido en acido teicoico.

Una vez que el estafilococo supera la barrera mecánica que supone las mucosas y la piel tiene una gran capacidad para producir infecciones supuradas locales y a distancia. Esta se caracteriza por presencia de tejido neurótico, fibrina y gran número de leucocitos polimorfonucleares vivos o muertos. Si los mecanismos de defensa locales no son eficientes los estafilococos, a través de los vasos linfáticos, alcanzan el torrente circulatorio y se diseminan por toda la economía pudiendo producir bacteriemia abscesos metastásicos múltiples, siendo los más frecuentes en la piel, articulaciones, huesos, endocardio y pulmón.

Algunas cepas de *S. aureus*, además, tienen la capacidad de producir distintos productos extracelulares, denominados toxinas porque afectan la función de la célula huésped como ocurre con la exfoliatina, responsable del síndrome de piel escaldada, cuando se afecta principalmente neonatos, o la toxina de SSTT-1 responsable del síndrome de shock tóxico. Las enterotoxinas aisladas en más de la mitad de las cepas de *S. aureus* constituyen un papel importante en el cuadro de intoxicación alimentaria producida por estos gérmenes. Las infecciones de la piel y sus anexos se agrupan alrededor del folículo piloso y se verán favorecidas por la falta de higiene, traumatismo, maceración y enfermedades cutáneas subyacentes como el eccema y el acné juvenil.

La foliculitis es la infección más frecuente y benigna, es un *Hypoderma* que afecta el folículo piloso y sus alrededores y se caracteriza por lesiones rojizas, elevadas, coronadas por un punto blanquecino de pus, a veces dolorosa. Si las lesiones son muy abundantes y se localiza en la región de la barba, se denomina sicosis de la barba.

Los forúnculos se suelen localizar en zonas pilosas de cara, cuello, axilas y nalgas. Es una extensión más profunda de la foliculitis. Se caracteriza por un nódulo rojo, caliente y doloroso, que por ruptura espontánea o quirúrgica libera una secreción amarillenta.

Daniel Alvarez Villca

El impetigo es la lesión más frecuente en niños, caracterizada por una macula roja de evolución a vesícula dejando lesión costrosa amarillenta. También producida por *Streptococcus pyogenes* o por ambos a la vez.

Piodermas, son todas las lesiones localizadas en la piel, se pueden extender de forma rápida a tejidos blandos, dando lugar a celulitis, abscesos, linfangitis e incluso fascitis necrotizante indistinguible de las producidas por el estreptococo del grupo A.

En enfermedades cutáneas localizadas, es conveniente la eliminación del vello, limpieza repetida con antisépticos no irritantes, incisión quirúrgica y drenaje siempre que la lesión fluctúe. Hay que esmerar el lavado de manos del personal sanitario implicado en las curas. Se elegirán penicilinas resistentes a penicilinas (cloxacilina, 30-40 mg/kg/día separada en 4 dosis) o eritromicina (15 – 20 mg/kg/día en 4 dosis).

El síndrome estafilocócico de la piel escaldada, es una dermatitis exfoliativa, que cuando afecta a neonatos se denomina enfermedad de Rítte. Se caracteriza por la aparición de grandes ampollas y la separación de grandes de la epidermis, a veces se desprenden vellos y las uñas, al friccionar la piel esta se contrae y se desplaza (signo de Nikolsky).

El síndrome de shock tóxico es un cuadro grave con hipertermia, hipotensión, diarrea, eritrodermia, confusión mental e insuficiencia renal. Aunque se ha descrito cuadros no femeninos, el 96% de ellos corresponde a mujeres en el periodo de menstruación y que utilizaron tampones hiperabsorbentes. Sería pues una infección local por cepas de *S. aureus* productoras de SSTT-1.

Su terapia incluye reposición agresiva del equilibrio hidroelectrolítico con solución salina y/o coloide y antibioterapia sistémica con antibióticos resistentes a betalactamasa.

Daniel Alvarez Villca

En la intoxicación alimentaria estafilocócica, suele presentarse en epidemias y es secundario a la ingestión de la enterotoxina previamente formada por el estafilococo en el alimento contaminado. El cuadro tiene un periodo de incubación corto de 2 a 6 hrs. y se caracteriza por náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. El pronóstico es bueno y el tratamiento, que no precisa antibioterapia, se basa solo en la reposición electrolítica.

La diseminación intrahospitalaria de los estafilococos entre los portadores y la población susceptible hay que procurar impedirlo mediante la aplicación de medios físicos o agentes tópicos. Este problema viene agravado por el cambio de la sensibilidad antibiótica de *S. aureus* en las últimas décadas, pasando de ser uniformemente sensible a la penicilina a aislamientos resistentes a todos los betalactámicos, aminoglucosidos y quinolonas, representando las infecciones por MARSA en algunos hospitales cifras del 50%. El lavado de manos meticuloso y repetido debe de ser una rutina para el personal sanitario y es de suma importancia. La mupirocina en pomada aplicada en fosas nasales es útil para erradicar el estado de portador.

1.4.10 Infecciones causadas por *Pseudomona* spp.

El género *Pseudomona*, que pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*, está constituido por bacterias gramnegativas, ampliamente difundidas en la naturaleza. La especie con mayor importancia en patología médica es *P. aeruginosa*. En los últimos años ha tenido lugar una reorganización taxonómica de las especies que constituían el género *Pseudomonas*. En la actualidad dentro de este género encontramos además de *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. alcaligenes* y *P. pseudoalcaligenes*, entre otras. Otras especies de este género han sido clasificadas en otros nuevos géneros, por ejemplo, *Pseudomona maltophilia*, que posteriormente fue denominada *Xantomonas maltophilia*, en la actualidad constituye la única especie (*S.*

maltophilia) del genero *Stenotrophomonas*. Otras especies que antes pertenecían al genero *Pseudomonas* son: *Burkholderia cepacia*, *B. mallei*, *B. pseudomallei*, *Comamonas acidovorans*, *C. testosterona* y *Shewanella putrefaciens*.

P. aeruginosa es un bacilo gramnegativo aerobio estricto, no fermentador de los hidratos de carbono, provisto de un flagelo polar que le confiere motilidad, y de *pili* que le permite adherirse a la superficie. Crece fácilmente en los medios de cultivo ordinario como agar sangre donde forma colonias planas, de olor peculiar y color azul-verdoso debido a la producción de pigmentos, piocianina y pioverdina. Pueden originar también otros pigmentos: uno de color rojo oscuro y otro negro, denominados, respectivamente, piorrubina y piomelanina. El nombre de *aeruginosa* (óxido de cobre) hace referencia a estos pigmentos.

P. aeruginosa se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, en íntima asociación con ambientes húmedos. Ello se debe a que los requerimientos nutritivos del microorganismo son mínimos, hasta el extremo de que es capaz de multiplicarse en agua destilada. *P. aeruginosa* es un microorganismo nosocomial que puede ocasionar infecciones endémicas así como brotes epidémicos. Se puede aislar en los hospitales a partir del agua de grifos, de los desagües, lavados, suministros líquidos diversos e incluso, de ramos de flores, sin contar con presentes normalmente en la flora del personal hospitalario.

En su patogenia comprende tres etapas a) colonización o adherencia, b) invasión local, y c) diseminación.

P. aeruginosa es una causa frecuente de bacteriemia primaria o secundaria, siendo en la actualidad responsable del 10% - 20% del total de las sepsis por gramnegativos, esta afecta especialmente a pacientes neutropénicos por enfermedades neoplásicas tratados con citostáticos, en los extremos de la vida, diabéticos, transplantados y quemados e infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Daniel Alvarez Villca

Existe una serie de factores de mal pronóstico ante una bacteriemia por *P. aeruginosa*: neutropenia persistente o inferior a 100 células/mL, shock séptico, terapia antibiótica inadecuada, origen pulmonar, cutáneo o desconocido, insuficiencia renal, focos metastásicos y presencia de enfermedad rápidamente o ultimadamente fatal.

Se distingue una forma primaria por aspiración no bacteriémica y otra hematogena por metástasis en el transcurso de una sepsis. La primera puede aparecer en pacientes hospitalizados con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fallo cardíaco o sida así como en pacientes traqueotomizados o que reciben inhalaciones con aparatos provistos de reservorio contaminados por *Pseudomonas* mientras que las formas bacteriémicas suelen aparecer en pacientes neutropénicos y tienen una extraordinaria gravedad.

Mientras que la meningitis extrahospitalaria por *P. aeruginosa* es excepcional, la intrahospitalaria no es infrecuente. Esta bacteria puede llegar a la meninges: a) por manipulación neuroquirúrgicas, ya sean diagnósticas o terapéuticas, como la colocación de derivaciones ventriculoauriculares o ventriculomastoideas; b) por extensión directa desde infecciones otosinomastoideas; c) por traumatismos, y D) por vía hematogena, sobre todo en pacientes con hemopatías malignas.

Las infecciones urinarias son comunes en pacientes sometidos a manipulaciones (sondajes, cistoscopia) u operaciones (resección endoureteral prostática) de las vías urinarias y también en las infecciones urinarias crónicas tratadas en forma prolongada con antibióticos.

P. aeruginosa es responsable del 70% de los casos de otitis externa. Cursa con escasa secreción sanguinolenta o purulenta. La otitis externa maligna es una forma grave que se observa en diabéticos, habitualmente ancianos que es

capaz de invadir y destruir por antigüedad el cartílago y los huesos, y provocar parálisis de los pares craneales (precozmente el VII y posteriormente el IX, X y XI) y meningitis.

A excepción de algunas formas de infección por *Pseudomonas* como la otitis externa (no maligna) o la dermatitis por exposición a aguas contaminadas por ejemplo piscinas que no suelen precisar tratamiento antibiótico, la mayoría de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* requieren el uso de uno o más antibióticos. Habitualmente, los antibióticos de elección con capacidad antipseudomonica son: animoglucosidos (gentamicina, tobramicina, netilmicina, amikacina), algunas cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima, cefoperazona, cefepima), algunas penicilinas de amplio espectro (ticarciclina, ticarciclina/ ácido clavulánico, piperacilina, piperacilina/tazobactam, mezlocilina, azlocilina), carbapenems (imipenem, meropenem), monobactams (aztreonam) y fluoroquinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino, levofloxacino). Las quinolonas no se aconsejan en pediatría por la posibilidad de que inhiban el desarrollo de los cartílagos de crecimiento. Todos estos antibióticos están disponibles vía parenteral y las fluoroquinolonas tanto vía oral como endovenosa.

En la mayoría de las infecciones graves por *Pseudomona* se combina el uso de dos antimicrobianos con capacidad antipseudomonica.

1.4.11 Infecciones producidas por *Acinetobacter*.

En general, las especies del género *Acinetobacter* no son particularmente virulentas. Sin embargo, en los últimos años se ha incrementado en gran medida su asociación a infecciones nosocomiales, principalmente en formas de brotes epidémicos en áreas de cuidados intensivos o áreas quirúrgicas.

El género *Acinetobacter* está constituido por cocobacilos gramnegativos, inmóviles, oxidasa negativos y catalasa positivos, que poseen un metabolismo aerobio estricto, algunas cepas pueden ser capsuladas. Se encuentra

ampliamente distribuidos en la naturaleza y se ha aislado del suelo, del agua y de una gran variedad de productos patológicos humanos²⁴.

El género *Acinetobacter* tiene una historia taxonómica compleja, clasificado dentro de la familia *Neisseriaceae* comprendía una sola especie *A. calcoacetucus*, con dos variedades: *var antitratus* y *var lwoffii*. Recientemente, se ha propuesto su exclusión de esta familia y su inclusión en la familia *Moraxellaceae*, que incluye *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* y otros microorganismos relacionados. Últimamente este género ha sufrido una reorganización taxonómica y actualmente acepta 19 grupos de hibridación ADN-ADN (genoespecies) entre los que se mantiene *A. calcoaceticus* y *A. lwoffii* y se ha propuesto cinco nuevas especies. *A. baumannii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* y *A. radioresistens*. La especie 1 (*A. calcoaceticus*), 2 (*A. baumannii*), 3 (sin nombre) y 13TU (propuesto por Tjernberg y Ursing, también sin nombre) presenta una relación muy estrecha por lo que se les ha denominado complejo *A. calcoaceticus*- *A. baumannii*.

El género *Acinetobacter* se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente hospitalario. Se ha descrito brotes epidemiológicos asociados a diversos focos inanimados (ventiladores, colchones, respiradores y amplia variedad de otros instrumentos). La piel del personal sanitario es la principal fuente de contagio y desempeña un papel importante en la transmisión de la bacteria durante un brote epidémico, facilitando la colonización cruzada entre pacientes a través de manos y los guantes. *A. baumannii* es la especie de este género que con mayor frecuencia se asocia a infecciones nosocomiales. Las cepas de *Acinetobacter* representan entre el 1% y el 9% de las bacterias aisladas en especímenes clínicos. Aunque *Acinetobacter* spp, es considerado un patógeno con escasa virulencia, algunas características de este microorganismo pueden contribuir a aumentar la virulencia de las cepas causantes de infecciones. Estas características incluyen: a) la presencia del polisacárido capsular; b) la adherencia a células epiteliales humanas; c) la síntesis de enzimas que degradan lípidos titulares y d) el efecto tóxico del lipopolisacárido componente de la pared celular.

Daniel Alvarez Villca

A menudo los aislamientos de *Acinetobacter* de muestras clínicas reflejan colonización en lugar de infección.

Aunque se ha referido neumonías por *Acinetobacter* adquiridas en la comunidad, sobre todo en alcohólicos o pacientes con insuficiencia renal crónica, la neumonía por este microorganismo es típicamente intrahospitalaria y afecta a pacientes traqueotomizados o portadores de intubación intratraqueal. Se ha descrito varios casos de meningitis tanto por *A. baumannii* como por *A. Iwoffii* después de intervenciones neuroquirúrgicas, pero rara vez como meningitis primaria, con excepción de la que afecta a los recién nacidos.

Habitualmente, la bacteriemia esta en relación con puestas de entrada evidentes, como catéteres, quemaduras o heridas quirúrgicas infectadas, instrumentaciones de vías urinarias u otras.

Acinetobacter también se ha implicado como agente responsable de infecciones urinarias nosocomiales, en un intervalo que va del 2% al 61%, sobre todo en áreas de lesiones medulares. Otras infecciones nosocomiales citadas esporádicamente en la literatura incluyendo infecciones subcutáneas y de heridas quirúrgicas, peritonitis en enfermos sometidos a diálisis peritoneal y casos aislados de osteomielitis, conjuntivitis y artritis.

La mayoría de las especies crecen bien en agar MacConkey. Mediante tinción de Gram puede aparecer como diplococos gramnegativos. La identificación preliminar de estos macroorganismos se realiza por las características anteriormente citadas: oxidasa negativa, catalasa positiva, inmóvil. La principal diferencia entre las dos especies más importantes de este género es que *A. baumannii* forma ácido a partir de glucosa, mientras que *A. Iwoffii* no lo hace.

Las cepas de *A. baumannii* aisladas de muestras clínicas son a menudo resistentes a una amplia variedad de agentes antimicrobianos y pueden constituir un reservorio de genes de resistencia a estos. Los antibióticos que presentan mayor actividad sobre esta especie son: imipenem y la doxicilina, mientras que la amikacina, la asociación de ampicilina con sulbactam y las

Daniel Alvarez Villca

nuevas fluoroquinolonas presentan actividad moderada²⁵. Sin embargo, en los últimos años ha aumentado en gran medida en número de aislamientos clínicos de *A. baumannii* resistentes a carbapenemes. En estas circunstancias, *Acinetobacter* puede permanecer solamente sensible a la polimixina, siendo esta la última alternativa terapéutica posible. *A. Iwoffii* posee mayor sensibilidad a los agentes antimicrobianos.

II. OBJETIVOS

a. Objetivo general

Determinar el perfil de sensibilidad antimicrobiano de cepas aisladas en muestras procesadas en el laboratorio de bacteriología del Hospital Obrero N° 1 durante el segundo semestre de 2005.

b. Objetivo específico

- Determinar la frecuencia de microorganismos en general y según el tipo de muestra y el servicio.
- Determinar el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos en relación a la especie aislada y clasificarlas en: antimicrobianos de primera elección, segunda elección y antimicrobianos cuya utilización empírica no es recomendable.

III. DISEÑO METODOLOGICO

3.1 Tipo de estudio

El estudio es de tipo descriptivo, longitudinal prospectivo, realizado el segundo semestre del presente año. Se realizó la determinación del perfil de resistencia y sensibilidad a diferentes muestras procesadas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Obrero N° 1 las cuales presentaban multiresistencia a los antibióticos usados en el antibiograma que se realiza cotidianamente, esto nos permitirá sugerir nuevos antibióticos para realizar dicha prueba.

3.2 Universo y muestra

Se tomó como universo a los 1 768 pacientes con infecciones atendidos desde Junio a Noviembre de 2005. Para la presente investigación se trabajó con todo el universo.

Las unidades de observación fueron las personas adultas mayores de 15 años hombres y mujeres.

3.3 Criterios de inclusión exclusión

3.3.1 Criterios de inclusión

- Se procesaron todas las muestras que presenten resistencia a los antibióticos utilizados en el antibiograma de rutina.
- Se realizaron antibiogramas a todas las muestras sin discriminación de edad, sexo o servicio.

Daniel Alvarez Villca

3.3.2 Criterios de exclusión

- No se tomaron en cuenta las muestras que presentaban sensibilidad al antibiograma de rutina.

3.4 Aspectos éticos

Para la presente investigación se hizo la solicitud de permiso a la Jefatura del Laboratorio en el sentido que el presente trabajo de investigación aportará conocimientos para mejorar las medidas terapéuticas en caso de presentarse cuadros de resistencia a uno o más antibióticos, el cual nos permitirá tomar medidas más oportunas.

3.5 Variables y su medición

3.5.1 Variable dependiente

Se ha tomado como variable dependiente a la eficacia del antibiótico.

3.5.2 Variable independiente

Como variables independientes se tomó en cuenta a las características de sensibilidad y resistencia de los antibióticos.

3.6 Materiales y reactivos

Ø MATERIALES

- Asa bacteriologica graduada
- Cajas petri de 10 mL
- Hisopos esteriles
- Incubadora
- Mechero bunsen
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Pinzas
- Regla milimetrada
- Tubos de ensayo estériles
- Vortex

Ø REACTIVOS

- Discos de antibiograma
- Escala de Mac Farlan
- Medio de Muller Hinton
- Medio de transporte
- Solucion salina 0,9%

3.7 Técnicas y procedimientos

La información fue obtenida mediante la utilización de un formulario de registro la cual fue llenada hasta completar el periodo de estudio. (Anexo1)

Se utilizó la metodología recomendada por el NCCLS, documentos M2-A8 y M7-A6 del año 2005 y el suplemento M100-S15 del año 2005.

Daniel Alvarez Villca

Consideramos aceptable:

- a. Ensayar 6 monodiscos por placa de 9 cm de diámetro y 12 por placa grande de 15cm.
- b. Realizar 2 controles de calidad internos por mes, con las cepas ATCC y cada vez que se cambie la partida del frasco de medio de cultivo y/o vial de antibiótico.

3.8 Procesamiento y análisis de los datos

Con los datos cuali-cuantitativos obtenidos realizando las pruebas, se creó una base de datos con el programa Axes y Excel determinándose el perfil de sensibilidad y resistencia de los distintos microorganismos aislados y el tipo de muestra más frecuente.

3.9 Operacionalización de variables

Variable	Tipo	Operacionalización		Indicador
		Escala	Descripción	
Edad	Cuantitativa continua	Grupo etareo <5 15-24 25-34 35-44 45-54 55-64 65-74 75-84 84-95 >95	Según la edad del paciente	Frecuencia absoluta Frecuencia relativa Media
Sexo	Cualitativa Nominal dicotómica	Masculino Femenino	Según el sexo biológico del paciente	Porcentaje de pacientes con Infección
Agente etiológico	Cualitativa nominal politómica	Microorganismo aislado	Según el agente etiológico identificado en la infección	Porcentaje según el tipo de muestra.
Muestra	Cualitativa nominal politómica	Tipo de muestra biológica	Según la muestra procesada	Porcentaje de la muestra según el microorganismo aislado.
Servicio	Cualitativa nominal politómica	Servicios solicitante	Según el servicio donde esta interno el paciente.	Porcentaje del servicio según tipo de muestra, agente etiológico y perfil de susceptibilidad antimicrobiana.
Susceptibilidad a los antimicrobianos	Cualitativa	-Sensible -Resistente	Según el halo de inhibición	Porcentaje de sensibilidad al microorganismo aislado.

IV. RESULTADOS

La tabla 1 y gráfico 1, muestra los microorganismos más frecuentemente aislados en relación al tipo de muestra procesada, siendo las muestras de orina las mayormente procesadas donde se aislaron mayor cantidad de microorganismos con 873 casos para un 49,4%, seguida de las secreciones de heridas con 211 cultivos (11,9%), líquido seminal con 107 cultivos (6,1%), absceso con 87 (4,9%), tubo endotraqueal con 76 (4,3%), líquido peritoneal con 66 (3,7%), catéter endovenoso y esputo con 49 cultivos para un 2,7% respectivamente. El resto de las muestras procesadas estuvieron en una frecuencia de 2,4 y 0,1%.

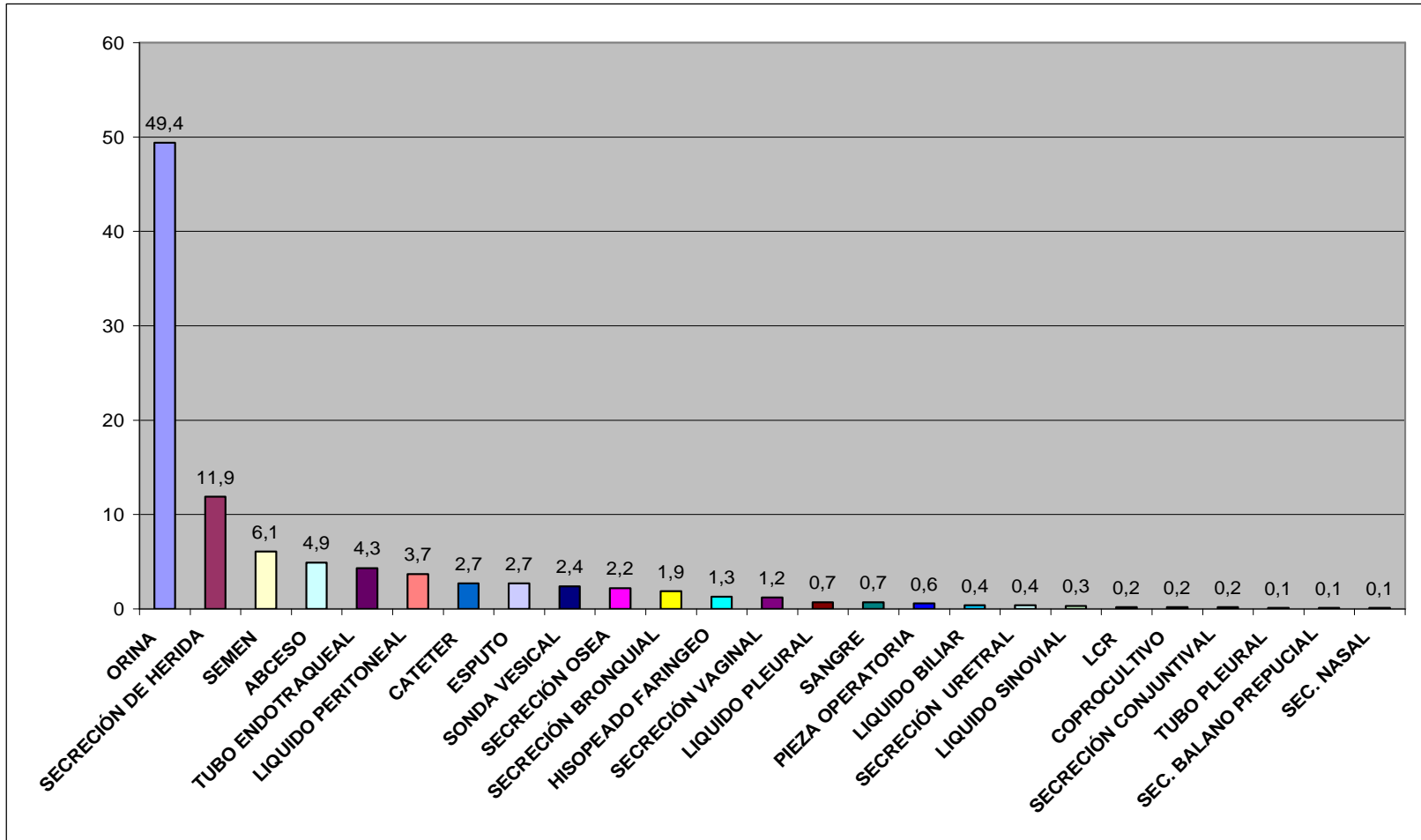
Tabla 1. Microorganismos aislados según el tipo de muestra. Hosp. "Obrero". 2005

TIPO DE MUESTRA

BACTERIAS	A	C	E	H	L	B	P	LP	S	LS	O	CO	PO	SA	SB	SQ	SC	SH	SN	SO	SU	SV	SL	TE	TP	TOTAL
<i>Escherichia coli</i>	27	5	4	1	0	7	39	2	8	0	569	2	1	4	0	1	0	41	0	3	2	10	12	3	0	746
<i>Staphylococcus aureus</i>	41	29	22	18	2	0	5	7	15	5	18	0	8	5	0	9	3	101	2	28	3	6	9	32	3	377
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	6	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	72	1	91	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	5	0	0	174
<i>Staphylococcus spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1	17	1	1	0	5	2	1	0	38	0	0	0	0	6	0	15	0	0	0	2	4	4	0	98
<i>Klebsiella spp.</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	0	0	0	0	1	4	0	4	0	38	0	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	4	1	0	60
<i>Enterococcus spp.</i>	3	2	0	0	0	0	4	0	5	0	21	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	38
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	3	2	2	0	0	4	0	0	0	17	0	0	0	0	3	0	8	0	2	0	2	1	3	0	51
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	2	0	19	0	0	0	1	1	0	7	0	0	0	0	0	3	0	37
<i>Enterobacter spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2
<i>Acinetobacter spp.</i>	2	2	2	1	0	0	3	2	0	0	5	0	0	2	0	12	0	7	0	1	0	0	7	26	0	72
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	21	0	0	0	0	0	0	4	0	2	0	0	0	1	0	32
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	1	0	0	0	2	0	11	0	0	0	0	0	0	0	28
<i>Bucholderia cepacia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>Pseudomona spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	6
	87	49	49	23	3	8	66	13	107	6	873	4	12	13	1	35		211	2	39		21	42	76	3	
	4,9%	2,7	2,7	1,3	0,2	0,45	3,7	0,7	6,1	0,3	49,4	0,2	0,6	0,7	0,05	1,9	3 0,2	11,9	0,1	2,2	7 0,4	1,2	2,4	4,3	0,2	1768

A: absceso; C: catéter; E: esputo; H: hisopeado faríngeo; L: líquido cefalorraquídeo; B: bilis; P: líquido peritoneal; LP: líquido pleural; S: semen; LS: líquido sinovial; O: orina; CO: coprocultivo; PO: pieza operatoria; AS: sangre; SB: secreción balanoprepucial; SQ: secreción bronquial; SC: secreción conjuntival; SH: secreción de herida; SN: secreción nasal; SO: secreción ósea; SU: secreción uretral; SV: secreción vaginal; SL: sonda vesical; TE: tubo endotraqueal; TP: tubo pleural.

Gráfico 1. Microorganismos aislados según el tipo de muestra. Hosp. "Obrero". 2005



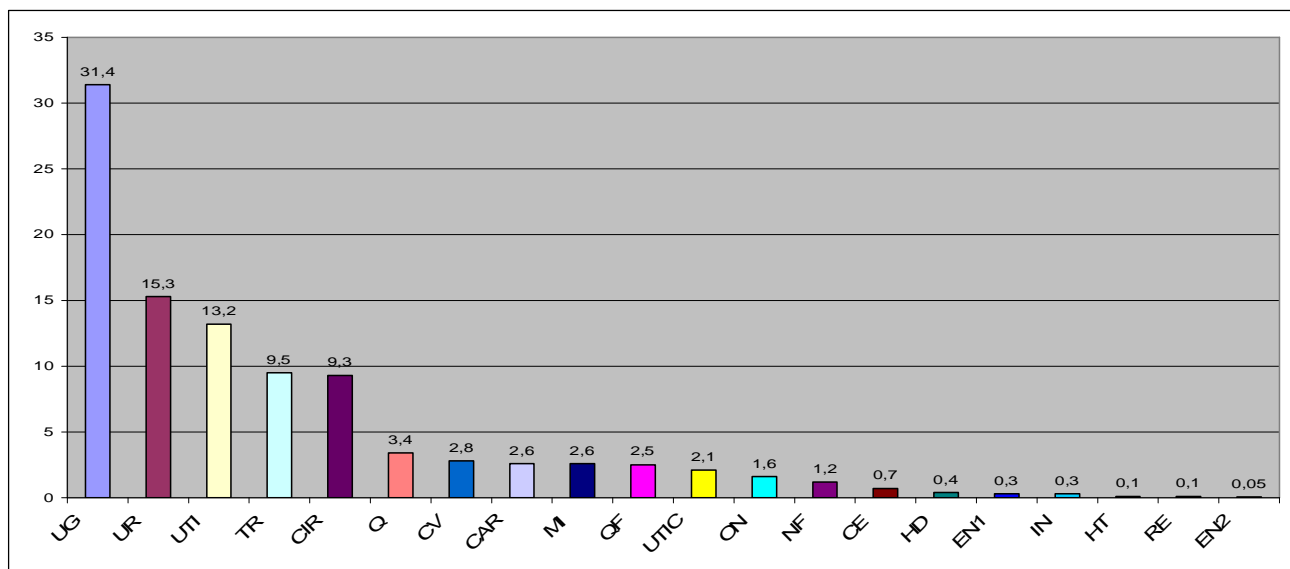
Analizando la distribución de microorganismos por servicio, en la tabla 2 y grafico 2 se puede observar que los primeros 7 servicios en donde se aislaron la mayoría de las cepas son: Urología (31,4%), Urgencias (15,3%), UTI (13,2%), Traumatología (9,3%), Cirugía (3,4%), Quemados (3,4%) y Cirugía Vascular con 2,9%. En el resto de los servicios los aislamientos de cepas estuvieron entre 2,6% y 0,05%.

Tabla 2. Distribución de microorganismos según el servicio. Hosp."Obrero". 2005

MICROORGANISMOS	CAR	CIR	CV	CE	EN1	EN2	HT	HD	IN	MI	NF	ON	Q	QF	RE	TR	UR	UG	UTI	UTIC	TOTAL
<i>Escherichia coli</i>	23	82	10	8	4	1	1	1	1	29	13	17	13	20	2	65	140	284	22	10	746
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	38	23	0	0	0	1	5	2	1	1	3	16	14	0	55	64	38	93	11	377
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	2	1	12
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	9	2	0	1	0	0	0	2	5	1	2	0	1	0	11	16	116	7	0	174
<i>Staphylococcus spp.</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	2	8	2	0	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	8	8	1	0	0	0	0	0	2	3	2	3	1	0	7	9	19	23	7	98
<i>Klebsiella spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	1	2	3	0	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	5	0	2	0	0	0	0	0	2	3	3	3	1	0	6	8	19	7	1	60
<i>Enterococcus spp.</i>	1	3	2	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	4	5	15	2	1	38
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	5	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	1	0	5	6	12	14	0	51
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	5	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	4	13	6	1	37
<i>Enterobacter spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
<i>Acinetobacter spp.</i>	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	3	1	2	52	4	72
<i>Proteus mirabilis</i>	0	4	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	4	0	0	3	8	9	1	0	32
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	2	0	1	2	14	1	1	28
<i>Bukholderia cepacia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>Pseudomona spp.</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	6
	46	166	50	13	5	1	2	7	6	47	22	29	60	44	2	169	271	556	235	37	
	2,6%	9,3	2,8	0,7	0,3	0,05	0,1	0,4	0,3	2,6	1,2	1,6	3,4	2,5	0,1	9,5	15,3	31,4	13,2	2,1	1768

CAR: cardiología; CIR: cirugía; CV: cirugía vascular; CE: consultorio externo; EN1: endocrinología 1; EN2: endocrinología 2; HT: hematología; HD: hemodiálisis; IN: inmunología; MI: medicina interna; NF: nefrología; ON: oncología; Q: quemados; QF: quirófanos; RE: recuperación; TR: traumatología; UC: unidad coronaria; UR: urgencias; UG: urología; UTI: unidad de terapia intensiva; UTIC: unidad de terapia intermedia.

**Gráfico 2. Distribución de microorganismos según el servicio.
Hosp."Obrero". 2005**



CAR: cardiología; CIR: cirugía; CV: cirugía vascular; CE: consultorio externo; EN1: endocrinología 1; EN2: endocrinología 2; HT: hematología; HD: hemodiálisis; IN: inmunología; MI: medicina interna; NF: nefrología; ON: oncología; Q: quemados; QF: quirófanos; RE: recuperación; TR: traumatología; UC: unidad coronaria; UR: urgencias; UG: urología; UTI: unidad de terapia intensiva; UTIC: unidad de terapia intermedia.

Escherichia coli

La tabla 3 y el gráfico 3 muestra el perfil de sensibilidad de *E. coli* a 17 antimicrobianos. Para una mejor interpretación con fines prácticos, se dividió la sensibilidad en 3 categorías: sensibilidad menor al 30% de los que no se recomiendan su utilización empírica; sensibilidad entre un 30 a 70% con una utilización poco recomendable (dudosa) y sensibilidad mayor al 70% con una excelente respuesta. *E. coli* tubo una sensibilidad excelente solo a: Imipenem (100%), Amikacina (95,4%), polimixina B (85,2%), Nitrofurantoína (82,8%) y cefoperazona (73,8%).

E. coli tubo una sensibilidad entre 30 a 70% (sensibilidad dudosa o poco recomendable) frente a: Cloranfenicol, Cefotaxima, Gentamicina, Cefuroxima, Ampicilina+Sulbactam, Ciprofloxacina y Tetraciclina.

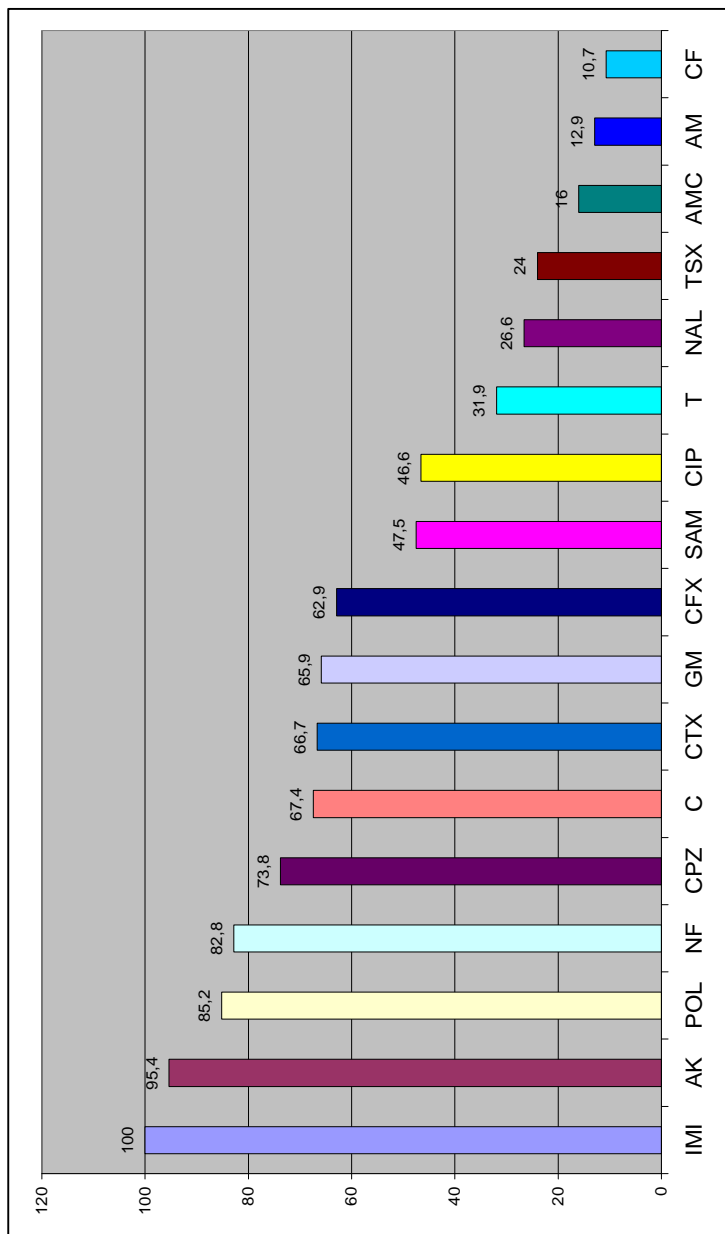
En tanto que, tubo una sensibilidad menor al 30% (utilización empírica no recomendable) frente a: Ácido nalidixico, Trimetoprim+Sulfametoxazol, Amoxicilina + Ácido Clavulánico, Ampicilina y Cefalotina.

Tabla 3. Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos de las cepas multirresistentes. Hosp. “Obrero”. 2005.

	TOTAL	AK	IMI	POL	CPZ	SAM	CTX	CIP	GM	NF	NAL	T	AM	AMC	CF	C	TSX	CTZ	CFX	P	OXA
<i>E. coli</i>	746	95,4	100	85,2	73,8	43,5	66,7	46,6	65,9	82,8	26,6	31,9	12,9	16	10,7	67,4	24		62,9		
<i>S. aureus</i>	377	72,9						57	88,8	77,4	16,7	66,7		2,5	64,7	69,7	35,4		64,7	1,1	64,7
<i>S. coagulasa negativo</i>	191	86,2						41,2	88,8	93,6	12,4	44,3		7,8	83,6	84,8	18,3		83,6	4	83,6
<i>Klebsiella spp</i>	123	84,3	100	92,5			44	64,2	51,7	66,3	29,2	48,3	14,5	16,2	15,3	57,1	39,5				
<i>Enterococcus spp</i>	98							53,7	48	69,4	7,2	47,5	68,1	90,3		83					
<i>Enterobacter spp</i>	90	88,8	100	100			29,6	68,2	44	48,5	15,3	12,5	20,8	38,4	36,2	69,6	37				
<i>Acinetobacter spp</i>	72	29,4	77,8	100	22,2	22,2	0	5,5	4,5	6,7	9,1	8,3	0	0	0	0	0		3,4		
<i>Proteus spp</i>	34	98,1					91,4	62,5	40,3		10,6		10,6	12,1	9,7	95,5	13,6		82		
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	28	81,5	100	66,7	66,7			50	58,6	0	0							13,8			
<i>Pseudomona spp</i>	9	62,5	100					58,4	8,4	0	0	0			0	41,1	16,7	16,7			

AK: Amikacina; IMI: Imipenem; POL: Polimixina; CPZ: Cefoperazona; SAM: Sulbactam-Ampicilina; CTX: Cefotaxima; CIP: Ciprofoxacina; GM: Gentamicina; NF: Nitrofurantoina; NAL: Acido Nalidixico; T: Tetraciclina; AM: Ampicilina; AMC: Amoxicilina – Ac. Clavulanico; CF: Cefalotina; C: Cloranfenicol; TSX: Trimetroprim-Sulfametoxazol; CFX: Cefuroxima; P: Penicilina; OXA: Oxacilina

Grafico 3. Perfil de susceptibilidad de E. coli a los antimicrobianos. Hosp. "Obrero". 2005.



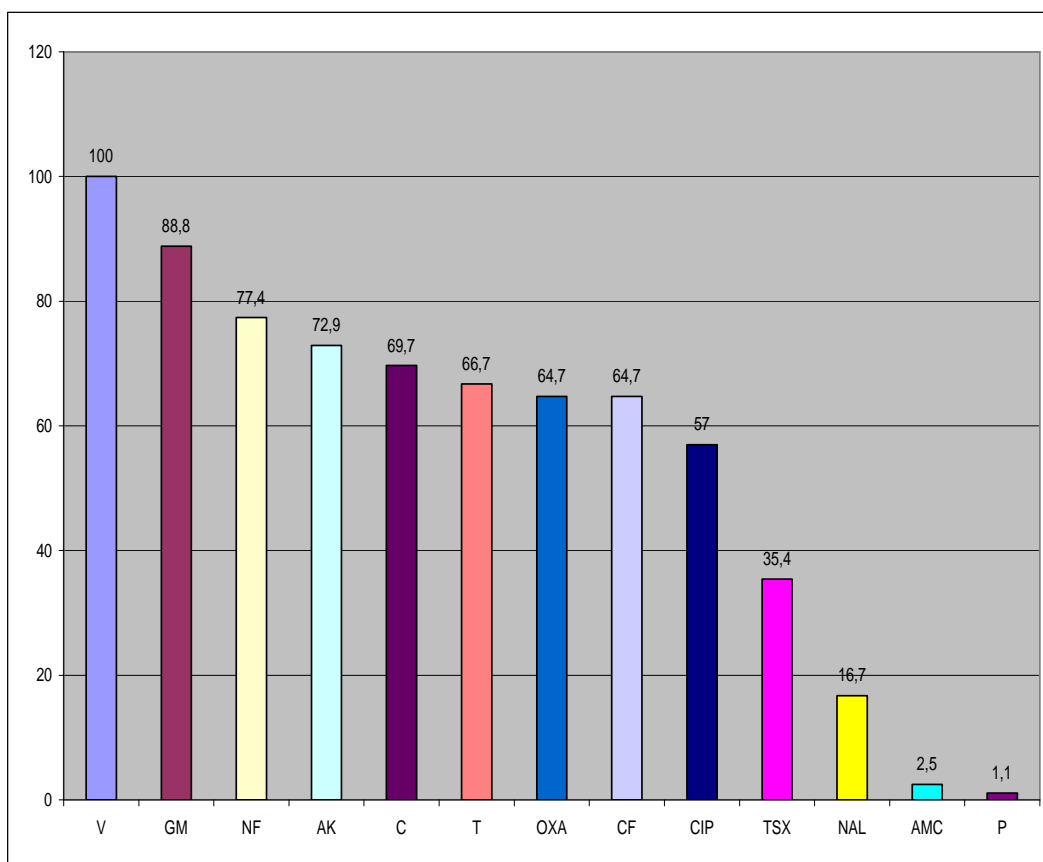
IMI: Imipenem AK: Amikacina; POL: Polimixina; NF: Nitrofurantoina; CPZ: Cefoperazona; C: Cloranfenicol; CTX: Cefotaxima; GM: Gentamicina; CFX: Cefuroxima; SAM: Sulbactam-Ampicilina; CIP: Ciprofloxacina; T: Tetraciclina; NAL: Acido Nalidixico; TSX: Trimetoprim-Sulfametoxazol; AMC: Amoxicilina-Ac. Clavulanico; AM: Ampicilina ; CF: Cefalotina.

Staphylococcus aureus

El 100 % de los aislamientos de *S. aureus* fue sensible a la vancomicina, la sensibilidad de gentamicina, nitrofurantoina y amikacina fue excelente (72,9 a 88,8). Tabla 3 y Gráfico 4.

E. aureus demostró una sensibilidad dudosa poco recomendable frente a: trimetoprim+sulfametoxazol, ciprofloxacina, cefalotina, oxacilina, tetraciclina y cloranfenicol (35,4 a 69,7%). La sensibilidad a ácido nalidixico, amoxicilina + ácido clavulánico y penicilina fue la mas baja con 1.1 a 16,7%. Tabla 3 y Gráfico 2.

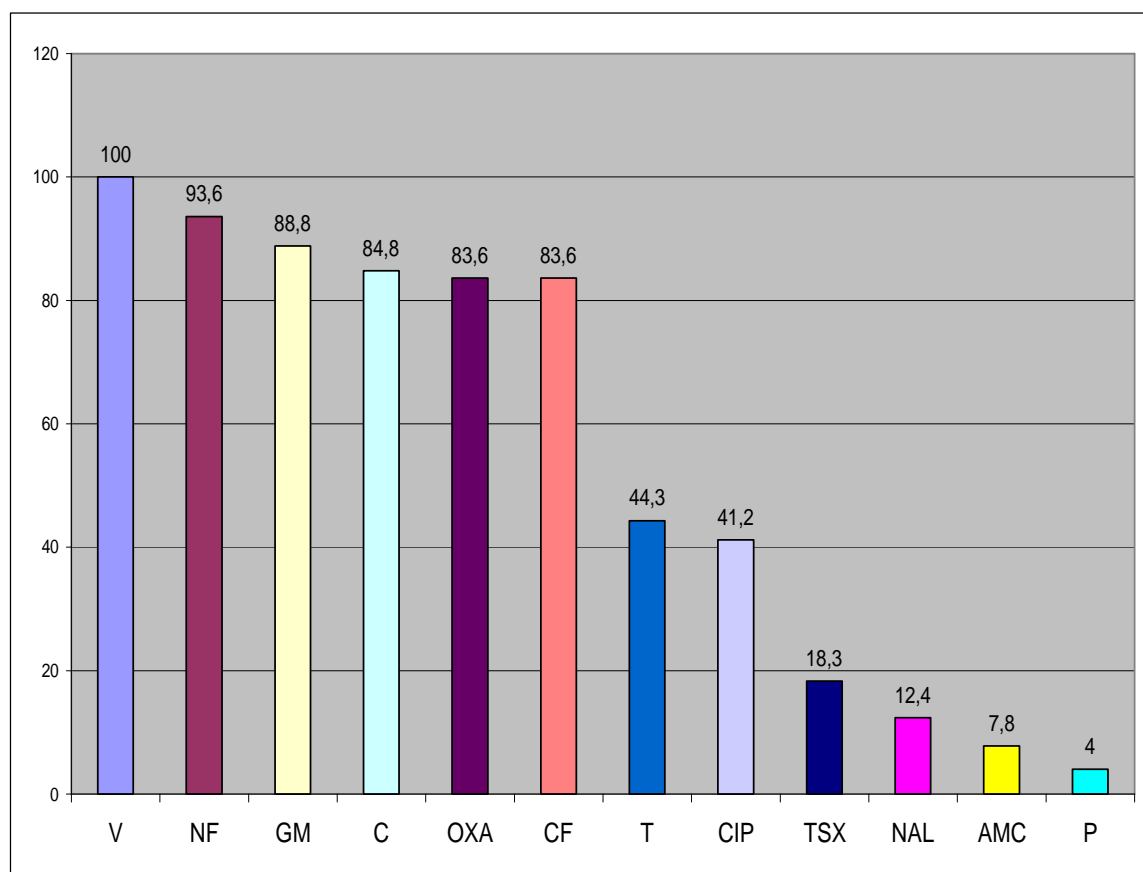
Gráfico 4. Sensibilidad a los antimicrobianos en cepas de *S. aureus*. Hosp. "Obrero". 2005.



***Staphylococcus coagulasa* negativos**

Tal como se observa en la tabla 3 y gráfico 5, este microorganismo tuvo una excelente sensibilidad (83,6 a 100%) a la mayoría de los antimicrobianos ensayados como ser: cefalexina, oxacilina, cloranfenicol, gentamicina, nitrofurantoína y vancomicina. Tuvieron una sensibilidad moderada o dudosa frente a tetraciclina (44,3%) y ciprofloxacina (41,2%). La menor sensibilidad se dio frente a penicilina, amoxicilina+ácido clavulánico, ácido nalidixico y trimetoprim+sulfametoxazol (4 a 18,3%).

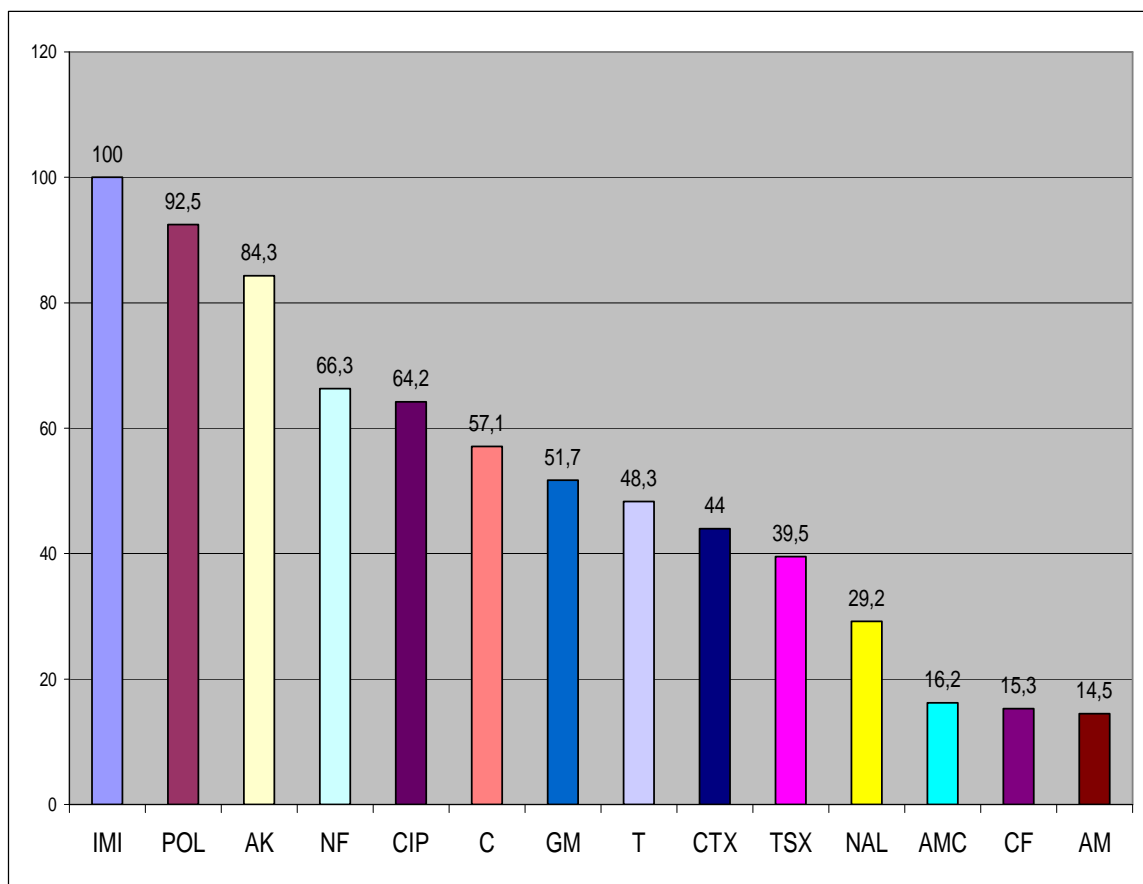
Gráfico 5. Sensibilidad a antimicrobianos en cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativos. Hosp."Obrero". 2005.



Klebsiella spp.

La tabla 3 y gráfico 6 muestra que solo a tres antimicrobianos tiene una sensibilidad “excelente” (sensibilidad superior al 70%): imipenem (100%), polimixina B y amikacina (92,5%). A la mayoría de los antimicrobianos, tuvo una sensibilidad “dudosa” o poco recomendable (sensibilidad de 39,5 a 66,3%) frente a: trimetoprim+sulfametoxazol, cefotaxima, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, ciprofloxacina y nitrofurantoína. Tuvo una sensibilidad muy baja frente a ampicilina, cefalotina, amoxicilina+ácido clavulánico y ácido nalidixico (14,5 a 29,2%).

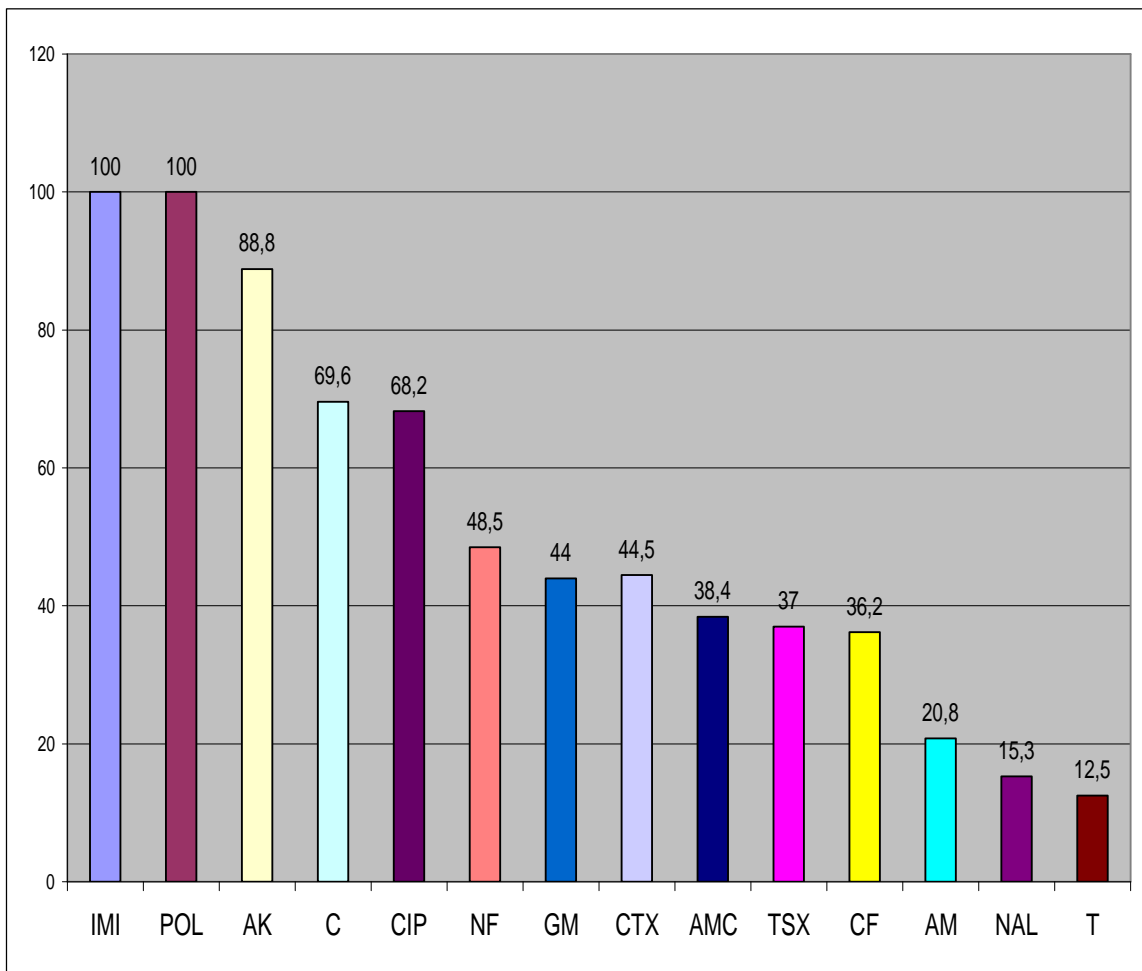
Grafico 6. Sensibilidad a antimicrobianos de *Klebsiella spp.* Hosp.”Obrero”. 2005.



Enterobacter spp

Solo a imipenem, polimixina B y amikacina demostró una sensibilidad excelente (sensibilidad de 88,8 a 100%). A la mayoría de los antimicrobianos, presentó sensibilidad “dudosa” o moderada: cefalotina, trimetoprim+sulfametoxazol, amoxicilina+ácido clavulánico, cefotaxima, gentamicina, nitrofurantoína, ciprofloxacina y cloranfenicol (30,2 a 69,6%). La sensibilidad fue inferior al 30% en el caso de tetraciclina, ácido nalidixico y ampicilina (12,5 a 28,8%). Tabla 3 y gráfico 7.

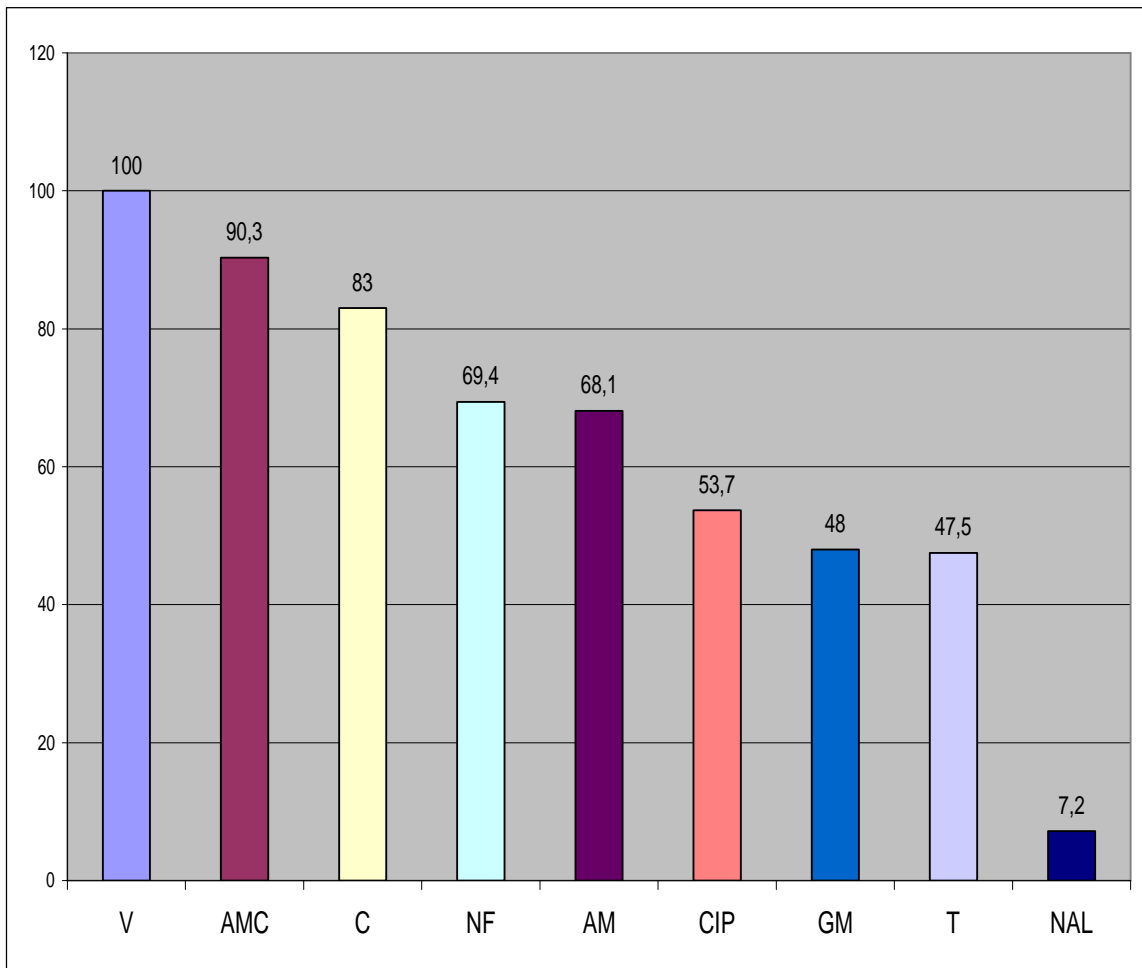
Gráfico 7. Sensibilidad a antimicrobianos de *Enterobacter spp.* Hosp. “Obrero”. 2005.



Enterococcus spp

Del total de 98 cepas de Enterococos aislados, el 100% fue sensible a vancomicina, junto a amoxicilina+ácido clavulánico (90,3%) y cloranfenicol (83%) fueron antimicrobianos con sensibilidad “excelente”. A la mayoría de los antimicrobianos tuvo sensibilidad “dudosa” o moderada: tetraciclina, gentamicina, ciprofloxacina, ampicilina y nitrofurantoína (47,5 a 69,4%). Sólo a ácido nalidixico presentó una baja sensibilidad (7,2%). Tabla 3 y Gráfico 8.

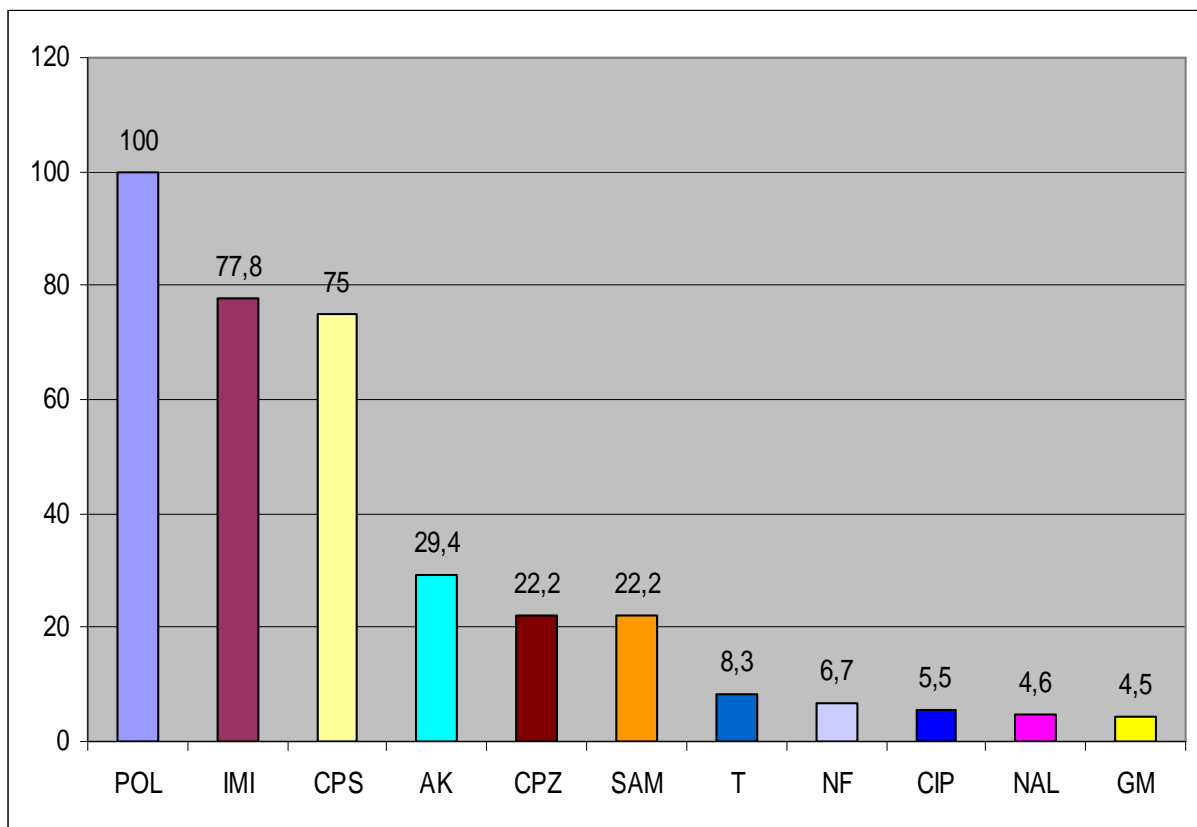
Gráfico 8. Sensibilidad a antimicrobianos de Enterococcus spp. Hosp. “Obrero”. 2005.



Acinetobacter spp

De las 72 cepas de *Acinetobacter* aisladas, el 100 % fue sensible a polimixina B, así mismo tuvieron una sensibilidad excelente a imipenem (77, 2%) y cefoperazona+sulbactam (75%). A la mayoría de los antimicrobianos tuvo sensibilidad baja (29,4 a 0%). Tabla 3 y Grafico 9.

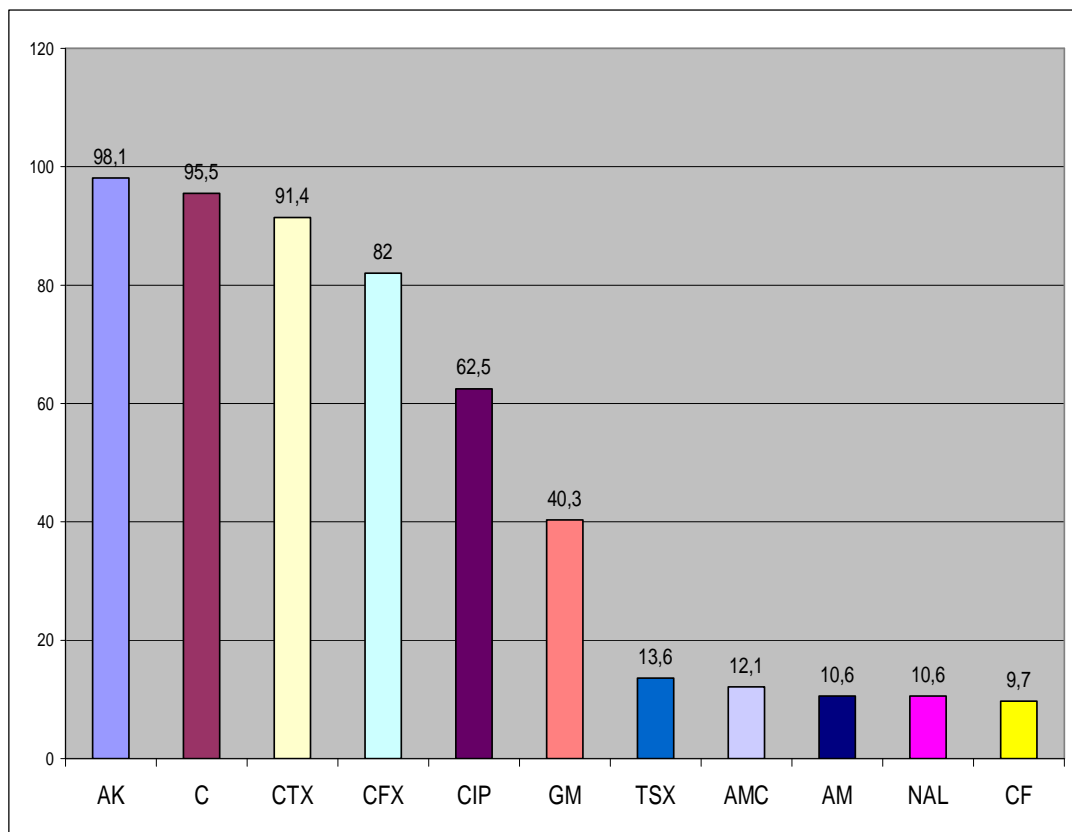
Gráfico 9. Sensibilidad a antimicrobianos de *Acinetobacter spp.* Hosp. “Obrero”. 2005.



Proteus spp

Tubo sensibilidad excelente frente a cefuroxima, cefotaxima, cloranfenicol y amikacina (82 a 98,1%). Sólo a gentamicina y ciprofloxacina tubo una sensibilidad “dudosa o moderada” (40,3 a 62,5% respectivamente). A menos de la mitad de los antimicrobianos frecuentemente utilizados presentó sensibilidad baja (9,7a 13,6%). Tabla 3 y Gráfico 10.

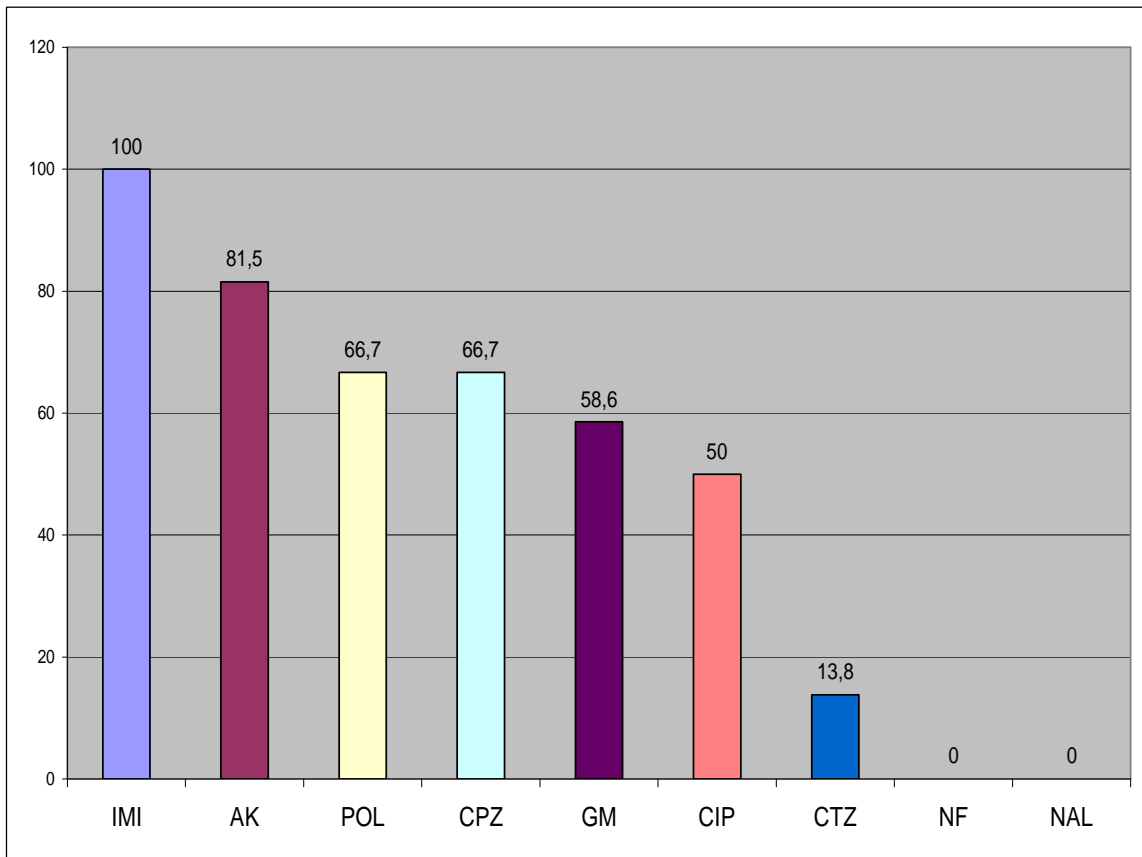
Gráfico 10. Sensibilidad a antimicrobianos de *Proteus spp*. Hosp. “Obrero”. 2005.



Pseudomona aeruginosa

De las 28 cepas de *Pseudomona aeruginosa*, sólo tubo sensibilidad “excelente” frente a imipenem y amikacina (100 a 81,5% respectivamente). Demostró sensibilidad moderada o “dudosa” a ciprofloxacina, gentamicina, cefoperazona y polimixina B (sensibilidad de 50 a 66,7%). La sensibilidad a ceftazidima, nitrofurantoína y ácido nalidixico fue baja (0 a 13,8%). Tabla 3 y Gráfico 11.

Gráfico 11. Sensibilidad a antimicrobianos de *Pseudomona aeruginosa*. Hosp. “Obrero”. 2005.



V. DISCUSIÓN

Tipo de muestra y agente etiológico

En relación a la etiología según el tipo de muestra se puede ver que en el Hospital Obrero el mayor número de infecciones se dan a nivel de las vías urinarias donde el principal bacilo gramnegativo más frecuente es *Escherichia coli*, seguida de *S. saprophyticus* que es el principal coco grampositivo aislado de esta fuente; Las secreciones de herida representan el segundo grupo de muestras mayormente procesadas y que tiene como patógeno principal a *Staphylococcus aureus*. En otro tipo de muestras los patógenos más frecuentes son: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *S. saprophyticus*, *Enterococcus* y *Pseudomona*. Esto se puede observar en los estudios realizados por Girón-González en el cual indica que los microorganismos relacionados con infección a nivel de vías urinarias son: *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella* y *Pseudomonas* son los gérmenes más frecuentes, como *Staphylococcus saprophyticus*. Esto coincide con la realidad en otros países donde también reportan como patógenos hospitalarios más frecuentes a los ya mencionados²⁶.

El servicio de Urología, Urgencias, Cirugía y Traumatología fueron donde se reportaron el mayor número de infecciones. La mayoría de los casos de IU se produjeron en el servicio de Urología, traumatología, urgencias y UTI, mientras que el mayor número de infecciones de heridas se produjeron en el servicio de cirugía y traumatología.

Los factores que pueden contribuir a la prevalencia de los agentes etiológicos en los servicios reportados podrían ser numerosos y parecidos a los que se han encontrado en otros países luego de la realización de estudios epidemiológicos²⁷; se deben considerar como factores de riesgo a ser estudiados, entre estos factores de riesgo podrían estar: el tipo y número de procedimientos invasivos (sondaje urinario, cateterización intravenosa, ventilación mecánica) y el tratamiento o la duración de la estancia hospitalaria.

Daniel Alvarez Villca

Escherichia coli

En nuestro estudio, se registra una sensibilidad disminuida a los principales antimicrobianos utilizados en el hospital tales como: trimetoprim+sulfametoxazol, ácido nalidixico, amoxicilina+ácido clavulánico, ampicilina, cefalotina, cloranfenicol, cefotaxima, gentamicina, cefuroxima, ampicilina+sulbactam, ciprofloxacina y tetraciclina, esta característica esta en concordancia con la bibliografía recientemente publicada^{28, 29,30}. Según la bibliografía consultada³⁰, la utilización intensiva de antibióticos betalactámicos y ciprofloxacina, puede motivar la aparición de cepas productoras de Beta Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE), esta resistencia aumentada de las cepas de E. coli en especial a Cefotaxima y ciprofloxacina podría sugerir también un elevado porcentaje de BLEE condición que se debería estudiar en futuras investigaciones. Es importante destacar que los carbapenémicos como el imipenem, se constituyen en la única alternativa en caso de cepas multirresistentes y en nuestro estudio, el 100% de las cepas de E. coli estudiadas fueron sensibles a Imipenem. Es importante destacar que para el tratamiento de infección urinaria, nitrofurantoína se constituye en una muy buena alternativa de tratamiento ya que tiene mejor sensibilidad en comparación con ciprofloxacina y los betalactámicos que como dijimos pueden inducir la proliferación de cepas productoras de BLEE ya que investigaciones han demostrado una asociación estadísticamente significativa entre la resistencia a quinolonas y la producción de BLEE³¹.

Staphylococcus aureus

Vancomicina, gentamicina, nitrofurantóina y amikacina han demostrado una muy buena actividad frente a este microorganismo, en nuestro estudio no se detectado aun una sensibilidad disminuida a vancomicina. Sin embargo, preocupa la elevada oxacilino resistencia de las cepas estudiadas, de lo que se deduce que la oxacilino resistencia puede llegar a ser un problema creciente en el hospital y no se están tomando medidas para su erradicación tal como ocurre en otros países³².

La sensibilidad a gentamicina fue muy buena, mucho mejor a la sensibilidad encontrada en otros estudios³³. Al tratarse de un estudio inicial, en el futuro ya sabremos como irá evolucionando la tasa de sensibilidad y resistencia frente a este aminoglucósido. La sensibilidad a ciprofloxacina que es una quinolona muy utilizada en el hospital, está disminuida, este dato sin embargo es mucho mejor a lo que reportan otras investigaciones donde la resistencia a ciprofloxacina en cepas meticilino resistentes es total³⁴.

Staphylococcus coagulasa negativo

Similar a la bibliografía revisada^{35, 36}, la mayoría de los antibióticos (vancomicina, nitrofurantoina, gentamicina, cloranfenicol, oxacilina) han demostrado una excelente sensibilidad frente a este microorganismo. Sin embargo es importante destacar la sensibilidad disminuida de las quinolonas (ciprofloxacina y ácido nalidixico) que son muy utilizados para el tratamiento de infecciones urinarias, de la misma manera las aminopenicilinas (amoxicilina+ácido clavulánico y penicilina) y el cotrimoxazol fueron muy poco sensibles. Otros estudios reportan presencia de cepas con sensibilidad disminuida a la vancomicina³⁷, en nuestro estudio el 100% de las cepas ensayadas fueron sensibles.

Klebsiella spp

La resistencia alta a las aminopenicilinas (ampicilina o amoxicilina) encontrada en nuestro estudio se correlaciona con los reportes de la bibliografía internacional que menciona una resistencia intrínseca a estos antimicrobianos. Dicha resistencia es atribuida a una beta lactamasa cromosomal del tipo A, siendo la mayoría de estas enzimas de tipo SVH-1^{39,40} que pueden ser inactivadas por inhibidores de beta lactamasa como el ácido clavulánico y el sulbactam.

En nuestro estudio, el representante de la cefalosporina de primera generación (cefalotina) y el representante de las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima), han demostrado una baja sensibilidad y sensibilidad intermedia esto, según estudios, se puede atribuir a enzimas del tipo SVH-1 y K1 que inactivan cefalosporinas de primera generación y en el caso de la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación se atribuye a las Beta Lactamasas de Espectro extendido (BLEE) que pueden inactivar celosporinas de tercera y cuarta generación e incluso al monobactamico “aztreonam”; en estos casos se recomienda el uso de cefamicinas como la cefoxitina y carbapenemes como el imepenem o meropenem que en nuestro estudio demostró un 100% de sensibilidad.

Similar a lo indicado en la bibliografía internacional⁴¹, la susceptibilidad al resto de de los antimicrobianos principalmente trimetoprim-sufametoxazol, ciprofloxacina, aminoglucósidos y nitrofurantoína es moderada (trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, ciprofloxacina, nitrofurantoína) a excelente (amikacina, polimixina B, imipenem). Según la bibliografía revisada, existe una asociación entre la resistencia a quinolonas y la producción de BLEE⁴². A diferencia de otros estudios donde se encontró resistencia a imipenem⁴³, en nuestra investigación, el 100% de las cepas estudiadas fue sensible a imipenem.

Enterobacter spp

En relación a las cefalosporinas de tercera generación que en nuestro estudio fue la cefotaxima, existe una sensibilidad “dudosa o intermedia”. Esta elevada resistencia se puede deber a la extensa utilización de cefalosporinas de tercera generación en el hospital principalmente ceftriaxona y cefotaxima, de la misma manera en otros estudios se estableció como causa del incremento de la resistencia a las cefalosporinas al uso intensivo de cefalosporinas de tercera generación⁴⁴. Esta resistencia se produce por la selección de mutantes cromosomales hiperproductoras de betalactamasas de Tipo 1 que son capaces de producir 5, 000 veces mas cantidad de betalactamasas que las cepas presentes al comienzo del tratamiento⁴⁵. La muy baja sensibilidad de *Enterobacter* a aminopenicilinas, cefalosporinas de primera generación se puede atribuir según la bibliografía a la actividad de una enzima APC que es una betalactamasa cromosomal constitutiva⁴⁶. Investigadores como Jacobson y colaboradores indican que la resistencia a aminopenicilinas y cefalosporinas de primera generación, se debe al previo uso de cefalosporinas de especto extendido (cefalosporinas de tercera generación).

En nuestro estudio la actividad de imipenem, polimixina B y aminoglucósidos como amikacina es muy buena, Itokacu⁴⁷ encontró una susceptibilidad a amikacina de 98% y ciprofloxacina de 98%, gentamicina (93%), que es mucho mayor a la de nuestro estudio (88%) para amikacina, (68%) para ciprofloxacina y solo 44% para gentamicina.

Mientras que en otras investigaciones^{48, 49,50}, se estima una sensibilidad a trimetoprim+sufametoxazol de 90% y mas, en nuestra experiencia se encontró una sensibilidad “dudosa o intermedia” de solo 37%. Se estima que a medida que estos fármacos sean utilizados intensivamente esta sensibilidad seguirá disminuyendo.

Enterococcus spp

A nivel mundial existe un incremento progresivo de la resistencia de enterococos a vancomicina y gentamicina de alta carga, en nuestra experiencia, el 100 % de los aislamientos fueron sensibles a vancomicina en tanto que solo el 40% de los enterococos fueron sensibles a gentamicina. La resistencia a ampicilina es relativamente baja en comparación con lo reportado a nivel internacional⁵¹. Es importante destacar que la resistencia a vancomicina se le atribuye a un fenotipo Van B procedentes de ambientes intrahospitalarios; esto significa que en el Hospital Obrero la presencia de este fenotipo es nula y es similar a lo que ocurre en los hospitales europeos⁵² y muy contraria a lo que ocurre en estados unidos en donde se aisló un 50 % de cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina⁵³.

Acinetobacter spp

Las elevadas tasas de resistencia encontradas a nivel mundial⁵⁴ coinciden con las de nuestro trabajo, es así que en relación al imipenem, Karlowsky⁵⁵ en un estudio realizado en Estados Unidos en el periodo de 1998-2001 encontró que mas del 90% de las cepas de *A. baumannii* eran sensibles a imipenem y la sensibilidad a ciprofloxacina se situaba en torno al 50%, se encontró una sensibilidad del 2 % a gentamicina, 50% a amikacina, el 65,4% fue sensible a ampicilina mas sulbactam. En nuestro estudio se evidencia una sensibilidad disminuida a imipenem de solo 77% y todavía es más significativa la baja sensibilidad a ciprofloxacina de solo 5,5 %, la sensibilidad a gentamicina fue superior (5,5 %), la sensibilidad a amikacina fue de solo 29,4% y la sensibilidad a ampicilina+sulbactam fue también baja de sólo 22,2%. Sin embargo hubo una sensibilidad excelente a cefoperazona+sulbactam (75%) y polimixina B (100%).

Proteus spp

Como se puede observar en el gráfico 8, no se contempla la sensibilidad a nitrofuranos, tetraciclina ni polimixinas pues existe una resistencia intrínseca del género *Proteus* a estos antimicrobianos. La muy baja sensibilidad a ampicilina se puede deber a la producción de beta lactamasa de clase A que característico de este género y a la producción de enzimas 2e y K1 que le confieren resistencia a las aminopenicilinas y cefalosporinas con excepción de ceftazidima y cefoxitina. Según la Red Whonet-Argentina en el periodo 1997-2000 se tuvo una resistencia a ampicilina de 79%, resistencia a cefalotina de 77% y a cefuroxima de 61%; en nuestra experiencia se obtuvo una elevada resistencia a estos antimicrobianos tal como se aprecia en el gráfico 8. Según el sistema de Relevamiento de la resistencia a los antimicrobianos Whonet-Argentina del 2000, la resistencia a cefalosporinas alcanzo el 20%, teniendo muy buena actividad los aminoglucósidos como amikacina y quinolonas como la ciprofloxacina; obtuvieron una baja actividad en relación a la gentamicina y trimetoprim+sulfametoxazol cifras muy similares a la hallada por nosotros.

Daniel Alvarez Villca

Pseudomona aeruginosa

Los porcentajes globales de sensibilidad a imipenem se encuentran situados en un 87-88% y para la amikacina de 96,8%⁵⁶. En nuestra experiencia el 100% de las cepas ensayadas de *P. aeruginosa* fue sensible, siendo el antibiótico más activo seguido de la amikacina con 81,5%. Según un trabajo de Higgins et al⁵⁷, un 50% de cepas son sensibles a ciprofloxacina y un 37,5% lo son a ceftazidima, esta cifra es similar a la encontrada por nosotros en relación a la ciprofloxacina en tanto que la sensibilidad a ceftazidima es más baja (13,8%). La relativamente elevada resistencia a imipenem en los países se le atribuye a cepas productora de la enzima MBL VIM-2 detectable por una prueba de sinergia entre imipenem-EDTA que aparentemente no se encuentra circulando en el Hospital.

VI. CONCLUSIONES

1. Según el tipo de muestra, el mayor número de aislamientos se obtuvo de las muestras de orina, secreción de herida, líquido seminal, abscesos y tubo endotraqueal.

2. En relación al servicio hospitalario, los servicios donde se aislaron el mayor número de patógenos hospitalarios fueron: urología, urgencias, unidad de terapia intensiva, traumatología y cirugía.

3. Los microorganismos multirresistentes más frecuentemente aislados fueron: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Klebsiella* spp, *Enterococcus* spp, *Enterobacter* spp, *Proteus* spp y *Pseudomona aeruginosa*.

4. Los antimicrobianos de primera elección (con sensibilidad mayor al 70%) para el tratamiento de *E. coli* en una primera instancia son: amikacina, nitrofurantoína, cefoperazona y en casos excepcionales: imipenem y polimixina B (colistina).

Los antimicrobianos de segunda elección o alternativos (sensibilidad entre 30-70%) son: cloranfenicol, cefotaxima o ceftriaxona, gentamicina, cefuroxima, ampicilina+sulbactam, ciprofloxacina, tetraciclina.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: ácido nalidixico, trimetoprim+sulfametoxazol, amoxicilina+ácido clavulánico, ampicilina y cefalotina o cefalexina.

5. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *S. aureus* (sensibilidad mayor o igual al 70%) son: vancomicina, gentamicina, nitrofurantoína, amikacina y cloranfenicol.

Daniel Alvarez Villca

Los antimicrobianos alternativos (sensibilidad entre 30 a 70%) son: tetraciclina, oxacilina o cloxacilina, cefalotina o cefalexina, ciprofloxacina, y trimetoprim+sulfametoxazol.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: ácido nalidixico, amoxicilina+ácido clavulánico y penicilina o ampicilina.

6. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *Staphylococcus coagulasa* negativos son: vancomicina, nitrofurantoína, gentamicina, cloranfenicol, y oxacilina o cloxacilina.

Los antimicrobianos alternativos son: tetraciclina y ciprofloxacina.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: ácido nalidixico, amoxicilina+ácido clavulánico, penicilina o ampicilina.

7. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *Klebsiella* spp son: imipenem, polimixina B (colistina) y amikacina.

Los antimicrobianos alternativos son: nitrofurantoína, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, tetraciclina, cefotaxima o ceftriaxona, trimetoprim+sulfametoxazol.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: ácido nalidixico, amoxicilina+ácido clavulánico, cefalotina o cefalexina, ampicilina o amoxicilina.

8. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *Enterobacter* spp son: imipenem, polimixina B (colistina) y amikacina.

Los antimicrobianos alternativos son: cloranfenicol, ciprofloxacina, nitrofurantoína, gentamicina, ceftriaxona, amoxicilina+ácido clavulánico, trimetoprim+sulfametoxazol y cefalotina o cefalexina.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: ampicilina o amoxicilina, ácido nalidixico y tetraciclina.

9. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de infecciones por *Enterococcus* spp son: vancomicina, amoxicilina+ácido clavulánico y cloranfenicol.

Los antimicrobianos alternativos son: nitrofurantoína, ampicilina o amoxicilina, ciprofloxacina, gentamicina y tetraciclina.

El antimicrobiano cuya utilización empírica no se recomienda es el ácido nalidixico.

10. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *Acinetobacter* spp son: polimixina B (colistina), imipenem y cefoperazona+sulbactam.

El antimicrobiano alternativo es amikacina.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: cefoperazona, ampicilina+sulbactam, tetraciclina, nitrofurantoína, ciprofloxacina, gentamicina, ácido nalidixico, cefotaxima o ceftriaxona, ampicilina o amoxicilina, amoxicilina+ácido clavulánico, cefalotina o cefalexina, cloranfenicol, trimetoprim+sulfametoxazol y cefuroxima.

11. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *Proteus* spp son: amikacina, cloranfenicol y cefotaxima o ceftriaxona.

Daniel Alvarez Villca

Los antimicrobianos alternativos son: cefuroxima, ciprofloxacina y gentamicina.

Los antimicrobianos cuya utilización empírica no se recomienda son: trimetoprim+sulfametoxazol, amoxicilina+ácido clavulánico, ampicilina , ácido nalidixico, cefalotina o cefalexina. Los antimicrobianos a los que tienen resistencia intrínseca son: nitrofurantoína y tetraciclina.

12. Los antimicrobianos de primera elección para el tratamiento de *Pseudomona aeruginosa* son: imipenem y amikacina.

Los antimicrobianos alternativos son: polimixina B (colistina), cefoperazona, gentamicina y ciprofloxacina.

Los antimicrobianos que no se recomiendan para tratamiento empírico son: ceftazidima, nitrofurantoína y ácido nalidixico. Existe resistencia intrínseca a cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación excepto ceftazidima, resistencia constitutiva a trimetoprim+sulfametoxazol y a las aminopenicilinas

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un estudio mas profundo de resistencia frente a *Acinetobacter spp* por presentar una resistencia elevada a los antibióticos propuestos, con excepción de imipenem, cefoperazona+sulbactam y la Polimixina B la cual solo puede ser utilizada de forma tópica, pudiendo optar por la Polimixina E (Colistina)

Se debe hacer uso de los antibióticos racionalmente en todos los servicios hospitalarios para evitar la aparición de cepas multiresistentes.

Se debe realizar un plan de vigilancia de microorganismos multiresistentes y ante la aparición de cepas con estas características se deben remitir al Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA) para su estudio.

Daniel Alvarez Villca

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Garcia-Altez, A.; Novell, A.J.; Aymerich, M (1999) La otra cara de la moneda: Analisis socioeconómico de la resistencia a los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*; 17 Sup 2:27-31.
2. Sifuentes-Osornio, J.; Dinis – Hernández, J. y miembros del programa de Resistencia Bacteriana en Mexico, Asociación Mexicana de Infectología y microbiología Clínica., A.C. (2000). Las Redes de Estudio de Resistencia Bacteriana ¿son realmente necesarias?. En: Salvatierra-gonzales, R.; Benguigui, y. (ed.) Resistencia Antimicrobiana en las Américas: Magnitud del Problema y su Contención. Organización Panamericana de la Salud. Washinton, D.C., E.U.A.
3. Jacoby GA, Archer GL. New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *N Engl J Med* 1991; 324: 601-12.
4. Bergoglio RM. *Antibióticos*. 5ª ed., Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, S.A., 1993. Schimpff SC, De Jongh CA, Caplan ES. Infecciones en el paciente de terapia intensiva. En Shoemaker WC. *Tratado de medicina crítica y terapia intensiva*. 2ª ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1989.
5. Haley RW. Managing hospital infection control for cost-effectiveness. Chicago: American Hospital Association, 1986. En CDC. Public Health Focus: Surveillance, Prevention and control of nosocomial infections. *MMWR* 1992; 41: 783-87.
6. Schimpff SC, De Jongh CA, Caplan ES. Infecciones en el paciente de terapia intensiva. En Shoemaker WC. *Tratado de medicina crítica y terapia intensiva*. 2ª ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1989.

Daniel Alvarez Villca

7. Programas Educativos Especiales, Iladiba. (1999). "Enfoque Actual de la terapia antibiótica. En: Presencia UPR en la reforma de Salud y Educación Continua para el Médico Primario. Nº5 de 1999.
8. Departamento de Biología Molecular. Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. Salud pública mexicana, 1998;36(4):428-438.
9. Trexler M. *et cols. Antibacterial therapy. Principles of selection and use of antibacterial agent.* Infectious Disease clinic of North America, June 2000;14(2).
10. Jorgensen J.H. *Laboratory Issues in the Detection and Reporting of Antibacterial Resistance.* Infectious Disease Clinics of North America, 1997; 11(4):785-802.
11. Iáñez Pareja, Enrique. (17 de agosto de 1998). Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. En: Iáñez Pareja, Enrique. Curso de Microbiología General. Universidad de Granada. España.
12. Jorgensen J.H. *Laboratory Issues in the Detection and Reporting of Antibacterial Resistance.* Infectious Disease Clinics of North America, 1997; 11(4):785-802.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2004). Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. Fourteenth informational supplement. NCCLS document M100-S14. NCCLS, Villanova, PA. Estados Unidos de América.
14. Brumfitt W. Progress in understanding urinary infections. J. antimicrob Chemother 1991;27;9-22.

15. Sarff ID, MacCracken GH, Schiffer MS, Glode MP, Robins JB, Orskov I. Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased newborns. *Lancet* 1975;1;1099-104.
16. Gransden Wr, Eykyn SJ, Phillips I, Rowe B. Bacteremia due to *Escherichia coli*: A study of 861 episodes. *Rev Infect Dis* 1990;12;1008-18
17. Eisenstein Bi, Zaleznik DF. Enterobacteriaceae. En: Mandell GI, Bennett JE, Dolin R, editores. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, New York: Churchill Livingstone; 2000; p; 2294-310
18. Monnet DL, Biddle JW, Edwards JR, Culver DH, Tolson JS, Martone WJ, et al. Evidence of interhospital transmission of extended spectrum beta-lactam resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States; 1986 to 1993. *Infect control hosp Epidemiol* 1997;18.492:8
19. Brun Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteremia and severe sepsis in ICUs and wards of 24 hospitals. *Am J Respir Crit Care* 1996;154:617-24
20. Garcia de la Torre M, Romero vivas J, Martinez Beltran. J, guerrero A, Mereguer M, Bouza E. *Klebsiella* bacteremia. An analysis of 100 episodes. *Rev Infect dis* 1985;7.143-50
21. Pahissa A, Pigrau C, Almirante B, Garcia I., Fernandez T, Ocaña I, et al. Estudio clinico-epidemiologico de 57 bacteriemias por *klebsiella*. *Med Clin (BBarc)* 1996;22:430-6
22. Monnet DL, Biddle JW, Edwards JR, Culver DH, Tolson JS, Martone WJ, et al. Evidence of interhospital transmission of extended spectrum beta-lactam resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States; 1986 to 1993. *Infect control hosp Epidemiol* 1997;18.492:8

Daniel Alvarez Villca

23. Lucet JC. Chevret S. Decre D. Banjac D. Macrez A. Bedos JP. et al. Outbreak of multiply resistant Enterobacteriaceae in an intensive care unit: Epidemiology and risk factors for acquisition. Clin Infect Dis. 1996;22:430-6
24. Bergogne – Berezin E. Towner EJ. Acinetobacter spp as nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996;9:148-65
25. Vila J. Marcos A. Marco F. Abdalla S. Vergara Y. Reig R. et al. In Vitro antimicrobial production of beta-lactamases, aminoglycosides-modifying enzymes, and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37:138-41
26. Burillo A, Bouza E. Infección de la herida quirúrgica. En: Bouza E, Picazo JJ, editores. Infección 2001. Bilbao: Fundación para el Estudio de la Infección; 2002;p.161-96.
27. Centers for Disease Control. National Nosocomial Study Report. Annual Summary 1979. Atlanta: Center for Disease Control; 1982.
28. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). Enferm Infecc Microbiol Clin 2003;21:77-82.
29. Ohino a., J. Clin. Microbiol. 38 (2). 667-668, 2000.
30. Stock I., Diagn. Microbiol., 47(7): 629-642, 1998

31. Hanson ND, Thompso KS, Moland ES, et.al: Molecular characterization of a multiply reistant *E. coli* encoding BLEE. Antimicrob Chemother 44: 333-338, 2000.
32. Vitudes A, Pérez-Bellés C, Talión P, Cano J, Peñalver MC, Pemán J, et al. Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados de hemocultivo a 11 antimicrobianos y revisión de la literatura. Rev Esp Quimioter 2002;15: 158-68
33. Domínguez MA, Borraz C, González MP, Rodríguez Bailo J, Martín R, REI-PI/GEMARA. Sensibilidad antibiótica y características genotípicas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en España (Proyecto SARM 2003 REIPIIGEIH/GEMARA) XI Congreso de la SEIMC [abstr 217]. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004;22(Supl 1):78.
34. Sánchez, H.; Carrillo, L.; Quispe, M.B.; Godoy, A. (1997). Resistencia antibiótica de Estafilococos en el hospital Arzobispo Loayza de Lima. V Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosa y Tropicales. Boletín de la Sociedad Peruana de enfermedades Infecciosas y Tropicales 6 (2): 17- 18
35. Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. En: Murray PR *et al.* (eds.). Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. 1995. American Society for Microbiology Press, Washington D.C, pp 282-298.
36. Olmos A, Sánchez R, Navarro JC, Camarena JJ, Birlanga MJ, Nogueira JM. Eficacia del antibiotipado en la detección precoz de brote nosocomial de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM). Resumen Sesiones nº 17. VII Reunión de la SEIMC. Madrid. 1997.
37. Wichelhaus, T.A., B. Böddinghaus, S. Besier, V. Schäfer, V. Brade, y A. Ludwig. 2002. Biological cost of rifampin from the perspective of

Staphylococcus aureus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46:3381–3385.

38. Jacoby GA, Chow N, Waites KB. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:559-62.

39. Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Canton R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum-β-lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single Hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:500-10.

40. Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, Hooper DC. Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the qnr gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:1295-9.

41. Rodríguez-Martínez JM, Pascual A, García I, Martínez-Martínez L. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing AmpC-type beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:703-6.

42. Jacoby GA, Chow N, Waites KB. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:559-62.

43. Rodríguez-Martínez JM, Pascual A, Martín D, García I, Pachón J, Martínez-Martínez L. Bactericidal activity of fluoroquinolones (FQ) against *Klebsiella pneumoniae* containing the plasmid-mediated resistance determinant qnr. 13th ESCMID (Glasgow, Escocia) 2004; P1555.

44. Kaye K, Cosgrove S, Harris A, Eliopoulos GM, Carmeli Y. Risk factors for emergence of resistance to broad-spectrum cephalosporins among *Enterobacter* spp. *Antimicrobial Agents Chemother* 2001;45:2628-30.
45. Sanders WE Jr, Tenney JM, Kessler RE. Efficacy of cefepime in the treatment of infections due to multiply resistant *Enterobacter* species. *Clin Infect Dis* 1996;23:454-61.
46. Cornaglia G, Russell K, Satta G, Fontana R. Relative importances of outer membrane permeability and group 1 β -lactamase as determinants of meropenem and imipenem activities against *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:350-5.
47. Sanders WE Jr, Tenney JM, Kessler RE. Efficacy of cefepime in the treatment of infections due to multiply resistant *Enterobacter* species. *Clin Infect Dis* 1996;23:454-61.
48. Sanders WE Jr, Tenney JM, Kessler RE. Efficacy of cefepime in the treatment of infections due to multiply resistant *Enterobacter* species. *Clin Infect Dis* 1996;23:454-80.
49. Kaye K, Cosgrove S, Harris A, Eliopoulos GM, Carmeli Y. Risk factors for emergence of resistance to broad-spectrum cephalosporins among *Enterobacter* spp. *Antimicrobial Agents Chemother* 2001;45:2628-80.
50. Valera, J.E. McGowan, y F.C. Tenover. 2002. Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Enterobacter aerogenes* is associated with decreased expression of OmpF and OmpC porin analogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46:3187–3822.

51. MINSAL. Vigilancia, Prevención y Control de Infecciones Intrahospitalarias por *Enterococcus* resistentes a vancomicina. Circular Minsal 4 C/28 del 09-05-2001.
52. JULIET C, FERNÁNDEZ A, TAPIA J C. Vigilancia de resistencia de *Enterococcus* hospitalarios. Libro de Resúmenes XVII Congreso Chileno de Infectología, Viña del Mar 9 al 12 agosto 2000. CO: 109.
53. CDC. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States, 1989-1993. Morb Mortal Wkly Rep MMWR 1993; 42: 597-9.
54. Vila J. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*. Rev Med Microbiol 1998; 9:87-97.
55. Ribera A, Ruiz J, Jiménez de Anta MT, Vila J. Effect of an efflux pump inhibitor on the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. J Antimicrob Chemother 2002; 49: 697-702.
56. Döring G. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. Eur Resp J 2000; 16:749-67.
57. Cantón R et al. Consenso sobre patógenos multirresistentes. Reunión Mayo 2000. Fundación «Sira Carrasco».

ANEXOS

ANEXO 1

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA HOSPITAL OBRERO *RESULTADOS*

1er APELLIDO	<input type="text"/>	2do APELLIDO	<input type="text"/>	NOMBRE	<input type="text"/>
SERVICIO	<input type="text"/>	SALA	<input type="text"/>	EDAD	<input type="text"/>
SERVICIO	<input type="text"/>	CAMA	<input type="text"/>	SEXO	<input type="text"/>
MEDICO SOLICITANTE				Nº SEGURADO	<input type="text"/>
LEY 1886	<input type="checkbox"/>	MUESTRA	<input type="text"/>	Nº CASO	<input type="text"/>
		MUESTRA	<input type="text"/>	FECHA DE SOLICITUD	<input type="text"/>

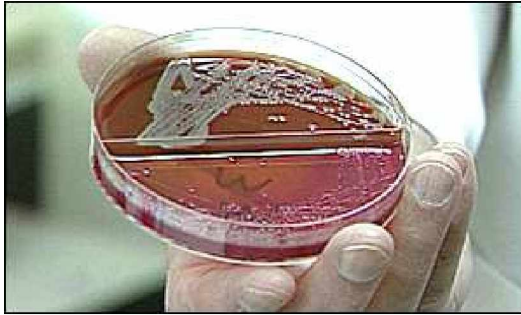
TINCIÓN GRAM	CALIDAD DE MUESTRA	Nº DE MUESTRA	EXAMEN DIRECTO	
Leucocitos <input type="text"/>	Cocos grampositivos <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 1ra. Muestra	Trichomonas <input type="text"/>	
Hemalias <input type="text"/>	Cocos gramnegativos <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 2da. Muestra	Clue cell <input type="text"/>	pH <input type="text"/>
Levaduras <input type="text"/>	Bacilos grampositivos <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> 3ra. Muestra	Levaduras <input type="text"/>	KOH <input type="text"/>
Cél. epiteliales <input type="text"/>	Bacilos gramnegativos <input type="text"/>		Hifas <input type="text"/>	
Lactobacilos <input type="text"/>				

FLORA ANAEROBICA MIXTA GRAMPOSITIVA	COLIFORMES	LEUCOCITOS /mm ³
	<input type="text"/>	Valor de Referencia hasta 10/mm ³
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO 1	<input type="text"/>	GRAM
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO 2	<input type="text"/>	Nº COLONIAS/ml

<i>Atóp (mm)</i>											
Azoxilina <input type="text"/>	Az <input type="checkbox"/>	Vancomicina <input type="text"/>	V <input type="checkbox"/>	Azoxilina/Ac. clavulánico <input type="text"/>	AV <input type="checkbox"/>						
Cloxacilina <input type="text"/>	Ox <input type="checkbox"/>	Neomicina <input type="text"/>	Ne <input type="checkbox"/>	Rifampicina <input type="text"/>	R <input type="checkbox"/>						
Cefadina <input type="text"/>	Cd <input type="checkbox"/>	Gentamicina <input type="text"/>	Ge <input type="checkbox"/>	Tetraciclina <input type="text"/>	T <input type="checkbox"/>						
Cefotaxima <input type="text"/>	Ct <input type="checkbox"/>	Amikacina <input type="text"/>	Ac <input type="checkbox"/>	Ácido nalidixico <input type="text"/>	N <input type="checkbox"/>						
Ceftazidima <input type="text"/>	Cz <input type="checkbox"/>	Penicilina <input type="text"/>	P <input type="checkbox"/>	Notifloxacina <input type="text"/>	Nf <input type="checkbox"/>						
BLEE <input type="checkbox"/>	BLEA <input type="checkbox"/>	Cotrimoxazol <input type="text"/>	Tz <input type="checkbox"/>	Ciprofloxacina <input type="text"/>	Cp <input type="checkbox"/>						
HR <input type="checkbox"/>	MLS <input type="checkbox"/>	Metronidazol <input type="text"/>	Me <input type="checkbox"/>	Eritromicina <input type="text"/>	E <input type="checkbox"/>						
		Nitrofurantoina <input type="text"/>	Nf <input type="checkbox"/>	Clofenicol <input type="text"/>	Cf <input type="checkbox"/>						

COMENTARIOS: <input style="width: 95%;" type="text"/>	FECHA DEL: <input style="width: 95%;" type="text"/>
---	---

ANEXO 2



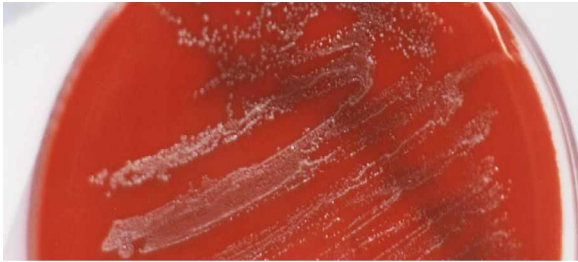
Fotografía 1. Cultivo de *Escherichia coli*

ANEXO 3

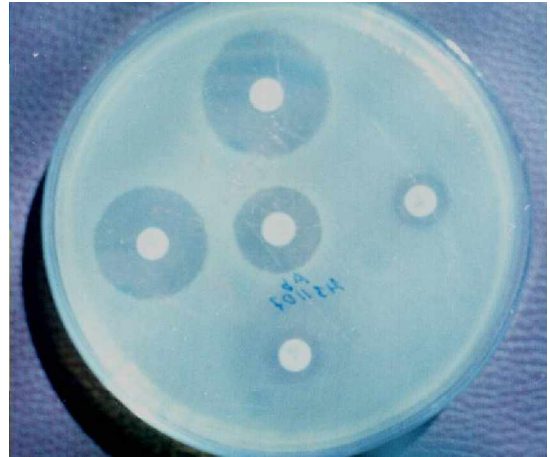


Fotografía 2. Cultivo de *S. Aureus* (Izq) Antibiograma de *S. Aureus* (Der)

ANEXO 4

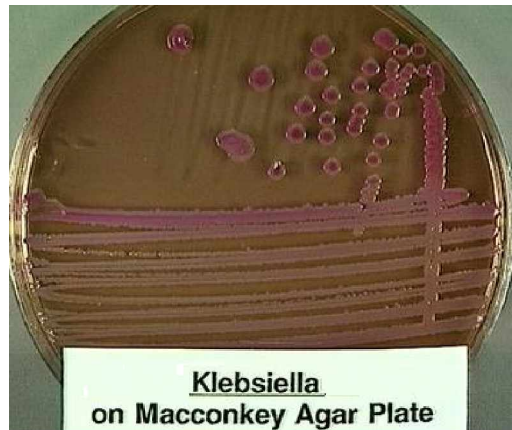


Fotografía 4. Cultivo de *Bacilos gramnegativos* (Izq)



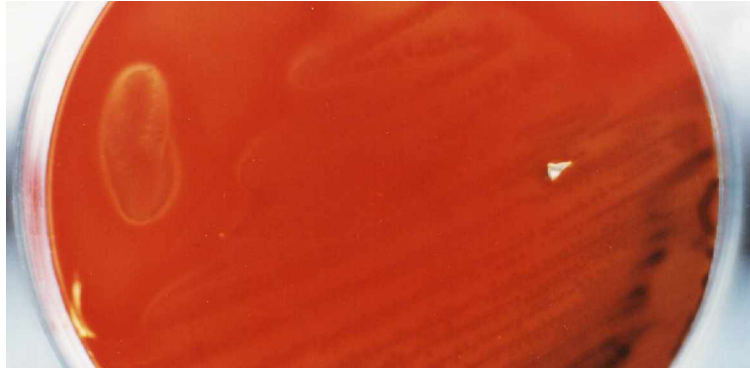
Antibiograma de *Bacilos gramnegativos* (Der)

ANEXO 5



Fotografía 5. Cultivos de *Klebsiella* spp

ANEXO 6



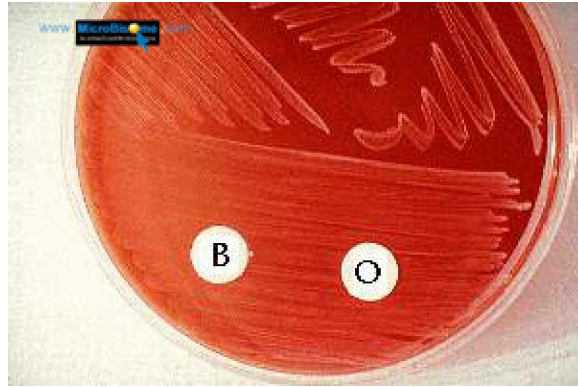
Fotografía 6. Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*

ANEXO 7



Fotografía 7. Cultivo de *Acinetobacter spp*

ANEXO 8



Fotografia 8. Cultivo de *Enterococcus spp*

ANEXO 9



Fotografia 9. Cultivo de *Enterobacter spp*