

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS.**



Tesis para optar al título de médico y cirujano

**“Multi-resistencia Antimicrobiana de bacterias Gram
negativas Hospital San Juan de Dios de Estelí”
Febrero 2002-Febrero2003**

Autores:

***Jency Indiana Rojas Cáceres
Erasmó Silva Espinoza
Luis Enrique Zambrana Gutiérrez***

Tutora:

***Dra. Mercedes Cáceres. Ph.D
Profesor Titular Enfermedades infecciosas
Departamento de Microbiología. UNAN - León***

León, Marzo del año 2004

"La resistencia a los antimicrobianos como un fenómeno per se no es una sorpresa. Tampoco es algo nuevo. Aún así, de nuevo nos preocupa ya que la resistencia crece aceleradamente, mientras que las herramientas que el mundo cuenta para combatirla disminuyen en poder y número."

***Joshua Lederberg,
Premio Nobel***

OPINION DEL TUTOR

Tomando en cuenta que el control de la resistencia a los antimicrobianos en el futuro se vislumbra como uno de los desafíos de la medicina actual y futura, pues a la situación actual se agregó nuevas problemáticas como la diseminación de la resistencia desde instituciones de salud hacia la comunidad, al igual que el impacto de la globalización que impide la contención geográfica que muchas veces nos ha protegido.

Por esto como país debemos aunar esfuerzos para detectar situaciones problemáticas y evaluar las diferentes estrategias de prevención. Considero que el presente estudio es de gran importancia para la detección y control de la resistencia antimicrobiana ya que como un pilar fundamental es necesario disponer de sistemas de vigilancia de resistencia antimicrobiana que permitan, a través de una metodología válida, la detección oportuna de los cambios de tendencia. para lo cual deben asegurar un acucioso análisis de los datos y una oportuna difusión de los resultados a la comunidad médica. Estudios como este realizados con el manejo preciso del método científico contribuyen con la comunidad médica en el desarrollo de protocolos de manejo de la enfermedades infecciosas.

Es de particular relevancia que las nuevas generaciones médicas como los jóvenes autores del presente trabajo se motiven en este tema de vital importancia para la salud de la población del mundo.

Dra. Mercedes Cáceres PhD

Profesor Titular de Enfermedades Infecciosas
Departamento de Microbiología
Facultad de Medicina, UNAN-León.

RESUMEN

La resistencia bacteriana, se ha convertido en una de las más temidas complicaciones de las enfermedades infectocontagiosas. La aparición y propagación de microorganismos resistentes es un problema global que se ha acentuado en las últimas décadas. Con el objetivo de determinar el perfil de multirresistencia antimicrobiana y producción de Betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en bacterias aisladas de pacientes hospitalizados en el Hospital San Juan de Dios Estelí, realizamos un estudio descriptivo de corte transversal durante el periodo de Febrero 2002 a Febrero 2003, obteniendo los siguientes resultados: Se aislaron 134 cepas bacterianas, obtenidas de 198 muestras biológicas de pacientes con diferentes diagnósticos clínicos. De las 134 cepas aisladas, el 66.4% (89) fueron Gram negativas, entre las que predominó la *P. aureginosa* (33.6%), siguiéndole *E. coli* (18.7%) y *Acinetobacter* (8.2%). Al análisis de la sensibilidad se encontró que la *P. aureginosa* fue resistente en su mayoría al Cloranfenicol en un 39.53%, el *E. coli* a Ciprofloxacina en un 58.8%, *Acinetobacter* a Cefaclor en un 50% y las otras bacterias Gram negativas a Gentamicina en un 57.1%. La producción de BLEE fue determinada en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli*. El 57.3% de los pacientes en quienes se aislaron Gram negativas, recibió antibióticos previo a la toma de la muestra. Los antibióticos más usados fueron Penicilina (41.57%), Gentamicina y Ciprofloxacina (23.5%) el resto de antibióticos indicados estuvieron en rango de (4-19.0%). Las asociaciones más frecuentes fueron Penicilina – Amikacina y Ceftazidima – Amikacina. Se encontró importante relación entre ingesta previa de antibióticos, hospitalización prolongada y edad en extremos de la vida con resistencia antimicrobiana.

INDICE

	PAGINA
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	6
JUSTIFICACIÓN	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
OBJETIVOS	11
MARCO REFERENCIAL	12
MATERIAL Y METODO	27
RESULTADOS	34
DISCUSION	41
CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS	48
ANEXOS	54

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas han causado la muerte de millones de seres humanos a lo largo de la historia. Con la síntesis de quimioterápicos artificiales y el descubrimiento y mejora de los antibióticos, se supuso una auténtica revolución en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

La situación hoy no es optimista, muchos de estos antibióticos ya son inútiles, cada vez la resistencia bacteriana a distintos antibióticos está más extendida y esta se ha convertido en una de las más temidas complicaciones de las enfermedades infecciosas.

Estudios actuales demuestran un aumento de resistencia, principalmente de gérmenes Gram negativos.^(18,36)

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente, caracterizada por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico, generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no solo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico ^(1, 2, 18)

Independientemente del origen de la farmacoresistencia, la globalización y el aumento del número de viajeros y de los intercambios comerciales hace inevitable el rápido desplazamiento de esas cepas de un lugar a otro; por lo que la naturaleza global de la resistencia antimicrobiana necesitara una respuesta global.^(4,5)

Las infecciones por bacterias Gram netivos son importante causa de morbimortalidad e incremento de costos. Uno de los retos en el diagnóstico oportuno y el tratamiento específico de las infecciones por Gram negativos es la resistencia a los betalactámicos a través de producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) el cual se considera el principal mecanismo de resistencia frente a cefalosporinas de tercera, cuarta generación y monobactámicos.⁽⁴⁷⁾

ANTECEDENTES

Desde finales de la década de los años 30 y principios de los 40 del siglo XX, se inicia la carrera y descubrimiento de los antibióticos, la humanidad había pensado que las infecciones quedarían relegadas a un segundo plano.

En la actualidad, se presenta un gran problema, son muchos los agentes causantes de enfermedad que han generado resistencia a los antibióticos, y son pocos los antibióticos que quedan para luchar contra ellos.⁽⁶⁾

La OMS en su informe anual, muestra cómo casi todas las enfermedades infecciosas más importantes están convirtiéndose lenta pero indudablemente en resistentes a los actuales medicamentos.

En Estonia, Letonia y en determinadas zonas de Rusia y China, más del 10% de los enfermos de Tuberculosis albergan cepas resistentes a los dos medicamentos antituberculosos más potentes, debido a la resistencia Tailandia ha perdido por completo la posibilidad de usar tres de los medicamentos antipalúdicos más comunes.

Aproximadamente un 30% de los pacientes que toman Lamivudina, un medicamento recientemente desarrollado contra la Hepatitis B, muestran resistencia al fármaco tras el primer año de tratamiento. En la India, el 60% de todos los casos de Leishmaniasis visceral ya no responden a los medicamentos de primera línea.⁽⁵⁾

En gran parte de Asia se ha observado resistencia a la penicilina en un 98% de las cepas.

En todo el mundo, nada menos que un 60% de las infecciones nosocomiales son causadas por microbios farmacorresistentes.⁽⁵⁾

En Latinoamérica, los expertos concluyeron que la resistencia a los antibióticos de las bacterias más comunes en el tracto respiratorio, *S.pneumoniae*, *H.influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, tienen igual o mayor prevalencia en los países de

Latinoamérica, especialmente en México, Argentina y Brasil, que en los EEUU, se han encontrado tasas desde un 21% en Brasil, a un 48.2% en México de resistencias a *S.pneumoniae*.⁽⁷⁾

Ante el creciente reporte mundial y nacional de aumento de resistencia, principalmente de gérmenes Gram negativos y el aumento de infecciones dentro de las UCI, se hace indispensable el conocimiento de los patrones de resistencia de dichos gérmenes, a fin de iniciar una terapéutica empírica racional adecuada antes de la llegada de un potencial cultivo.⁽⁸⁾

En estudios realizados en Holanda, sobre resistencia antimicrobiana en bacterias Gram negativas entre 1995 y el año 2000 en UCI y servicios de Urología, encontraron altos niveles de resistencia de estos microorganismos a amoxicilina/clavulanato, cefaclor y ceftazidime.⁽⁹⁾

Livermore, D. En el año 2000, refiere que los niveles de resistencia en Europa son menores que en Escandinavia y mayores en países del Mediterráneo. En Norte América, las tasas de resistencia son más altas en los Estado Unidos que en el Canadá. Como ejemplo tenemos la resistencia a la gentamicina por *E.coli* que es considerablemente más frecuente en países del sur de Europa y EEUU que en el Reino Unido, donde ocurre en menos del 3% de las aislamientos.⁽¹⁰⁾

Rodríguez H. Carlos y Cols., en un análisis realizado entre 1998 y 2001 en Argentina, en una UCI, encontraron resistencia de bacterias Gram negativas desde un 31.4 a 66.3% para quinolonas, hasta un 80% para cefalosporinas.⁽¹¹⁾

Fajardo A. y cols. En Venezuela en el año 2000, reportan resistencias desde un 39.1 a un 64.2% de bacterias Gram negativas para cefalosporinas de tercera generación.⁽⁸⁾

Un porcentaje similar encontramos en un estudio realizado por Cáceres M., y cols. En 1999, en Nicaragua se reporta más del 70% de resistencia a betalámicos para *E.coli*, *P. aureginosa* y *klebsiella sp.*⁽¹²⁾

Estudios realizados en los hospitales de León, Chinandega i, sobre el perfil de resistencia antimicrobiana por Hernández M. Y col., Corea F. y col. 2003 demostraron una alta resistencia a los antibióticos principalmente a las bacterias Gram negativas.^{(33, 34,).}

En el año 2002 Herrera K. y col. Presentaron por primera vez un estudio realizado en el Hospital San Juan de Dios Estelí. En este estudio se encontró una alta prevalencia de bacterias Gram negativa principalmente *E. coli* y *Pseudomonas spp.* las mostraron baja sensibilidad a los antimicrobianos más comúnmente utilizados tales como los betalactámicos y T. sulfa sin embargo no se estudio los principales antiseudomónicos. Si bien los antimicrobianos estudiados no representan los más importantes para tratar infecciones por estos microorganismos el esfuerzo realizado permitió la estandarización de métodos de determinación de resistencia Antimicrobiana e inició una colaboración importante entre el Hospital de Estelí y el Laboratorio de Microbiología de la UNAN-León.

JUSTIFICACIÓN

Ante el creciente reporte mundial y nacional de aumento de resistencia antimicrobiana, principalmente de gérmenes Gram negativos y el aumento de infecciones y estancia intra hospitalaria ⁽⁸⁾; se hace indispensable determinar los patrones de resistencia de dichos gérmenes a fin de iniciar una terapéutica empírica racional, antes de obtener el resultado de un cultivo y antibiograma.

Por ello nuestro estudio es importante, pretendemos contribuir en la lucha contra esta resistencia, ya que el éxito depende en gran parte de los conocimientos actualizados periódicamente que permitan protocolizar el tratamiento antibiótico de las principales infecciones e instaurar programas de vigilancia hospitalaria determinando prevalencia de reservorios de resistencia antimicrobiana, y así establecer medidas de control.

Por medio de este estudio pretendemos conocer el perfil de resistencia de bacterias Gram negativas, aisladas de procesos infecciosos en pacientes atendidos en el Hospital San Juan de Dios de Estelí.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿ Existe multirresistencia Antimicrobiana en bacterias Gram negativas aisladas de procesos infecciosos de pacientes atendidos en el Hospital San Juan de Dios de Estelí de Febrero 2002 a Febrero 2003?

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la presencia de bacterias Gram negativas multirresistentes aisladas de procesos infecciosos de pacientes atendidos en el Hospital San Juan de Dios de Esteli en el periodo de Febrero 2002 a Febrero 2003.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Describir características generales (edad, sexo, servicio, muestra biológica obtenida) de los pacientes en quienes se aislaron cepas Gram negativas .
2. Determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias Gram negativas obtenidas de pacientes atendidos en el Hospital San Juan de Dios de Esteli
3. Determinar la producción de β -lactamasa de espectro extendido en las bacterias aisladas.
4. Relacionar factores de riesgo de desarrollo de resistencia Antimicrobiana en los pacientes en quienes se obtuvo la muestra, con el perfil de resistencia de las bacterias aisladas.

MARCO REFERENCIAL.

Las enfermedades infecciosas han causado la muerte de millones de seres humanos a lo largo de la historia de la humanidad. Con el descubrimiento de los antibióticos, esta realidad comenzó a ser modificada y, en los años 80 del siglo XX, podía hablarse de una victoria prácticamente total frente a las infecciones por microorganismos.^(14, 16)

Se ha determinado que las bacterias Gram negativas presentan en general mas resistencia a los antimicrobianos y son causa de un mayor número de infecciones a diversos niveles. Como en el tracto urinario, principalmente en las mujeres embarazadas, entre las infecciones mas comunes encontramos bacteriuria sintomática, cistitis aguda y pielonefritis, producidas por *E. coli* en un 80 a 90%, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae* entre otros.⁽²⁴⁾

Son causa de enfermedades inflamatorias pélvicas agudas tanto en mujeres embarazadas como en no embarazadas, la mayoría de casos documentados son producidos por *Neisseria gonorrhoeae*, *E. coli*, *Klebsiella*, *enterobacterias*, etc. Generalmente estos casos son detectados en etapas complicadas y las pacientes son tratadas por salpingitis aguda que ameritan procedimientos quirúrgicos.⁽²⁵⁾

A nivel hospitalario se han aislado bacterias Gram negativas en pacientes atendidos en los diferentes servicios, con mayor frecuencia en el área de emergencias y de cuidados intensivos. Las bacterias Gram negativas liderean los reportes de laboratorio, apreciándose que hay menor sensibilidad antibacteriana para estos gérmenes de procedencia intra hospitalaria^(26, 27)

Debido sobre todo al amplio contacto con otros gérmenes multirresistentes, se ha encontrado que estas bacterias circulan con mayor frecuencia en estos ambientes, por el uso de catéteres, sondas, la transmisión de persona a persona o del personal hospitalario al paciente, por la realización de procedimientos

quirúrgicos y material no esterilizado e incluso por el uso inadecuado o tardío de los antimicrobianos.^(28, 29)

Son causantes de enfermedades a nivel del sistema nervioso central, como es el caso de la meningitis, donde se han aislado *K. pneumoniae* y *H. influenzae* desde un 8 a un 20%.⁽²⁸⁾

Todo esto sumado a diversos factores de riesgo y a la intervención de diversas variables tanto demográficas, como socioeconómicas por lo que la síntesis de quimioterápicos artificiales y el descubrimiento y mejora de los antibióticos han supuesto una auténtica revolución médica en el tratamiento de enfermedades infecciosas.⁽¹⁵⁾

Si bien la quimioterapia ha doblegado las grandes epidemias bacterianas del pasado, las enfermedades infecciosas siguen constituyendo un serio problema.

Desde la introducción de la antibioticoterapia en todo el mundo, estamos realizando un gigantesco experimento de intervención genética en los seres vivos más abundantes del planeta: las bacterias.

La presión selectiva que representa la aplicación a gran escala de los quimioterápicos ha permitido la diseminación de cepas microbianas con mecanismos de resistencia que, en muchas ocasiones dificultan el adecuado tratamiento clínico.

- Al cabo de 6 años de introducir la penicilina G, la frecuencia de cepas de *S. aureus* resistentes en los hospitales ingleses pasó de menos del 10% a un 60%. Actualmente el valor ronda el 90%.
- Con los nuevos β -lactámicos también han empezado a surgir cepas bacterianas resistentes, aunque aún, con frecuencia relativamente baja.

- Actualmente existen problemas con las *enterobacterias*, e incluso con el *gonococo* y el *meningococo*, que tradicionalmente habían sido muy sensibles a las penicilinas.
- Recientemente se ha dado la voz de alarma por la diseminación de cepas de bacilos tuberculosos resistentes a los quimioterápicos de elección a los que eran sensibles.

La capacidad de las bacterias de desarrollar resistencias constituye una seria amenaza al futuro uso de los antibióticos, y hace que se tengan que invertir grandes sumas de dinero y esfuerzos de investigación adicionales para intentar hacer frente al problema.

Sin embargo, también hay que pensar en un dato de tipo evolutivo: la mayor parte de las especies bacterianas han sido seleccionadas de modo natural con fenotipos sensibles a antibióticos; los cambios genéticos mutacionales que las convierten en resistentes puede que disminuyan su adaptación a otros factores ecológicos, de modo que probablemente la presión de los antibióticos en realidad conduzcan en muchos casos a un equilibrio entre cepas sensibles y cepas resistentes. De hecho se ha comprobado un descenso en la frecuencia de cepas resistentes a los antibióticos que se introdujeron hace más tiempo, lo que quizá indique que para ellos se está alcanzando dicho equilibrio.⁽¹⁵⁾

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. Una cepa bacteriana puede volverse resistente a un antibiótico por dos tipos principales de mecanismos:

1. Mutación en un gen cromosómico.

2. Introducción de un plásmido R de resistencia.

Que depende además de la ubicación de los genes responsables de ella.^(15, 18, 19)

SELECCIÓN DE MUTANTES RESISTENTES.

A través de experimentos que se han realizado anteriormente, quedo demostrado que lo único que hace el antibiótico es seleccionar los mutantes resistentes espontáneos que surgen en la población independientemente de la presencia del agente selectivo.

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 hallan adquirido un alelo resistente; estos individuos se multiplican, de modo que al final son los más prevalentes.

RESISTENCIA POR INTERCAMBIO GENETICO

El descubrimiento de plásmidos de transporte de genes de resistencia ha explicado porque algunos son más prevalentes que otros.

La principal amenaza al éxito de la quimioterapia está representada esta transmisión genética de plásmidos de resistencia a antibióticos.

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).

Existen plásmidos R conjugativo y no conjugativos., estos son capaces de evolucionar y de conferir varias resistencias a la vez a la bacteria, son capaces de diseminarse y son altamente flexibles, es decir pueden adquirir nuevos módulos a partir de otras especies.

Muchos de ellos responden a mayores concentraciones del antibiótico aumentando su número de copias, esto permite su fácil diseminación, especialmente en áreas hospitalarias.⁽¹⁵⁾

MECANISMOS BIOQUIMICOS IMPLICADOS EN LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Los principales mecanismos se pueden agrupar de la siguiente manera:

1. Disminución de la permeabilidad hacia el antibiótico.
2. Inactivación enzimática del antibiótico
3. Modificación química de la diana sobre la que actúa el antibiótico.
4. Eliminación activa del Fármaco

DISMINUCION DE LA PERMEABILIDAD CELULAR HACIA EL ANTIBIÓTICO.

Modificación de una barrera preexistente.

La membrana externa de Gram negativas supone una barrera natural que hace que muchas bacterias de este grupo sean insensibles a varios antibióticos (por Ej. La vancomicina y la bacitracina no pueden atravesar las porinas)⁽¹⁵⁾

Estas porinas, son proteínas, que forman canales compuestos, ubicados en la membrana externa de las bacterias Gram – negativas, y después el espacio periplasmático, donde se almacenan las betalactamasas producidas por estas bacterias⁽¹⁹⁾.

Sus canales porínicos estrechos limitan la penetración de los solutos hidrofílicos y la baja fluidez de los liposácaridos demora la difusión al interior de los solutos lipofílicos.⁽¹⁸⁾

Por lo que una alteración de la porinas creara resistencia a los antibióticos, pero también dificultará la entrada de otras moléculas útiles para la bacteria perturbando su metabolismo.⁽¹⁹⁾ Aunque no todas las bacterias Gram negativas son igualmente impermeables a los mismos antibióticos:

Entre los menos impermeables están *Haemophilus* y *Neisseria*, que dejan pasar a numerosos betalactámicos.

Las *Enterobacterias* suelen ser intermedias.⁽¹⁵⁾

Las bacterias Gram –negativas son, en general, más resistentes a un gran número de antibióticos y quimioterápicos que las Gram- positivas.

La membrana exterior de las bacterias Gram-negativas contribuye a esta resistencia intrínseca al actuar como una eficiente barrera protectora. (18,

19)

INACTIVACION ENZIMATICA DEL ANTIBIÓTICO.

Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de plásmidos R. Con la producción de betalactamasa, que están muy distribuidas entre bacterias Gram negativas y confieren resistencia a cefalosporinas y penicilinas.

La base de la resistencia es la siguiente: cuando se expone la bacteria al β láctamico durante mucho tiempo, pueden seleccionarse determinadas mutaciones en genes cromosómicos que codifican proteínas parecidas, 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.

En las Gram negativas se han descubierto 20 tipos de betalactamasas de codificación plasmídica.(15).

MODIFICACIÓN QUÍMICA DE LA DIANA DEL ANTIBIÓTICO

Esta resistencia se produce por mutación espontánea y puede dar lugar a la alteración o superproducción del blanco o afectar a proteínas que participan en la permeabilidad de la membrana de las bacterias, con la consiguiente alteración de la entrada y la acumulación de la droga en el interior de la célula o en el espacio periplasmático.

Una estrategia de resistencia es bombear el fármaco al exterior de la célula una vez que ha penetrado. Algunos patógenos poseen translocasas en la membrana plasmática que expulsan a los fármacos. Debido a que son relativamente inespecíficas y a que pueden bombear muchos fármacos diferentes, a menudo se denomina a estas proteínas de transporte "bombas de multirresistencia a fármacos." Muchos son del tipo antiporte fármaco/protón, es decir, los protones entran en la célula cuando el fármaco la abandona. Estos sistemas existen en *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Micobacterium smegmatis* y *Estafilococos aureus*.

BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Las β -lactamasas bacterianas son un complejo grupo de enzimas con propiedades diferenciales en función del sustrato que hidrolizan o las inhibe (parámetros cinéticos), su localización (intra o extracelular), su codificación (cromosómica y/o extracromosómica), expresión genética (constitutiva o inducible) y otras propiedades físico-químicas (peso molecular, pl, inmunología).

En los años 80, se crearon una nueva clase de antimicrobianos los oxímino cefalosporinas, para tratamientos de infecciones severas causadas por bacterias gram negativas, pero prontamente apareció resistencia a estos antimicrobianos y debido a su amplio espectro de acción, se les llamó beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), que confieren resistencia a cefalosporinas de tercera generación, por ejemplo Ceftazidima, Cefotaxima y Ceftriaxona y a Monobactámicos como el Aztreonam, pero que no afectan a cefalosporinas de

segunda generación como Cefamicinas, Cefoxitin, y Cefotetan y Carbapenems como Imipenem y Meropenem. Actualmente, se han descrito alrededor de 150 de estas enzimas y se les ha encontrado en una variedad de géneros bacterianos de enterobacterias (*E. coli* y *K. pneumoniae* principalmente, pero también descritas en *Enterobacter* spp, *Salmonella* spp, *Proteus* spp, *Citrobacter* spp, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y *Capnocytophaga ochracea*.

El problema de las beta lactamasas de espectro extendido es de magnitud mundial. Fue primero descrito en Europa, luego en América y Asia. La prevalencia es muy variable de país a país y también en diferentes centros. En Estados Unidos, en enterobacterias varía de 0- 25%, con un promedio nacional del 3%, según información del CDC; entre aislamientos de *K pneumoniae* varía de 5 a 10% en pacientes hospitalizados, en unidades no críticas y críticas respectivamente. En Europa varía de 1 a 40%. En Asia varía de 0,1 a 12 %. En nuestro país hay pocos estudios,, detectándose en test de screening alrededor de 1.4- 6,1% en *E. coli*, 30-36.4 % en *K. pneumoniae* y 0- 25% en *K. Oxytoca*.

Es sabido que los pacientes que cursan con infecciones causadas por organismos productores de BLEE presentan mayor riesgo de falla al tratamiento antimicrobiano usualmente utilizado, concentrándose los mayores aislamientos de éstos, en las unidades de pacientes críticos, y servicios quirúrgicos. Asociado a esto está el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, en pacientes que presentan aislamientos de estas características.

Factores asociados a la presencia de estas enzimas son: hospitalización prolongada, permanencia en unidades críticas, intubación endotraqueal, ventilación mecánica, catéter urinario, catéter venosos, uso previo de antibióticos.

En un principio los brotes fueron asociados a cepas productoras de un solo tipo de beta lactamasa, actualmente los brotes se asocian a cepas productoras de múltiples beta lactamasas.

La pesquisa de BLEE en las bacterias aún no ha sido incorporada a la práctica de

rutina en el laboratorio de microbiología, en la mayoría de los centros asistenciales de nuestro país. .(37)

MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica.

Su realización se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica.

El antibiograma define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Su resultado, la farmacología del antimicrobiano, en particular en el lugar de la infección, y los aspectos clínicos del paciente y de su infección, sustentan la elección de los antimicrobianos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

Asimismo, ofrece, en su conjunto, elementos objetivos de actuación en los tratamientos empíricos. (30)

Los métodos de susceptibilidad antimicrobiana o antibiogramas son métodos *in vitro* que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos , bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas.

La meta principal del estudio de susceptibilidad es proveer al clínico algunas recomendaciones sobre la terapia que puede ser más apropiada en pacientes con una infección específica. No obstante, la correlación exacta entre los resultados *in vitro* y la respuesta clínica es muchas veces difícil de predecir, ya que existen numerosos factores (Tabla 1) que influyen la interacción de agentes antimicrobianos y microorganismos en un determinado paciente.

La metodología usada para realizar el estudio de susceptibilidad toma en consideración algunos de estos factores para determinar más eficientemente cómo un microorganismo podría responder in vivo a un determinado antibiótico.

Tabla1

FACTORES QUE INFLUENCIAN LA CORRELACION DE LOS RESULTADOS DEL ANTIBIOGRAMA Y LA RESPUESTA CLINICA

- Factores del agente antimicrobiano
 - o Farmacocinética
 - o Unión a proteínas del plasma
 - o Vías de administración
 - o Acción bacteriostática o bactericida
 - o Concentración en sitio de infección
- Factores del huésped
 - o Enfermedad de base
 - o Estado inmunológico
 - o Formación de absceso
 - o Presencia de cuerpo extraño
 - o Función renal y hepática
 - o Cumplimiento del tratamiento
- Factores del microorganismo
 - o Virulencia
 - o Alta concentración de organismos
 - o Infección mixta
 - o Desarrollo de resistencia durante el tratamiento

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIBIOTICO

Existen factores propios del agente antimicrobiano, como son absorción, distribución, metabolismo, eliminación, unión a proteínas plasmáticas y otros parámetros farmacocinéticos los cuales pueden influenciar la respuesta del paciente.

La concentración del antibiótico en el sitio de la infección es otro factor importante a considerar en la elección de un antibiótico. Por ejemplo, cefalotina no cruza la barrera hematoencefálica, por lo que una meningitis causada por *E.coli* susceptible a cefalotina in vitro, no responderá a una terapia con este antibiótico. En cambio, una infección urinaria causada por una cepa de *E. coli* resistente a cefalotina podría responder bien, ya que este antibiótico es concentrado en la orina.

Además de la propia virulencia del germen, el número de organismos presentes en el sitio de la infección ("efecto del inóculo") puede ser un factor muy importante. Un aumento en el número de organismos en el sitio de infección puede variar significativamente la respuesta de un antibiótico, por lo que pueden ser necesarias concentraciones mayores de éste para inhibirlo.

Por último, y quizás los más importantes, son los factores propios del huésped. En un paciente inmunocomprometido, el efecto de la infección, unido a su enfermedad de base, puede resultar en falla de la terapia aunque el germen sea susceptible al antibiótico usado.

Para que exista una buena correlación entre los resultados de laboratorio y la respuesta clínica, es muy importante obtener una muestra que sea representativa del proceso infeccioso, por ejemplo si el organismo aislado es un contaminante del sitio de la infección en vez del organismo causal, la respuesta clínica puede ser independiente de los resultados obtenidos in vitro.

Por lo tanto, es de extrema importancia una apropiada y cuidadosa obtención de la muestra, especialmente si la infección se encuentra en un área normalmente colonizada por bacterias, ya que en estos casos la interpretación del cultivo bacteriológico es más difícil.

INDICACIONES PARA EL ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Debido a que los microorganismos tienen susceptibilidad variable a los agentes antimicrobianos, es necesario tener una herramienta que permita determinar la susceptibilidad del microorganismo causante de la infección.

Cada vez son menos los organismos que tienen susceptibilidad predecible, por lo que debemos hacer estudio de susceptibilidad en la mayoría de los microorganismos aislados.

La indicación primaria para el estudio de susceptibilidad es determinar el antibiótico más apropiado para iniciar la terapia en un paciente con un proceso infeccioso. En la mayoría de los casos, cuando el paciente comienza su enfermedad se indica un antibiótico de amplio espectro (o una combinación de antibióticos) hasta obtener resultados acerca de la identificación del germen causal de la infección. Posteriormente, cuando los resultados del antibiograma están disponibles, puede indicarse un antibiótico más específico. (30,31)

Entre los métodos más frecuentemente usados tenemos:

Difusión en agar.

Este método, que es el más frecuentemente usado, es también llamado difusión por disco o Kirby-Bauer. En este caso, el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a 35°C. Durante la incubación, el antibiótico difunde

radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al germen en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de susceptible, intermedio o resistente (S,I, o R) de acuerdo a las tablas publicadas por el National Committee for Clinical Laboratories Standards.

Dilución en agar.

Es considerado el método de referencia . En este método, placas conteniendo una determinada concentración de un antibiótico son inoculadas con el microorganismo en estudio y luego incubadas por 16 a 18 horas. Después de la incubación, se examina si el organismo crece o no en cada una de las placas, con lo cual se determina la concentración inhibitoria mínima (CIM) para el antibiótico.

Dilución en caldo.

En este caso, tubos (macrodilución) o microplacas (microdilución) contienen concentraciones crecientes de un determinado antibiótico. El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pocillos de la microplaca y la CIM es determinada después de la incubación, de la misma forma descrita anteriormente para el método de la dilución en agar.

E-test.

Este método ha sido descrito más recientemente y representa una sofisticada combinación de los métodos descritos anteriormente. El E-test es más simple que otros métodos para obtener una CIM. Utiliza una tira de plástico que contiene concentraciones crecientes de un determinado antibiótico que van desde 0,016 ug/ml hasta 256 ug/ml/ Esta tira se pone sobre una placa de agar que ha sido inoculada con el organismo en estudio. Después de

incubar la placa por 16 a 18 horas, se forma un área de inhibición de forma elíptica, en la cual la concentración inhibitoria mínima puede ser leída directamente. Este es el método de elección para hacer estudios de susceptibilidad en gérmenes problemáticos o con requerimientos especiales, como por ejemplo *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* y gérmenes anaeróbicos.

Métodos automatizados.

En este momento existen varios sistemas que ofrecen diferentes niveles de automatización para el estudio de susceptibilidad. Utilizan una medición turbidimétrica o fluorométrica para detectar crecimiento bacteriano en un medio líquido. La mayoría de ellos emplea el método de micro dilución y períodos de incubación menores que los habituales. Estos métodos son bastante confiables para el estudio de enterobacterias y otros gérmenes de crecimiento rápido, pero generalmente no son los adecuados para los de crecimiento lento o con requerimientos especiales.

INTERPRETACION DEL ANTIBIOGRAMA

Definiciones

Susceptible. Significa que la infección causada por ese organismo puede ser apropiadamente tratada con las dosis habituales del antibiótico estudiado.

Sensibilidad intermedia. Esta categoría incluye organismos que son inhibidos por concentraciones del antibiótico que están muy cercanas a las alcanzadas en el plasma, por lo que pueden responder pobremente a la terapia.

Resistente. Significa que el organismo no sería inhibido por el antibiótico en las dosis habituales o que el organismo tiene mecanismos de resistencia contra ese determinado antibiótico.⁽³¹⁾

Factores de Riesgo de desarrollo de resistencia antimicrobiana

Los factores que se han asociado con el desarrollo de resistencia en infecciones graves son múltiples. Entre ellos tenemos: edad avanzada, uso de antibióticos de amplio espectro, estancia hospitalaria prolongada (especialmente en UCI), proximidad con otros enfermos colonizados o infectados, cirugía previa, alto nivel de gravedad, la prescripción indiscriminada de drogas, la automedicación de pacientes e incluso el masivo uso de tales productos como aditivos de los alimentos para animales, las prescripciones veterinarias y el consumo de alimentos que tienen este tipo de aditivos. Además de que la exposición prolongada a un antibiótico lleva a la fijación de cambios estables que favorecen la persistencia de la resistencia porque las poblaciones bacterianas evolucionan tendiendo a compensar el efecto adverso provocado por la resistencia al antibiótico. (8, 17, 21,22, 23)

Un mejor conocimiento de las medidas de control y concientización sobre el uso racional de los antibióticos son algunas de las herramientas con que se cuenta para no profundizar el grave problema de la creciente resistencia bacteriana a estas sustancias.⁽²²⁾

MATERIALY METODO

AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Hospital San Juan de Dios de Esteli. En los diferentes servicios y en el laboratorio, durante el período de Febrero del 2002 a Febrero del 2003.

TIPO DE ESTUDIO:

Descriptivo de corte transversal

POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Bacterias aerobias Gram negativas de diferentes especies que se aislaron en el laboratorio del Hospital San Juan de Dios de Estelí y que provienen de pacientes atendidos en cualquiera de los servicios de dicho hospital.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Todas las bacterias Gram negativas que se aislaron en el laboratorio del Hosp. San Juan de Dios de Estelí, durante el periodo de estudio y en las que se obtuvo la información completa relacionada a los objetivos.

FUENTE DE DATOS:

Primaria y Secundaria.

MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Se utilizó una ficha para recolectar la información necesaria. La información contenida en la ficha fue obtenida directamente y a través del expediente clínico. También se obtuvieron datos de los laboratorios del Hospital San Juan de Dios y del laboratorio de Microbiología de la UNAN- León.

COLECCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS: Las cepas bacterianas fueron colectadas diariamente a partir de los platos de antibiograma, realizados en el Laboratorio Clínico (área de Bacteriología) del Hospital Regional San Juan de

Dios de la ciudad de Estelí. Las bacterias fueron transportadas al Departamento de Microbiología de la UNAN-León en un medio de transporte conteniendo Bacto agar al 1%, a temperatura ambiente. En el Departamento de Microbiología de la UNAN León, se realizó la confirmación de especie y determinación del perfil de sensibilidad utilizando antibióticos predeterminados por los investigadores, los cuales fueron seleccionados a partir de recomendaciones nacionales e internacionales. (MINSA, NCCLS)

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA:

Previo la realización del antibiograma las bacterias fueron reidentificadas por pruebas bioquímicas y análisis morfológicos (Tinción de Gram), luego se procedió a realizar la determinación de sensibilidad Antimicrobiana utilizando la prueba de difusión de discos en agar (Kirby bauer).

Materiales:

Medio de Agar Muller-Hinton: fue preparado a partir de una base deshidratada comercialmente disponible y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Discos de Antimicrobiano: se utilizaron los siguientes discos : ceftriaxona, ciprofloxacina, gentamicina, norfloxacina, ceftazidime, trimetoprim sulfametoxazol, cloranfenicol.

Los contenedores fueron mantenidos refrigerados a 8° C o a temperatura inferior, o congelados según necesidades.

Patrón de 0.5 de Mc Farland de BaSO₄: fue preparado por personal del Departamento de Microbiología de la UNAN-León.

Procedimiento para realizar la prueba de difusión con disco.

Una vez reidentificadas todas las bacterias por los procedimientos descritos previamente se procedió a realizar la prueba de sensibilidad Antimicrobiana. Para ello se realizó un cultivo de 24 horas en las condiciones de rutina según el aislado.

Preparación del inóculo.

De un cultivo de agar se selecciono de tres a cinco colonias aisladas. La superficie de cada colonia fue tocada con un asa y el cultivo transferido a un tubo conteniendo 4 ml. de solución salina para preparar un suspensión. La suspensión se ajustó a la turbidez del patrón 0.5 de Mc Farland. Por comparación visual del tubo inoculado con la del patrón, contra una cartulina de fondo blanco.

Inoculación de las placas de prueba:

- a) Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez de la suspensión del inóculo, se introdujo un hisopo de algodón estéril dentro de la suspensión ajustada. El hisopo fue rotado varias veces y luego presionado firmemente sobre la pared interna del tubo por encima del nivel del líquido (para extraer el exceso del inóculo del hisopo).
- b) La superficie seca de agar Muller-Hinton se inoculó rayando con el hisopo toda la superficie del agar estéril. Este procedimiento fue repetido extendiendo dos veces más, dando cada vez un giro de 60° a la placa, para asegurar una correcta distribución del inóculo.

- c) La tapa del plato se dejó entreabierta por 3 a 5 minutos, pero no más de 15, para permitir que cualquier exceso de humedad superficial fuera absorbida, antes de aplicar los discos impregnados de la droga.

Aplicación de los discos a la placa de agar inoculado:

- a) La bacteria predeterminada de discos antimicrobianos fue añadida sobre la superficie de la placa de agar inoculada. Cada disco fue presionado para asegurar su completo contacto con la superficie de agar. Los discos fueron colocados individualmente con una aguja estéril, uniformemente de modo que no quedarán más cerca de 24 mm del centro de uno del otro. (no más de 6 discos por plato)
- b) Las placas se colocaron de forma invertida dentro de un incubador a 37°C, dentro de los 15 minutos siguientes a la aplicación de los discos.

Lectura de las placas e interpretación de los resultados:

- 1) Después de 18 a 24 horas de incubación, se examinó cada placa. Previo chequeo que las zonas de inhibición obtenidas fueran uniformemente circulares y que hubiera una confluyente capa de cultivo. Si se observan colonias individuales, significa que el inóculo es demasiado débil y la prueba se repetirá. Se medieron los diámetros de las zonas de completa inhibición (determinándolas ocularmente), incluyendo el diámetro del disco. Las zonas se medieron hasta el milímetro completo más próxima, utilizando una regla para este propósito, colocándola sobre la superficie de la placa de petri invertida. Por encima de un fondo negro antirreflejante y se ilumino con luz reflejada. En el caso de *Estafilococos* cualquier

cultivo apreciable dentro de la zona de inhibición se tomó como resistente.

- 2) El margen de la zona se tomó como el área que no muestra ninguna evidencia de cultivo visible, capaz de ser detectado ocularmente. Se ignoraron los cultivos débiles como diminutas colonias, que sólo pueden ser detectadas con la ayuda de lentes de aumento.
- 3) Los tamaños de las zonas de inhibición fueron interpretados según tabla de referencia NO. 2 NCCLS-2000 y los organismos fueron informados como sensibles, intermedios o resistentes a los agentes que fueron analizados.

Cada día se utilizó como control las siguientes cepas de referencia que fueron suministradas por el Departamento de Microbiología de la UNAN- León.

Escherichia coli ATCC 25922 Para Enterobacterias

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 Para organismos no fermentadores

- c) Los valores de límites mínimos y máximos de diámetros de zona que se utilizaron en una prueba simple de control fueron los listados en la Tabla 3ª, 3B y 3C del manual de normas NCCLS 2000 suministrados al Laboratorio de Microbiología UNAN-León y/o contenidos en la base de datos WHONET 5.0 que se utilizó.

Producción de Betalactamasa de Espectro extendido (BLEE)

La producción de BLEE se estableció utilizando el método de difusión de doble disco de cefalosporinas de tercera generación y amoxicilina/clavulánico. El desarrollo e interpretación del método se hizo siguiendo las recomendaciones del Comité Nacional de Referencia para Laboratorios Clínicos (NCCLS-2003) ⁽³⁷⁾

Instrumento de Recolección de Datos:

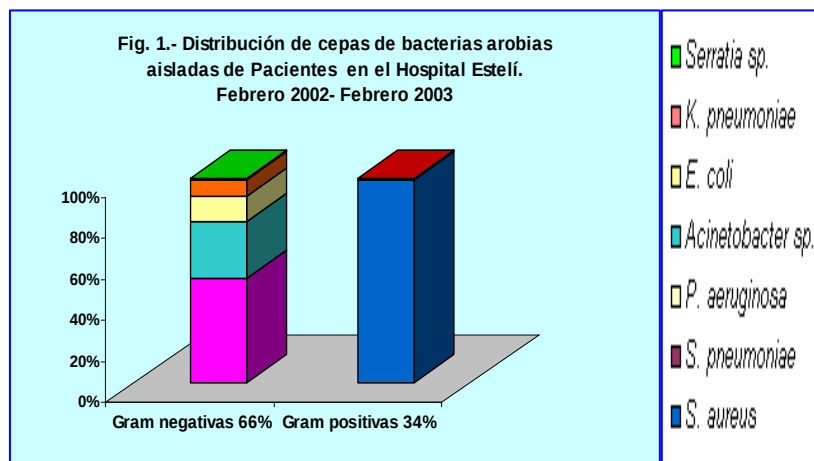
Para recolección de datos se elaboró una ficha (ver anexo) la cual contiene datos básicos para obtener información necesaria, tomando en consideración los objetivos que nos planteamos anteriormente.

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Concepto	Indicador	Escala/valores
Edad	Tiempo expresado en años desde el nacimiento hasta su ingreso al hospital	Expediente clínico del Hospital de Esteli	0-1 Año 2-10años 11-20 años 21-30años 31-40años 41-50años 50- más años
Sexo	Características fenotípicas que diferencian al hombre de la mujer	Expediente Clínico Y el paciente	Masculino Femenino
Muestra Biológica	Material Biológico de donde se aislaron Microorganismos	Paciente	Pus Secreciones Heridas
Antibioticoterapia	Fármaco antimicrobiano empleado con el objetivo de tratar el proceso infeccioso	Expediente clínico Hosp.San Juan de Dios- Esteli	Betalactámicos, sulfas, Macrólidos, aminoglucósidos.
Antibiótico Profilaxis	Fármaco antimicrobiano con el objetivo de prevenir el proceso infeccioso	Expediente clínico Hosp.San Juan de Dios- Esteli	Betalactámicos, sulfas, Macrólidos, aminoglucósidos
Factor de Riesgo	Variable que tienen una asociación independiente con el desarrollo de infección en el sitio de la herida quirúrgica	Expediente clínico y el paciente	Edad, Estancia hospitalaria, uso de antibióticos previo toma muestra, Servicio de ubicación
Perfil de resistencia antimicrobiana	Valoración de la resistencia y sensibilidad de la bacteria, basado en el antibiograma de fármacos	Libro de registros del laboratorio del departamento de Microbiología de la UNAN-León y del laboratorio del Hosp.. San Juan de Dios de Esteli.	Resistente, Intermedia, Sensible.
Servicios	Sala del Hospital donde fue atendido el paciente	Libro de registro del Laboratorio del Hosp.. San Juan de Dios	Pediatría, Ginecología, Consulta externa, Cirugía, Medicina Interna, Emergencia.

RESULTADOS

En el período comprendido entre Febrero del año 2002 y Febrero del 2003, se lograron obtener 198 muestras biológicas de pacientes que fueron atendidos en los diferentes servicios del Hospital San Juan de Dios de la ciudad de Estelí, las muestras biológicas se obtuvieron principalmente de secreciones óticas y de heridas quirúrgicas, ambas en un 20.2%. A todas las muestras se les realizó cultivo bacteriológico en atmósfera aerobia, el porcentaje de cultivos positivos fue 68% (134 muestras positivas). El 66.4 % de las bacterias aisladas fueron Gram negativas y el 33.6% Gram positivas.



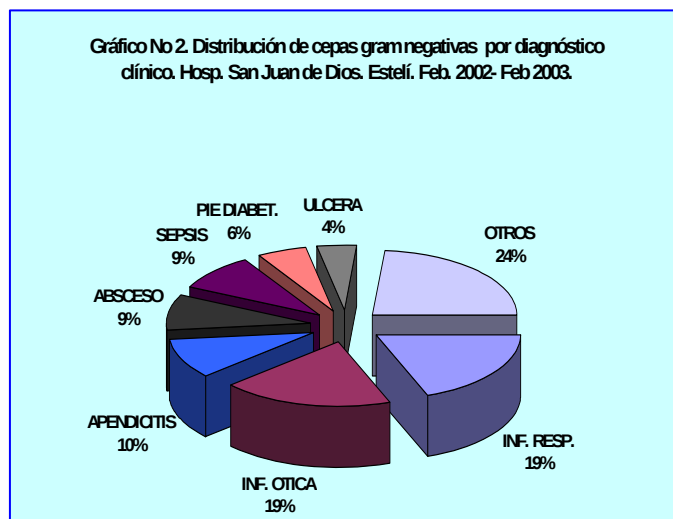
Pseudomonas aeruginosa fueron las bacterias Gram negativas más frecuentes seguidas por *Acinetobacter*, *E. coli* y en menor proporción *Klebsiella pneumoniae* y *Serratia*

sp. Entre las bacterias Gram positivas, *Stafilococcus aureus* representó el 99 %

un único caso de

Streptococcus pneumoniae (neumococos) (Fig. No. 1).

Todos los pacientes a quienes se les realizó cultivo y aisló algún tipo de bacteria, fueron atendidos en el hospital y su queja estaba relacionada con un proceso infeccioso entre los más comunes figuró, la



infección ótica u otro tipo de infección respiratoria, también se incluyen un número

importante de secreciones de heridas quirúrgicas. (Fig.2), 42% de las *Pseudomonas aeruginosa* aisladas procedían de pacientes con infecciones óticas, particularmente en este caso cabe mencionar que la mayoría procedía de pacientes que asistieron a la consulta externa pero que son parte del personal del hospital.

Tabla No. 1 Características generales de los pacientes		
	Número	Porcentaje
Edad		
0 – 1 Año	20	22.4
2 – 10 años	10	11.2
11 – 20 años	5	5.61
21 – 30 años	11	12.3
31 – 40 años	13	14.7
41 – 50 años	10	11.2
51 – más años	20	22.4
Total	89	100.0
Sexo		
Femenino	54	60.7
Masculino	35	39.3
TOTAL	89	100.0

Los grupos de edades más frecuentes de los pacientes en quienes se aislaron las bacterias incluidas en el estudio fueron: menor o igual a un año y mayor de 51 años. La mayoría de los pacientes a los que se realizó cultivo y aisló Gram negativo, eran del Sexo femenino (60.7%) (Tabla No. 1).

En relación al servicio de ubicación del paciente al momento de obtener la muestra para cultivo, se encontró que fue en consulta externa (21.3%) y Neonatología (20.2%), donde se realizó la mayoría de toma de muestra. También fue en consulta externa donde se aisló más importantemente *Pseudomonas aeruginosa*. (Tabla No.2).

Tabla No. 2.- Distribución de bacterias Gram negativas según servicio de ubicación del Paciente							
Agente	C.Ext.	Pediatría	Neonato- logía	Cirugía	Gineco	Orto- pedia	Medicina
<i>P.aureginosa</i>	18	5	10	3	1	4	4
<i>Acinetobacter</i>	0	0	3	4	0	2	2
<i>E.coli</i>	1	3	3	9	2	5	2
<i>K.pneumoniae</i>	0	2	2	1	0	1	1
<i>Serratia sp.</i>	0	0	0	0	0	1	0
TOTAL %	21.3	11.2	20.2	19.1	3.37	14.6	10.1

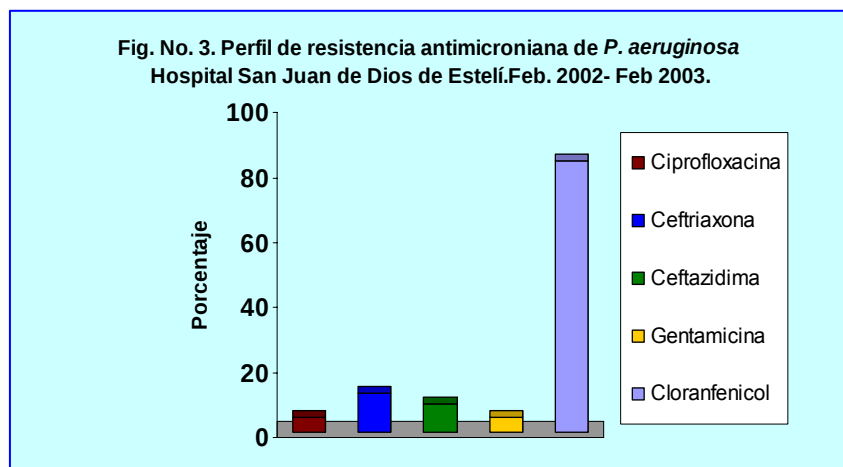
Se determinó que un 43.8% de los pacientes no estaban hospitalizados al momento de la toma de la muestra, 33.7% de

ellos tenían entre 1 y 4 días de hospitalización y un 15.7% de 5 a 10 días de

hospitalización. Los días que permanecieron los pacientes en el hospital fueron variables, desde menos de 24 horas hasta 67 días, ubicándose la mayor frecuencia en el rango de más de 10 días.

El 57.3 % de los pacientes había recibido algún tipo de antibióticos previo a la toma de la muestra biológico de donde se aislaron las bacterias incluídas en el estudio. De estos a un 41.57% se le administró Penicilinas, otros antibióticos como Gentamicina y Ciprofloxacina fueron administrados al 23.5% , el resto de antibióticos indicados estuvieron en rango de 4 a 19%.

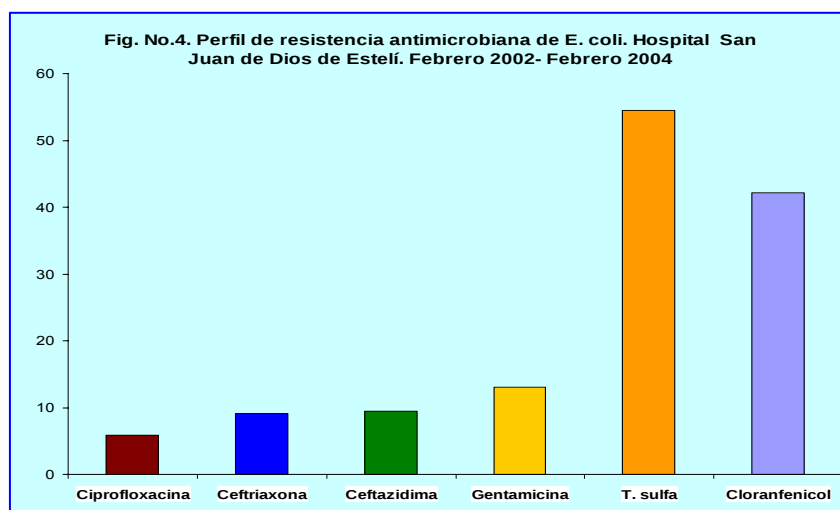
En relación al perfil de resistencia para *P. aeruginosa* se determinó que el antimicrobiano de menor efectividad fue Cloranfenicol el 83% de las cepas fueron resistentes, Quinolonas y aminoglucosidos tuvieron una buena efectividad in vitro



con menos de 10% de resistencia, es importante notar que los Betalactamicos tales como cefalosporinas de tercera generación entre estas Ceftazidima un

antimicrobiano considerado antipseudomónico, presentó 8.8% de resistencia y Ceftriaxona 12.19%, (Fig.No.3).

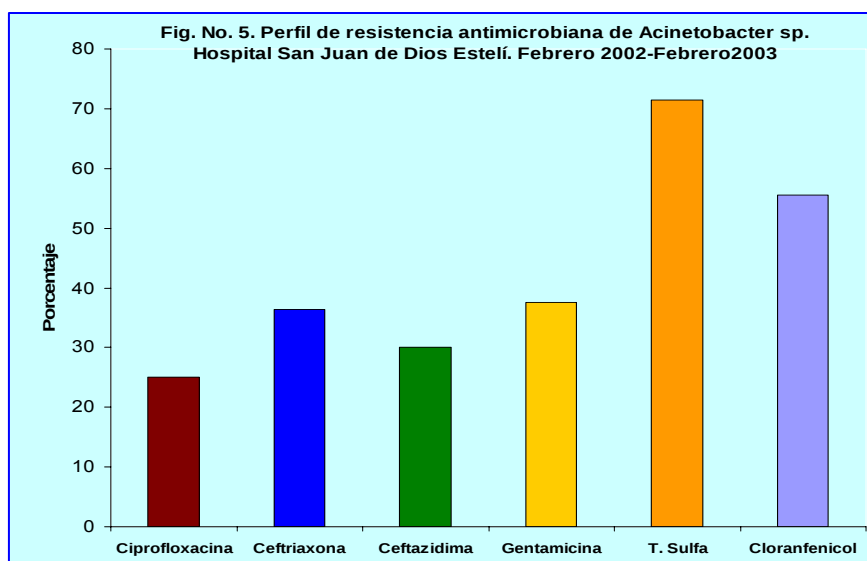
E. coli es un importante microorganismo aislado principalmente de infecciones urinarias, sin embargo las incluídas en este estudio fueron aisladas de procesos diferentes que incluyen



infecciones material obtenido de las apendicitis supuradas, y en fracturas expuestas contaminadas. El perfil de resistencia mostro un alto porcentaje de cepas resistentes a Trimetoprin sulfametoaxol y de 42.1 % a Cloranfenicol; más del 10% de las cepas fueron multirresistens al presentar resistencia a 3 o más antimicrobianos de diferentes familias es el caso de resistencia a sulfas, cloranfenicol y aminoglucosidos. Los antimicrobianos de mejor efectividad fueron las quinolonas y las cefalosporinas tales como Ceftriaxona y Ceftazidima.

En las cepas de *Acinetobacter* sp. analizadas se determinó un porcentaje similar de cepas resistentes a Trimetoprin sulfametoxazol 51.73%, sin embargo comparada con *E. coli* el perfil de resistencia en relación a los otros fármacos estudiados, podemos decir que estas cepas de *Acinetobacter* sp. son las que tienen mayor porcentaje de multirresistencia y en especial a un mayor número de

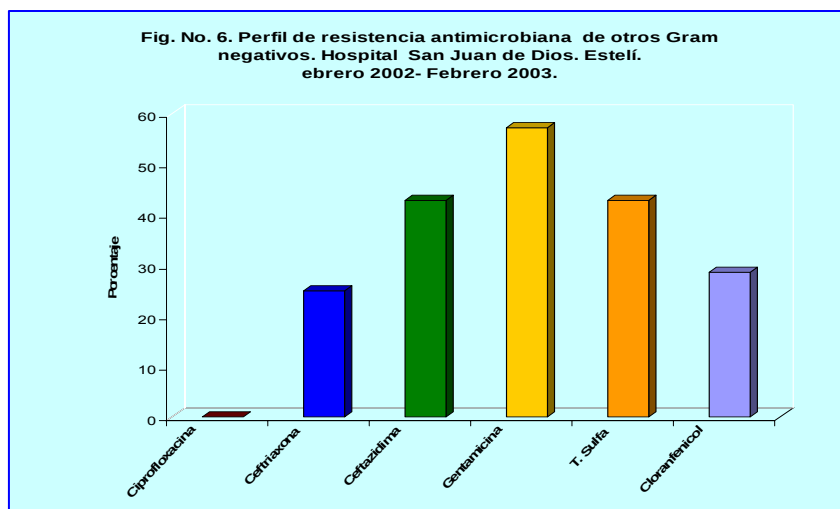
fármacos. El fármaco de mejor efectividad fue Ciprofloxacina sin embargo el porcentaje de resistencia se considera importante dado que es mayor del 20% .



Klebsiella pneumoniae y *Serratia* sp. fueron agrupados como otros Gram negativos el perfil de resistencia fue muy diferente al resto de bacterias Gram negativas, el mayor porcentaje de resistencia se observo en el caso de Gentamicina, 57% seguido por Trimetoprim sulfa y Ceftazidima en 42.8% , en esta caso también puede hablarse de multirresistencia sin embargo a diferencia de los *Acinetobacter*

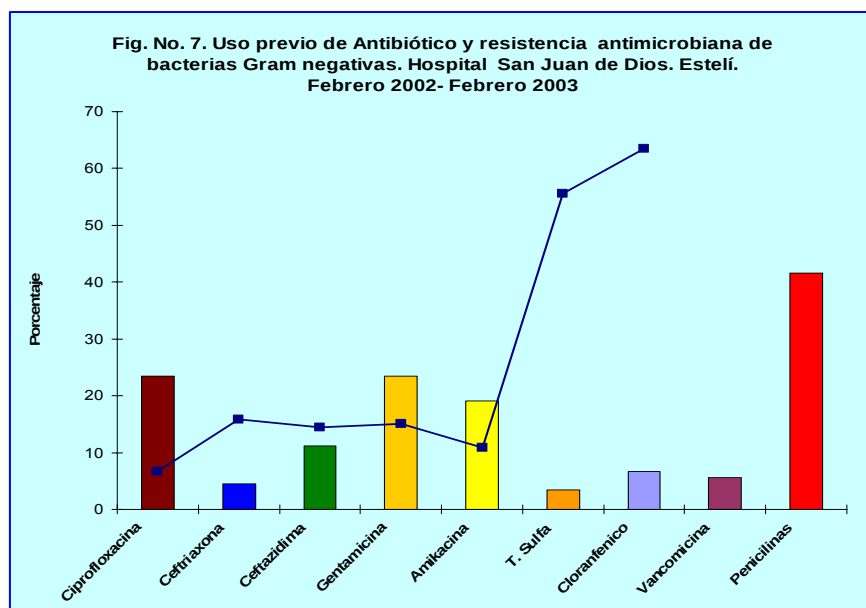
aquí no se presentó resistencia a las quinolonas, en este grupo lo porcentajes de resistencia estuvieron a expensas de *Klebsiella pneumoniae*. (Fig. No. 6)

La resistencia Global encontrada tomando en cuenta todos los gérmenes Gram negativos se ubicó entre el 6.6% y el 63.5% para



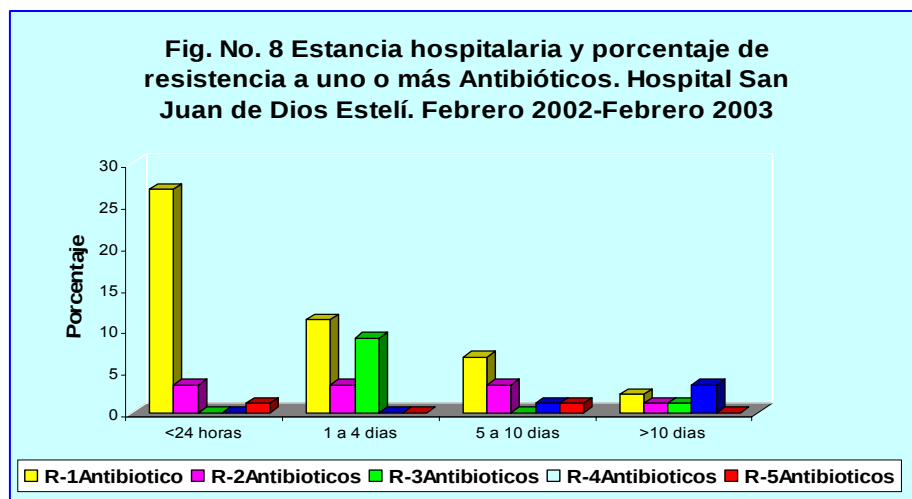
todos los antibióticos evaluados; siendo el Cloranfenicol (63.5%) y el Trimetoprim Sulfa (55.5%) los antimicrobianos de menor efectividad y las quinolonas las de

mejor efectividad de manera global. En ambos casos (cloranfenicol y T. sulfa) observamos que los pacientes habían sido tratados con estos tipos de antimicrobianos previo a la toma de la muestra biológica de donde fueron



aisladas las bacterias Gram negativas. Fig. No. 7

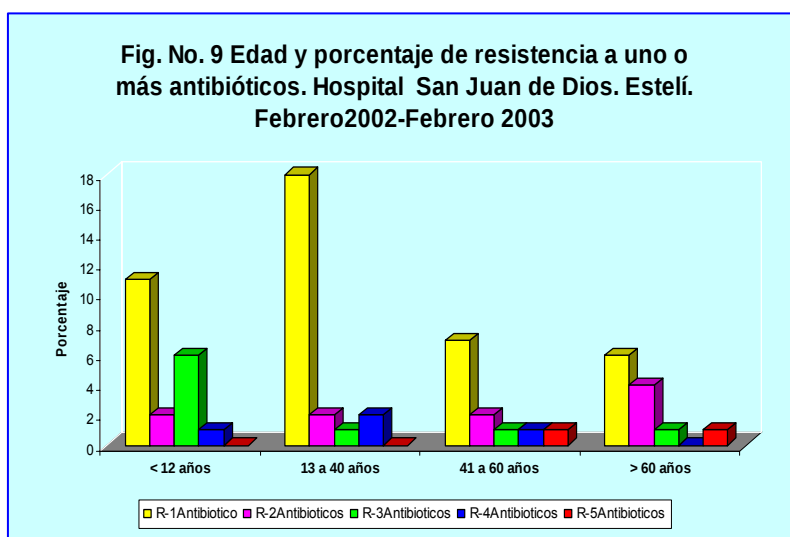
En nuestro estudio encontramos que aquellos pacientes (huésped) que presentaron mas de un factor de riesgo, fue donde se aislaron cepas multiresistentes. La estancia hospitalaria representó un importante factor de



riesgo de manifestar resistencia a uno o mas fármacos, en la Fig. No. 8 observamos la relación estancia hospitalaria y resistencia a

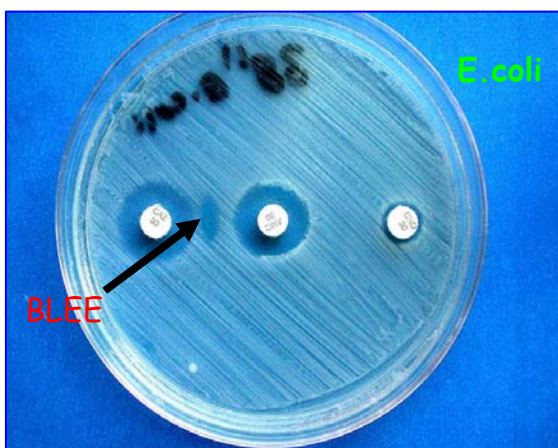
uno o más fármacos, el rango de estancia fue de menor de 24 horas (consulta externa) hasta mayor de 10 días Así mismo se observó que aquellos pacientes a los que se les tomo muestra después de 5 días de hospitalizados presentaron resistencia a mas de 4 antibióticos.

La edad de los pacientes fue otra característica analizada en relación al fenómeno de resistencia antimicrobiana. La Figura No. 9 muestra el resultado de estos analisis que nos mostraron que la presencia de bacterias resistentes a uno o más



fármacos estuvo relacionada con la edad,(a mayor edad, resistencia a mayor número de fármacos con la estancia hospitalaria y con el uso previo de antibióticos.

La producción de Betalactamasa de espectro extendido, se detecto en dos cepas de *Klebsiella pneumoniae* y 9 de *E.coli*, estas cepas presentaron además un perfil de multirresistencia que incluye cepas resistentes a tres o más familias de antimicrobianos, en ambos casos se determinó resistencia a Betalactamicos, Aminoglucosidos y Trimetroprin sulfa. En la Fig. No. 10 se observa una cepa de *E. coli* con susceptibilidad reducida para Ceftazidima además puede observarse la zona de inhibición de la Ceftazidima aumentada por el ácido clavulanico que



contiene el disco colocado en el centro del plato. La reacción ha sido marcada con una flecha y es el tipo de reacción que debe interpretarse como producción de Beta lactamasa de espectro extendido.

Fig. No. 10. Producción de BLEE en una cepa de *E. coli*.

En general todas las cepas de bacterias aerobias Gram negativas aisladas durante el período de estudio, presentaron multirresistencia (resistencia a 3 o más familias de fármacos) el rango de multirresistencia estuvo entre 4% y 21% las de menor valor de multirresistencia fueron las *Pseudomonas aeruginosas* y las de mayor valor los *Acinetobacter sp.* seguidos por *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli*.

DISCUSION

La resistencia bacteriana, se ha convertido en una de las más temidas complicaciones de las enfermedades infectocontagiosas. La aparición y propagación de microorganismos resistentes es un problema global que se ha acentuado en las últimas décadas, sobre todo en el ámbito hospitalario y, más en concreto, en las unidades de cuidados intensivos

(UCI), áreas caracterizadas por una elevada presión antibiótica.⁽⁸⁾ La resistencia bacteriana es detectada comúnmente durante el procedimiento microbiológico estándar para establecer la causa de la infección en el paciente y así elegir la mejor opción de tratamiento. Las infecciones por bacterias resistentes fallan en responder al tratamiento, resultando en una prolongada enfermedad, hospitalización y aumento del riesgo de muerte en infecciones graves.⁽³⁾

La vigilancia de la resistencia antimicrobiana es un componente esencial de salud pública, en particular es de relevancia el uso de hospitales centinelas por ejemplo en 1980, fue en un hospital centinela en los Estados Unidos donde primero se detectó una cepa de *Neumococo* resistente a penicilina. El hospital de Estelí representa para nosotros lo más cercano a un hospital centinela, en este hospital se ha estado realizando un monitoreo continuo de la resistencia desde el año 2000 por parte del programa de vigilancia de la resistencia antimicrobiana que conducen investigadores del Departamento de Microbiología de la UNAN-León. Esta vigilancia ha permitido establecer que existen importante diferencia entre los perfiles de sensibilidad de un hospital a otro tal como lo refiere la literatura. Por ejemplo la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* reportada en los hospitales de Chinandega es mucho mayor que la encontrada en nuestro estudio, sin embargo estos valores son similares a los encontrados por Herrera y col en el año 2001, en el mismo hospital y al reportado por Carera E. 2003 en un estudio multicentrico que incluyó León, Chinandega y Estelí, la explicación más probable, está en el hecho que la mayoría de *Pseudomonas* aisladas en nuestro estudio procedían de infecciones áticas que presentaron varias personas que trabajan en el hospital y

que a pesar de hacerlo ahí, no tenían historia de ingesta previa de antibióticos y no estaban sistémicamente enfermas.

Los tres géneros mayormente aislados, correspondieron a *P. aeruginosa*, *Acinetobacter sp.* y *E. coli*, que representan datos similares a los reportados en estudios nacionales e internacionales en aislados bacterianos de hospitales, este comportamiento; principalmente con *P. aeruginosa* se observa en estos locales por ser los sitios donde llegan los procesos infecciosos más complicados. (8, 41, 43). Además que a esta (*P. aeruginosa*) se le involucra en las infecciones nosocomiales. (18,19, 21, 22, 43).

Importante de destacar es el perfil de resistencia observado para *E. coli* y *Acinetobacter sp.* en relación a Trimetoprin sulfá, este es un antimicrobiano de amplio uso tanto como automedicación pero también a nivel médico ya que es el fármaco normado para control de infecciones por microorganismos como los mencionados previamente, sin embargo la resistencia en bacterias Gram negativas ha continuado creciendo en los últimos años, tal que en la actualidad una gran variedad de enterobacterias tales como *E. coli* son reportados como altamente resistentes a este fármaco (7, 44, 45)

Al analizar estos resultados, encontramos que los porcentajes de bacterias resistentes han aumentado en relación a estudios realizados en años anteriores en este mismo hospital. Así mismo se encontraron altos porcentajes de resistencia en estudios realizados en León, Chinandega. Se destaca también un porcentaje alto de resistencia por el Cloranfenicol; igualmente reportado por estudios en León. Cada vez se han venido utilizando con mayor frecuencia Cefalosporinas, Aminoglucósidos y Quinolonas para el tratamiento de infecciones producidas por este microorganismo; aunque en nuestro estudio se refleja la aparición de resistencia d algunas cepas a estos antibióticos, otros estudios realizados en nuestro país reflejan esta resistencia en porcentajes variables. (39,41,42, 43)

Acinetobacter sp. Que es uno de los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales, en nuestro estudio mostró alta resistencia a todos los antibióticos utilizados. Similar a lo reportado en dos estudios elaborados en el HEODRA-León.^(42, 43)

Es importante señalar que en Venezuela se reportó una resistencia mucho más alta para Aminoglucósidos , Cefalosporinas y Quinolonas de hasta un 80%, situación análoga se reportó en España, donde incluso se han reportado brotes de infecciones nosocomiales por cepas multirresistentes.^(8,23) En nuestro estudio los Gram negativos fueron mayormente resistentes al Trimetoprim Sulfa y al Cloranfenicol, reflejado igualmente en estudios nacionales e internacionales.

Un hecho difundido en América Central y Suramérica es la obtención de los antimicrobianos sin receta médica que unida a la prescripción inadecuada, se ha reflejado hoy en enormes resistencias.⁽²⁰⁾

En el estudio encontramos que 57.3% de los pacientes habían sido tratados previos a la toma de la muestra con al menos un régimen de antibióticos y en muchos de ellos se había manejado hasta con cinco antibióticos, encontramos que esta práctica no ha variado en este hospital, pues un estudio de hace 2 años revela una situación similar.

La presencia de varios factores de riesgo en un paciente conlleva a una mayor probabilidad de adquirir Multirresistencia; Se analizaron diferentes factores de riesgo para el desarrollo de Multirresistencia; demostrando que el uso previo de antibioticoterapia, una mayor estancia intrahospitalaria previo al cultivo se relacionaron con el desarrollo de multirresistencia. Así, reportamos que más de la mitad de los pacientes que recibieron antibióticos o bien mostraron una estancia hospitalaria mayor de 5 días portaban cepas resistentes a más de 4 antibióticos, igual sucede con la edad ; entre mayor edad, mayor número de cepas resistentes a 4 ó más antibióticos. Observamos que los pacientes de mayor edad fueron a los que se asociaron varios factores de riesgo tales como una estancia intrahospitalaria prolongada por la condición clínica, uso previo de antibiotico

terapia, confirmando así la relación entre factores propios del huésped y la presencia de Multirresistencia. Situación similar en el extranjero y en nuestro medio. (8, 9, 21, 23, 41,43)

La Multirresistencia en bacterias Gram negativas es un fenómeno creciente en la era actual de uso y abuso de antibióticos, el mecanismo más importante que ha promovido este fenómeno es la producción de enzimas capaces de hidrolizar a las cefalosporinas de espectro extendido (CEE), situación que induce el uso de otras familias de fármacos tales como las Quinolonas. El fenómeno de la multirresistencia se ha reportando especialmente para *Acinetobacter*, *E. coli* y *Klebsiella*, en la mayoría de países que han reportando multirresistencia, en nuestro estudio estas bacterias fueron también en las cuales se determinó la resistencia a 3 o más familias de antibióticos, particularmente la asociación resistencia a Quinolonas, Betalactámicos y Aminoglucósidos sumada en muchos casos a la sulfas. (46)

La utilización de CEE como son las cefalosporinas de tercera, cuarta generación y monobactámicos se han considerado en las últimas dos décadas entre los tratamientos de elección para infecciones causadas por bacterias Gram negativas como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp*, entre otras. Sin embargo, a través del tiempo, el incremento en el uso de estas cefalosporinas se ha asociado a incremento en el aislamiento de bacterias Gram negativas resistentes a ellas, lo que se ha convertido en un serio problema en el tratamiento de estas infecciones. Los mecanismos de resistencia bacteriana a CEE identificados en Gram negativos son: alteración del sitio blanco particularmente en proteínas fijadoras de penicilina (PBP); b) disminución en la permeabilidad al antibiótico; c) la producción de betalactamasas que inactivan la cefalosporina que pueden ser las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) y las de tipo AmpC. La producción de BLEEs por las bacterias Gram negativas se considera el principal mecanismo de resistencia a CEE. Estas enzimas han sido detectadas en casi todas las especies de *Enterobacteriaceas* predominantemente en *K. pneumoniae* y *E. coli*. Generalmente la información genética para la síntesis de BLEEs está codificada

en plásmidos y dado que éstos son fácilmente transmisibles entre los diferentes miembros de las enterobacterias hace más fácil la diseminación de este fenotipo de resistencia entre estas bacterias, por tanto la importancia de vigilar el apareamiento intrahospitalario de cepas productoras de BLEE. En nuestro estudio BLEE fue determinada en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* este es el primer reporte realizado en el hospital de Estelí, solamente en el HEODRA. León, en años previos se había hecho tal determinación y caracterización de enzimas de este tipo.

A pesar de que la producción de BLEE se describió inicialmente en Europa en 1983, inmediatamente después se identificaron en Estados Unidos de Norteamérica (EUA) y a partir de entonces se han identificado prácticamente en todo el mundo. En América Latina existe escasa información sin embargo hay algunos estudios principalmente de Argentina, Venezuela, Brasil y Nicaragua

·(12,47)

Esperamos que los resultados de este estudio ayuden a adecuar las pautas de tratamiento y cooperen en modificar conductas de riesgo que facilitan la inducción de resistencia, como el abuso en la prescripción de antimicrobianos y hospitalizaciones innecesarias.

CONCLUSIONES

1. Las bacterias Gram negativas más importantes dada la frecuencia con que se aislaron en los cultivos fueron: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Acinetobacter sp.*
2. Se encontró que la mayoría de los pacientes eran del sexo femenino (60.7%), y se encontraban en los rangos de edad de 0 a 1 años y mayores de 51 años.
3. En general los Gram negativos mostraron alta resistencia para Trimetoprim Sulfa y Cloranfenicol. *P. aeruginosa* fue más resistente a Cloranfenicol. *E. coli* mostro alta resistencia a Trimetoprim Sulfa y Cloranfenicol; igualmente *Acinetobacter sp.* Otros Gram negativos como *Klebsiella* y *Serratia* fueron más resistentes a Gentamicina, Trimetoprim Sulfa y Ceftazidima.
4. Se demostró la relación existente entre el uso previo de antibiótico, estancia intrahospitalaria previa a la toma de muestra asi como la edad con la presencia de Multirresistencia.
5. Se determinó la producción de BLEE en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli*.

RECOMENDACIONES:

1. Normalizar el sistema de vigilancia de resistencia antimicrobiana existente.
2. Normalizar la toma y manejo de muestras biológicas en los diferentes servicios, previo al uso de antibióticos.
3. Hacer uso racional de antibióticos, que permita disminuir la aparición de resistencia, basado en lo siguiente:
 - a) Utilizar siempre un antibiótico para el que haya sido comprobada la sensibilidad del germen causante de la infección a tratar, o de no ser posible, al menos pueda esperarse razonablemente que si lo sea.
 - b) Utilizar siempre, dentro de lo posible, aquel antibiótico que presente un espectro antimicrobiano más estrecho.
 - c) Administrar el antibiótico durante el tiempo, dosis y por la vía adecuada para alcanzar el efecto terapéutico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Moreno A. Resistencia bacteriana frente a antimicrobianos, ¿los está haciendo inútiles el mal uso y el abuso?. Departamento de Microbiología. UMA.www.cienciasuma.es/publicaciones/encuentros/encuentros87/resistencia.htm.
2. Acosta G., Juan y cols. Efecto de una política de control de antimicrobianos en la susceptibilidad de los microorganismos. Reporte Técnico de Vigilancia. Vol 3, N°4, Mayo 27, 1998 ISSN 1028-4362.
3. Sapiña N. Fernando. La resistencia a los antibióticos. Ciencia digital. Noviembre 2002.
4. Iliczyszyn, G. Según la OMS el mayor problema asociado con la resistencia antimicrobiana continua sin ser tratado. 2002: 80; 126-133
5. Iliczyszyn, G. La farmacorresistencia amenaza a los avances de la Medicina. Resistencia a los antibióticos. 9-19 junio 2000.
6. Moraita, H. Alerta el ISSSTE ante el aumento de la resistencia bacteriana por el uso irracional de antibióticos. Infectología Pediátrica. 2001.
7. Iliczyszyn, G; Gurí J C; Informe Especial. 9°Congreso Internacional de enfermedades Infecciosas. Healthig News. Buenos Aires, Argentina. 10-13 Abril del 2000.
8. Fajardo A.; Colombet M. Herrera y cols. Resistencia antimicrobina de bacterias Gram negativas en la UCI. Med. Crit. Venezuela 2000.

9. Hoogkamp- Korstanje JA, Relofs-Williams J. Antimicrobial resistance in Gram – negative bacteria from Intensive Care and Urology services. A nationwide study in the Netherlands 1995,2000.
10. Livermore D. Bacterial resistance: Origins, Epidemiology, and Impact. Central Public Health Laboratory, London, United Kingdom. Suppl 1. Clinical Infectious Diseases. 2003.
11. Rodríguez, C; Juárez J y cols. Resistencia a antibióticos de bacilos Gram – negativos aislados en unidades de cuidados intensivos. Universidad de Buenos Aires. 1998.2001.
12. Cáceres M. Ecological Aspectos of antimicrobial Susceptibility of Bacteria in Nicaragua. Tesis de doctorado Instituto Karolinska Stockholm 1999.
13. Tor, Damaso. Alimentos Transgénicos y al resistencia bacteriana. Biotecnología. 29-8-00.
14. Sabín, R. Los antibióticos. 6-18-2002. [www. monografias. com/ trabajos 10/ antibi/ antibi. Html.](http://www.monografias.com/trabajos10/antibi/antibi.html)
15. Iáñez E. Resistencia bacteriana a los antibióticos. Curso de microbiología General. 17 de agosto 1998, www.scienciamedica.es .
16. Castillo L. Bacterias testarudas se burlan de los antibióticos. 2000 www.sicienciamedica.es
17. Cartone, Edmar. Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. Departamento de Biología General. Universidad de Minas, Gerais, Brasil. Ciencia Hoy. Volumen 9, N°50 Enero- Febrero 99. Parte1.

18. Natiello, M. Resistencia bacteriana. DIC (Drug Information Center.) Centro de información científica. www.dic.org.ar.
19. Cartone, Edmar. Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. Departamento de Biología General. Universidad de Minas, Gerais, Brasil. Ciencia Hoy. Volumen 9, N°50 Enero- Febrero 99. Parte 2.
20. Fuentes J. Resistencia bacteriana. Congreso colombiano de Infectología. Vol 6. N°1, Marzo 1993.
21. Jáuregui L, Zulaica H, Rojo L, Moreno F. Factores de riesgo para la adquisición de bacterias multirresistentes. An Med Hosp. ABC 1996; 41(4): 161-164.
22. Nagel, R. La resistencia de las bacterias a los antibióticos ¿ Un camino sin retorno?. Ciencia Hoy. Vol 10. N°59 Octubre- Noviembre 2000.
23. Torroba L. y cols. Resistencia antimicrobiana y política de antibióticos: MRSA, GISA, y VRE. Suplemento 1.
24. Andrade E y cols Infecciones urinarias.; Hospital universitario de Caracas: Sección de bacteriología. Universidad central de Venezuela. 1998 – 2000.
25. Pérez C y cols. Enfermedad Inflamatoria Pélvica. Departamento de Ginecoobstetricia. Hospital Universitario Ramón Gonzáles Valencia. Bucaramanga- Santander. 2: 99, 1994.
26. Andrade E. y cols. Evaluación bacteriológica de infecciones por *P. Aureginosa*.. Universidad Central de Venezuela. Escuela de Medicina Luis Razetti. Caracas 1998 – 2000.

27. Iglesia D. Y cols Bacterias Gram Negativas en el hospital Nacional del Sur de Arequipa (HNSA) 2000 - 2001.
28. William E. Trick y cols. Impact of Ring Wearing on Hand Contamination and Comparison of Hand Hygiene Agents in a Hospital. Chicago Illinois. June, 2003.
29. Cosgrove S Y cols. The Impact of Antimicrobial Resistance on Health and Economic Outcomes. Clinical Infectious Diseases. June 2003:36
30. Vallaroel E., Navarro P. Y cols Etiología bacteriana de la meningitis en el hospital Universitario de Caracas. Boletín Venezolano de Infectología. 1998- 1999.
31. .García J y cols. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología clínica 2000. www.scienciamedica.es
32. Palavecino E; Interpretación de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana. Boletín Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. 1997.
33. Hernández Milton E., Hernández D. Mario. A. y López Salvador A. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de pacientes hospitalizados con diferentes procesos infecciosos en el HEODRA. Tesis Facultad de Medicina. UNAN. León. 2003

34. Calderón D. Hugo. M., Chavaría L. Sergio. R. y Corea G. Francisco A. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de pacientes hospitalizados con diferentes procesos infecciosos en el Hospital Mauricio Abdalah – Chinandega. Tesis Facultad de Medicina. UNAN. León. 2003
35. Herrera C. Karen V., Espinoza T. Meyling y Mejía M. Hector Y. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de pacientes hospitalizados con diferentes procesos infecciones en el Hospital San Juan de Dios – Estelí. Tesis Facultad de Medicina. UNAN. León. 2002
36. Sussmann O, Mattos L, Restrepo A. Apuntes de resistencia bacteriana. Hospital universitario San Ignacio. México 2002.
37. Sakurada A. y Prat S. Beta Lactamasas Espectro Extendido (BLEE) . NCCLS 2003.
38. Palma Aguilar, Lilliemt; Picado Sánchez, Octavio; Menendez Rojas, Maria José. Resistencia y sensibilidad de la Pseudomona Aeruginosa en el HEODRA. OCTUBRE DE 1998.
39. Hernández, Milton; Hernández Dimas, Mario; López, Salvador Antonio. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de secreciones de pacientes hospitalizados en el Hospital España-Chinandega de Marzo- Agosto del 2000. JUDC
40. Calderon D, Hugo Manuel; Chavarria L, Sergio L. ; Corea G, Francisco A. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aislados de pacientes hospitalizados con diferentes procesos infecciosos en el Hospital Mauricio Abdalah. Chinandega. Mayo – Septiembre 2000. JUDC.

41. Herrera C, Karen; Espinoza T, Meyling; Mejía, Hector. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de pacientes atendidos por diferentes procesos infecciosos en el Hospital San Juan de Dios, Estela. Marzo 2000- Octubre 2001. JUDC
42. Corrales Pérez, Julian Omar; Delgado, Marcos A; Delgado, Victor. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de pacientes hospitalizados con diferentes diagnósticos clínicos. HEODRA- León. Octubre 2000. JUDC.
43. Carera Velásquez, Eugenia. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias en hospitales de Nicaragua. León 2003. Tesis Maestría en Bioquímica Clínica. UNAN. León.
44. Fundamentos de Medicina. Manual de Terapéutica 2002. Décima edición. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín, Colombia. 2002.
45. Pentti Huovinen. Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole. Clinical Infectious Diseases 2001; 32:1608–14
46. Cantón Rafael., MCoque Teresa and Baquero Fernando. Multi-resistant Gram-negative bacilli: from epidemics to endemics. Current Opinion in Infectious Diseases 2003, 16:315 –325
47. Alpuche Aranda Celia y Daza Timaná Carlos . Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos Enfermedades Infecciosas y Microbiología volumen 22, núm 4. octubre-diciembre, 2002

ANEXOS

**Multirresistencia Antimicrobiana de bacterias Gram negativas
Hospital San Juan de Dios Estelí. Febrero 2002-Febrero 2003**

No. de ficha: _____

No. Expediente: _____

Fecha: _____

Nombre del Paciente: _____

Edad: _____

Sexo: _____

Servicio: _____

Diagnostico Clínico: _____

Días de hospitalización previos toma muestra _____ Días totales de hospitalización _____

Tipo de muestra: _____

Antimicrobianos utilizados previo a la toma de muestra

Firma del Médico

