



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO



Tesis para optar al título de Licenciado en Bioanálisis clínico

TEMA:

**MECANISMOS DE RESISTENCIA DE BACTERIAS AISLADAS EN MUESTRAS
PROCESADAS EN HEODRA-LEÓN EN EL PERIODO COMPRENDIDO DE
MARZO2012- JUNIO 2013.**

Autores:

Br. Eva Mariela Amaya Rugama.

Br. Benito Alexander Espinoza Montoya.

Tutora:

Dra. Teresa Alemán Rivera
Dpto. de Microbiología y Parasitología.
Profesor Titular.
Facultad de ciencias Médicas
UNAN-León

JULIO, 2013



ÍNDICE

1. INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES	2
3. JUSTIFICACION.....	4
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
5. OBJETIVOS.....	6
6. MARCO TEORICO	7
7. DISEÑO METODOLOGICO	27
8. OPERALIZACION DE VARIABLES	33
9. RESULTADOS	34
10. DISCUSION.....	42
11. CONCLUSIONES.....	46
12. RECOMENDACIONES	47
13. BIBLIOGRAFIA	48
14. ANEXOS	51



Dedicatoria:

A Nuestros Padres:

- *Fabio A. Amaya Delgado (q.e.p.d) y Lucía J. Rugama Delgadillo por su amor, consejos y apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida para ayudarme a alcanzar mis metas.*
- *Benito F. Espinoza Méndez y Carmen A. Montoya Salgado por su incondicional apoyo y consejos para convertirme en una persona de bien.*

A Lucía Del Carmen Espinoza Amaya, querida y amada hija, motor que nos impulsa a seguir adelante, y cada día ser mejores.



Agradecimientos:

A Dios: por acompañarnos en este camino hacia el aprendizaje y nunca dejarnos caer.

Nuestros Padres: por impulsarnos siempre a seguir adelante.

A Nuestra Tutora: Dra. Teresa Alemán, por guiarnos en la realización de este trabajo.

A Lic. Betzy Salgado, Responsable del área de Bacteriología del H.E. O.D.R.A. que a través de su guía y conocimientos fue posible la culminación de este trabajo.



“MECANISMOS DE RESISTENCIA DE BACTERIAS AISLADAS EN MUESTRAS PROCESADAS
HEODRA-LEÓN EN EL PERIODO COMPRENDIDO DE MARZO 2012- JUNIO 2013”

Eva Amaya Rugama¹, Benito Espinoza Montoya¹, Teresa Alemán Rivera²

1. Escuela de Bioanálisis Clínico, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, Nicaragua.
2. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua- León, Nicaragua.

RESUMEN

El uso irracional de antibióticos y la falta de conocimientos de los mecanismos de resistencia de las bacterias han llevado a una disminución acentuada de las opciones terapéuticas. Este problema se hace aún mayor cuando un microorganismo puede presentar más de un mecanismo de resistencia y cuando tiene la facultad de transmitirlo además de su descendencia a otras bacterias de su misma o diferente especie. Se realizó un estudio retrospectivo, de corte transversal que tuvo como principal objetivo determinar los mecanismos de resistencia de bacterias aisladas en muestras bacteriológicas procesadas en HEODRA-León de Marzo 2012 a Junio 2012. El microorganismo Gram positivo que se aisló en mayores proporciones fue *Staphylococcus aureus* con un 42.5%. El Gram negativo que se aisló en mayores proporciones fue *Escherichia coli* con un 41.3%. Y en un 51%. *Pseudomona aeruginosa* fue el no fermentador que se encontró en mayores porcentajes. Penicilina, Eritromicina, y Oxaciclina fueron los antibióticos de menor efectividad para Gram positivos. Ampicilina, Trimetroprin/Sulfametaxol y Cefuroxime lo fue para los Gram negativos y Amoxicilina/clavulánico, Trimetroprin/Sulfametaxol y Aztreonam resultaron ser los antibióticos menos efectivos para los No fermentadores y también presentaron resistencia a los Carbapenems. *S. aureus* fue el microorganismo que presentó mayor aislamientos con mecanismos de resistencia siendo estos ORSA homogénea/heterogénea, MLS constitutiva/Inducible así como E-flujo. *E. coli* y *K. pneumoniae* mostraron mayor cantidad de aislamientos con mecanismos de resistencia (Resistencia a Quinolonas, BLEA, BLEE y AmpC). Los microorganismos no fermentadores mostraron mecanismos de resistencia importante frente a Carbapenems. (Impermeabilidad OprD, E-flujo y Carbapenemasas.)

Palabras Claves: Resistencia, Mecanismos, Antibiótico



1. INTRODUCCION

Las bacterias son microorganismos procariotas, es decir, unos microorganismos unicelulares sencillos, sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi, ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual. La pared celular que rodea a las bacterias es compleja y existen dos formas básicas: una pared celular Gram positiva con una gruesa capa de péptidoglicano y una pared celular Gram negativa con una delgada capa de péptidoglicano, así como una membrana externa. De tal manera la tinción de Gram resulta útil en el diagnóstico microbiológico ya que permite diferenciar las dos principales clases de bacterias con el objeto de instaurar un tratamiento. ^(1,2)

Las bacterias son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia; entre estos los mecanismos de resistencia adquirida y transmisible son los más importantes y consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos o en la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana o en la alteración del propio punto diana. Una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos por diversas especies bacterianas. ⁽²⁾ Este fenómeno es promovido básicamente por el uso indiscriminado de antibióticos en hospitales, clínicas, comunidad, agricultura y producción de alimentos. ⁽³⁾

El uso de la Penicilina como única droga, al principio estableció un precedente que podría ser usada ante cualquier infección y fue así prácticamente la única, por casi 10 años. Es en Inglaterra donde se reporta por primera vez la aparición de la resistencia a la penicilina, en un agente muy ubicuo de los hospitales y la comunidad, el *Staphylococcus*. Prácticamente desde el comienzo del uso de los antibióticos, en la década de los 40s, microbiólogos y clínicos comenzaron a detectar resistencia a estas drogas. ⁽⁴⁾ Por su frecuencia e impacto en la población, la resistencia antimicrobiana es considerada actualmente un problema de salud pública. Este trabajo tiene como principal objetivo determinar los mecanismos de resistencias antimicrobianas de patógenos aislados en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello (HEODRA) basados en los patrones de resistencias observados.



2. ANTECEDENTES

Dos descubrimientos importantes señalaron el comienzo de una nueva era en la quimioterapia y revolucionaron el tratamiento de las enfermedades infecciosas. El primero fue el descubrimiento en 1935 de los efectos curativos del colorante rojo de Prontosil en las infecciones por *Streptococcus*; Este fue el precursor de las sulfonamidas. El segundo descubrimiento fue el que dio inicio a la edad de oro del antibiótico-terapia: El descubrimiento de la Penicilina y su posterior desarrollo. Esta fue descubierta por Fleming en 1929 y en 1940 Florey, Chain y colaboradores demostraron y publicaron un informe acerca de su enorme potencia y la posibilidad de su extracción de los sobrenadantes del cultivo del hongo *Penicilium notatum*.⁽⁴⁾

Posteriormente, durante los años 80 y 90, la intensa actividad investigadora de la industria farmacéutica llevó al desarrollo de importantes innovaciones: aparición de nuevas familias de antibióticos como Quinolonas, Monobactam y Tribactams, Carbapenems, etc.; avances que permitieron simplificar los tratamientos y reducir así el número de tomas diarias; optimización de la administración oral de antibióticos mediante el perfeccionamiento de diferentes mecanismos galénicos; creación de los llamados fármacos “de diseño” (asociación Amoxicilina/Clavulánico).⁽⁴⁾

Desde finales de los 70s y hasta principios de 1980 en Melbourne, Australia una epidemia de estafilococos resistentes azotó a los hospitales de esta región siendo responsables de muchos fallecimientos en esta área. En Cuba, *Salmonella typhi* en 1998 y 1999 mostró resistencia in vitro a las drogas comúnmente utilizadas.⁽⁴⁾

Con el principal objetivo de conocer el comportamiento de los diversos géneros y especies bacterianas frente a los antimicrobianos, se han realizado un sin número de estudios en el ámbito científico, a continuación se citan algunos realizados en Nicaragua.

En Nicaragua en el año 1997 en un estudio elaborado por Karla Meza et al. Reportó el aislamiento de *Streptococcus* alfa hemolítico y *Staphylococcus epidermidis* seguido de *Escherichia coli*, según este estudio se registró resistencia a Penicilinas y en menor



proporción a Cefalosporinas de tercera generación y a Quinolonas.⁽⁵⁾Nuevamente, durante Marzo 2001- Octubre 2001 se estudiaron 298 cepas en el laboratorio bacteriológico del hospital San Juan de Dios, Estelí; de las cuales el 40.2% de los aislamientos correspondía a *Staphylococcus aureus*, 25% a *E. coli* y *Pseudomona aeruginosa* con 21.8%; siendo *E. coli* resistente a Ampicilina, Trimetroprin/Sulfametaxol y Gentamicina, *S. aureus* lo fue a Penicilina, Meticilina y Trimetroprin/Sulfametaxol y *Pseudomona aeruginosa* lo fue a Trimetroprin/Sulfametaxol, Gentamicina y Ciprofloxacina.⁽⁶⁾

En el período de Mayo 2002 a Septiembre 2003 se realizó un nuevo estudio en pacientes hospitalizados del HEODRA- León y las bacterias aisladas en orden de frecuencia fueron *Pseudomona sp.*, *E. coli*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Acinetobacter sp.* y *Citrobacter sp.* Siendo la mayoría de las Gram negativas resistentes a Gentamicina, Ceftriaxona y Trimetroprin/Sulfametaxol y las Gram positivas mostraron resistencia a Penicilina, Gentamicina y Eritromicina.⁽⁷⁾

Un estudio realizado por UNAN-León en hospitales nor-occidentales, en el período de Marzo 2003 – Mayo 2006 registró en perfil de resistencia antimicrobiana en la que Penicilina fue el fármaco de menor efectividad frente a *S. aureus*, sin embargo el hallazgo más importante es lo relativo al perfil de resistencia de *S. aureus* frente a Meticilina. Las cepas de *E. coli* mostraron un elevado nivel de resistencia frente a Trimetroprin/Sulfametaxol. El perfil de resistencia de *E. coli*, observado frente a Ceftriaxona también fue importante.⁽³⁾



3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años ha crecido la preocupación que la era antimicrobiana esté llegando a su fin. En primer lugar, debido a que la producción de nuevos antibióticos ha disminuido drásticamente y en segundo porque las bacterias muestran resistencia a los antibióticos en aumento por diversas razones, siendo una de estas los mecanismos que han desarrollado para evadir la acción de los agentes antimicrobianos⁽⁸⁾

El problema de resistencia antimicrobiana se hace aún mayor cuando un microorganismo puede presentar más de un mecanismo de resistencia y cuando tiene la facultad de transmitirlo además de su descendencia a otras bacterias de su misma o diferente especie.

El uso irracional de antibióticos y la falta de conocimientos de los mecanismos de resistencia de las bacterias han llevado a una disminución acentuada de las opciones terapéuticas. Por tal razón se considera necesario investigar el impacto de esta problemática en el HEODRA ya que es un hospital de referencia departamental que atiende a pacientes con diversos procesos infecciosos.



4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los mecanismos de resistencia de bacterias aisladas en muestras procesadas en el HEODRA-León en el período comprendido de Marzo 2012- Junio 2012?



5. OBJETIVOS:

5.1. GENERAL:

- Determinar los mecanismos de resistencia en bacterias aisladas en muestras bacteriológicas procesadas en el HEODRA-León en el período comprendido de Marzo 2012- Junio 2012.

5.2. ESPECÍFICOS:

- Determinar la frecuencia de agentes aislados en cultivos bacteriológicos
- Determinar el perfil de resistencia de las bacterias aisladas.
- Establecer la frecuencia de agentes aislados según el origen de la muestra. (intrahospitalarias o comunitaria)



6. MARCO TEÓRICO

Cada tipo de agente antimicrobiano tiene un modo de acción único y es necesario explicar algunas características básicas de la estructura celular bacteriana y cómo funcionan los blancos de los antimicrobianos en dicha célula. A pesar que las estructuras de las bacterias Gram positivas y Gram negativas son similares, existen algunas diferencias claves y son estas diferencias las bases de la capacidad que tiene un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento ya sea de bacterias Gram positivas o Gram negativas. Sin embargo, algunos agentes actúan en ambos tipos de bacteria y estos a menudo se conocen como agentes de amplio espectro. ⁽⁹⁾

6.1. Estructura bacteriana

6.1.1. Bacterias Gram negativas

La estructura más externa de la célula Gram negativa tiene muchos componentes:

6.1.1.1. Pared Celular:

- **Membrana externa:** sirve como la principal barrera de permeabilidad de la célula y ayuda a retener proteínas en el espacio periplásmico.
- **Porinas:** son canales llenos de agua en la membrana externa que facilitan el transporte de nutrientes y sustancias de bajo peso molecular dentro de la célula, incluyendo agentes antimicrobianos.
- **Lipopolisacáridos (LPS):** se encuentran en la superficie de la célula y son el componente esencial de las endotoxinas. Ellos contribuyen a la capacidad de la bacteria para causar enfermedad y dan a las bacterias Gram negativas su carga negativa neta.
- **Lipoproteínas:** adhieren la membrana externa a la capa de mureína.
- **Péptidoglicano:** polímero relativamente delgado que consiste de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamida entrelazados. Esta se conoce con frecuencia como la capa de mureína o pared celular y es responsable de mantener la forma del organismo y localizado dentro del espacio periplásmico.
- **Espacio periplásmico:** se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos, enzimas hidrolíticas y enzimas detoxificantes. ⁽¹⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾



6.1.1.2. Membrana Citoplásmica

La membrana citoplásmica rodea el citoplasma de la célula y contiene proteínas y fosfolípidos. Muchas de las proteínas contenidas en la membrana celular son enzimas responsables del metabolismo celular, a su vez sirve como una barrera y un enlace de permeabilidad para las sustancias que entran en la célula. ⁽¹⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

6.1.1.3. Citoplasma y Otros Componentes Internos

El citoplasma de la célula bacteriana contiene ADN cromosómico, ARNm, ribosomas, proteínas y metabolitos. El cromosoma bacteriano se compone de una única molécula circular de doble cadena que no está contenida en un núcleo, sino en una zona definida conocida como nucleoide. Este cromosoma carece de histonas que mantengan la conformación del ADN. También posee plásmidos, unas moléculas extracromosómicas circulares más cortas de ADN. ⁽¹⁾⁽¹⁰⁾

La ausencia de membrana nuclear simplifica las necesidades y los mecanismos de control de la síntesis de proteínas. Ya que conlleva el acoplamiento de los procesos de transcripción y de traducción; en otras palabras, los ribosomas se fijan al ARNm y fabrican proteínas a medida que se está sintetizando el ARNm aún unido al ADN. ⁽¹⁾⁽¹⁰⁾

El ribosoma bacteriano consta de dos subunidades de 30S y 50S que forman un ribosoma 70S. Este ribosoma es distinto del ribosoma 80S (subunidades 40S y 60S) de los eucariotas. Por otra parte, las proteínas y el ARN del ribosoma bacteriano son muy distintos de los observados en los ribosomas de los eucariotas y constituyen un señalado objetivo de los fármacos antibacterianos. ⁽¹⁾

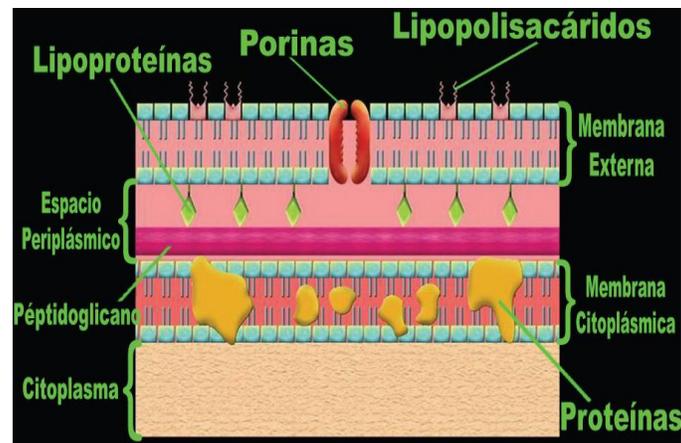


Figura 1. Estructura de la pared en una bacteria Gram negativa ⁽⁹⁾

6.1.2. Bacterias Gram positivas

6.1.2.1. Pared Celular

Puesto que la pared celular de las bacterias Gram positivas contiene solo dos componentes principales es mucho menos complicada que la pared celular de las Gram negativas.

- **Ácidos teicoicos:** son polímeros que están entrelazados en la capa de péptidoglicano y se extiende en forma de cilios más allá de la superficie de las células Grampositivas. Estos son también importantes antígenos de superficie en aquellos organismos que los poseen. ⁽¹⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

- **La capa de péptidoglicano o capa de mureína,** de las bacterias Grampositivas es mucho más gruesa que la de las bacterias Gram negativas. Es responsable de mantener la forma del organismo y por lo general se conoce como la pared celular. ⁽¹⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

6.1.2.2. La Membrana Citoplásmica, Citoplasma, y Otros Componentes Internos

Estas estructuras son muy similares tanto en bacterias Gram positivas como en Gramnegativas. ⁽¹⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

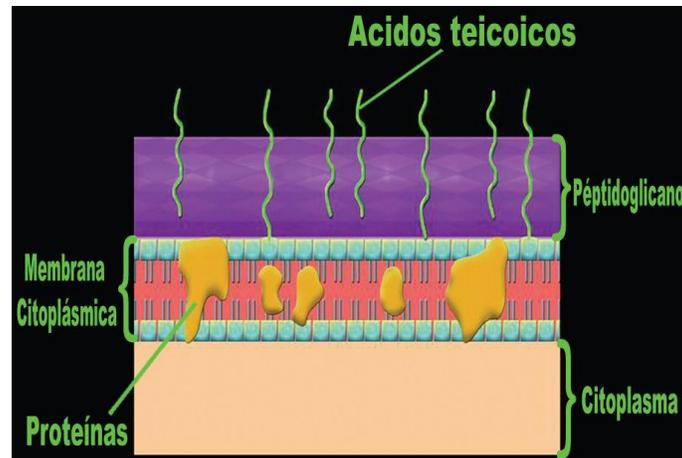


Figura 2. Estructura de la pared celular de Gram positiva⁽⁹⁾

6.2. Agentes antimicrobianos de uso clínico

6.2.1. β -Lactámicos

Los antibióticos β -lactámicos poseen un anillo central de cuatro átomos denominado anillo β -Lactámico. Su principal modo de acción es la inhibición de la síntesis de pared celular. El agregado de grupos sustituyentes al anillo β -Lactámico u otras estructuras cíclicas adicionales determinan si el agente es una Penicilina, un Cephem, un Carbapenem o un Monobactam.⁽¹⁴⁾

6.2.1.1. Penicilinas

El espectro de las Penicilinas está dirigido a bacterias no productoras de β -Lactamasas: Gram positivas, algunos fastidiosos y Gram negativos. Las Acilamino-penicilinas (Ampicilina y Amoxicilina) poseen actividad contra muchas especies Gram negativas, incluyendo miembros de la familia *Enterobacteriaceae* no productoras de β -Lactamasas. Las Carboxipenicilinas (Carbenicilina y Ticarcilina) y las Ureido-penicilinas (Mezlocilina y Piperacilina) poseen un amplio espectro contra Gram negativos incluyendo algunas especies de *Pseudomonas*. Las Penicilinas resistentes a las Penicilinasas (Cloxacilina), Dicloxacilina, Meticilina, Nafcilina y Oxacilina) poseen actividad contra Gram positivos, inclusive los *Staphylococcus* productores de Penicilinasas.⁽¹⁴⁾

6.2.1.2. Combinación de β -Lactámicos / inhibidor de β -Lactamasas



Esta combinación antimicrobiana incluye a una Penicilina y un segundo agente que posee una actividad antibacteriana mínima, pero funciona como inhibidor de algunas β -Lactamasas (Ampicilina/Acido clavulánico, Ampicilina/Sulbactam, Tazobactam).⁽¹⁴⁾

6.2.1.3. Cefalosporinas y otros Cephems

Las distintas Cefalosporinas y Cephems frecuentemente poseen un espectro de actividad levemente diferente contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Estos agentes son frecuentemente referidos como Cefalosporinas de "primera", "segunda" o "tercera" generación, dependiendo en gran parte de su actividad frente a bacterias Gram negativas con alto grado de resistencia. Debido a las diferencias de actividad de algunos miembros de este grupo, deberían seleccionarse representantes de cada grupo para los tests de rutina.⁽¹⁴⁾

6.2.1.4. Carbapenemes

La estructura de los Carbapenemes (Imepenem, Meropenem) difiere levemente de la estructura de las Penicilinas y son mucho más resistentes a la hidrólisis por las β -Lactamasas. Esta característica les provee un amplio espectro de actividad contra muchas bacterias Gram negativas y Gram positivas.⁽¹⁴⁾

6.2.1.5. Monobactames

Los Monobactames son estructuralmente los únicos antibióticos que muestran actividad sólo contra bacterias Gram negativas aeróbicas. Hasta el momento, el Aztreonam es el único Monobactam aprobado para su uso por el USFDA (The United States Food and Drug Administration por sus siglas en inglés).⁽¹⁴⁾

6.2.2. Glicopéptidos

Los Glicopéptidos poseen una compleja estructura química y actúan inhibiendo la síntesis de pared celular en un sitio diferente al de los β -Lactámicos. La actividad de este grupo está dirigida a las bacterias Gram positivas. La Vancomicina es aceptada para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram positivas en pacientes alérgicos a la Penicilina y también es



útil para la terapia de infecciones de especies bacterianas resistentes a β -Lactámicos, ej.: *S. aureus* Meticilina Resistentes (MRSA/ORSA) y algunos *Enterococcus*.⁽¹⁴⁾

6.2.3. Aminoglucósidos

Son un grupo de antibióticos de estructura similar que inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal (Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, y Estreptomicina). El espectro de actividad de los miembros de este grupo, está determinado por la existencia de enzimas bacterianas inactivantes de Aminoglucósidos. Pueden utilizarse en combinaciones sinérgicas (con antibióticos inhibidores de la síntesis de pared celular) contra algunas bacterias Gram positivas resistentes, ej. *Enterococcus*.⁽¹⁴⁾

6.2.4. Macrólidos

Los Macrólidos (Azitromicina, Eritromicina y Claritromicina) son antibióticos estructuralmente relacionados que inhiben la síntesis proteica a nivel ribosomal. Hay varios miembros de este grupo disponibles en el mercado que podrían ser considerados para ensayar en bacterias Gram positivas o en algunos Gram negativos fastidiosos.⁽¹⁴⁾

6.2.5. Tetraciclinas

Las tetraciclinas (Tetraciclina, Minociclina y Doxiciclina) inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, de ciertas bacterias Gram positivas y negativas. Las drogas de este grupo están relacionadas y salvo escasas excepciones, sólo la Tetraciclina debería ser ensayada de rutina.⁽¹⁴⁾

6.2.6. Quinolonas

Este grupo de compuestos (Ácidonalidíxico, Ciprofloxacina, Levofloxacina y Gemifloxacina) incluye un número de agentes antimicrobianos íntimamente relacionados que funcionan primariamente inhibiendo las actividades de la DNA-girasa de muchas bacterias Gram positivas y negativas.⁽¹⁴⁾



6.2.7. Sulfonamidas y Trimetroprin

Este grupo de compuestos, abarcan varios agentes quimioterapéuticos con similar espectro de actividad, los cuales inhiben el metabolismo del folato. (Sulfametaxol /Trimetroprin)⁽¹⁴⁾

6.2.8. Clases de antibióticos con una única droga

Fenicoles (Cloranfenicol), Lincosámidas(Clindamicina) y Rifampicinas(Rifampicina) son antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas. No presentan otros compuestos relacionados y deben ensayarse en los test invitro. La Nitrofurantoina (Nitrofuranos) actúa inhibiendo varios pasos en la síntesis proteica. Esta última es útil solamente para infecciones en el tracto urinario, dado que su concentración en otros fluidos es extremadamente baja.⁽¹⁴⁾

6.3. Modos de acción de los antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos se clasifican de acuerdo a sus modos específicos de acción contra las células bacterianas. Estos agentes pueden interferir con la síntesis de la pared celular, inhibir la síntesis de proteínas, interferir con la síntesis de ácido nucleico, o inhibir una ruta metabólica. Los modos de acción de los agentes antimicrobianos contra las bacterias Gram positivas y Gram negativas son muy similares.⁽⁹⁾

6.3.1. Interferencia con la Síntesis de la Pared Celular:

Los agentes antimicrobianos que interfieren con la síntesis de la pared celular bloquean la síntesis del péptidoglicano y por tanto son activos contra bacterias en crecimiento.⁽⁹⁾

6.3.1.1. Bacterias Gram negativas:

En las bacterias Gram negativas, los antimicrobianos β -Lactámicos entran a la célula a través de los canales porínicos de la membrana externa. En las células susceptibles, las moléculas β -Lactámicos se unen a las proteínas de unión de Penicilina (PBPs) que son enzimas necesarias para la síntesis de la pared celular. En esencia, la Penicilina engaña a la proteína fijadora de la Penicilina, (PBP), haciéndole creer que es siguiente bloque a agregar a la cadena de péptidoglicano en formación. Una vez inserta la molécula de penicilina

impide la elongación posterior de la cadena de péptidoglicano. Esto produce paredes celulares debilitadas o defectuosas y conduce a lisis celular y muerte.⁽⁹⁾⁽¹³⁾

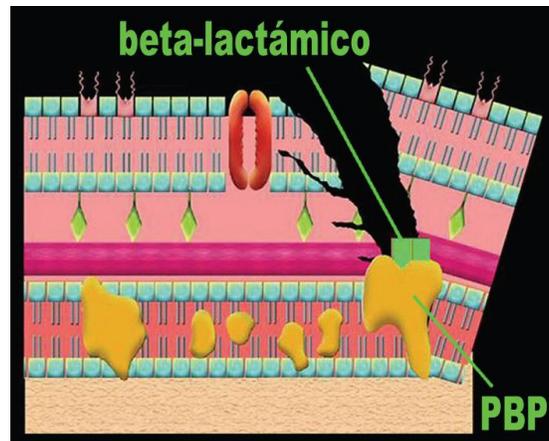


Figura 4. Efectos de β -Lactámicos en la pared celular de bacterias Gram negativas.⁽⁹⁾

6.3.1.2. Bacterias Gram positivas:

Puesto que las bacterias Gram positivas no poseen una membrana externa, los antimicrobianos β -Lactámicos se difunden a través de la pared celular. Los siguientes pasos son similares a aquellos para las bacterias Gram negativas. En las células susceptibles, las moléculas β -lactámicas se unen a las PBPs, lo que resulta en paredes celulares debilitadas y lisis celular.⁽⁹⁾

6.3.2. Interferencia con la Membrana Citoplasmática:

Las moléculas de polimixina se difunden a través de la membrana externa y pared celular de células susceptibles hacia la membrana citoplásmica. Estas se unen a la membrana citoplásmica, la alteran y desestabilizan. Esto causa el derrame del citoplasma hacia el exterior de la célula lo que resulta en muerte celular. Los agentes antimicrobianos que interfieren con la membrana citoplásmica son bactericidas.⁽⁹⁾



6.3.3. Interferencia con la Síntesis de Proteínas

6.3.3.1. Subunidad ribosómica 30S:

- Las Tetraciclinas (ej.: Tetraciclina, Minociclina y Doxiciclina) se unen a la subunidad 30S del ribosoma y bloquean la adherencia del RNA de transferencia (tRNA). Puesto que no se pueden agregar más aminoácidos a la cadena de proteínas que está en crecimiento, la síntesis de proteínas es inhibida. La acción de las Tetraciclinas es bacteriostática. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

- Los Aminoglucósidos (ej.: Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, y Estreptomina) también se unen a la subunidad 30S del ribosoma y pueden bloquear la síntesis de proteínas de dos maneras diferentes. En primer lugar estos se pueden adherir a la subunidad 30S del ribosoma y prevenir que la subunidad 30S se adhiera al RNA mensajero (mRNA). Segundo, la presencia del Aminoglucósidos en el ribosoma podría provocar la lectura errada del mRNA. Esto resulta en la inserción de aminoácidos erróneos en la proteína o en la interferencia con la capacidad de los aminoácidos para conectarse unos con otros. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

6.3.3.2. Subunidad ribosómica 50S.

- Los Macrólidos (ej.: Eritromicina, Azitromicina y Claritromicina) y las Lincosámidas (ej. Clindamicina) se adhieren a la subunidad ribosómica 50S provocando la terminación del crecimiento de la cadena proteica y la inhibición de la síntesis de proteínas. Estos son primordialmente bacteriostáticos. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

- El Cloranfenicol también se une a la subunidad 50S del ribosoma e interfiere con la unión de aminoácidos a la proteína en crecimiento. Los agentes antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas de esta forma son bacteriostáticos. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

6.3.4. Interferencia con la Síntesis de Acido Nucléico:

6.3.4.1. Las Fluoroquinolonas:

El Acido nalidíxico, Ciprofloxacina, Levofloxacina y Gemifloxacina interfieren con la síntesis de ADN bloqueando la enzima ADN girasa. La ADN girasa ayuda a enrollar y desenrollar el ADN durante la replicación de ADN. La enzima se adhiere al ADN e introduce rupturas dobles en las cadenas que permiten al ADN desenrollarse. Las

Fluoroquinolonas se unen al complejo ADN girasa-ADN y permiten a las cadenas de ADN rotas liberarse dentro de la célula lo que conduce a la muerte celular. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

6.3.4.2. La Rifampicina:

Se une a la ARNpolimerasa-ADN dependiente lo que bloquea la síntesis de ARN y resulta en la muerte de la célula. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

6.3.5. Inhibición de la Síntesis de Acido Fólico:

Para muchos organismos el ácido para-aminobenzoico (PABA) es un metabolito esencial y está involucrado en la síntesis de ácido fólico, un importante precursor para la síntesis de ácidos nucleicos. Las Sulfonamidas son estructuras análogas del PABA y compiten con el PABA por la enzima dihidropteroat sintetasa. La Trimetoprim actúa en la ruta de síntesis del ácido fólico en un punto posterior al de las sulfonamidas. Este inhibe la enzima Dihidrofolato reductasa. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

La Trimetoprim y las sulfonamidas se pueden usar por separado o en conjunto. Cuando se usan en conjunto producen un bloqueo secuencial de la ruta de síntesis del ácido fólico y tienen un efecto sinérgico. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

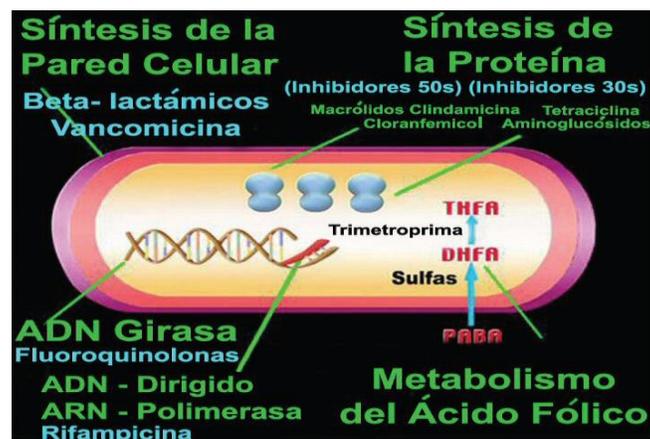


Figura3. Blancos de algunos agentes antimicrobianos. ⁽⁹⁾



6.4. Mecanismos de resistencia antimicrobiana

6.4.1. Producción de Enzimas:

6.4.1.1. Las β -Lactamasas:

Son enzimas que hidrolizan los agentes antimicrobianos beta-Lactámicos. Como resultado la célula es resistente a la acción de los medicamentos β Lactámicos. En las bacterias Gramnegativas los medicamentos β Lactámicos entran en la célula a través de las porinas y encuentran a las β -Lactamasas en el espacio periplásmico. Las β -Lactamasas destruyen las moléculas β -lactámicas antes de que éstas tengan la oportunidad de alcanzar sus PBPs blancos. En las bacterias Gram positivas las β -Lactamasas son secretadas extracelularmente en el medio circundante y destruyen las moléculas β -lactámicas antes que estas tengan oportunidad de entrar en la célula. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

6.4.1.2. Enzimas que modifican los Aminoglucósidos:

Las bacterias Gram negativas pueden producir enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que modifican un Aminoglucósido para inactivarlo. Las bacterias Gramnegativas pueden producir una acetil transferasa que modifica al Cloranfenicol para inactivarlo. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾

6.4.2. Impermeabilidad de la Membrana Bacteriana Externa

6.4.2.1. Alteración de porinas:

Las bacterias Gramnegativas pueden volverse resistentes a los antibióticos β -lactámicos mediante el desarrollo de barreras de permeabilidad. Esto es usualmente provocado por porinas alteradas en la membrana externa que ya no permiten la entrada y el tránsito de las moléculas del antibiótico dentro de la célula. Cuando los β -Lactámicos no pueden alcanzar las PBPs, la célula es resistente. De modo similar, la resistencia a los Aminoglucósidos puede estar mediada por alteraciones en las proteínas porinas a pesar de que el mecanismo principal es la degradación enzimática, de igual modo la resistencia a las Quinolonas que esta mediada sobre todo por cambio en la estructura de las enzimas sobre las que actúa, también puede ser producida por alteraciones en las proteínas porínicas de la membrana. ⁽⁹⁾⁽¹²⁾



6.4.3. Alteración de los Blancos

6.4.3.1. Proteínas Fijadoras de la Penicilina. (PBPs)

Las PBPs, tanto en bacterias Gram positivas y Gram negativas pueden ser alteradas mediante mutación de manera que los β -Lactámicos no puedan unirse a ellas; por tanto la célula es resistente a agentes antimicrobianos que ataquen la pared celular. Las alteraciones de las PBP son más importantes en la resistencia de bacterias Gram positivas a antibióticos β -Lactámicos que en las Gram negativas entéricas.⁽⁹⁾

6.4.3.2. Los Ribosomas.

La metilación del ARN ribosómico confiere resistencia a los Macrólidos.⁽⁹⁾

6.4.3.3. ADN girasa y topoisomerasa IV:

Mutaciones en los genes cromosómicos de ADN girasa y topoisomerasa IV confieren resistencia a las Quinolonas.⁽⁹⁾

6.4.4. Bombas de eflujo:

Una amplia variedad de bombas de eflujo proveen resistencia antimicrobiana tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas trans-membrana insertadas en la membrana citoplásmica y, en el caso de los organismos Gram negativos involucra también componentes en la membrana externa y periplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra.⁽⁹⁾

6.4.5. Alteración de Rutas Metabólicas

Algunos microorganismos desarrollan una ruta metabólica alterada que elude la reacción inhibida por el antimicrobiano. Mutaciones que inactivan la Timidilatosintetasa bloquean la conversión de Deoxiuridilato a Timidilato. Estos mutantes requieren timina o timidina exógena para la síntesis de ADN y por ende son resistentes a los antagonistas de la ruta del folato como las Sulfonamidas y Trimetroprin.⁽⁹⁾



6.5. Adquisición de resistencia

En algunas especies la resistencia antimicrobiana es una propiedad intrínseca o innata. Esta resistencia intrínseca podría deberse a uno o más de los mecanismos de resistencia anteriormente descritos. Por ejemplo, *E. coli* es intrínsecamente resistente a la Vancomicina porque esta es demasiado grande para pasar a través de los canales de porinas en su membrana externa. ⁽⁹⁾ Las bacterias también pueden adquirir resistencia a los agentes antimicrobianos por eventos genéticos:

6.5.1. Mutación:

La resistencia cromosómica se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un determinado agente antimicrobiano. La mutación espontánea ocurre con una frecuencia relativamente baja, pero cuando las bacterias son expuestas a los agentes antimicrobianos, solo las células mutantes sobreviven. Entonces estas se multiplican y resultan en la aparición de una población resistente. Las mutaciones espontáneas también podrían ocurrir en plásmidos. Por ejemplo, mutaciones en plásmidos que contienen genes para enzimas β -Lactamasas pueden resultar en β -Lactamasas alteradas por lo general con mayor espectro de actividad. ⁽⁹⁾

6.5.2. Conjugación:

Las bacterias con frecuencia contienen elementos genéticos extracromosómicos llamados plásmidos, muchos de los cuales llevan genes de resistencia antimicrobiana. Cuando dos células bacterianas se encuentran cerca, una estructura similar a un puente conocida como *pilus* se puede formar entre ellas. Esto permite que una copia del plásmido se replique y transfiera de una célula a la otra. El resultado es una bacteria que expresa la resistencia antimicrobiana codificada en el plásmido. ⁽⁹⁾

6.5.3. Transformación:

Las bacterias podrían encontrar fragmentos desnudos de ADN que transportan genes de resistencia antimicrobiana. Estos fragmentos son introducidos en la célula mediante un proceso denominado transformación. El fragmento de ADN es incorporado en el cromosoma de la célula huésped por recombinación y la célula resultante es resistente. ⁽⁹⁾



6.5.4. Transducción:

Cuando los virus bacterianos (bacteriófagos) se están multiplicando en el citoplasma de una bacteria, fragmentos de ADN de plásmidos o cromosomas podrían por casualidad empacarse en una cápsula viral y entrar en otra célula huésped. Cuando los fragmentos contienen genes de resistencia a un agente antimicrobiano estos pueden traspasar la resistencia a la nueva célula huésped.⁽⁹⁾

6.5.5. Transposición:

Los transposones son secuencias genéticas especializadas “móviles” que tienen la capacidad de moverse de un área del cromosoma bacteriano a otra o entre cromosomas y plásmidos o ADN de bacteriófagos. Los transposones de ADN pueden estar incorporados a plásmidos y de esa manera transportar genes de resistencia antimicrobiana. Algunos transposones son capaces de moverse de una bacteria a otra sin incorporarse a un cromosoma, un plásmido o un bacteriófago.⁽⁹⁾

6.6. Mecanismos de resistencia de bacterias Gram negativas.

6.6.1. β -Lactamasas de Espectro Ampliado/ Extendido (BLEA/BLEE).

Las BLEE son enzimas que son sintetizadas por los bacilos Gramnegativos (enterobacterias y no fermentadores) e hidrolizan los antimicrobianos β -Lactámicos y por lo tanto, confieren resistencia a Penicilinas, Cefalosporinas (de primera, segunda, tercera y cuarta generación) y Monobactames. Dada su particular estructura química, algunos de estos β -Lactámicos son resistentes a la hidrólisis: Cefamicinas (Cefoxitina, Cefotetan y otros) y Carbapenems (Imipenem, Meropenem).⁽¹⁵⁾

Las BLEE se han derivado de las β -Lactamasas de Espectro Ampliado (BLEA). Unas pocas mutaciones en el gen que codifica a una de estas enzimas convierten una BLEA en BLEE con lo cual amplían su espectrohidrolítico a Cefalosporinas y Monobactames que las BLEA no poseen. Las BLEE son codificadas en genes presentes en megaplásmidos transferibles entre bacilos Gram negativos por el mecanismo de conjugación.⁽¹⁵⁾



6.6.2. β -Lactamasas de tipo Amp-C:

Las Amp-C son serin- β -Lactamasas. Son también llamadas Cefalosporinasas aunque su espectro de acción hidrolítica no sólo incluya Cefalosporinas. Ciertas enterobacterias poseen de manera natural β -Lactamasas tipo Amp-C, tal es el caso de *Enterobacterspp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter rfreundii*, al igual que bacilos Gramnegativos no fermentadores de importancia clínica como *Pseudomona aeruginosa*. Los genes a menudo son cromosómicos pero pueden ser por plásmidos. Confiere resistencia a todos los tipos de β -Lactámicos, excepto los Carbapenemes (a menos que se combinen con cambios en porinas, impermeabilidad y/o carbapenemasas). No son inhibidas por el Acido Clavulánico.⁽¹⁶⁾

6.6.2.1. Amp-C cromosómicas inducibles:

La producción de β -Lactamasas inducible se inicia o induce cuando las bacterias que poseen un gen de β -Lactamasas se exponen a un agente β -Lactámico. La acción de los agentes antimicrobianos en la pared celular activa un mecanismo genético en cascada que inicia la producción de β -Lactamasas. La producción de β -Lactamasas cesa ante la ausencia de los agentes antimicrobianos en la pared celular o alrededor de ella.⁽¹⁶⁾

6.6.2.2. Amp-C cromosómicas no inducibles:

β -Lactamasas constitutivas son aquellas que la bacteria produce en forma continua. Su expresión es a niveles muy bajos sin mostrar resistencia. Cuando se encuentran hiperproducidas pueden conferir resistencia a todos los β -Lactámicos a excepción de Cefalosporinas de 4ta generación y Carbapenémicos. La bacteria representativa es *E. coli*.⁽¹⁶⁾

6.6.2.3. Amp-C plasmídicas inducibles y Amp-C plasmídicas constitutivas :

La evidencia molecular sugiere que los genes que codifican a estas enzimas, derivan de los genes Amp-C cromosómicos que naturalmente poseen las enterobacterias. Estos genes han sido integrados en elementos genéticos transferibles facilitando la diseminación a diferentes microorganismos. De esta manera *K. pneumoniae* y *Proteus mirabilis* adquieren esta enzima, ya que naturalmente no poseen estos genes.⁽¹⁶⁾



6.6.3. Carbapenemasas:

Se han descrito dos tipos de carbapenemasas con base en estudios moleculares. Las primeras son enzimas que poseen un residuo de serina en su sitio activo, razón por la cual se han denominado Carbapenemasas tipo serina. El segundo grupo son enzimas que en su sitio activo requieren de cationes divalentes, usualmente zinc, como cofactor para su actividad enzimática; éstas últimas son las denominadas Metallo- β -Lactamasas (MBL).⁽¹⁷⁾

Es común pensar que la producción de una carbapenemasa es suficiente para que la bacteria presente resistencia a los Carbapenems. Sin embargo, en *Enterobacteriaceae* se ha demostrado que, además de la carbapenemasa, se requiere de la disminución de la permeabilidad de la membrana externa mediante la pérdida de porinas.⁽¹⁷⁾

Las serin-carbapenemasas clase A comparten las siguientes características: 1) poseen una mayor capacidad hidrolítica contra Imepenem que Meropenem; 2) a diferencia de las Metallo- β -Lactamasas, confieren resistencia a Aztreonam, pero no a las Cefalosporinas de tercera generación; 3) son inhibidas por el ácido clavulánico, y 4) se encuentran en los cromosomas, se pueden inducir y sólo se han encontrado en unas pocas cepas de *Enterobacteriaceae*.⁽¹⁷⁾

Las serin-carbapenemasas del tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemasa) fueron descritas muy recientemente y hasta el momento todos sus genes codificadores se han encontrado en plásmidos. Todas las KPC presentan gran actividad hidrolítica contra Amino penicilinas, Ureidopenicilinas, Aztreonam y los Carbapenems, y baja actividad hidrolítica contra las Cefalosporinas de tercera generación.⁽¹⁷⁾

Las carbapenemasas tipo serina de la clase D (Oxacilinasas) se han caracterizado principalmente en *A. baumannii*. Débilmente hidroliza Imipenem y Meropenem, no hidrolizan ni Cefalosporinas de espectro extendido ni Aztreonam, (excepto OXA 27), y todas son predominantemente Penicilinasas con gran poder hidrolítico frente a Oxacilina. Además, son inhibidas por el Ácido clavulánico, (excepto OXA 23).⁽¹⁷⁾



A pesar que hasta la fecha las Oxacilinasas no han recibido tanta atención como las Metallo- β -Lactamasas, es importante considerarlas como potencialmente peligrosas, pues aunque su actividad carbapenemasa es pobre, se incrementa si otros mecanismos de resistencia están presentes (como bombas de flujo o disminución en la permeabilidad ocasionada por cambios en las porinas o por modificaciones en las proteínas de unión a las penicilinas).⁽¹⁷⁾ Por otro lado, las Metallo- β -Lactamasas (MBL) incluidas en la clase B tienen dos familias importantes, la VIM y la IMP, y aunque poseen baja homología en su secuencia de aminoácidos (aproximadamente 30%), tienen propiedades similares. Estas Metallo- β -Lactamasas son transferibles puesto que su gran mayoría se encuentran en genes casetes localizados principalmente en integrones tipo 1 y, en algunas ocasiones, se encuentran en plásmidos o transposones. Habitualmente, estas enzimas están asociadas con otros genes de resistencia ubicados en los mismos genes casetes, lo cual les permite ser resistentes a múltiples antibióticos. Las MBLs se caracterizan por generar resistencia a los β -Lactámicos (Oxaimino Cefalosporinas, Cefamicinas, Carbapenem), Aminoglucósidos y Quinolonas, y presentan sensibilidad variable al Aztreonam. Aunque el grado de resistencia a Imipenem varía, la resistencia a Ceftazidima es de alto grado. En las enterobacterias de importancia clínica, todas las MBLs aisladas hasta ahora han sido identificadas en plásmidos o haciendo parte de elementos móviles como los integrones.⁽¹⁷⁾

6.7. Mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

6.7.1. *Staphylococcus aureus* Oxacilina Resistente (ORSA)

La Oxacilina y la Meticilina son penicilinas semisintéticas que son estables a la β -Lactamasas estafilocócica gracias a la ubicación estratégica de ciertas cadenas laterales en la molécula. Estos antibióticos fueron desarrollados específicamente para el tratamiento de infecciones causadas por *S. aureus* productores de β -Lactamasas. Sin embargo, la resistencia a antibióticos del tipo Meticilina pronto apareció por la emergencia del gen *mecA*.⁽¹⁸⁾



Este gen codifica para una nueva proteína PBP2a que se une a la penicilina. Esta proteína participa en la síntesis de la pared celular a pesar de la presencia de antibióticos tipo Meticilina. Inicialmente, los primeros aislamientos se denominaron *S. aureus* resistente a la Meticilina o MRSA, pero estas se denominan más apropiadamente *S. aureus* resistente a la Oxacilina u ORSA puesto que es la Oxacilina el antibiótico que generalmente se usa en las pruebas de laboratorio.⁽¹⁸⁾

Los ORSA pueden demostrar resistencia homogénea o heterogénea a la Oxacilina. En las cepas homogéneamente resistentes, todas las cepas hijas tienen *mecA* y son resistentes a la Oxacilina. En las cepas heterogéneamente resistentes, toda la población tiene *mecA* pero muchas células no expresan resistencia a la Oxacilina.⁽⁹⁾ La expresión fenotípica de la resistencia a Meticilina puede ser heterogénea u homogénea. Las cepas con expresión heterogénea se caracterizan porque solo una pequeña proporción de la población sobrevive con concentraciones de Oxacilina superiores a 10 mg/ml, mientras que la mayor parte de la población muere con bajas concentraciones del antibiótico (1–5 mg/ml). Estas cepas se caracterizan porque presentan gran heterogeneidad en el tamaño de las colonias cuando crecen en agar.⁽¹⁸⁾

En las cepas con expresión homogénea, la mayor parte de la población expresa la resistencia y el tamaño de las colonias es también homogéneo. Se ha demostrado que es posible la transformación de una expresión heterogénea en una expresión homogénea de la resistencia a Meticilina, fenómeno que se asocia a la selección de mutaciones cromosómicas y de reorganizaciones genéticas o a un incremento en la producción de la PBP2a. En ocasiones, las cepas con resistencia heterogénea se manifiestan como resistentes a Oxacilina pero sensibles a otros antibióticos β -Lactámicos in vitro.⁽¹⁸⁾

Los ORSA se consideran resistentes a todas las penicilinas estables tales como Oxacilina, Meticilina, Nafcilina, Cloxacilina, y Dicloxacilina. Además, todos los ORSA son resistentes a todos los demás agentes β -Lactámicos y usualmente son resistentes a múltiples clases de agentes entre los que se incluyen Macrólidos, Lincosámidas, y Tetraciclinas. También pueden ser resistentes a las Fluoroquinolonas y Aminoglucósidos.⁽⁹⁾



6.7.2. Resistencia al grupo MLS_B (Macrólidos, Lincosamidas, Estreptograminas):

Los antibióticos del grupo MLS_B presentan diferencias estructurales, pero poseen mecanismos de acción y de resistencia muy relacionados. En bacterias Grampositivas, se han descrito 4 mecanismos de resistencia a antibióticos MLS_B:

1) modificación de la diana (ARNr 23S) por la acción de metilasas codificadas por genes *erm* principalmente; 2) expulsión activa del antibiótico relacionado con diferentes genes (*mefA, mefE, msrA, msrB, erpB*); 3) inactivación del antibiótico (genes *lnu_a, lnu_b, lnu_c, vat, vgb, ymph_c*), y 4) modificación de la diana por mutación del ARNr 23S y/o proteínas ribosomales.⁽¹⁸⁾

La presencia de genes *erm* generalmente confiere un fenotipo de resistencia denominado MLS_B (resistencia a Macrólidos de 14, 15 y 16 átomos, Lincosámidas y Estreptograminas del grupo B) y este fenotipo puede ser de expresión constitutiva o inducible (cMLS_B o iMLS_B). En las cepas con fenotipo iMLS_B, la Eritromicina induce la expresión del mecanismo de resistencia. Por ello, si se estudia la sensibilidad de estas cepas a Macrólidos de 16 átomos, Clindamicina y Estreptograminas del grupo B en ausencia de Eritromicina, se manifestaran como sensibles a estos antibióticos, pero deben informarse como resistentes, ya que poseen el mecanismo de resistencia que se puede inducir *in vivo* y conducir a fracasos terapéuticos, como se ha demostrado con la utilización de Clindamicina en cepas con este mecanismo de resistencia.⁽¹⁸⁾

El fenotipo de resistencia a Macrólidos más frecuente en *Staphylococcus* es el iMLS_B, y con menor frecuencia el fenotipo cMLS_B, cuyos perfiles de resistencia son similares a los que se describe en *Streptococcus*. Otro fenotipo que se puede detectar en las cepas de *S. aureus* es el denominado MS (resistencia a Macrólidos de 14 y 15 átomos y a Estreptograminas B pero no a Clindamicina ni a Macrólidos de 16 átomos), debido a un mecanismo de expulsión activa (E-flujo) codificado principalmente por el gen *msrA* y en menor frecuencia por los genes *msrB* o *erpA*.⁽¹⁸⁾



6.7.3. Alto Nivel de Resistencia a Aminoglucósidos

Algunos *Enterococcus* producen enzimas que modifican a los Aminoglucósidos confiriéndoles un alto nivel de resistencia a los mismos (HLAR, por sus siglas en inglés). Estas incluyen adeniltransferasas de Aminoglucósidos (AAD, por sus siglas en inglés), fosfotransferasas de Aminoglucósido (APH, por sus siglas en inglés) y acetiltransferasas de Aminoglucósido (AAC, por sus siglas en inglés). Cuando la enzima modifica al Aminoglucósidos, éste no puede ser transportado dentro de la célula para ejercer su efecto antibacteriano. En ese caso, no hay sinergia con los agentes activos en la pared celular. Las enzimas que modifican a los Aminoglucósidos podrían modificar uno o más Aminoglucósidos dependiendo del espectro de actividad de la enzima. La HLAR a la estreptomicina podría ser producida ya sea por enzimas que modifican a los Aminoglucósidos o por alteración en los ribosomas, lo que disminuye la capacidad de los ribosomas para ligar el Aminoglucósido. Los β -Lactámicos y la Gentamicina, actuando en conjunto, podrían ejercer una sinergia bactericida en los *Enterococcus*.⁽⁹⁾

6.7.4. Resistencia Adquirida a Vancomicina

Los aislamientos de algunas especies de *Enterococcus* pueden volverse resistentes a Vancomicina por la adquisición de los genes *vana* o *vanBo* menos frecuentemente *vanD*, *vane* o *vanG*. Estas cepas con resistencia adquirida a Vancomicina usualmente se conocen como “ERV”. Su contención merece especial atención del personal de control de infecciones. El *Enterococcus faecium* y el *Enterococcus faecalis* son los ERV más comunes. El *E. faecium* es más probable que sea ERV que el *E. faecalis*.⁽⁹⁾

6.7.5. Resistencia Intrínseca a Vancomicina

La resistencia intrínseca de bajo nivel en los *Enterococcus* usualmente se debe a la presencia de genes *vanC*. Estos genes inhiben la unión de la Vancomicina al microorganismo. La resistencia intrínseca es poco probable que se disemine de paciente a paciente y usualmente no constituye una preocupación para el personal de control de infecciones.⁽⁹⁾



7. DISEÑO METODOLÓGICO

7.1. **Tipo de estudio:** Retrospectivo de corte transversal

7.2. **Población de estudio:** todos los aislamientos provenientes de las muestras procesadas en el laboratorio de bacteriología del HEODRA-León en los periodos comprendidos de Marzo 2012-Junio 2012.

7.3. **Muestra:** 492 bacterias aisladas de las muestras procesadas en el laboratorio de bacteriología del HEODRA-León

7.4. **Descripción de la muestra:**

7.4.1. Los aislados fueron obtenidos de urocultivos, hemocultivos, cultivo de secreciones (heridas, secreción de oído, abscesos supurativos), hisopado faríngeo y cultivo de LCR

7.5. **Criterios de inclusión:**

7.5.1. Los agentes hayan sido aislados durante el periodo de estudio.

7.5.2. Se les haya realizado la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión de disco.

7.6. **Análisis Bacteriológico:**

Se realizó la identificación de géneros y especies bacterianas utilizando la metodología y pruebas bioquímicas citadas en el Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, MINSA edición 2004. ⁽¹⁵⁾

7.7. **Realización de las pruebas de sensibilidad por el método de difusión en agar.**

La prueba de sensibilidad por difusión con discos o método de Kirby-Bauer consiste en colocar discos de papel impregnados de antibióticos en la superficie de un agar previamente inoculado con una suspensión bacteriana de concentración conocida. ⁽¹⁵⁾

7.7.1. **Fundamento de la prueba:**

Se produce simultáneamente la difusión de antibiótico y el crecimiento bacteriano en la superficie del agar. Cuando se alcanza la masa celular crítica de bacterias, después de 4 ó 10 horas, aparece el crecimiento bacteriano. En el área donde la concentración de antibiótico es suficiente para evitar el crecimiento bacteriano se observa un halo de inhibición con borde definido claramente y con el disco ubicado en el centro del círculo. ⁽¹⁵⁾



De los muchos medios disponibles, se considera el Agar Mueller-Hinton como el mejor para pruebas de susceptibilidad de rutina de bacterias no fastidiosas ya que tiene reproducibilidad aceptable lote a lote para ensayos de susceptibilidad, es bajo en inhibidores de Sulfonamida, Trimetoprin, y Tetraciclina, y proporciona crecimiento satisfactorio para la mayoría de los patógenos no fastidiosos.⁽¹⁵⁾

A cada nuevo lote de Agar Müller-Hinton se le realizó el control de calidad evaluando el nivel de pH, Humedad, profundidad, concentración de Timina y Timidina y concentración de cationes divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+}).⁽¹⁵⁾

7.7.2. Procedimiento:

- Se seleccionaron las colonias adecuadas.
- Se preparó y estandarizó la suspensión del inóculo al 0.5 McFarland.
- Se Inoculó en placa de Agar Müller Hinton rayando en 3 direcciones con hisopo y se dejó reposar con la cara hacia abajo para secar la placa antes de colocar los discos impregnados con antibiograma.
- Se colocaron los discos de antimicrobiano a una distancia mínima de 15mm- 20mm procurando la posición adecuada para la identificación de mecanismo de resistencia en el plato inoculado. (Ver Anexo No. 1)
- Se incubaron las placas a 35 °C de 16-18 horas en condición de aerobiosis.
- Luego del período de incubación, se midieron las zonas de inhibición con caliper.
- Se interpretaron los resultados de acuerdo según los puntos de cortes utilizados en el HEODRA y autorizados por el NCCLS.(National Committee for Clinical Laboratory Standards)⁽¹⁵⁾(Ver Anexo No.2)

7.8. Detección de mecanismos de resistencia

7.8.1. Detección de BLEA/BLEE:

La detección de BLEA se manifiesta fenotípicamente con la resistencia franca del disco de Ampicilina luego de 18-24 horas de incubación del plato de agar Müller Hinton (aplicable solo a *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *P.mirabilis*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*)⁽¹⁶⁾



Existen diferentes métodos para detectar las BLEE. El más sencillo es la resistencia obvia que se detecta con los puntos de corte usuales según las normas NCCLS. Utilizando estos puntos de corte, los mejores discos para detectar BLEE en bacilos Gram negativos son Ceftriaxona, Cefotaxima, Cefpodoxima, Ceftazidima y Aztreonam. ⁽¹⁵⁾

7.8.1.1. Confirmación de BLEE por diferencia en el tamaño de los halos entre dos discos:

Cuando la diferencia entre Ceftazidima (o Cefotaxima) y Ceftazidima/Acido clavulánico (o Cefotaxima/ Acido clavulánico) es >5mm se confirma la presencia de BLEE. Es necesario realizar las dos pruebas para determinar si las BLEE son Ceftacidimazas, Cefotaximasas o ambas. ⁽¹⁵⁾

7.8.1.2. Método del “huevo” (deformación) con triple disco:

Para la realización de esta prueba se colocaron en fila los tres discos Ceftazidima (CAZ)-Amoxicilina/Acido Clavulánico (AMC)-Ceftriaxona (CRO), teniendo cuidado de colocar el de AMC en el centro de la fila. La distancia recomendada es entre 2 a 3 cm entre el centro de las Cefalosporinas (CAZ, CRO) y el centro del disco de AMC. Cuando las bacterias producen BLEE se observa una deformación del halo producido por la Cefalosporina de tercera generación (una o ambas), fenómeno conocido como “efecto huevo”. ⁽¹⁵⁾ (Ver Anexo No.1)

7.8.1.2.1. Fundamento de la prueba:

El efecto huevo se debe a que el inhibidor (AMC) se difunde radialmente con gradientes de concentración decrecientes. Las bacterias que se encuentran en la zona alrededor de este disco tendrán la BLEE inhibida hasta una distancia tal que el AMC haya disminuido lo suficiente como para no seguir inhibiendo a la enzima. Por otro lado, el mismo fenómeno de gradientes de concentración ocurre en los discos de las Cefalosporinas (CAZ, CRO) puestos a los lados del disco de AMC. La interacción de estos dos gradientes es la que determina la deformación del halo de inhibición. ⁽¹⁵⁾



Cualquier aislamiento que presente este efecto en el antibiograma fue considerado como una prueba confirmativa de la producción de BLEE y por ende es resistente a todas las penicilinas, Cefalosporinas (excepto Cefepime) y Monobactames, independientemente del halo de inhibición. ⁽¹⁵⁾

7.8.2. Detección de Amp-C

Para la realización de esta prueba se colocó el disco de Cefoxitina (FOX) frente al disco de CRO al momento de realizar la prueba del triple disco (Detección de BLEE), La distancia recomendada es entre 2 a 3mm. Cuando las bacterias producen β -Lactamasas de tipo Amp-C inducible se observa un achatamiento del halo producido por el disco de FOX frente al CRO luego de 18-24 horas de incubación. Cuando el FOX se encuentra francamente resistente la β -Lactamasas tipo Amp-C es natural o desreprimida. ⁽¹⁵⁾

7.8.2.1. Fundamento de la prueba:

El ácido clavulánico además de inhibir la BLEE induce la producción de la β -Lactamasas tipo Amp-C y no posee acción inhibitoria sobre esta enzima. Esto indica que tiene efectos contrapuestos a estos dos tipos de enzimas y por lo tanto, cuando se realiza la prueba del doble o triple disco, estos efectos competirán: por un lado, inhibirá la BLEE y se producirá el efecto huevo, por otro lado inducirá la producción de la enzima Amp-C propia de estos géneros, la cual hidroliza a las Cefalosporinas de tercera generación, y se observará el achatamiento característico en caso que esta sea de tipo inducible. ⁽¹⁵⁾

7.8.3. Detección de Carbapenemasas:

Para la realización de esta prueba se colocaron los discos de Imipenem (IMP)-EDTA-Meropenem (MER), en un plato de agar Müller Hinton previamente inoculado con la bacteria en cuestión. Luego de 18-24 horas de incubación se procedió a la lectura del plato en busca de sinergia entre los discos anteriormente mencionados.

La presencia de sinergia entre los tres discos o solo un Carbapenem (IMI o MER) con el disco de EDTA determina la presencia Metalo β -Lactamasas (MBL).



La determinación de β -Lactamasas tipo KPC se realiza con la expresión fenotípica observada en el plato ya que en la unidad de salud de estudio no se cuenta con disco de ABP para la detección de la misma.

7.8.4. Detección de Amp-C en no fermentadores:

Todas las cepas de *P. aeuriginosa* presente una enzima AmpC de manera natural que puede sobre expresarse en presencia de un buen inductor. En el caso de *A.baumaniise* detecta cuando el disco de Aztreonam esta meramente resistente.

7.8.5. Detección de eflujo e Impermeabilidad OprD en no fermentadores:

La determinación de este mecanismo se realiza a través de la expresión fenotípica de la cepa en cuestión frente a los Carbapenem y se informa E-flujo cuando el disco de IMP: S y MER: R y se Informa Impermeabilidad OprD cuando IMP: R y MER: S.

Nota: la determinación de este tipo de mecanismo no es sencilla, ya que pueden estar presente varios tipos de mecanismos en la cepa analizada y estos pueden enmascarse entre sí.

7.8.6. Detección de ORSA

Para la realización de esta prueba se utilizó el método de difusión por disco con ciertas modificaciones. El inóculo se preparó usando el método de suspensión directa de colonias. Por esta razón, éste debe completar 24 horas de incubación antes de determinar la susceptibilidad a Oxacilina. Por último, las zonas de inhibición de Oxacilina se midieron con luz transmitida en vez de reflejada. El uso de luz transmitida permite una mejor detección de ORSA heteroresistente; ORSA homogéneos presentan un crecimiento que confluye alrededor del disco de Oxacilina. ⁽¹⁵⁾

La expresión fenotípica de la resistencia a Meticilina puede ser heterogénea (OXA: Intermedia con presencia de colonias intrahalo) u homogénea (OXA: R).



7.8.7. Detección de Resistencia al grupo MLS_B

Se colocaron discos de Eritromicina y Clindamicina con una separación de 20 mm en un medio MHA inoculado con la cepa en cuestión.

Luego de la incubación durante toda la noche, se buscó una zona achatada en forma de “D” en el halo de inhibición de Clindamicina. Si la zona es achatada el aislamiento se reportó ya sea como resistente (R) o como susceptible (S) con el reporte de la presencia de mecanismo de resistencia mediado por una metilasa de tipo inducible (MLS_i). Cuando los discos de Eritromicina y Clindamicina expresan resistencia franca, se informó como resistente a este antibiótico mediado por una metilasa de tipo constitutiva (MLS_c). En cambio cuando el disco de Eritromicina se observa resistente (R) y el disco de Clindamicina permanece sensible (S) se informó mecanismo de resistencia mediado por una bomba de Eflujo ⁽¹⁵⁾

7.9. Análisis de los resultados:

Los datos fueron procesados utilizando el programa WHONET. 5.6 y Microsoft EXCEL, empleando estadística descriptiva.

**7.10. OPERALIZACIÓN DE VARIABLES**

Variable	Definición	Indicador	Valor
Tipo de cultivo	Tipo de cultivo a realizar según la muestra a analizar.	Datos de laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Urocultivo. • Hemocultivo • LCR • Hisopado faríngeo • Secreción de Heridas
Procedencia.	Sala de la cual proviene la muestra a analizarse.	Fuente secundaria	<ul style="list-style-type: none"> • Consulta externa. • ARO • Ginecología • UMI • Ortopedia • UCI • UCIN • SCIN • Cirugía • Medicina • Neumología • Pediatría • Lactantes
Microorganismo.	Nombre del microorganismo aislado a través de los procedimientos de identificación bacteriana	Datos de laboratorio	Nombre científico de la bacteria aislada
Mecanismo de resistencia.	Mecanismo de resistencia específico que presenta la bacteria detectable a través del antibiograma	Datos de laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • BLEA • BLEE • Amp-C • Resistencia a Quinolonas • ORSA homogenea heterogenea • Metilasa Constitutiva • Metilasa Inducible • Eflujo • Resistencia a Aminoglucósidos de Alta Carga • Carbapenemasas



8. RESULTADOS

Se analizaron 492 aislamientos bacterianos obtenidos de infecciosos de pacientes que acudieron al Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello-León, (HEODRA) durante el periodo de estudio Marzo 2012-Junio 2012. Los resultados son presentados en grupos bacterianos, siendo estos: Gram positivos (160 aislamientos), Gram negativos (249 aislamientos) y Bacilos Gram negativos No Fermentadores (83 aislamientos).

Las bacterias Gram positivas frecuentemente encontradas fueron: *S. aureus* (42.5%), *Staphylococcus*, coagulasa negativa (17.5%), *Streptococcus viridans* (16%) y también se encontró en menor frecuencia, pero de mucha importancia epidemiológica *E. faecalis* con igual porcentaje (16%). En relación a la sala de la cual provenían la muestras analizadas en orden de frecuencia se encuentra Ortopedia (42.5%), seguido del servicio de consulta externa (24.3%). Ver tabla No 1.

Tabla No. 1: Microorganismos Gram positivos Vs. Procedencia

Microorganismo	Aro	Ce	Cir	Dia	Eme	Gin	Inf	Med	Nef	Neu	Ort	Ped	Scin	Uci	Ucin	Umi	Total:%(n)
<i>E. faecalis</i>	-	6	-	-	1	-	1	-	-	-	15	1	-	-	2	-	16(26)
<i>S. aureus</i>	-	12	1	-	2	-	8	1	2	-	30	3	-	8	-	1	42.5(68)
<i>S. coagulasa negativa</i>	-	6	1	1	-	1	1	1	-	-	6	1	7	-	3	-	17.5(28)
<i>S. bovis</i>	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	3(4)
<i>S. viridans</i>	1	7	-	-	1	-	-	-	-	1	14	-	1	-	-	1	16(26)
<i>S. β-hemolítico</i>	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	5(8)
Total	0.6 (1)	24.3 (39)	1.3 (2)	0.6 (1)	2.5 (4)	0.6 (1)	6.3 (10)	1.3 (2)	1.3 (2)	0.6 (1)	42.5 (68)	3.1 (5)	5.6 (9)	5.0 (8)	3.1 (5)	1.3 (2)	100(160)

Aro: Alto riesgo Obstétrico, Ce: Consulta Externa, Dia: Diálisis, Gin: Ginecología, Inf: Infectología, Neu: Neumología, Nef: Nefrología, Ort: Ortopedia, Ped: Pediatría, Scin: Sala de cuidados Intermedios neonatales, Uci: Unidad de Cuidados Intermedios, Ucin: Unidad de Cuidados Intermedios Neonatales, Umi: Unidad Materno Infantil.

Según el tipo de muestra, 67% de los microorganismos Gram positivos se aisló de las secreciones, 14.7% de Sangre (Hemocultivos), 13.1% de Orina, 5% de Hisopado Faríngeo y 0.6% de Líquido Cefalorraquídeo (LCR). La mayoría del *S. aureus* aislado procedía de las secreciones, en cambio solo un aislamiento procedía de LCR. Ver tabla No. 2.

Microorganismo	LCR	Faríngeo	Orina	Sangre	Secreciones	Total: %(n)
----------------	-----	----------	-------	--------	-------------	-------------



<i>E. faecalis</i>	-	-	7	1	18	16(26)
<i>S. aureus.</i>	1	3	2	5	57	42.5(68)
<i>S. coagulasa negativa</i>	-	-	-	12	16	17.5(28)
<i>S. bovis</i>	-	-	3	1	-	3(4)
<i>S. viridans.</i>	-	-	8	4	14	16(26)
<i>S. β-hemolítico</i>	-	4	1	-	3	5(8)
Total: %(n)	0.6(1)	5.0(7)	13.1(21)	14.5(23)	67.5(108)	100(160)

Tabla No. 2: Microorganismos Gram positivos Vs. Tipo de muestra.

LCR: Líquido cefalorraquídeo.

En relación al perfil de resistencia encontrado en los microorganismos Gram positivos, 54.3% de estos fue resistente a Penicilina, 49.3% a Tetraciclinas y 45.6 a Eritromicina. Ver Detalles en Tabla No. 3. Al describir algunos microorganismos se encontró que el 88% de *S. aureus* resultó resistente a Penicilina, 57% a Eritromicina, 47% a Cefoxitina y Oxaciclina. El 71% de los *Staphylococcus coagulasa negativa* fue resistente a Eritromicina, 64% lo fue a Trimetroprin/Sulfametaxol y 61% Cefoxitina y Oxaciclina. Ver Tabla No.3

Tabla No. 3: Perfil de resistencia de microorganismos Gram positivos

Microorganismo	n	CHL	CIP	CLI	CRO	ERY	FOX	GEN	GEH	LVX	NIT	OXA	PEN	RIF	STH	SXT	TCY
<i>E. faecalis</i>	26	20 (5)	34.6 (9)	-	-	-	-	-	27 (7)	-	-	-	4.3 (1)	42 (11)	39 (10)	-	76 (20)
<i>S. aureus</i>	68	4.6 (3)	36.8 (25)	29 (20)	-	57 (39)	47 (32)	30 (20)	-	-	-	47 (32)	88 (60)	-	-	24 (37)	19 (13)
<i>S. bovis</i>	4	-	-	25 (1)	-	50 (2)	-	-	-	25 (1)	33 (1)	-	-	-	-	-	100 (4)
<i>S. coagulasa negativa</i>	28	11 (3)	35.7 (10)	25 (10)	-	71 (20)	61 (17)	44 (12)	-	-	-	61 (17)	93 (26)	4 (1)	-	64 (18)	64 (18)
<i>S. viridans</i>	26	5.6 (1)	-	19 (5)	32 (10)	27 (10)	-	-	-	8 (2)	-	-	-	-	-	-	77 (20)
<i>S. β-hemolítico</i>	8	-	-	-	-	25 (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50 (4)
Total	160	7.5 (12)	27.5 (44)	22.7 (36)	6.3 (10)	45.6 (73)	30.6 (49)	20.0 (32)	4.3 (7)	1.8 (3)	0.6 (1)	30.6 (49)	54.3 (87)	27.5 (12)	6.3 (10)	34.4 (55)	49.3 (79)

CHL: Cloranfenicol, CIP: Ciprofloxacina, CRO: Ceftriaxona, ERY: Eritromicina, FOX: Cefoxitina, GEN: Gentamicina, GEH: Gentamicina de alta carga, LVX: Levofloxacina, NIT: Nitrofurantoina, OXA: Oxaciclina, PEN: Penicilina, RIF: Rifampicina, STH: Estreptomina de alta carga, SXT: Trimetroprin/Sulfametaxol, TCY: Tetraciclina

Tomando en cuenta el perfil de resistencia y el crecimiento observado en el plato se encontró que el 20.6% de las bacterias Gram positivas presentó ORSA homogénea, 17.5%



MLS constitutiva, seguido por el 15.6% que presentó E-flujo y fue *S. aureus* la bacteria que presentó mayor variedad en relación a estos mecanismos. Ver detalles en tabla No.4

Tabla No.4: Expresión Fenotípica de mecanismos de resistencia en Gram Positivo

Microorganismo	n	ORSA hom	ORSA het	MLS cons	MLS ind	E-flujo	RAGS
<i>E. faecalis</i>	26	-	-	-	-	-	10
<i>S. aureus.</i>	68	19	11	19	8	13	-
<i>S. coagulasa negativa</i>	4	14	4	6	5	10	-
<i>S. bovis</i>	28	-	-	-	2	1	-
<i>S.viridans.</i>	26	-	-	-	2	-	-
<i>S. β-hemolítico</i>	8	-	-	3	2	1	-
Total: n (%)	160	33(20.6)	15(9.3)	28(17.5)	19(11.8)	25(15.6)	10(6.2)

ORSAhom/het: *Staphylococcus aureus*Oxaciclina resistente homogénea/heterogénea, MLScons/ind: Metilasa constitutiva/inducible, RAGS: Resistencia a Aminoglicósidos

Las bacterias Gram negativas frecuentemente aisladas fueron: *E. coli* con 41.3%, *K. pneumoniae* fue con 20% y *Escherichia spp.* con 12%, principalmente. Se encontraron en menor frecuencia *Providencia spp.* con 1.2% y *Kluyvera spp.* con 0.4%. El 50.2% de los microorganismos Gram negativos se aislaron del servicio de Consulta Externa y 26.1% de la sala de Ortopedia. Ver Tabla No. 5

Tabla No. 5: Microorganismos Gram negativos Vs. Procedencia

Microorganismo	Aro	Ce	Cir	Dia	Eme	Gin	Inf	La	Med	Nef	Ort	Ped	Scin	Uci	Ucin	Umi	Total % (n)
<i>Cedeceasp.</i>	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	4(10)
<i>Enterobactersp.</i>	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	8	1	-	-	-	1	4.8(12)
<i>E. coli</i>	-	71	1	-	6	2	-	1	4	1	11	2	2	1	-	1	41.3(103)
<i>Escherichia sp.</i>	2	19	-	-	2	-	-	-	-	-	2	2	1	-	-	1	12(29)
<i>K.oxytoca</i>	2	3	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	3.6(9)
<i>K. pneumoniae</i>	-	17	1	-	4	-	-	1	1	-	18	2	-	1	5	-	20(50)
<i>K.cryocrescens</i>	-	3	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2.0(5)
<i>Kluyverasp.</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4(1)
<i>M.morganii</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	1.6(4)
<i>P.agglomerans</i>	-	5	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.4(6)
<i>P.mirabilis</i>	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	3	-	-	-	-	-	2.0(5)
<i>Providencia sp.</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1.2(3)
<i>Serratiasp.</i>	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	4.8(12)
Total: % (n)	2 (5)	50,2 (125)	1.6 (4)	0.4 (1)	6 (15)	1.2 (3)	0.4 (1)	0.8 (2)	2 (5)	0.4 (1)	26.1 (65)	2.8 (7)	1.6 (4)	0.8 (2)	2.4 (6)	1.2 (3)	100 (249)

Aro: Alto riesgo Obstétrico, Ce: Consulta Externa, Dia: Diálisis, Gin: Ginecología, Inf: Infectología, La: Lactantes, Med: Medicina, Nef: Nefrología, Ort: Ortopedia, Ped: Pediatría, Scin: Sala d cuidados Intermedios neonatales, Uci: Unidad de Cuidados Intermedios, Ucin: Unidad de Cuidados Intermedios Neonatales, Umi: Unidad Materno Infantil.

Según el tipo de muestra, 61.4% de las bacterias Gram negativas fueron aisladas de Orina, 33.7% de Secreciones y 4.8% de Sangre. (Hemocultivos). El mayor número de patógenos



aislados de las Orinas corresponde a *E.coliy K. pneumoniae* de igual manera se observó en los aislados de las secreciones. Ver Tabla No.6

Tabla No.6: Microorganismos Gram Negativos Vs. Muestra

Microorganismo	Orina	Sangre	Secreciones	Total:%(n)
<i>Cedeceasp.</i>	1	1	8	4 (10)
<i>Enterobactersp.</i>	3	1	8	4.8 (12)
<i>E. coli</i>	85	-	18	41.3 (103)
<i>Escherichia sp.</i>	24	2	3	12 (29)
<i>K.oxytoca</i>	4	2	3	3.6 (9)
<i>K. pneumoniae</i>	20	6	24	20 (50)
<i>K. cryocrescens</i>	4	-	1	2.0 (5)
<i>Kluyverasp.</i>	1	-	-	0.4(1)
<i>M.morganii</i>	1	-	3	1.6(4)
<i>P.agglomerans</i>	6	-	-	2.4(6)
<i>P. mirabilis</i>	2	-	3	2.0(5)
<i>Providencia sp.</i>	-	-	3	1.2(3)
<i>Serratiasp.</i>	2	-	10	4.8(12)
Total: %(n)	61.4(153)	4.8(12)	33.7(84)	100(249)

Según el perfil de resistencia, el beta-Lactámico que presentó mayor resistencia de las Bacterias Gram negativas fue Ampicilina con 87.5%, Trimetroprin/Sulfametaxol lo fue con 65.4%, y Acido nalidíxico presentó 53.4% de resistencia. Un hallazgo importante encontrado fue 1.2% resistente a Imepenem y 1.6% a Meropenem. Ver detalles en Tabla No.7. Las bacterias multirresistente fueron: *E. Coli* que fue resistente a Ampicilina con 81%, Acido Nalidíxico y Trimetroprin/Sulfametaxol lo fue con 68%, entre otros. *K. pneumoniae* que fue resistente a Ampicilina con el 100%, Trimetroprin/Sulfametaxol lo fue a 62% y Acido nalidíxico con 32%, entre otros y *Enterobacter spp.* que también fue resistente a Carbapenems en reducidos porcentajes. Ver detalles en Tabla No. 7

Tabla No. 7: Perfil de resistencia de microorganismos Gram negativos.

Microorganismo	n	AMK	AMC	AMP	CAZ	CXM	CEP	CHL	CIP	COL	CRO	FEP	FOX	GEN	IPM	MEM	NAL	NIT	SXT	TZP
----------------	---	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----



MECANISMOS DE RESISTENCIA DE PATÓGENOS AISLADOS EN MUESTRAS BACTERIOLÓGICAS



<i>Cedecea sp.</i>	10	-	80 (8)	100 (10)	50 (5)	60 (6)	89 (9)	44 (4)	20 (2)	-	50 (5)	20 (2)	80 (8)	40 (4)	-	-	30 (3)	-	70 (7)	-
<i>E. coli</i>	103	4.9 (5)	19 (20)	81 (83)	41 (42)	46 (47)	55 (57)	28 (29)	64 (66)	-	44 (45)	12 (12)	3.9 (4)	35 (36)	-	1 (1)	68 (70)	6 (6)	68 (70)	1(1)
<i>Escherichia sp.</i>	29	3.6 (1)	10 (3)	90 (26)	36 (10)	32 (95)	44 (13)	20 (6)	55 (16)	-	28 (8)	11 (3)	-	31 (9)	-	-	76 (22)	8 (2)	75 (22)	3.6 (1)
<i>Enterobacter sp.</i>	12	8.3 (1)	83 (10)	100 (12)	67 (8)	67 (8)	100 (12)	56 (7)	42 (5)	-	67 (8)	33 (4)	83 (10)	58 (7)	8 (1)	8.3 (1)	50 (6)	67 (8)	67 (8)	8.3 (1)
<i>K. cryocrescens</i>	5	-	-	80 (4)	-	-	-	-	20 (1)	-	-	-	-	-	-	-	20 (1)	-	60 (3)	-
<i>Kluyvera sp.</i>	1	-	-	100 (1)	100 (1)	100 (1)	100 (1)	-	100 (1)	-	-	-	100 (1)	-	-	-	100 (1)	-	100 (1)	-
<i>K. oxytoca</i>	9	-	22 (2)	100 (9)	33 (3)	56 (5)	56 (5)	-	33 (3)	-	33 (3)	22 (2)	-	56 (5)	-	-	33 (3)	25 (3)	67 (6)	-
<i>K. pneumoniae</i>	50	24 (12)	16 (8)	100 (50)	46 (23)	48 (24)	49 (25)	33 (17)	32 (16)	4 (3)	48 (24)	18 (9)	8 (9)	40 (20)	4 (2)	4 (2)	34 (17)	30 (15)	62 (31)	8 (4)
<i>M.morganii</i>	4	-	50 (2)	75 (3)	-	100 (4)	100 (4)	-	75 (3)	-	-	-	-	25 (1)	-	-	75 (3)	-	50 (2)	-
<i>P. agglomerans</i>	6	17 (1)	50 (3)	100 (6)	17 (1)	17 (1)	50 (3)	-	83 (5)	-	17 (1)	17 (1)	33 (2)	50 (3)	-	-	83 (5)	17 (1)	83 (5)	-
<i>P. mirabilis</i>	5	-	-	20 (1)	-	20 (1)	20 (1)	67 (3)	20 (1)	-	20 (1)	20 (1)	-	-	-	-	-	-	40 (2)	-
<i>Providencia sp.</i>	3	-	33 (1)	67 (2)	67 (2)	67 (2)	100 (3)	33 (1)	33 (1)	-	67 (2)	33 (1)	-	-	-	-	33 (1)	-	67 (2)	-
<i>Serratia sp.</i>	12	8.3 (1)	8.3 (1)	92 (11)	8.3 (1)	67 (8)	92 (11)	10 (1)	17 (2)	83 (10)	8 (1)	8 (1)	17 (2)	17 (2)	-	-	17 (2)	50 (6)	33 (4)	-
Total	249	8.4 (21)	23.2 (58)	87.5 (218)	38.5 (96)	81.1 (202)	57.8 (144)	27.3 (68)	48.9 (122)	5.3 (13)	39.3 (98)	13.6 (34)	14.4 (36)	39.9 (87)	1.2 (3)	1.6 (4)	53.4 (133)	16.4 (41)	65.4 (163)	2.8 (7)

AMK: Amikacina, AMC: Amoxicilina/clavulánico, AMP: Ampicilina, CAZ: Ceftazidima, CXM: Cefuroxime, CEP: Cefalotina, CHL: Cloranfenicol, CIP: Ciprofloxacina, COL: Colistin, CRO: Ceftriaxona, FEP: Cefepime, FOX: Cefoxitina, GEN: Gentamicina, IMP: Imepenem, MEM: Meropenem, NAL: Nalidixico, NIT: Nitrofurantoina, SXT: Trimetoprim/Sulfametaxol, TZP: Piperacilina/Tazobactam

Revisando el perfil de resistencia y tomando en cuenta la lectura del plato del antibiograma, encontramos que el mecanismo de resistencia que presentaron en mayor frecuencia las bacterias Gram negativas fue la Resistencia a Quinolonas (RQs) con 113 cepas, seguidas de las BLEE con 101 aislamientos. Cabe mencionar que se encontró un aislamiento altamente sospechoso de Carbapenemasas. La bacteria que presentó mayor variedad en relación a los mecanismos de resistencia fue *E. coli*. Ver detalles en tabla No. 8

Tabla No.8: Expresión fenotípica de Mecanismos de Resistencia en Gram negativos.

Microorganismo	BLEA	BLEE	ampC	RQs	Carbapenemasas
----------------	------	------	------	-----	----------------



<i>Cedeceasp.</i>		7	8		
<i>Enterobactersp.</i>		6	9	6	1
<i>E. coli</i>	32	46	6	58	
<i>Escherichia sp.</i>		12		4	
<i>K.oxytoca</i>	7	2		4	
<i>K. pneumoniae</i>	28	23	6	17	
<i>K. cryocrescens</i>		1		2	
<i>Kluyverasp.</i>		1	1		
<i>M.morganii</i>		1	1	3	
<i>P.agglomerans</i>		1	3	4	
<i>P. mirabilis</i>	1				
<i>Providencia sp.</i>		2	1		
<i>Serratiasp.</i>			2	3	
Total:	58	101	31	113	1

BLEA: β -Lactamasas de Espectro ampliado, BLEE: β -Lactamasas de Espectro Extendido, RQs: Resistencia a Quinolonas.

La frecuencia de los Bacilos Gram Negativos No Fermentadores fue: *Pseudomona aeruginosa* con 51.8%, *Acinetobacter baumannii* lo fue con 37.3% y *Burkholderia cepacia* se encontró en 8.4%. El 50.6% de estos bacilos se aislaron de la sala de Ortopedia, 18.0% de Cirugía y 15.7% del servicio de Consulta Externa. Ver Tabla No.9

Tabla No.9: Bacilos Gram negativos No Fermentadores Vs. Procedencia

Microorganismo	Ce	Cir	Eme	Inf	La	Ort	Ped	Uci	Total:%(n)
<i>A. baumannii</i>	2	4	-	-	2	17	-	6	37.3(31)
<i>Burkholderia cepacia</i>	-	-	-	-	1	6	-	-	8.4(7)
<i>P. aeruginosa</i>	11	11	1	1	-	17	1	1	51.8(43)
<i>Pseudomona ssp.</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1.2(1)
<i>S. maltophilia</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1.2(1)
Total	15.7(13)	18.0(15)	1.2(1)	1.2(1)	3.6(3)	50.6(42)	1.2(1)	8.4(7)	100(83)

Ce: Consulta externa, Cir: Cirugía, Eme: Emergencia, Inf: Infectología, Ort: Ortopedia, Ped: Pediatría, Uci: Unidad de Cuidados Intensivos.

El 90.3% de los bacilos Gram negativos no fermentadores se aisló de las Secreciones, solo 4.8% procedía de muestras de Orina y Sangre. *A. baumannii* y *P. aeruginosa* fueron los microorganismos que mayormente se aislaron de las secreciones. Ver Tabla No.10

Tabla No.10: Bacilos Gram negativos, No fermentadores Vs. Tipo de muestra.

Microorganismo	Orina	Sangre	Secreciones	Total: %(n)
----------------	-------	--------	-------------	-------------



<i>A. baumannii</i>	-	3	28	37.3(31)
<i>Burkholderiacepacia</i>	-	1	6	8.4(7)
<i>P. aeruginosa</i>	4	-	39	51.8(43)
<i>Pseudomonassp.</i>	-	-	1	1.2(1)
<i>S.maltophilia</i>	-	-	1	1.2(1)
Total: %(n)	4.8(4)	4.8(4)	90.3(75)	100(83)

Según el perfil de resistencia, los resultados encontrados fueron los siguientes:

Amoxicilina/clavulánico fue resistente con el 91%, Trimetroprin/Sulfametaxol lo fue con 85.5% y Aztreonam se encontró resistente con 49.3%. Ver Detalles en Tabla No. 11. *P. aeruginosa* resultó resistente a Trimetroprin/Sulfametaxol con el 100% Amoxicilina/Clavulánico lo fue con el 95.2% y Ceftazidima con 35%. Un hallazgo importante fue la resistencia de Meropenem (21%) e Imepenem (14%). *A. baumannii*. Fue resistente a Amoxicilina/clavulánico el 90% de los aislamientos, Aztreonam lo fue con 89% y Trimetroprin/Sulfametaxol con 87% y también resultó resistente, Meropenem e Imepenem (32% y 26% respectivamente). Ver Tabla No. 11

Tabla No.11: Perfil de resistencia de Bacilos Gram negativos, No Fermentadores.

Microorganismo	n	AMK	AMC	ATM	CAZ	CIP	COL	FEP	GEN	IPM	MEM	MNO	PIP	SAM	SXT	TZP
<i>A. baumannii</i>	31	71 (22)	90 (28)	89 (28)	74 (23)	77.4 (24)	-	65 (20)	87 (27)	26 (8)	32 (10)	3.7 (1)	83.9 (26)	50 (16)	87 (27)	54 (17)
<i>P. aeruginosa</i>	43	14 (18)	95.2 (41)	30 (13)	35 (15)	16.3 (7)	3 (1)	17 (7)	21 (9)	14 (6)	21 (9)	-	23.3 (10)	-	100 (43)	7 (3)
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	100 (7)	100 (7)	-	-	-	-	-	-	-	-	43 (3)	-	-	-	-
<i>S.maltophilia</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 (1)	-
Total: %(n)	83	34.9 (29)	91.5 (76)	49.3 (41)	45.7 (38)	37.3 (31)	1.2 (1)	32.5 (27)	43.3 (36)	16.8 (14)	22.8 (19)	4.8 (4)	43.3 (36)	19.2 (16)	85.5 (71)	24.0 (20)

AMK: Amikacina, AMC: Amoxicilina/clavulánico, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacina, COL: Colistin, FEP: Cefepime, GEN: Gentamicina, IMP: Imepenem, MEM: Meropenem, MNO: Minociclina, PIP: Piperacilina, SAM: Amoxicilina/Subactam, SXT: Trimetroprin/Sulfametaxol, TZP: Piperacilina/Tazobactam

Según la expresión fenotípica observada en el plato de antibiograma de los microorganismos no fermentadores, se encontró 72 aislamientos que presentaron AmpC, 10



que presentaron BLEE y también se encontraron, aunque en menor número, aislamientos altamente sospechosos de Carbapenemasas (8 aislamientos). Ver detalles en tabla No. 12.

Tabla No. 12: Expresión fenotípica de mecanismos de resistencia en No Fermentadores

Microorganismo	amp C	BLEE	OprD	E-flujo	Carbapenemasas
<i>A. baumannii</i>	28	10	6	4	4
<i>Burkholderia cepacia</i>					
<i>P. aeruginosa</i>	43		2	5	4
<i>Pseudomona sp.</i>	1				
<i>S. maltophilia</i>					
Total	72	10	8	9	8

BLEE: β -Lactamasas de Espectro Extendido, OprD: Impermeabilidad de porina OprD

9. DISCUSION

En este estudio se presenta el perfil de resistencia de 492 aislamientos bacterianos aislados en el HEODRA en el período Marzo-Junio 2012. Las bacterias fueron aisladas de varios



tipos de especímenes clínicos y los más frecuentes fueron las secreciones y orinas. Los aislamientos fueron analizadas mediante el método de Kirby-Bauer y se ensayaron los antibióticos recomendados para cada microorganismo encontrado y siguiendo las normas citadas en el Curso Intensivo de Actualización en Antimicrobianos. ⁽¹⁹⁾

Las Bacterias patógenas más frecuentemente aisladas fueron *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *A.baumannii*. Estos hallazgos se registran desde hace más 10 años según un estudio realizado en 3 hospitales nor-occidentales del país (Estelí, León, Chinandega) donde *S. aureus* se registró en 37%, *E. coli* en 24.9%, *Pseudomona spp* en 17.9% y *Klebsiella spp.* en 11.5%. ⁽²⁰⁾

En el 2008 en Bluefields se registró que *E.coli* fue causante del 91% de las infecciones del tracto urinario ⁽²¹⁾; en cambio en el 2010 en el Hospital Victoria Motta de Jinotega, *E.coli* se encontró en 66% ⁽²¹⁾, aunque estos porcentajes no son similares *E. coli* sigue alcanzando porcentajes importantes como agente causante de infecciones de tracto urinario; estos datos registrados son similares a los resultados encontrados en nuestro estudio.

En relación a los agentes causantes de infecciones supurativas el microorganismo Gram positivo que encontramos en mayor frecuencia lo fue *S. aureus*, seguido de los No Fermentadores *P. aeruginosa* y *A.baumannii*. En cambio en el 2008, en Bluefields los agentes aislados de úlceras y abscesos fueron principalmente *Kluyvera sp* y *Enterobacter sp.* *Pseudomona sp* fue la principal causante de infecciones óticas. ⁽²¹⁾

En relación a los antimicrobianos la penicilina mostró ser el antibiótico de menor efectividad para los microorganismos Gram positivos, de igual forma en un estudio realizado por Carera E. en hospitales Nor- occidentales en el 2003 se encontró que penicilina fue el antibiótico de mayor resistencia (84%). ⁽²¹⁾ Este resultado fue reforzado cuando en ese mismo año en el HEODRA Pérez M y Ríos V. registraron un porcentaje similar para este antimicrobiano. ⁽⁷⁾



Uno de los agentes etiológicos aislados durante este estudio fue *E. faecalis*, cabe mencionar la importancia epidemiológica que representa este microorganismo y sobre sale aún más cuando el 76% de este microorganismo presenta resistencia a Aminoglucósidos de alta carga (GEH). Sin embargo este microorganismo no se aisló de especímenes completamente estériles.

En relación a los microorganismos Gram negativos, *E. coli* continua siendo resistente a Quinolonas y Trimetroprin/Sulfametaxol ya que en nuestro estudio se encontraron resultados similares a los reportados desde hace 10 años por Carera E. ⁽³⁾Pérez M. y Ríos V. reportaron para *E.coli* una resistencia mayor al 45% para Trimetroprin/Sulfametaxol 14% para Ceftriaxona y Ciprofloxacina, Martínez R et al. También reportaron estos resultados en el 2008 en Jinotega. Estos reportes reflejan que la tendencia de *E. coli* para desarrollar mecanismos de resistencia va en aumento ya nuestros resultados arrojan el doble de porcentaje de resistencia para las Cefalosporinas y Quinolonas. ⁽⁷⁾

En Jinotega, en el 2008 también se encontró para *K. pneumoniae* resistencia a Trimetroprin/Sulfametaxol, Gentamicina y Ceftriaxona. ⁽²¹⁾Así mismo se había reportado en el 2007 por un estudio realizado por UNAN-León una resistencia mayor al 50% para Trimetroprin/Sulfametaxol, mayor de 40% para Gentamicina y mayor del 30% para Ceftriaxona ⁽³⁾. Los resultados encontrados refuerzan los reportados anteriormente. Sin embargo *K. pneumoniae* presentó un patrón multirresistente lo cual se ve evidenciado en su expresión fenotípica a través del antibiograma.

P. aeruginosa y *A.baumannii* presentaron altos porcentajes de resistencia para Trimetroprin/Sulfametaxol, Cefalosporinas. *A. baumannii* también resultó altamente resistente a Aminoglucósidos y Quinolonas. La resistencia a β -Lactámicos por ambos microorganismos va en aumento ya que en 2004 en el Hospital San Juan de Dios, Estelí el 8.8% de *Pseudomonas sp.* fue resistente a Ceftazidima y *Acinetobacter sp.* presentó resistencia mayor al 20% en cambio nuestro estudio arroja el doble del porcentaje para este antibiótico. ⁽²³⁾



En relación a los mecanismos de resistencia presentados por las bacterias Gram positivas, *S.aureus* presentó la mayor variabilidad, seguido por *Staphylococcus* coagulasa negativa. Encontramos que *S. aureus* reportó 19 cepas con ORSA homogéneo y 11 de cepas para ORSA heterogénea, lo cual confiere resistencia a estos microorganismos a β -Lactámicos a través de un gen (*MecA*) que codifica para la síntesis de una enzima que elimina a estos antibióticos. También presentó mecanismos de resistencia para el grupo MLS, siendo estos de tipo constitutivo (19 cepas), Inducible (8 cepas) y de E-flujo (13 cepas). Las cepas que presentaron resistencia MLS constitutiva e inducible expresan un gen (*erm*) que codifica una enzima que hidroliza a los antibióticos de este grupo; las cepas que presentaron E-flujo expresan un gen (*msr*) que codifica una enzima que hidroliza a Macrólidos.⁽¹⁸⁾

E. coli y *K. pneumoniae* fueron los microorganismos Gram negativos en los que se logró identificar un mayor número de aislamientos con fenotipo de resistencia y fue la resistencia a las Quinolonas el mecanismo de mayor expresión en estas bacterias seguido por BLEE, BLEA y AmpC. La resistencia a Quinolonas en estos microorganismos se debe principalmente a una mutación en la ADN girasa o la adquisición de un mecanismo plasmídico; las BLEE son enzimas mediadas por plásmidos y es esta condición la que favorece su diseminación y confieren resistencia a todas las Cefalosporinas excepto Cefoxitina, Carbapenems y Monobactams; el mismo plásmido que confiere los genes BLEE contiene los genes que confieren resistencia a Aminoglucósidos, tetraciclinas y Trimetroprin/Sulfametaxol y es esto lo que contribuye a la multiresistencia que observamos en nuestro estudio.⁽²⁴⁾

Los mecanismos de resistencia de bacilos Gram negativos no fermentadores, aún no están bien dilucidados en nuestro país. *P. aeruginosa* presenta naturalmente β -Lactamasas de tipo AmpC que puede sobre expresarse al igual que, *A. baumannii*. En nuestro estudio encontramos que estas bacterias han desarrollado mecanismo para evadir la acción de los Carbapenems, ya sea de ambos o de uno a la vez. Las Bombas de E-flujo en *A. baumannii* se asocian principalmente a las familias RND (Resistance Nodulation Division) y MF (Major Facilitator). En cambio en *P. aeruginosa* la bomba de salida responsable es el sistema MexXY-OprM. La porina OprD es específica para el transporte de Carbapenems, en *P.*



aeruginosa confiere resistencia a Imepenem más no a Meropenem que es menos dependiente de esta porina. También existen las llamadas Carbapenemasas (MBL, KPC) debido a la falta de información y recursos para el tamizaje de esta prueba hasta el momento del estudio no fue posible determinar la presencia de estos mecanismos.⁽¹⁸⁾



10. CONCLUSIONES

11. El microorganismo Gram positivo que se aisló en mayores proporciones fue *S. aureus* con un 42.5%. El mayor número de aislados procedían del servicio de Ortopedia y la mayoría de estos también fueron aislados del cultivo de secreciones. El 88% de *S. aureus* resultó resistente a Penicilina, 57% a Eritromicina, 47% a Cefoxitina y Oxaciclina. Cerca del 50% de *S. aureus* presentó más de un mecanismo de resistencia a los antibióticos testados siendo estos ORSA hom/ MLS c, ORSA het/ E-flujo las variante encontradas en mayor frecuencia.

- La bacteria Gram negativa frecuentemente aislada fue *E. coli* con 41.3%, la mayoría procedían del servicio de Consulta Externa y el mayor número de bacterias se aisló de los Urocultivos. *E. Coli* que fue resistente a Ampicilina con 84.4%, Acido Nalidíxico y Trimetroprin/Sulfametaxol lo fue con 68%. La resistencia a 3 o más antibióticos fue menor al 80%. El mecanismo fenotípico de mayor frecuencia en *E.coli* fue la Resistencia a Quinolonas seguido de las BLEE con un 70% y 46.6% respectivamente
- *Pseudomona aeruginosa* fue el bacilo Gram negativos no fermentador de mayor frecuencia con 51.8%, la mayoría se aisló del servicio de Ortopedia y casi en su totalidad provenían del cultivo de secreciones. *P. aeruginosa* resultó resistente a Trimetroprin/Sulfametaxol con el 100% Amoxicilina/Clavulánico lo fue con el 95.2% y Ceftazidima con 35%. Un hallazgo importante fue la resistencia de Meropenem en 21% e Imepenem con 14% mediado por mecanismo de impermeabilidad OprD, E-flujo y carbapenemasas. La resistencia a 3 o más antibióticos se encontró en el 43.7%. Cabe resaltar el aislamiento de *A. baumannii* (bacteria emergente) en un 37.3% aislado principalmente del servicio de Ortopedia y al igual que *P. aeruginosa* se aisló casi en su totalidad de las secreciones. Fue resistente principalmente a Amoxicilina/Clavulánico con 90%, Aztreonam con 89% y Trimetroprin/Sulfametaxol con 87%.



12. RECOMENDACIONES

1. Reportar a las autoridades correspondientes los hallazgos de este estudio.
2. Realizar estudios de vigilancia para monitorear el comportamiento de la resistencia antimicrobiana.



13. BIBLIOGRAFIA

1. Murray P, Rosenthal K, Pfauer. M. Microbiología Medica, Versión en español de la 5.a edición de la obra en inglés, Madrid, España: ed. Elsevier S.A; 2007
2. Daza Pérez R.M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud Vol. 22.N.o 3-1998.
3. Herrera K, Espinoza M, Mejía Y, et al. Resistencia antimicrobiana en Hospitales nor-occidentales de Nicaragua. Universitas, Vol. 1. N.o 1- 2007.
4. Llop Hernández A. et al. Microbiología, Parasitología Médicas Tomo 2. Editorial Ciencias Médicas, Cuba La Habana, 2001.
5. Meza K. Morales M. Resistencia antimicrobiana en bacterias aerobias aisladas de pacientes hospitalizados con diferente diagnóstico clínico en el HEODRA-León. UNAN-León.1997. Tesis para optar al título de Médico y Cirujano.
6. Herrera K. Espinoza M. Mejía H. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de pacientes atendidos por diferentes procesos infecciosos en el hospital San Juan de Dios-Estelí, Marzo 2001-Octubre 2001. UNAN-León. 2002. Tesis para optar al título de Médico y cirujano.
7. Lopez M. Rios V. Resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas en procesos infecciosos de pacientes hospitalizados en el HEODRA-León, Mayo 2002-Septiembre 2003. UNAN-León. 2003. Tesis para optar al título de Licenciado en Bioanálisis Clínico.
8. Bizzarro MJ, Gallagher PG. Antibiotic-resistant organisms in the neonatal intensive care unit. SeminPerinatol. 2007.
9. Cavalieri S. Et al. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana Departamento de Laboratorio, Medicina y Microbiología, Universidad de Washington, Seattle, Washington 2005.
10. Basualdo J A, Coto C E, De Torres R A. Microbiología Biomédica, Buenos Aires, Argentina: ed Atlante s.r.l; 1996.
11. Jawetz, Melsnick y Adelberg. Microbiología Médica. 18^{va} edición. El manual moderno, 2004.



12. Koneman E, Allen S, Diagnostico Microbiológico; Texto y Atlas a Color. 5^{ta} edición, Editorial panamericana; 2003.
13. Mims, Playfair, Roitt, Wakellin, William, Microbiología médica, 2^{da} edición, Madrid, España: Ediciones Harcourt S.A
14. Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. Instituto Nacional De Enfermedades Infecciosas, Buenos Aires, Argentina; 2001
15. López S, Manual de Procedimiento de Bacteriología Médica. litografía nicaragüense. 2004; 1: 273-301
16. OPS. OMS. USAID. Brochure, Detección de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos en el laboratorio. Washington, DC. 2000
17. Martinez D, Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica, Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2009; 29:78-83
18. C. SUÁREZ, J. KATTÁN, Et al. Mecanismos de resistencia a Carbapenems en P. aeruginosa, Acinetobacter y Enterobacteriaceae y estrategias para su prevención y control, Asociación colombiana de infectología. 2006;10:85-93
19. Torres C. Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos Gram positivos, Madrid-España, EnfermInfeccMicrobiolClin. 2010;28(8):541–553
20. CNDR, INEI. Curso Intensivo de Actualización en Antimicrobianos, Managua-Nicaragua. 2012.
21. Carera E. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias en hospitales de Nicaragua. UNAN-León ,2003. Tesis de Maestría.
22. López R. Rodríguez H. Perfil de Resistencia Antimicrobiana de bacterias causantes de diferentes procesos infecciosos en pacientes del H.S.E.S.B-Bluefields. UNAN-León, Nicaragua. 2008. Tesis para optar al título de Médico y cirujano.
23. Martínez C. Reyes B. Perfil de resistencia antimicrobiana de los agentes etiológicos aislados en pacientes con infecciones del tracto urinario ingresados en el Hospital Victoria Motta de Jinotega, Enero 2009-Junio 2010. UNAN-León, Nicaragua 2010. Tesis para optar al título de Médico y cirujano.

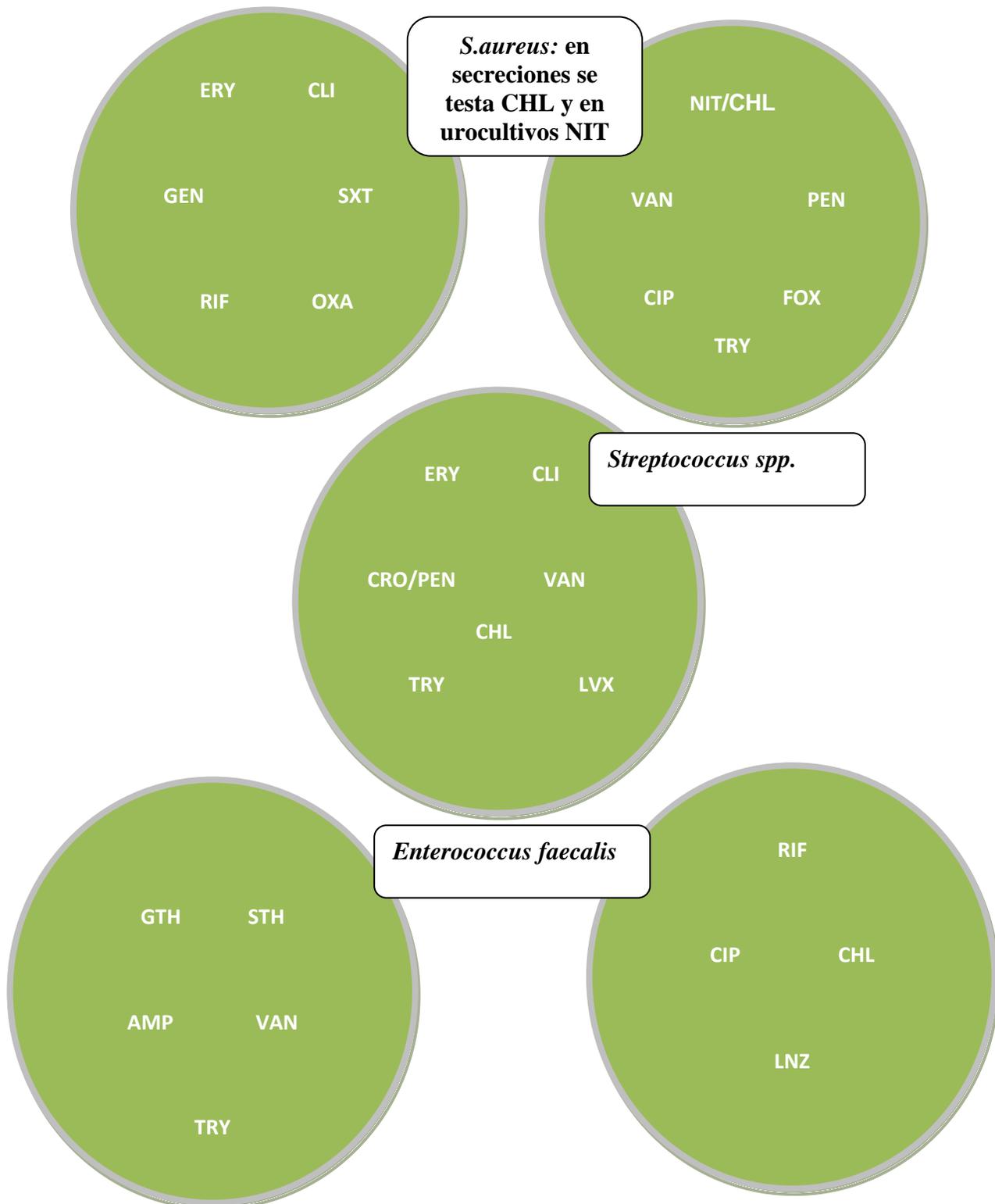


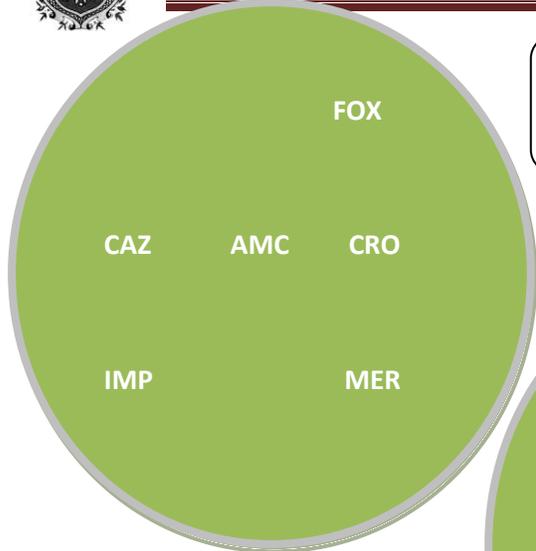
24. Rojas J. Espinoza E. Multiresistencia Antimicrobiana de Bacterias Gram negativas, Hospital San Juan de Dios, Estelí, UNAN-León, Nicaragua, 2004. Tesis para optar al título de Médico y cirujano.
25. Tafur J. Tórrez J. et al. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Centro Nacional de Investigaciones Médicas. Cali, Colombia, 2008



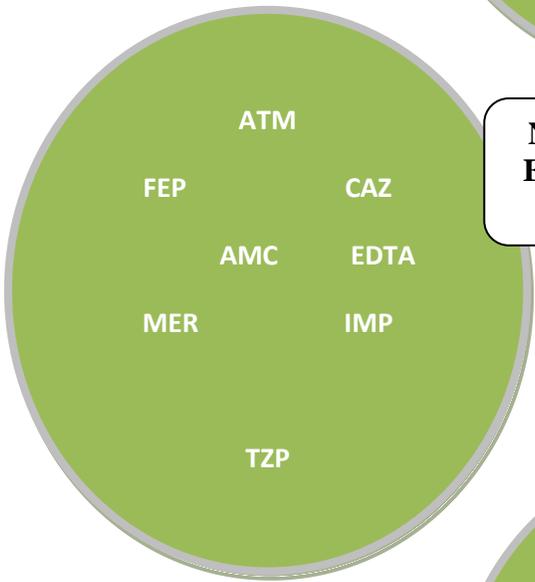
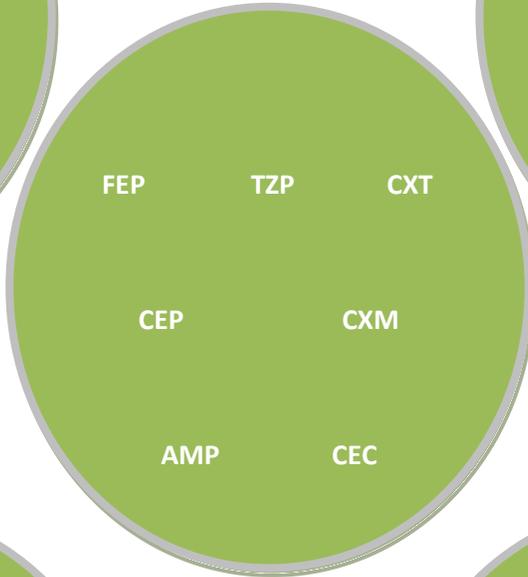
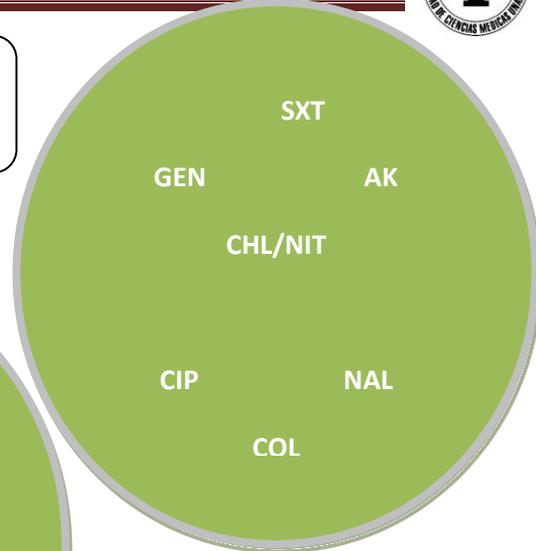
14. ANEXOS

Anexo No. 1: posición de los discos de antimicrobianos para la determinación de la sensibilidad e identificación de mecanismos de resistencia utilizados en el HEODRA

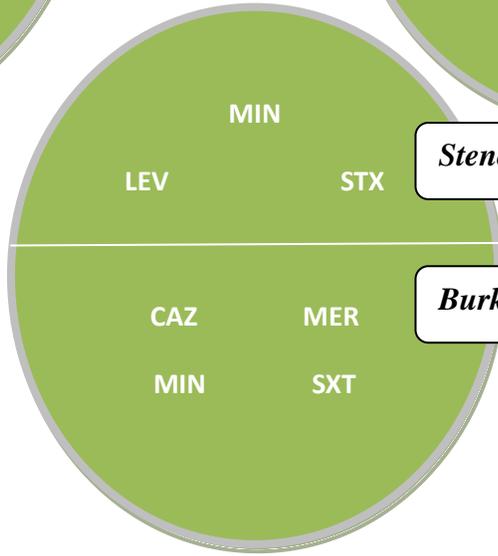
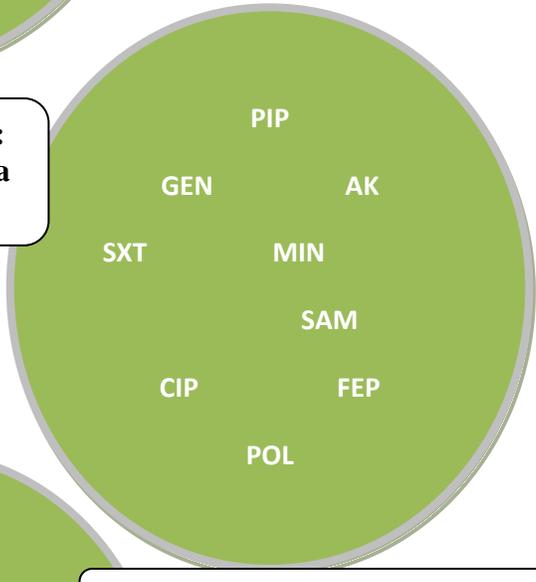




Enterobacterias: En secreciones se testa CHL
En urocultivos NIT



No fermentadores: EDTA se testa para detectar MBL



Stenotrophomonas maltophilia

Burkholderia-Cepacia



Anexo No.2: Tabla de clasificación de antimicrobianos por familia, acrónimo y punto de corte utilizados en HEODRA SEGÚN NORMAS NCCLS.

Familia	Antimicrobiano	Acrónimo	Punto de corte	Generación
Cefalosporinas	Cefalotina	CEP	15-17	1G
	Cefoxitina	FOX	15-17	2G
	Cefuroxima	CXM	15-17	
	Cefaclor	CEC	15-17	
	Cefotaxima	CTX	15-22	3G
	Ceftriaxona	CRO	20-22	
	Ceftazidima	CAZ	18-20	
	Cefepime	FEP	15-17	4G
Quinolonas	Acido nalidíxico	NA, NAL	14-18	1G
	Ciprofloxacina	CIP	16-20	2G
	Levofloxacina	LVX	14-16	2G
Aminopenicilinas	Ampicilina	AMP	14-16	
	Amoxicilina/Clavulánico	AMC	14-17	
	Ampicilina/Sulbactam	SAM	12-14	
β - Lactámicos	Piperacilina	PIP	18-20	
	Piperacilina/Tazobactam	TZP	18-20	
	Penicilina	PEN	S: ≥ 29	
Aminoglucósidos	Gentamicina de alta carga	GEN 120	7-9	
	Gentamicina	GEN 10	13-14	
	Amikacina	AMK, AK	15-16	
Tetraciclinas	Oxaciclina	OXA	S: ≥ 18	
	Tetraciclina	TRY	15-18	
	Minociclina	MNO, MIN	15-18	
Carbapenems	Imepenem	IMP	20-22	
	Meropenem	MER	20-22	
Glicopéptidos	Vancomicina	VAN	≥ 15	
Monobactam	Aztreonam	ATM	≥ 22	
Fenicoles	Cloranfenicol	CHL	13-17	
Rifampicina	Rifampicina	RIF, RF	17-19	
Diaminopirimidinas	Trimetroprin/sulfamexol	TMS,SXT	11-15	
Lincosamidas	Clindamicina	CLI	15-20	
Macrólidos	Eritromicina	ERY	14-22	
Nitrofuranos	Nitrofurantoina	NIT	15-16	
Linezolid	Linezolid	LNZ,LDZ	21-22	
Colistin	Colistin	COL	11-17	