

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO**



“ANALISIS COMPARATIVO DE LA RESISTENCIA ANTIBIOTICA PRESENTADA POR *Acinetobacter baumannii*, AISLADO EN CULTIVOS BACTERIANOS A PARTIR DE MUESTRAS PROVENIENTES DE SECRECIONES BRONQUIALES DE PACIENTES HOSPITALIZADOS EN LOS SERVICIOS DE CUIDADOS CRITICOS DEL HOSPITAL NACIONAL ROSALES EN EL PERIODO DE ENERO A DICIEMBRE DEL AÑO 2012 Y ENERO A DICIEMBRE DEL AÑO 2014”

**TRABAJO DE GRADUACION PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIATURA EN
LABORATORIO CLINICO.**

**PRESENTADO POR:
LAURA LISSETTE AREVALO AVILA
EDGAR WILFREDO FIGUEROA TOBAR
DENIS GERSON JOVEL ALVARADO**

**ASESOR:
LIC. MAURICIO ALEJANDRO VALLADARES**

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO 2015

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

INGENIERO MARIO ROBERTO NIETO LOVO

VICEDECANO ACADÉMICO

MAESTRA ANA MARÍA GLOWER DE ALVARADO

VICERECTOR ADMINISTRATIVO

MAESTRO OSCAR NOÉ NAVARRETTE

FACULTAD DE MEDICINA

DECANO

DOCTOR JOSE ARNULFO HERRERA TORRES

VICEDECANO

LICENCIADO ROBERTO ENRIQUE FOND HERNANDEZ

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

LICENCIADA DALIDE RAMOS DE LINARES

DIRECTOR DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

LICENCIADO LUIS ROBERTO PANIAGUA CASTRO

Agradecimientos.

A Dios.

Por permitir que todo esto sea posible, que a pesar de todas las adversidades nunca me abandono en todo el camino, permitiéndome de esta manera seguir luchando.

A mi familia

A mi padre Jorge Jovel, madre Glenda Alvarado y hermanos, sin su apoyo y palabras de aliento durante toda esta lucha probablemente no podría haber logrado superar este reto.

A mi grupo de investigación.

A Laura Arévalo y Edgar Figueroa gracias por ser mis compañeros y sobre todo por ser mis amigos, hemos finalizado una etapa juntos y las siguientes que nos esperan poder terminarlas siempre con mi grupo de amigos.

A mis compañeros de la universidad.

Más que compañeros son amigos, nos apoyamos entre nosotros para seguir adelante, ya sea estudiando o simplemente distrayéndonos de todo esto, haciendo de esta manera más tolerable la vida de estudio.

Asesor y tribunal calificador.

Lic. Valladares muchas gracias por ser accesible a nosotros, ayudándonos y facilitando todo el proceso de la investigación, Lic. Patricia Orellana gracias por facilitar la información, ayudando a comprenderla mejor y aconsejarnos para presentar un trabajo profesional y entendible, y Lic. Rosaura Sánchez gracias por apoyarnos siempre con esa alegría que la caracteriza, animando y brindando confianza para seguir adelante. Pero sobre todo gracias a los tres que se saltaron el papel de asesor y tribunal, pasando a ser amigos, eso es lo que se les mas se les agradece

Denis Gerson Jovel Alvarado

Agradecimientos.

A Dios

Por la vida, sabiduría y protección que me concedió para poder culminar mis estudios satisfactoriamente.

A mis padres

Sonia Avila y Daniel Arévalo que con esfuerzos, sacrificios y amor; me apoyaron hasta el final y a los cuales junto con mi ángel guardián que está en el cielo; les dedico mi triunfo.

A mis hermanos y familia

Kike, Paty; Carlos, Karla y a mi abuela Lidia que estuvieron presentes en todo momento y que a la vez se sienten orgullos de mí. A usted Javier Guardado que siempre me alentó a salir adelante aun en los peores momentos siempre tuve su amor y apoyo incondicional, sigo creyendo que fue un intercambio en mi vida.

A mis amigos

Definitivamente Dios me dio los mejores amigos a los que llame La Tropa, que también me apoyaron y que con buenos momentos llenos de risas cambiaban el panorama. Nunca olvidare sus palabras de aliento cuando el camino era difícil.

Asesor y Jurado Calificador

Licenciado Mauricio Valladares por guiarnos en esta investigación, el mejor asesor que pudimos elegir. Quien además de ser un excelente asesor formo parte de nuestro Tribunal Calificador, junto a las Licenciadas Rosaura Sánchez y Patricia Orellana; quienes hicieron que nuestra defensa fuera exitosa y por el cariño que nos mostraron. Así como también al director del Hospital Nacional Rosales Dr. Mauricio Ventura Centeno y Licenciadas Claudia Jovel; jefa del Laboratorio Clínico y Patricia Orellana; coordinadora del área de bacteriología, por hacer posible la investigación al facilitarnos los datos.

Laura Lissette Arévalo Avila

Agradecimientos.

Dios todo poderoso

Por acompañarme todos los días de mi vida y permitirme finalizar con éxito una meta más.

A mi madre

Alicia Erminda Tobar Beltrán, por su paciencia, amor y dedicación hacia mí y mis hermanas.

A mi padre

José Roberto Figueroa Pacheco, por su cariño y apoyo incondicional.

A mis hermanas

Milagro de la Paz Ayala Tobar por estar pendiente de mí, a Alicia Margarita Figueroa Tobar por impulsarme y acompañarme en momentos de estudio.

A mis tíos y familia

Por estar siempre pendientes de mí, de mis estudios y darme apoyo cuando más lo necesitaba, especialmente a mis abuelos por darme los primeros consejos en la vida.

A mi novia

Marta María Cortez Girón, por ser un pilar fundamental en mi carrera y brindarme todo su apoyo y su amor en este seminario de graduación.

A mis compañeros de tesis

Laura Lissette Arévalo Avila y Denis Gerson Jovel Alvarado por su dedicación y esfuerzo.

A nuestro asesor y jurado calificador

Lic Mauricio Valladares, Lic. Rosaura Sánchez, Lic. Patricia Orellana por su tiempo y apoyo en la realización de esta investigación.

Edgar Wilfredo Figueroa Tobar

INDICE

Introducción-----	1
Planteamiento del Problema-----	3
Justificación-----	5
Objetivos-----	6
Hipótesis-----	7
Marco Teórico-----	8
Diseño Metodológico-----	25
Presentación de datos-----	27
Análisis de datos-----	32
Conclusiones-----	35
Recomendaciones-----	36
Referencias Bibliográficas-----	37
Anexos-----	39

Introducción

En el presente trabajo se abordara de una manera sistemática y ordenada la información necesaria para facilitar la comprensión del contenido de la investigación, los cuales es necesario conocer para tener una mejor apreciación de lo que se pretende en el presente trabajo, se presenta información básica de la composición y funcionamiento del sistema cardio-respiratorio debido a la naturaleza de las muestras a estudiar, además de una pequeña descripción de la célula bacteriana recordando que poseen diferencias fundamentales que la distinguen de la célula animal, vegetal y de los hongos por lo que se agrupa en el dominio de las bacterias, reconociendo en ellas estructuras y especificaciones propias de las bacterias, las dimensiones de su tamaño, estructura de la pared celular, características del núcleo, ausencia de algunos organelos, diferencia de ribosomas, y factores que le brindan resistencia; que es la capacidad de un microorganismo para resistir a los efectos de un antibiótico, la cual se produce naturalmente a través de mutaciones, producidas por azar, pero también se pueden producir artificialmente mediante la aplicación de presión selectiva a una determinada población, ya que el microorganismo en estudio es una bacteria que presenta todas estas características y es sumamente importante tener claro todas ellas para reconocerle mejor y así comprender la importancia que representa en las infecciones asociadas a asistencia sanitaria. Ya aclaradas estas características nos centraremos en la bacteria *Acinetobacter baumannii*, de ella se dará a conocer datos taxonómicos, anatomo-patológicos, hábitat, factores de virulencia y resistencia a fármacos, así como los factores que intervienen para que ella pueda verse involucrada en el deterioro de la salud e integridad de pacientes ingresados en los servicios de cuidados críticos adquiriendo de esta manera infecciones asociadas a atención sanitaria (IAAS), sin dejar de lado los factores culturales que ayudan a que las bacterias evolucionen adquiriendo mecanismos de resistencia contra los antibióticos, por diagnóstico incorrecto de parte del personal de salud y prescripciones innecesarias. Otro factor que ha tomado mucho valor en los últimos años es el uso de antibióticos en el control de enfermedades en la ganadería,

aditivos alimenticios para animales de compañía, control de plagas en agricultura y consiguiente distribución de ellos mediante agua o por el consumo de todos estos productos de origen animal y vegetal expuestos a ellos.

Se hace mención el tipo de muestra a recolectar, manera en que se recolecta, de los procedimientos que en el laboratorio se deberán realizar para poder establecer un diagnóstico oportuno de estas bacterias. Haciendo siempre énfasis en la detección de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* y en los casos que presentan multi-resistencia, estos datos obtenidos de los aislamientos a partir de muestras biológicas de pacientes hospitalizados en Hospital Nacional Rosales en los servicios de cuidados críticos a los que se les practicó el cultivo, en el periodo de enero del año 2012 a diciembre del año 2014. Y según el número de aislamientos positivos se presentarán los datos de aislamientos por año, por servicio y la sensibilidad a los antibióticos que presentó esta bacteria en los aislamientos, en una forma ordenada expresando los datos en tablas y gráficas.

Planteamiento del problema

Existen bacterias que tienen la capacidad de resistir el efecto de uno o varios antibióticos por distintos métodos.

Estos microorganismos pueden encontrarse normalmente en el ambiente hospitalario, suelos, agua, humidificadores, equipos de ventilación, instrumentos médicos e inclusive en piel, mucosa y secreciones del personal de salud, proporcionando una potencial fuente de infección a pacientes hospitalizados causando infecciones asociadas a atención sanitaria (IAAS) anteriormente conocidas como infecciones nosocomiales, las cuales son de gran importancia; debido a que la resistencia a los antibióticos que poseen y posibles estados de inmunodepresión que pueden presentar los paciente por alguna infección adversa, enfermedades crónicas como la diabetes, medicamentos, quimioterapias o algún tratamiento que inhiba o inactive el sistema inmune, puede retrasar la recuperación del paciente o ser causante de muerte.

¿Por qué realizar una investigación acerca de *Acinetobacter baumannii* en secreciones bronquiales de pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales en el periodo establecido en el tema?

Aunque se posee información generalizada de la cantidad de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* y la susceptibilidad a antibióticos que presenta, no se cuenta con un documento actualizado que enfatice en la prevalencia de esta bacteria en el periodo de enero del año 2012 a diciembre del año 2014, que se encuentra provocando infecciones asociadas a atención sanitaria en pacientes de estos servicios a nivel respiratorio, lo cual conlleva a convertirse en un problema de salud muy importante, por la función que el sistema cardiovascular debe cumplir, tomando en cuenta que estas personas al ser ingresados ya poseen algún tipo de alteración en sus sistemas inmunes, creando una condición adecuada para que pueda adquirir una infección adversa a la que puede estar presentando al momento de ser ingresados, ya que, *Acinetobacter*

baumannii es considerado un patógeno asociado a servicios de atención sanitaria y no comunitaria.

¿Para qué realizar una investigación de este tipo para esta bacteria?

Al elaborar un documento en el cual se enfatice el protagonismo que presenta *Acinetobacter baumannii* en las infecciones adquiridas en los servicios de atención sanitaria se podrá evidenciar lo alarmante que es la dificultad que presenta su tratamiento debido a la resistencia que presenta en la actualidad a la mayoría de antibióticos a los que se expone la bacteria en la prueba de susceptibilidad y que son los antibióticos con los que se cuenta en la farmacia del hospital, la cual va en aumento y si no se implementan medidas de control para esta situación seguirá aumentando hasta el punto que las infecciones causadas por ella serán totalmente intratables.

Se pretende hacer un llamado de atención a las autoridades competentes, profesionales de salud, distribuidores de medicamentos y a la población en general, de la importancia de hacer un buen uso de los medicamentos para evitar el aumento de la resistencia, además de revelar la importancia que tiene el elaborar proyectos para mejorar las condiciones de los servicios de cuidados críticos, para controlar en mejor medida la aparición de estos casos, y así poder garantizar la salud y recuperación efectiva de la población que hace uso de los servicios de atención sanitaria del hospital.

Justificación

La importancia de la presente investigación se debe a la necesidad de monitorear la prevalencia de las infecciones provocadas por *Acinetobacter baumannii* y la resistencia que presenta contra los antibióticos, debido a que estas bacterias se encuentran causando una mayor mortalidad y morbilidad en pacientes hospitalizados, por infecciones adquiridas en los servicios convirtiéndose en un problema de atención sanitaria muy importante y de esta manera lograr incentivar a las autoridades competentes, para la implementación de una evaluación urgente que estudie las condiciones en que se encuentran las instalaciones de los servicios de cuidados críticos y los implementos que en ellos se utilizan, así como las condiciones de hacinamiento y atención que se les da a los pacientes y la manera en la que se están prescribiendo los medicamentos. Para que los resultados obtenidos de la evaluación, se tomen en cuenta para la elaboración de medidas adecuadas para el control de infecciones en los servicios.

Además el presente estudio puede ser de mucha utilidad para detectar los antibióticos utilizados tradicionalmente para el tratamiento de infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii* para los cuales esta bacteria en la actualidad presentan resistencia y de ser necesario incentivar al estudio de nuevos antibióticos para las cepas multi-resistentes existentes que se puedan detectar.

Objetivo General

- Determinar la frecuencia de aislamientos positivos a *Acinetobacter baumannii* multirresistentes y la susceptibilidad que presenta a los antibióticos, en cultivos bacterianos a partir de muestras provenientes de secreciones bronquiales de pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales en el periodo de enero a diciembre del año 2012 y enero a diciembre del año 2014

Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de resistencia a antibióticos de *Acinetobacter baumannii*, aislados a partir de muestras bronquiales de los pacientes ingresados en la unidad de cuidados críticos (UCI, UCINT Y UCIQ) en el periodo de enero a diciembre del año 2012 y enero a diciembre del año 2014.
- Demostrar estadísticamente a qué tipo de antibióticos presenta resistencia y a cuales aún presentan sensibilidad las cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de muestras bronquiales de pacientes ingresados en la unidad de cuidados críticos.

Hipótesis.

- **H_i** Un alto porcentaje de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* a partir de secreciones bronquiales de pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales presentaran resistencia a la mayoría de antibióticos que el hospital tiene a su disposición.

- **H₀** Un alto porcentaje de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* a partir de secreciones bronquiales de pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales no presentaran resistencia a la mayoría de antibióticos que el hospital tiene a su disposición.

- **H_i** *Acinetobacter baumannii* presenta resistencia a los antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones a nivel del aparato respiratorio en pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales.

- **H₀** *Acinetobacter baumannii* no presenta resistencia a los antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones a nivel del aparato respiratorio en pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales.

Marco teórico

El aparato respiratorio

De acuerdo a su estructura el aparato respiratorio consta de dos partes: **aparato respiratorio superior** el cual abarca nariz, faringe, laringe y estructuras asociadas, y **aparato respiratorio inferior**, incluye la laringe, la tráquea y los pulmones. Y según su función se puede dividir en dos partes la **zona de conducción** serie de tubos interconectados fuera y dentro de los pulmones que filtran, calientan y humectan el aire y lo conducen a los pulmones **y la zona respiratoria** constituida por tejidos dentro de los pulmones donde tiene lugar el intercambio gaseoso.

Los pulmones son órganos pares de forma cónica, situados en la cavidad torácica, que están separado el uno del otro por el corazón y otras estructuras del mediastino que dividen la cavidad torácica en dos compartimientos anatómicamente diferenciada, por esta causa, si un traumatismo causa el colapso de un pulmón el otro puede permanecer expandido. Dos capas de serosa (membrana pleural) encierra y protege a cada pulmón, la cavidad pleural la cual posee una pequeña cantidad de líquido lubricante secretado por las membranas este líquido reduce la fricción entre las membranas y permite que se deslicen suavemente una sobre la otra durante la respiración.

En el interior de estos últimos los bronquios se dividen en bronquios más pequeños llamados bronquiolos y se siguen ramificando formando el árbol bronquial, terminando en unas estructuras llamadas alveolos, que son una especie de celdilla con forma de copa recubierta por epitelio pavimentoso simple y sostenida por una membrana basal elástica fina la pared de los alveolos tienen dos tipos de células **neumocitos tipo I o células alveolares de tipo I** células de epitelio pavimentoso simple que forman un revestimiento continuo a la pared alveolar encargadas del intercambio gaseoso, y **células alveolares de tipo II o células séptales** son más escasas en número y se disponen entre las de tipo I y su función es secretar un líquido alveolar que mantiene húmedas la superficie

entre las células y el aire. En este líquido se encuentra el **surfactante** una mezcla de fosfolípidos y lipoproteínas el cual es un agente tensioactivo. **(ANEXO 1)**

Función del aparato respiratorio

- 1- Interviene en el intercambio gaseoso: Capta el oxígeno para llevarlo a las células del organismo y eliminación de dióxido de carbono producido por ellas (las células utilizan O_2) continuamente para las reacciones metabólicas que liberan energía de las moléculas y nutrientes y producir ATP. Al mismo tiempo estas reacciones generan CO_2 , una cantidad excesiva de este lleva a una acidez que puede ser toxica para las células, por lo cual el exceso de CO_2 debe ser eliminado rápida y eficientemente.
- 2- Ayuda a regular el pH sanguíneo.
- 3- Contiene receptores del sentido del olfato, filtra el aire inspirado, produce sonidos y excreta pequeñas cantidades de agua y calor

Macrofagos alveolares.

Son fagocitos que eliminan las finas partículas de polvo y otros detritos de los espacios alveolares. El intercambio de oxígeno y dióxido de carbono, entre los espacios aéreos de los pulmones y la sangre tiene lugar por difusión a través de las paredes alveolar y capilar que juntas forman la **membrana respiratoria**.

La membrana respiratoria consta de 4 capas:

- 1- Una capa de células alveolares tipo I y II y macrófagos alveolares que componen la **pared alveolar**.
- 2- **Membrana basal epitelial**.
- 3- **Membrana basal capilar**, que a menudo esta fusionada con la membrana basal epitelial
- 4- **Endotelio capilar**

Circulación pulmonar

Los pulmones reciben sangre a partir de dos grupos de arterias, las arterias pulmonares y arterias bronquiales. La sangre desoxigenada pasa a través del tronco pulmonar, que se divide en una arteria pulmonar izquierda y otra derecha que respectivamente entran en cada pulmón, el regreso de la sangre pulmonar oxigenada es por medio de las 4 venas pulmonares que drenan en la aurícula izquierda del corazón, el oxígeno es transportado por los eritrocitos gracias a sus 4 átomos de hierro contenidos en el grupo Hem.

Existen factores que afectan la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, siendo estas la **acidez (pH)**, la **presión parcial de dióxido de carbono**, la **temperatura** y el **2-bifosfoglicerato**. (TORTORA G. y DERRICKSON, 2006, Pág. 103)

Generalidades de las bacterias

Las bacterias poseen una estructura relativamente simple son microorganismos procariotas, unos microorganismos unicelulares sencillos, sin membrana nuclear, mitocondrias aparato de Golgi ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual, con una medida promedio de 1 a 20 micras de diámetro y su material genético no se encuentra delimitado por membrana nuclear, la mayor parte de las células procariotas son haploides. La pared celular (cuando la posee, en el caso de las *Mycoplasmas* no la poseen) que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas una pared celular Gram-positiva con una gruesa capa de péptidoglucano y una pared celular Gram-negativa con una delgada capa de péptidoglucano más una membrana externa, reciben ese nombre debido a la diferencia de coloración que toman al realizarse una tinción de Gram (**ANEXO 2**); independientemente de la presencia de membrana externa y cantidad de peptidoglucano, ambos tipos de bacterias poseen una membrana citoplasmática, la cual es una membrana que rodea el citoplasma y contiene proteínas y fosfolípidos (ejemplo la PBP), muchas de las proteínas contenidas en ella son enzimas responsables del metabolismo celular. Además las bacterias pueden clasificarse según su tamaño, forma (cocos, bacilos o espiroquetas) y disposición

(aislada, en racimos o en cadenas) y su clasificación definitiva es por características genotípicas y fenotípicas. El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. Se pueden encontrar bacterias en el ambiente, aunque muchas de ellas no son virulentas. Algunas bacterias producen enfermedades bien definidas como *Treponema pallidum* agente de la sífilis; pero es más frecuente que el organismo origine la aparición de numerosas manifestaciones clínicas de enfermedad como *Staphylococcus aureus* que causa endocarditis, neumonía, infecciones de heridas e intoxicaciones. Las infecciones pueden ser de origen exógeno y endógeno (infecciones causadas por la flora humana normal que se reproduce indiscriminadamente debido a alguna clase de desequilibrio en el estado del paciente, ya sea inmunológico, nutricional o por estado de estrés. (MURRAY, PATRICK R. 2009.pág 2).

Agentes antimicrobianos.

Se encuentran los agentes bacteriostáticos como la tetraciclina los cuales inhiben el crecimiento y proliferación bacteriana, pero al ser retirados la célula vuelve a multiplicarse.

Los agentes bactericidas como las quinolonas, no solo inhiben el crecimiento sino que también desencadenan mecanismos que producen la muerte de la célula bacteriana.

Los agentes antimicrobianos se clasifican por su mecanismo de acción para destruir al microorganismo, ya sea interfiriendo en la síntesis de pared celular, inhibir síntesis de proteínas, inhibir síntesis de ácidos nucleicos o inhibir una ruta metabólica. Los métodos de acción ya sean contra bacteria Gram-positivas como Gram-negativas son muy similares.

- **Interferencia con la síntesis de pared celular:** Los agentes que interfieren con la síntesis de pared celular bloquean la síntesis de peptidoglucano siendo estos de esta manera bactericidas al producir una pared celular débil provocando lisis y la salida de componentes citoplasmáticos. Un ejemplo claro es el mecanismo de acción de las B-lactamasas, las cuales entran por los canales porínicos de la membrana externa para luego unirse a las PBPs que son enzimas necesarias para la síntesis de pared celular, ubicadas en la superficie de la membrana citoplasmática y bloquean su función
- **Interferencia con la membrana citoplasmática:** las moléculas de polimixina B difunden hacia la membrana citoplasmática uniéndose a ella y la desestabilizan, causando derrame del citoplasma al exterior causando la muerte celular.
- **Interferencia con la síntesis de proteínas mediante enlace a la subunidad ribosómica 30S:** en casos como las tetraciclinas se unió a ella y bloquean la adherencia del RNA_t de esta manera no pueden agregarse más cadenas de aminoácidos inhibiendo la formación de proteínas. Los aminoglucósidos pueden bloquear la síntesis de proteínas de dos maneras diferentes ya sea evitando que el ARN_m se adhiera a la subunidad 30S o provocando lectura errada de ARN_m resultando en inserción de aminoácidos erróneos en la proteína.
- **Inhibición de síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad ribosómica 50S:** los antibióticos de la familia de los macrolidos, las lincosamidas y Cloranfenicol pueden adherirse a esta subunidad resultando en la terminación del crecimiento de la cadena proteica e inhibición de síntesis de proteínas.
- **Interferencia en la síntesis de ácido nucleico:** causada por dos tipos de agentes antimicrobianos: las fluoroquinolonas (Ac.nalidíxico, levofloxacin) interfiere en este proceso bloqueando la enzima ADN girasa la cual ayuda a desarrollar el ADN durante su replicación, introduciendo rupturas dobles en las cadenas permitiendo al ADN desarrollarse. Las fluoroquinolonas al interferir en la unión de la ADN girasa con ADN libera estas cadenas de ADN rotas dentro de la célula causando la

muerte celular. La rifampicina se une a la ARN polimerasa dependiente de ADN bloqueando la síntesis de ARN lo que conlleva a la muerte celular.

- **Inhibición de la ruta metabólica del ácido fólico causada por sulfonamidas y trimetoprima:** las sulfonamidas son estructuras análogas del PABA (PABA ácido para-amino benzoico importante precursor de ácido fólicos) compitiendo con este en la unión a la enzima dihidropteroato sintetasa; la trimetoprima actúa en el metabolismo del ácido fólico en un punto posterior que las sulfonamidas inhibiendo la enzima dihidrofolato reductasa. Estas pueden usarse por separado o en conjunto. (J.CAVALIERY, Stephen. 2005. Pág. 3-8)(**anexos 4**)

Resistencia bacteriana contra antibióticos y genética de la resistencia.

Puede ser natural la cual es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. Como en el caso de los Gram-negativos que son resistentes a la vancomicina, y esto no es variable; o puede ser adquirida por una cepa de una especie bacteriana lo cual es variable como en el caso de cepas de neumococo que han adquirido resistencia a la penicilina, cepas de estafilococos resistentes a la metilina, además un aumento en la resistencia a la amikacina, ceftazidima, cefotaxima y ciprofloxacina en bacilos Gram-negativos y muy específicamente a la resistencia al **Imipenem** en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. (GARCIA Fernando, 2001, Acta medica Costarricense, Portal virtual redadic.org)

Las bacterias son capaces de adquirir nuevos mecanismos de resistencia mediante mutación o transferencia de material genético entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extracromosómico (plásmidos). Los **plásmidos y transposones** desempeñan un papel importante en la biología de la mayoría de organismos procariontes y *Acinetobacter sp* no es la excepción. Varios estudios han reportado que 80% de cepas de *Acinetobacter sp* poseen múltiples plásmidos de tamaño molecular variable, otros trabajos reportan problemas en el aislamiento de ADN del

plásmido de *Acinetobacter sp*, aunque sólo en un 40% de estudios la transferencia mediada por plásmidos ha sido demostrada. Los **transposones** probablemente desempeñan un papel importante, en conjunto con integrones, para garantizar que todos los nuevos genes puedan establecerse en un banco de genes nuevos, incluso si los vectores del plásmido que los trasladó son inestables. (Kenneth J. Ryan. 2005 página 247).

La gran mayoría de los mecanismos de resistencia que las bacterias pueden generar por cualquiera de los medios anteriormente mencionados pueden agruparse en tres categorías:

- **Inactivación enzimática:** El principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las B-lactamasas y los B-lactámicos, además pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de amino glucósidos.

- **Modificaciones en el sitio blanco:** para alcanzar este objetivo en la bacteria pueden haber modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, por ejemplo las alteraciones en las PBP (penicilins bendings proteins) de *Streptococcus pneumoniae* que confiere resistencia a penicilina e incluso a ceftriaxona.

- **Alteraciones de la permeabilidad:** se pueden incluir aquí tres tipos.

1. **Alteraciones de las membranas bacterianas:** Se ve fundamentalmente en Gram-negativos, donde la membrana externa de la envoltura celular rica en lípidos es impermeable a las sustancias hidrofílicas. De este modo dichas sustancias quedan confinadas a la penetración a través de proteínas transmembrana con función de porinas. Existen algunas moléculas de antibiótico, como penicilina y vancomicina, que por su tamaño son incapaces de pasar a través de las porinas. La disminución de la expresión de dichas porinas puede disminuir el flujo de llegada del antibiótico al espacio periplásmico, este caso los niveles de resistencia suelen ser insuficientes para conferir

resistencia absoluta. La ocurrencia simultánea de este mecanismo unido a otro, sí puede conferir altos niveles de resistencia y ocasionar fallos terapéuticos.

2. Alteraciones en la entrada de antibióticos dependiente de energía: Como ocurre en la primera etapa de ingreso de los amino glucósidos.

3. Aumento de la salida de antibióticos: La resistencia por eflujo es un mecanismo inespecífico, que afecta a diferentes grupos de antibióticos como los B-lactámicos, quinolonas, tetraciclinas y cloranfenicol. En Gram-negativos estos sistemas en general se encuentran constituidos por tres proteínas: Una de alto peso molecular asociada a la membrana citoplasmática (Mex A, Mex C o Mex E de aproximadamente 110kD); una con función de fusión de ambas membranas (Mex B, Mex D o Mex F de aproximadamente 40 kD) y una porina (Opr M, J o N de aproximadamente 50kD).

Dentro de los múltiples sistemas de flujo que pueden formarse, los más conocidos son:

- Mex AB-Opr M.
- Mex CD-Opr J.
- Mex EF-OprN.

(Vicente M, 1994, Pág. 191-224) **(ANEXO 5)**

Multirresistencia.

Desde 1946 en que aparece la penicilina, se han seguido descubriendo y creando más agentes antimicrobianos para la eliminación de los agentes causantes de infecciones pero a la vez ha ido aumentando la generación de resistencias antimicrobianas en las bacterias, a principios de 1970 las infecciones nosocomiales ocasionadas por *Acinetobacter sp* podían ser tratadas exitosamente con gentamicina, minociclina, à, nalidíxico, ampicilina, carbenicilina o, ya sea como agentes únicos o en combinación con otros antibióticos, pero las tasas de resistencia comenzaron a aumentar y notarse entre 1971 y 1974. Desde 1975, ha mostrado una resistencia cada vez mayor en aislados

clínicos, altas proporciones de las cepas se han vuelto resistentes a antibióticos de tercera generación y de hecho, muchas cepas ahora son resistentes a niveles clínicamente altos para la mayoría de los antibacterianos de uso común incluyendo aminopenicilinas, ureidopenicilinas de reducido espectro (cefalotina) y de espectro extendido cefalosporinas, cefamicinas como cefoxitina, la mayoría de los aminoglucósidos, cloranfenicol y tetraciclinas. En la actualidad existe una crisis en la producción de nuevas moléculas que ayuden al tratamiento de las bacterias multirresistentes. Lo que es muy alarmante. (Kenneth J. Ryan. 2005 Pág. 247).

Con frecuencia las infecciones causadas por microorganismos resistentes no responden al tratamiento ordinario, lo que da lugar a una enfermedad prolongada por lo tanto la tasa de mortalidad en pacientes con infecciones es provocada por bacterias no resistentes. Por la reducción en la eficacia del tratamiento, provocando que los pacientes permanezcan hospitalizados por un período más largo e incrementando el riesgo de infecciones de microorganismos resistentes.

El término microorganismo multirresistente se utiliza para bacterias hospitalarias con resistencia a tres o más familias de antibióticos, a los que habitualmente son sensibles y que son capaces de ocasionar brotes, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Enterococcus sp* resistente a vancomicina, enterobacterias productoras de B-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y no fermentadores como *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a distintos grupos de antimicrobianos. Además, suele calificarse como multirresistentes a bacterias intrínseca o naturalmente resistentes a múltiples antimicrobianos, como *Stenotrophomonas maltophilia* o *Clostridium difficile*. (M. J. LOPEZ-PUEYO, F. BARCENILLA-GAITE y colaboradores, 2011, portal virtual sCielo, revista Medicina intensiva). **(ANEXO 6)**

Generalidades de *Acinetobacter sp.*

Son bacilos Gram-negativos, oxidasa negativos, no fermentadores, no esporulados y aerobios estrictos. Se encuentra ampliamente disperso en la naturaleza, mayormente en

agua y suelo. Se ha aislado en personas sanas a partir de la piel, faringe y otras localizaciones. Se comporta generalmente como especies no virulentas pero, en pacientes críticamente enfermos pueden ser patógenos, los brotes de infecciones asociadas a la atención sanitaria (IAAS) han sido comúnmente asociados con *A. baumannii*, otras especies son muy raras, además de ser un género que parece tener una tendencia a desarrollar resistencia a los antibióticos con gran rapidez, tal vez como consecuencia de su exposición a largo plazo a los antibióticos. Esto está en contraste con las bacterias tradicionales, que parecen requerir más tiempo para adquirir los mecanismos de resistencia tan eficaces que posee *Acinetobacter sp.*

Pueden ser encontradas en objetos animados e inanimados pues crecen en casi todas las muestras de suelos y agua fresca. En el medio hospitalario, estos microorganismos han sido aislados de humidificadores, equipos de ventilación, la piel del personal de salud, colchones, cojines y otros equipamientos. La persistencia de las especies de *Acinetobacter* en las superficies del medio ambiente es su característica más distintiva entre los patógenos causantes de IAAS.

Factores de riesgo

Se consideran generalmente un patógeno humano oportunista que puede presentar un riesgo potencial para causar infecciones severas en pacientes críticamente enfermos, comprometidos inmunológicamente, o que sufren infecciones polimicrobianas como se mencionó anteriormente. Estos microorganismos se asocian a menudo con IAAS y no a infecciones comunitarias. Aunque en algunas zonas se han reportado casos de neumonías adquiridas en la comunidad comúnmente presentes en meses húmedos y cálidos.

La colonización o infección por este microorganismo va a depender principalmente de los factores predisponentes inherentes al hospedero y de los factores de virulencia de la bacteria.

Entre los factores que predisponen a infección por *Acinetobacter* se incluyen:

Pacientes susceptibles, edad, presencia de equipos invasivos (tubo endotraqueal, sonda gástrica y catéteres), largo tiempo de permanencia en el ambiente hospitalario, terapias prolongadas con corticosteroides, ventilación mecánica y terapia antimicrobiana.

Las características que pueden aumentar la virulencia de cepas involucradas en infecciones son: la presencia de un polisacárido capsular formado por L-ramnosa, D-glucosa, D-ácido glucorónico, D-manosa, el cual, probablemente una característica de hidrofilia a la cepa, lo que ayuda a la bacteria a evadir la fagocitosis. La propiedad de adhesión a células epiteliales humanas mediada por la presencia de fimbrias y por el propio polisacárido capsular. La producción de enzimas que pueden dañar tejidos lipídicos, como las enzimas butirato esterasa y caprilato esterasa. El lipopolisacárido de la pared celular y la presencia del lípido A, con un papel potencialmente toxico, además de la producción de limo por parte de algunas cepas de *Acinetobacter sp.*

Acinetobacter baumannii, frecuentemente se encuentra causando neumonía nosocomial sobre todo asociada a la ventilación mecánica, incluyen enfermedad grave, infección o sepsis previa, antibioterapia previa, colonización previa por *Acinetobacter* y estadía prolongada en **Unidad de Cuidados Críticos**. Puede causar otras infecciones incluidas infecciones de la piel y de las heridas, bacteriemia y meningitis, pero *A. Iwoffii* es el principalmente responsable de este última. *A. baumannii* puede sobrevivir en la piel humana o superficies secas por semanas. (RODRIGUEZ-BAÑO J., CISNEROS J.M., VILA J. y colaboradores, 2001, Pág. 119)

Brotos a causa de infecciones asociadas a la atención sanitaria (IAAS)

Se han reportado en distintos países numerosos brotes por IAAS a causa de *Acinetobacter sp*, dichos brotes asociados a la vez a contaminación de equipos de ventilación, colchones, cojines y humidificadores, y al abuso de antimicrobianos específicos. A menudo estos brotes exhiben patrones de múltiple resistencia, lo que hace

muy dificultosa su erradicación en el paciente y el medio ambiente. En los años recientes la incidencia mundial de *Acinetobacter sp*, mayormente *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos ha aumentado paulatinamente. (DIOMEDI P. Alexis, 2005, sCielo, revista chilena volumen 22).

Clasificación y taxonomía de la especie *Acinetobacter*.

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Proteobacteria gamma

Orden: Pseudomonadales

Familia: Moraxellaceae

Género: *Acinetobacter*

Especies: *A. baumannii*, *A. baylyi*, *A. bouvetii*, *A. calcoaceticus*, *A. gernerii*, *A. grimontii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. parvus*, *A. rsadioresistens*, *A. schindleri*, *A. tandoii*, *A. tjernbergiae*, *A. townneri*, *A. ursingii*.

La clasificación del género se subdivide en dos grupos: especies oxidadoras de glucosa (entre las que *A. baumannii* es la especie más frecuente) y especies no oxidadoras de glucosa (entre las que destaca *A. lwoffii*)

Características de cultivo

Son estrictamente aerobias, la temperatura de crecimiento 20°C a 40°C, y su temperatura óptima es de 30-35°C. Las especies del género *Acinetobacter* crecen en medios comunes (Agar sangre y caldo Trypticasa soya), algunas especies como *A. haemolyticus*, tiene la capacidad de crecer a varias temperaturas (30, 37, 41, 44°C).

Aislamiento de bacterias en cultivo puro e identificación bacteriana.

Para poder identificar adecuadamente una bacteria es necesario obtener un crecimiento bacteriano joven, puro y con colonias bien aisladas, esto se logra haciendo uso de medios selectivos que favorezca el crecimiento del microorganismo deseado e inhiba a los otros, además de utilizarse un medio al que se le incorpore una sustancia utilizada por el microorganismo en cuestión y el indicador apropiado que le permita evidenciar su utilización conocido como medio diferencial, la implementación de una batería de pruebas secuenciales y de esta manera poder hacer una distinción adecuada del género y la especie de la bacteria investigada.

Dentro de las pruebas q se pueden utilizar se encuentran:

- **Características macroscópicas:** Morfología de la colonia bacteriana, *A. baumannii* presenta colonias lisas, algunas veces mucoides, su tamaño es comparable con las colonias producidas por enterobacterias, son convexas, de bordes enteros, presentan un color amarillo pálido o blanco grisáceo y mucosas, lactosa negativas a diferencia de las colonias de enterobacterias, también pueden diferenciarse gracias a las características de hemolisis en agar sangre, para este caso la bacteria no presenta hemolisis en agar sangre de carnero. Algunas cepas aisladas del ambiente producen colonias con pigmento marrón.

- **Características microscópicas:** morfología bacteriana, agrupación y coloración obtenidos por métodos de tinción bacteriana como la tinción de Gram (la más utilizada en bacteriología) tinción de Ziehl Neelsen, Giemsa, etc. En el caso de *Acinetobacter baumannii*, esperamos observar los bacilos alargados que al teñirse con los colorantes de la técnica de Gram toman un color rosado que corresponde al colorante de contraste (safranina), característico de una bacteria Gram-negativa observados a través del microscopio de luz. **(ANEXO 7)**

-

- **Medios de cultivo diferenciales que pueden utilizarse para el crecimiento y diferenciación de *Acinetobacter sp*:** Se puede usar medios como el Agar MacConkey que permite el crecimiento bacilos Gram-negativos y a su vez ayuda a diferenciar estos entre sí mismos gracias a la capacidad de utilizar la lactosa como fuente de carbono, por estas características el *Acinetobacter baumannii* crece satisfactoriamente presentando colonias de color amarillo pálido o blanco grisáceo y mantiene el color del medio debido a que no utiliza a la lactosa como fuente de carbono, a diferencia de las enterobacterias que producen colonias color rosado y el medio adquiere ese color también debido a que producen ácido a partir de la utilización de lactosa; el Agar Herellea el cual contiene sales biliares y antibióticos y el medio *Acinetobacter* Leeds a demostrado ser útil para el aislamiento de *Acinetobacter*, en muestras clínicas como ambientales.

- **Pruebas bioquímicas** estas pueden ser: **pruebas rápidas usadas para la identificación preliminar** como la prueba de la catalasa y oxidasa, esperamos que ambas pruebas sean negativas para *Acinetobacter baumannii* diferenciándola de las especies del género *Pseudomonas* que tienden a mostrar una prueba oxidasa positiva y en las pruebas bioquímicas IMVIC y TSI tienen resultados similares exceptuando por la prueba de movilidad la cual la primera no presenta movilidad ambas en TSI evidencia una reacción k/k, sin producción de gas ni H₂S pero el crecimiento macroscópico de la colonia bacteriana en *Pseudomonas* presenta un brillo metálico, el cual *Acinetobacter* no lo posee. **Pruebas rápidas con lectura de menos de 6 horas:** hidrólisis de hipuratos, aminopeptidasas, ureasa e Indol, estas últimas 2 la diferencian de las enterobacterias mas no de las especies del género *Pseudomonas* ya que ambas son citrato negativo, urea negativo e Indol negativos. **Pruebas lentas con lectura de 18-48 horas** como la prueba de Voges-Proskauer, en ambas *Acinetobacter* y *Pseudomonas*, presenta una reacción negativa a diferencia de las enterobacterias, hidrólisis de esculina (prueba utilizada comúnmente para diferenciar al género *Streptococcus* con *Micrococcus*, *Acinetobacter baumannii* posee reacción negativa en esta prueba), coagulasa, DNasa (ambas utilizadas para diferenciar especies del género *Staphylococcus* de *S. aureus*), *A. baumannii* no presenta la enzima coagulasa (**ANEXO 8**) y **Pruebas basadas en características de resistencia ciertas sustancias** como al optoquin negativo para

Acinetobacter, resistencia a bacitracina, solubilidad en bilis utilizada para la diferenciación de cocos Gram-positivos.

También se pueden realizar pruebas comerciales que evalúan la ausencia o presencia de enzimas características de cada género bacteriano ejemplo de estas pruebas serían las pruebas bioquímicas ya sea en tubo o microdiluciones como en el caso del apiC21 que consisten en una serie de celdillas aisladas con sustrato liofilizado que se inoculan individualmente y permite realizar simultáneamente entre 10 y 50 pruebas bioquímicas. El método API 20 NE es muy utilizado y contienen 12 reacciones de asimilación e incluye en su base de datos cinco especies de *Acinetobacter*: *A. baumannii*, *A. haemolyticus*, *A. Iwoffii* y *A. johnsonii-A., junii*.

Existen sistemas comerciales automatizados, los cuales son aparatos que realizan la lectura de unos paneles con sustratos diferentes para la identificación de los microorganismos y cuenta con antibióticos a diversas concentraciones a los que se les inocula una micro dilución de la colonia pura a investigar, para la identificación del microorganismo en estudio y su capacidad para responder a los antibióticos y diversas concentraciones a las que se someterá a prueba y su método de lectura puede variar entre apreciación colorimétrica o de turbidez, entre los sistemas comerciales más extendidos en el mercado pueden mencionarse: **MicroScan, Vitek, ATB, Pasco, Wilder, Phoenix, etc.**

Si se poseen los recursos pueden utilizarse **métodos moleculares** en ausencia de concordancia entre las características observables morfológicas y/o fenotípicas del aislamiento correspondiente de la cepa de la especie y su reacciones bioquímicas presentadas, ya que no todas las cepas de una misma especie presentan una característica específica, una misma cepa puede generar resultados diferentes en ensayos repetidos. Entre estos métodos moleculares se puede mencionar el análisis del **ARNr 16S, ARN 16S-23S, ARNr 23S, rpoB (subunidad beta de la ARN polimerasa), gyrB (subunidad beta de la ADN girasa)**. El método definitivo para identificar los

aislamientos de *Acinetobacter* es el método de **hibridación ADN-ADN**. (RODRIGUEZ CAVALLINI, Evelyn. Y colaboradores. 2005. Pág. 127).

Pruebas de susceptibilidad para evaluar la resistencia de las bacterias contra los antimicrobianos.

Los cuidados que deben de tenerse antes de realizar cualquiera de las pruebas de susceptibilidad son que la colonia a ponerse a prueba debe de estar aislada y ser obtenida de un cultivo puro, debe de tenerse cuidado en la preparación de la dilución a 0.5 de la escala de McFarland, cuidar y mantener todas las medidas de bioseguridad establecidas para evitar contaminación del personal de laboratorio y contaminación de la colonia bacteriana aislada con microorganismos del ambiente o flora humana normal, deberá seguir la técnica paso a paso sin saltarse ni cambiar ninguna de las especificaciones de las pruebas por ser métodos estandarizados. Antes de realizar el antibiograma se debe de haber identificado la bacteria para seleccionar los antibióticos según el CLSI correspondientes para poner a prueba la bacteria. Los métodos que pueden utilizarse en el laboratorio de microbiología para evaluar in vitro la resistencia de las bacterias a los antibióticos se mencionan a continuación:

- **El antibiograma o prueba de susceptibilidad por difusión en agar:** este método permite al médico escoger el antibiótico más adecuado con base científica proporcionada por el laboratorio y evita dar tratamientos inútiles. Los resultados son reportados según su grado de susceptibilidad como **susceptible, intermedio o resistente**. La técnica utilizada y considerada aun en la actualidad como Gold estándar es la técnica de Kirby-Bauer modificada efectuada en agar Mueller-Hinton, aunque es muy útil esta técnica tiene la desventaja de solo poder utilizarse para las siguientes bacterias aeróbicas o facultativas de crecimiento rápido: *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, *Pseudomonas*. Y no para pruebas de susceptibilidad de bacterias fastidiosas como *Haemophilus sp* y *Neisseria sp* en este caso debe hacerse en Mueller-Hinton con 5% de sangre. (TORRES, Miguel F. 1996. Pág. 177) **(ANEXO 9)**

- **Técnica de dilución en caldo o en agar:** determina cuantitativamente la actividad del antimicrobiano in Vitro así mismo se obtiene la concentración inhibitoria mínima (CIM), permite cuantificar hasta qué grado un microorganismo es susceptible a la acción de un antimicrobiano. Puede realizarse en medio líquido o en medio sólido. Es conveniente aclarar que la CIM es de un antimicrobiano para el microorganismo aislado, ya que aún dentro de una especie bacteriana, diferentes cepas presentan diferente susceptibilidad frente a un mismo antimicrobiano. (GARCÍA Rodríguez, José A. 2000. Pág. 18)

- **Épsilon test:** El principio de este método es una expansión de la técnica de difusión en disco. Mediante la lectura directa podemos determinar la CIM, consiste en una tira de plástico no poroso de 6cm de largo y 5mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. El protocolo para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco, inocular la placa, colocar la tira de E-test sobre su superficie, incubar la placa y observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. (GARCÍA Rodríguez, José A. 2000. Pág. 8)

- **Antibiograma automatizado.** Es un sistema automatizado utilizado para la identificación y prueba de susceptibilidad de bacterias y hongos. El utilizado en el Hospital Nacional Rosales es el sistema automatizado Vitek 2 el cual es fabricado por la empresa bioMérieux, utiliza un análisis computarizado que realiza la prueba de susceptibilidad e identificación a través de tarjetas plásticas, utilizando el fundamento que la micro dilución, las tarjetas posee pocillos con concentraciones de sustratos para realización de pruebas bioquímicas de identificación de microorganismos y en el caso de las tarjetas para antibiograma en cada pocillo contienen diferentes concentraciones de antibióticos para realizar la prueba de susceptibilidad utilizando un método de micro dilución y fotometría para realización y lectura de la prueba. Los resultados son enviados al ordenador y deben ser verificados por el personal de laboratorio.

La Forma de reportar los resultados del antibiograma del equipo son de la misma manera que para el antibiograma manual con el método de Kirby-Bauer: Los beneficios que trae para la eficacia del laboratorio este método son:

- Mayor nivel de automatización
- No necesita reactivos adicionales
- Las tarjetas que utiliza son desechables y el equipo es cerrado para una seguridad óptima al usuario.
- Código de barras insertado para mayor trazabilidad
- Resultados se obtienen en el mismo día:
- La tarjeta se lee cinéticamente cada 15 minutos para un tiempo óptimo de obtención de resultados
- Tiempo medio de obtención de resultado entre 6 y 8 horas.

Al momento de encontrarse una bacteria aislada la cual presente resistencia a todos los antibióticos con los que el equipo, se realizar un nuevo aislamiento, se incuban por 24 horas, y luego se realiza la prueba en el equipo nuevamente en su respectiva tarjeta de identificación y antibiograma. Si de nuevo presenta resistencia a los antibióticos de prueba, se realiza una impresión del resultado de la prueba, prepara un nuevo aislamiento para enviar al Laboratorio Nacional de Referencia Dr. Max Bloch un aislamiento joven junto con los resultados, para que de esta manera se le realicen una nueva prueba de sensibilidad con antibióticos que solo ahí se tienen en diferentes concentraciones además de realizársele la prueba con los mismos antibióticos de rutina del laboratorio que refiere la prueba como confirmación de multi-resistencia.

En este laboratorio la prueba de susceptibilidad que se le realiza es el antibiograma manual en Agar Mueller-Hinton con el método de Kirby-Bauer modificado. Luego son enviados los resultados al área de bacteriología del laboratorio el cual refirió la prueba. Todas estas pruebas nunca deberán de pasarse por alto y son consideradas una herramienta muy útil para el control de la propagación y proliferación de agentes infecciosos.

Diseño metodológico.

El tipo de estudio: Es de carácter documental, transversal, retrospectivo y descriptivo.

Población: Pacientes hombres y mujeres hospitalizadas en los servicios de cuidados críticos en el Hospital Nacional Rosales a los que se les ha realizado cultivo provenientes de muestras bronquiales en el periodo de enero a diciembre del año 2012 y enero a diciembre del año 2014.

Unidad de observación: Cultivos bacteriológicos positivos para *Acinetobacter baumannii* obtenidos de muestras bronquiales provenientes de pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos en el periodos de enero de diciembre del año 2012 y enero a diciembre del año 2014.

Variable: Resistencia antimicrobiana obtenida por resultados de pruebas de susceptibilidad realizados en la sección de bacteriología del Hospital Nacional Rosales.

Fuente y obtención de datos: Los datos para la realización de la investigación han sido obtenidos de los archivos de aislamientos bacterianos del Hospital Nacional Rosales, información proporcionada por Lic. Patricia Orellana, jefa del área de bacteriología del hospital. Datos obtenidos por medio del método automatizado Vitek 2 en este Hospital Nacional Rosales y verificado por el Laboratorio de Referencias Dr. Max Bloch.

Los datos son presentados en forma de tabla y gráficos la resistencia de *Acinetobacter baumannii* a los diferentes antibióticos que se administran en el hospital expresado en valores absolutos y porcentuales de aislamientos de esta bacteria y su resistencia con respecto a los aislamientos totales de la misma obtenidos a partir de la muestra antes mencionada, además de agruparlo en los periodos establecidos para la realización del trabajo de investigación. Comparando la evolución de la resistencia hacia los antibióticos a los cuales fue sometido a prueba los aislamientos, siendo estos considerados

comúnmente como eficaces y por tanto utilizados para el tratamiento de IAAS, para luego confrontar los datos obtenidos por año.

Observaciones sobre el procedimiento:

La información que se recolecto es de carácter cuantitativo epidemiológica, sin profundizar en área de farmacología, ni en datos demográficos de los pacientes a los que se les ha practicado el cultivo.

Los datos obtenidos cuentan con un alto grado confiabilidad debido a la disposición del equipo automatizado Vitek 2 que provee cantidades y concentraciones variables de antibióticos y sustratos para la identificación de bacterias, en comparación con un método manual que se ve limitado por la capacidad de las placas de Petri donde se efectúan las pruebas y la disposición de discos impregnados con antibióticos, la probabilidad de un margen de error mayor debido al adiestramiento técnico para su realización, y la disposición limitada de sustratos en las pruebas bioquímicas de identificación.

Para la comparación de los datos obtenidos en los periodos establecidos se realizaron pruebas estadística comparativas las cuales fueron la Chi cuadrada para luego presentar los datos en forma de razones para mostrar a favor de que periodo se evidencie la resistencia obtenida.

Para poder acceder a la información necesaria, se realizó una carta a la dirección del HNR dirigida al Dr. Mauricio Ventura Centeno, pidiendo su autorización para poder realizar la investigación en este centro de atención sanitaria y de esta manera poder acceder a la información necesaria, además se realizó una reunión con la Lic. Claudia Jovel (jefa del laboratorio) y Lic. Patricia Orellana (jefa del área de bacteriología) y para solicitar su colaboración en la investigación, y de esta manera contar con las autorizaciones necesarias para la elaboración del trabajo de graduación el cual es requisitos para proceder con el proceso de graduación requeridos por la Universidad de El Salvador en el año 2015.

Presentación de datos

TABLA 1

Aislamientos de *Acinetobacter baumannii* en muestras de secreciones bronquiales de los pacientes hospitalizados de los servicios de Cuidados Críticos del Hospital Nacional Rosales y resistencia que presentaron en el año 2012

Código del antibiótico	Antibiótico	Valor absoluto de Resistentes	% Resistencia 2012	Valor absoluto de intermedios	% Intermedio 2012	Valor absoluto de susceptibles	% Susceptible 2012
AMP	Ampicilina	120	95.2	6	4.8	0	0
AMC	Amox/Ác clav	99	78.6	17	13.5	10	7.9
CZO	Cefazolina	126	100	0	0	0	0
CRO	Ceftriaxona	126	100	0	0	0	0
FEP	Cefepima	89	70.6	20	15.9	17	13.5
ATM	Aztreonam	122	96.8	1	0.8	3	2.4
IPM	Imipenem	80	63.5	4	3.2	42	33.3
MEM	Meropenem	78	61.9	7	5.6	41	32.5
GEN	Gentamicina	44	34.9	31	24.6	51	40.5
CIP	Ciprofloxacina	108	85.7	3	2.4	15	11.9
LVX	Levofloxacina	110	87.3	0	0	16	12.7
SXT	Trim/Sulfa	108	85.7	0	0	18	14.3
TCY	Tetraciclina	53	42	7	5.6	66	52.4

Fuente: Aislamientos positivos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos en el área de bacteriología de laboratorio del HNR

TABLA 2

Aislamientos de *Acinetobacter baumannii* en muestras de secreciones bronquiales de los pacientes hospitalizados de los servicios de Cuidados Críticos del Hospital Nacional Rosales y resistencia que presentaron en el año 2014

Código del antibiótico	Antibiótico	Valor absoluto de Resistentes	% Resistencia 2014	Valor absoluto de intermedios	% Intermedio 2014	Valor absoluto de susceptibles	% Susceptible 2014
AMP	Ampicilina	187	95.4	6	3	3	1.5
AMC	Amox/Ác clav	168	85.8	14	7	14	7.1
CZO	Cefazolina	196	100	0	0	0	0
CRO	Ceftriaxona	196	100	0	0	0	0
FEP	Cefepima	169	86.2	9	5	18	9.2
ATM	Aztreonam	192	98	1	1	3	1.5
IPM	Imipenem	155	79.1	1	1	40	20.4
MEM	Meropenem	153	78.3	8	4	34	17.6
GEN	Gentamicina	154	78.6	19	10	23	11.7
CIP	Ciprofloxacina	178	90.8	0	0	18	9.2
LVX	Levofloxacina	153	78.1	26	13	17	8.6
SXT	Trim/Sulfa	182	92.9	0	0	14	7.1
TCY	Tetraciclina	123	62.8	11	6	62	31.6

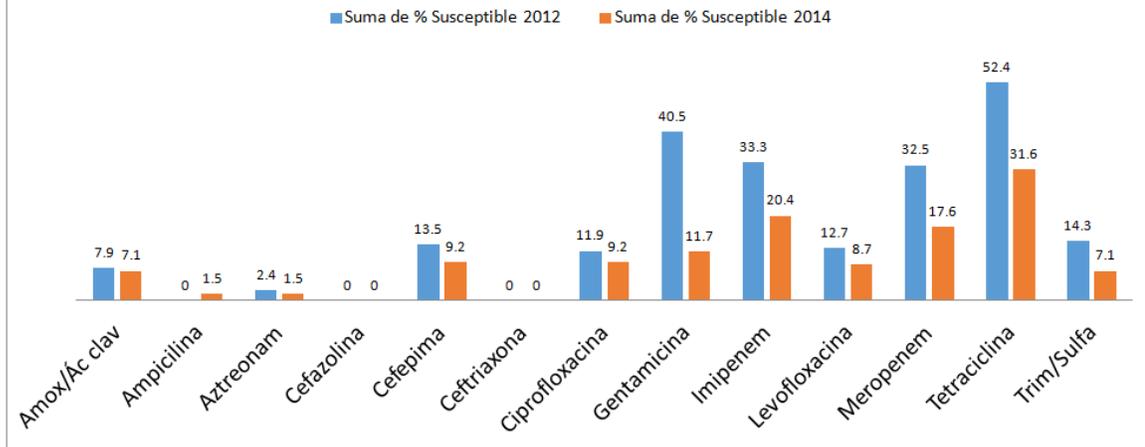
Fuente: Aislamientos positivos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos en el área de bacteriología de laboratorio del HNR

Tabla 3: Tabla comparativa de los datos obtenidos en el antibiograma realizado a los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos de secreción bronquial de pacientes hospitalizados en los servicios de cuidados críticos del Hospital Nacional Rosales en los años 2012 y 2014

Código del antibiótico	Antibiótico	AÑO 2012				AÑO 2014			
		N° aislamientos totales 2012	% Resistencia 2012	% Intermedio 2012	% Susceptible 2012	N° aislamientos totales 2014	% Resistencia 2014	% Intermedio 2014	% Susceptible 2014
AMP	Ampicilina	126	95.2	4.8	0	196	95.4	3.1	1.5
AMC	Amox/Ác clav	126	78.6	13.5	7.9	196	85.8	7.1	7.1
CZO	Cefazolina	126	100	0	0	196	100	0	0
CRO	Ceftriaxona	126	100	0	0	196	100	0	0
FEP	Cefepima	126	70.6	15.9	13.5	196	86.2	4.6	9.2
ATM	Aztreonam	126	96.8	0.8	2.4	196	98	0.5	1.5
IPM	Imipenem	126	63.5	3.2	33.3	196	79.1	0.5	20.4
MEM	Meropenem	126	61.9	5.6	32.5	196	78.3	4.1	17.6
GEN	Gentamicina	126	34.9	24.6	40.5	196	78.6	9.7	11.7
CIP	Ciprofloxacina	126	85.7	2.4	11.9	196	90.8	0	9.2
LVX	Levofloxacina	126	87.3	0	12.7	196	78.1	13.3	8.6
SXT	Trim/Sulfa	126	85.7	0	14.3	196	92.9	0	7.1
TCY	Tetraciclina	126	42	5.6	52.4	196	62.8	5.6	31.6
	TOTAL	322							

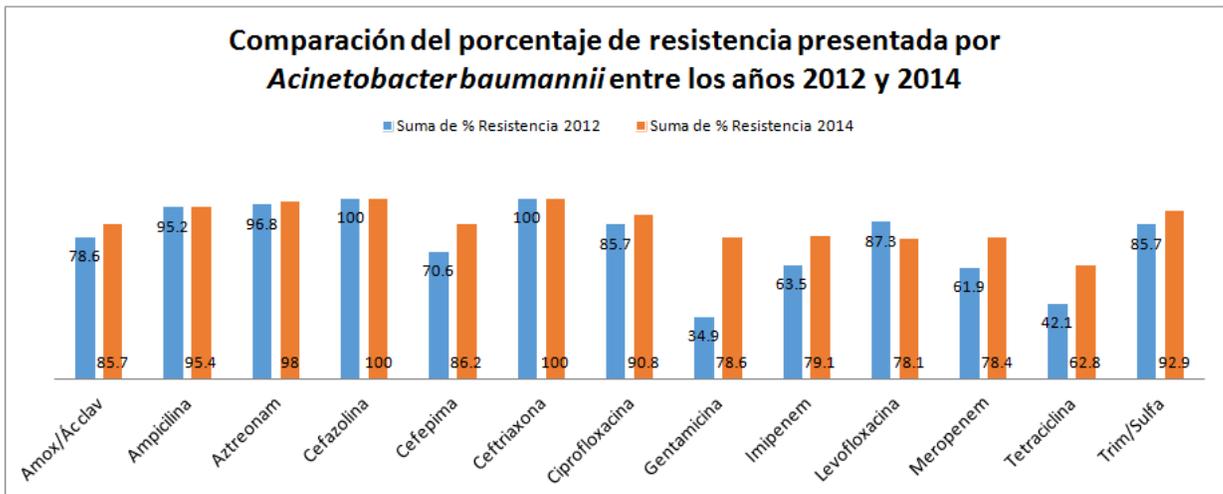
Fuente: Aislamientos positivos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos en el área de bacteriología de laboratorio clínico del HNR

Comparación del porcentaje de susceptibilidad presentado por *Acinetobacter baumannii* entre los años 2012 y 2014



Fuente: Aislamientos positivos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos en el área de bacteriología de laboratorio clínico del HNR

Comparación del porcentaje de resistencia presentada por *Acinetobacter baumannii* entre los años 2012 y 2014



Fuente: Aislamientos positivos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos en el área de bacteriología de laboratorio clínico del HNR

Tabla 4. Demostración estadística de la diferencia de resistencia presentada por *Acinetobacter baumannii* frente a los antibióticos en estudio en el año 2012 y 2014.

Código del antibiótico	Antibiótico	Chi Cuadrada (X ²)	Diferencia estadística significativa
AMP	Ampicilina	0	No
AMC	Amox/Ác clav	2.77	No
CZO	Cefazolina	0	No
CRO	Ceftriaxona	0	No
FEP	Cefepima	11.71	Si
ATM	Aztreonam	0.41	No
IPM	Imipenem	9.45	Si
MEM	Meropenem	9.87	Si
GEN	Gentamicina	61.72	Si
CIP	Ciprofloxacina	2.01	No
LVX	Levofloxacina	4.36	Si
SXT	Trim/Sulfa	4.37	Si
TCY	Tetraciclina	13.24	Si

Fuente: Estadísticos obtenidos a partir de datos proporcionados por el laboratorio clínico del HNR.

Tabla 5. Tabla de resistencia expresadas en razones presentadas en el año 2014 con respecto al año 2012

Código del antibiótico	Antibiótico	Chi Cuadrada (X ²)	Razón de Resistencia	Razón de Intermedio	Razón de Sensibilidad
FEP	Cefepima	11.71	1.22	0.31	0.68
IPM	Imipenem	9.45	1.25	0.01	0.61
MEM	Meropenem	9.87	1.26	0.73	0.54
GEN	Gentamicina	61.72	2.25	0.39	0.29
LVX	Levofloxacina	4.36	0.89	2.33	0.68
SXT	Trim/Sulfa	4.37	1.08	0	0.5
TCY	Tetraciclina	13.24	1.5	1	0.6

Fuente: Estadísticos obtenidos a partir de datos proporcionados por el laboratorio clínico del HNR.

Análisis de datos.

Acinetobacter baumannii es conocido comúnmente como un agente causal de IAAS ya que posee una resistencia natural a ciertos antibiótico y en el transcurso del tiempo ha ido adquiriendo resistencia a antibióticos que comúnmente son utilizados para su tratamiento, provocando un problema grave en la salud de los pacientes, alargando su estadía en el centro de atención, lo que incrementa el costo económico de dicho centro y en el peor de los casos la muerte del paciente.

En la presente investigación tratamos de explicar cómo esta bacteria está causando daño a pacientes hospitalizados en las Unidades de Cuidados Críticos del Hospital Nacional Rosales entre los años 2012 y 2014, dejando un años de diferencia para poder evidenciar de manera más representativa el aumento o disminución de la resistencia a los antibióticos que comúnmente son utilizados en dicho hospital.

En el año 2012 se obtuvieron 126 aislamientos positivos con un promedio de resistencia a antibióticos del 77.06% mientras que en el año 2014 se obtuvieron un total de 196 aislamientos con un promedio de resistencia del 86.62%, sumando un total de 322 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* a partir de secreciones bronquiales, a los cuales se les realizó las pruebas de identificación y antibiograma en el área de bacteriología del Hospital Nacional Rosales, utilizando el sistema automatizado VITEK 2.

La bacteria aislada se expuso a un total de 13 antibióticos distintos con fines de estudio de susceptibilidad y resistencia.

En la Tabla 1 se ven expresados los datos obtenidos mediante el antibiograma realizado a muestras obtenidas en el año 2012. Mientras que en la Tabla 2 se expresan la misma prueba realizada en muestras obtenidas del año 2014 de aislamientos positivos a *Acinetobacter baumannii* de cada año respectivamente, expresados en valores absolutos de aislamientos además de valores relativos.

La interacción mostrada por la bacteria hacia los antibióticos se expresa en ambas tablas como Resistente, Intermedia y Susceptible.

En la gráfica 1 se puede apreciar la diferencia de resistencia que se obtuvo por antibiótico en ambos años y seguido de esta se encuentra la gráfica 2 en la cual se muestra la relación en la disminución o aumento de sensibilidad según sea el caso de la bacteria hacia a cada uno de los antibióticos, ambas graficas creadas con el fin de facilitar el entendimiento de la relación obtenida entre el aumento de resistencia ante la disminución de sensibilidad esperada.

La Tabla 3 expresa los datos de ambos años para facilitar la comparación de los mismos, para este fin, los datos se ven reflejados en valores relativos, de esta manera es más fácil entender la diferencia real que existe entre los aislamientos que mostraron resistencia a los antibióticos y no ser afectada su comprensión debido al tamaño de las muestras en cada año, la cual no es la misma cantidad y puede crear una falsa interpretación de un aumento de resistencia de un año en comparación al otro al utilizar datos absolutos para su comparación. Se observa que en comparación de ambos años la resistencia pareciera aumentar en un 9.53% y al hacer una relación con la disminución del promedio de resistencia que es de 7.38% sumados al 2.15% de disminución en el promedio de resultados intermedios obtenidos corresponden al aumento de resistencia lo que apoya la teoría del aumento de resistencia que está presentando esta bacteria hacia los antibióticos.

En la tablas 1, 2 y 3 puede apreciarse que para los 13 antibióticos la resistencia demostrada excede al 50% a excepción de Tetraciclina y Gentamicina que en la tabla 1 la cual corresponde al 2012, se observa que está por debajo de esta cifra, pero al revisar en la tabla 2 ya se encuentra por arriba del 50% y los otros antibióticos siguen por arriba de esta cantidad y siguen aumentando. Obteniendo un total de 13/13 antibióticos a los que la bacteria muestra una resistencia mayor al 50% de aislamientos resistentes. Al observar este aumento de resistencia aparente, es necesario demostrar si existe o no

diferencia estadística significativa de la resistencia bacteriana que presenta *Acinetobacter baumannii* frente a cada uno de los 13 antibióticos a los que fue sometido en los años 2012 y 2014, se realizó la prueba estadística conocida como Chi Cuadrada. La cual, contó con un nivel de confianza de un 95% y un grado de libertad (3.84), para este fin los datos intermedios no fueron tomados en cuenta ya que no podemos afirmar que en el futuro incrementarían el porcentaje de resistencia, y la diferencia que se pretende priorizar es la de resistentes contra los no resistentes. Los datos obtenidos se ven reflejados en la tabla 4, todo dato obtenido arriba de 3.84 se considerará como dato con una diferencia estadística significativa. Como se puede apreciar en la Tabla 4, de los 13 antibióticos de prueba, la bacteria presentó un cambio de resistencia significativa en 7 de ellos los cuales después de revelarse esto, como se ve en la Tabla 5 se expresa esta diferencia en forma de razones para poder apreciar a favor de que año se inclina la resistencia y la susceptibilidad, en este caso debido a la naturaleza de los datos obtenidos como intermedios y a la incapacidad de predecir si presentara una tendencia a aumentar su resistencia o la susceptibilidad con el pasar del tiempo, como se mencionó anteriormente, se realizan las razones de ellos por separado en la tabla 5, a pesar de que 7 antibióticos mostraron un cambio estadístico en esta tabla se puede observar que no todos ellos tienden a aumentar en la resistencia como se ve en el caso de la Levofloxacina, la cual presentó una disminución de la resistencia de la bacteria de -0.27 casos en el año 2014 por cada caso observado en el año 2012 reflejados en la tabla 5 que es afectado por la existencia de los casos intermedios.

Al comparar la disminución de resistencia y el aumento de susceptibilidad no corresponden en gran medida entre sí debido a la incapacidad de poder predecir la dirección que tomarán los datos intermedios, esto se aprecia en mayor medida en la tabla 3, notando que en el año 2012 no se obtuvo ningún caso intermedio y en el año 2014 se observan 26 casos intermedios reflejando un aumento de 13% afectando la relación existente entre el aumento de resistencia y susceptibilidad entre un año y el otro, dejando como alternativa la vigilancia de estos casos para poder prevenir si pueden virar hacia el aumento de resistencia.

Conclusiones

La resistencia a los antibióticos tuvo un aumento promedio de 9.53% entre el año 2012 y el año 2014, obteniendo una resistencia promedio en el año 2012 de 77.09% y un 86.62% obtenidos en el año 2014, indicando que los antibióticos están perdiendo su eficacia ante la bacteria

La relación en la disminución de susceptibilidad con el aumento de resistencia a los antibióticos por la bacteria tiene una relación inversamente proporcional y se correlacionan los años de comparación.

.

La relación en la disminución de resistencia con el aumento de susceptibilidad que presenta la Levofloxacin se ve afectada por el aumento de casos intermedios.

Siete de los trece antibióticos en estudio tienen una diferencia significativa y seis de ellos tienen una tendencia al aumento de resistencia debido a la mayor exposición con la bacteria.

Por todo el análisis de datos, podemos afirmar que en la investigación, se rechazan las hipótesis de nulas.

Recomendaciones.

Que las autoridades tomen conciencia de la gravedad que está tomando esta bacteria y equipar a la farmacia con antibióticos que no cuenta, los cuales serían de una gran utilidad para el tratamiento de las infecciones que causa.

Incentivar la implementación de antibióticos alternos que puedan ser de utilidad para el control de estas bacterias. Y la capacitación y control de la manera en la cual se están proporcionando los antibióticos de parte de los médicos para los pacientes en estos servicios.

Sugerir una inspección para las condiciones en las que se encuentran las instalaciones y equipos utilizados en estos servicios

Se recomienda mantener un sistema de vigilancia para todos aquellos casos intermedios ya que pueden tener un aumento a la resistencia y así poder tratar de aplicar medidas de control para que estos casos pueda convertirse en sensibles.

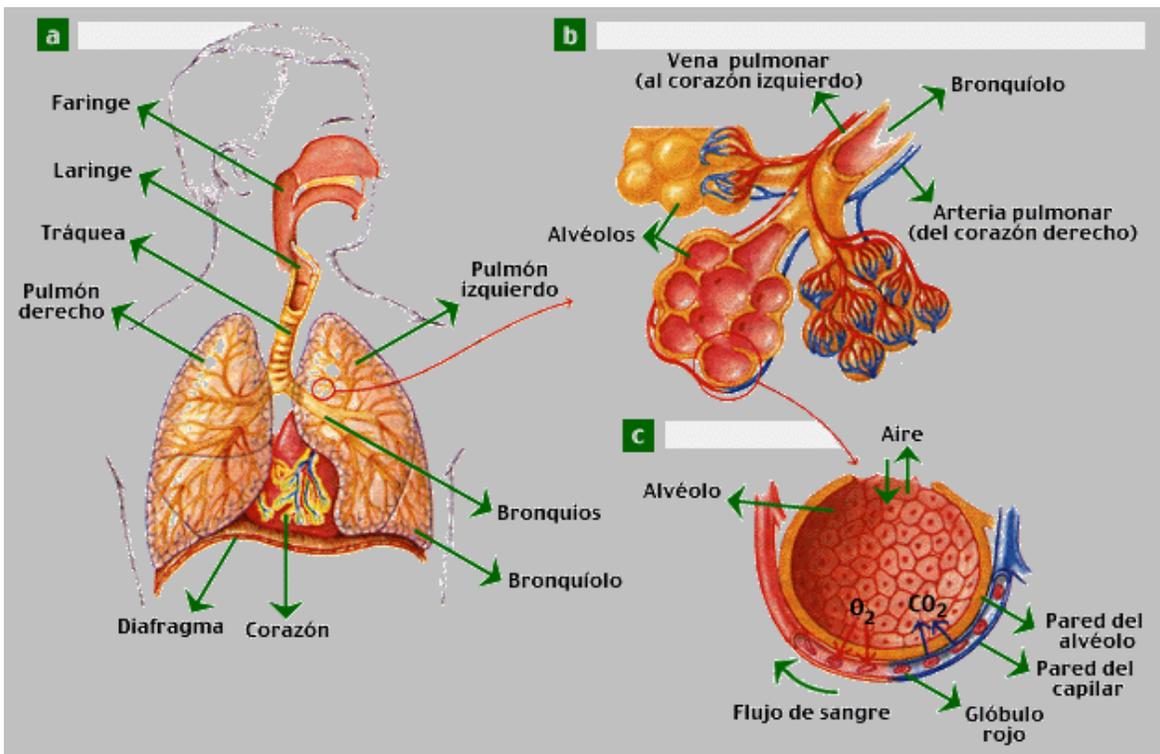
Referencias bibliográficas

- Departamento de Prestación de servicios y Seguridad Sede de la Organización Mundial de la Salud. Oficina Central.
<http://www.who.int/gpsc/5may/global-surveys/es/>.
- DIOMEDI P. Alexis, 2005, Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado, portal virtual sCielo, revista chilena, Volumen. 22, No.4 Santiago
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0716-10182005000600003&script=sci_arttext
- GARCIA Fernando, 2001, Acta medica Costarricense, resistencia bacteriana a antibióticos, Portal virtual redadic.org, red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
- GARCIA, RODRIGUEZ José A., CANTON Rafael. 2000. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Volumen 11. SEIMC. Página 8 y 18
- JAWETZ. MELNICK. ADELBERG. 2010. Medical Microbiologic. Blengo, José R. González, José Luis. Pérez Tamayo, Ana María. Rebatet, Germán A. 25⁰ edición. Mac Gray Hill. Página 107.
- J. CAVALIERI, Stephen. 2005. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Editora coordinadora Marie B. Coyle. American Society for Microbiology. Página 3.
- KONEMAN. Allen. WHIN. 2006 Diagnóstico microbiológico texto y atlas a color. Octavo Giovannelo. María pertiera. Victoriapreciado. 6ta edición. Editorial medica panamericana s.a. Páginas 36, 216.
- M.J. LOPEZ PUEYO, BARCENILLA-GAITE, R.AMAYA-VILLAR, J.GARNACHO-MONTERO, 2011, multirresistencia antibiótica en unidades de críticos, Portal virtual Scielo, revista de medicina intensiva: el enfermo crítico con infección grave, volumen 35, No.1, Barcelona.

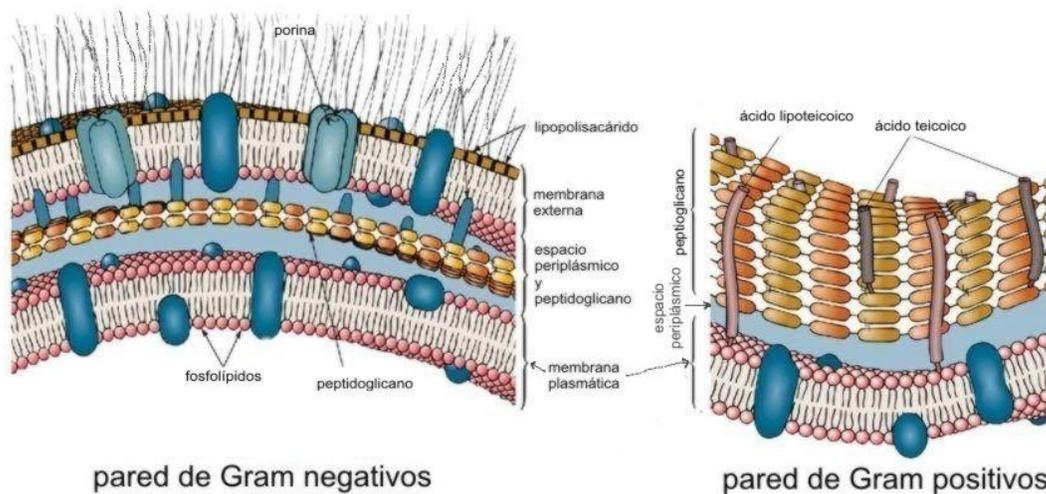
(http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0210-56912011000100008&script=sci_arttext)

- MURRAY R. Patrick. ROSENTHAL, ken S. PFALLER, Michael A. 2009. Medical microbiology. GEA consultoría editorial S.I. 6ª edición. Elsevier Mosby. Página 3, 16, 32.
- OMS. 2012. Resistencia a los antimicrobianos (RAM), nota descriptiva, N°194. (http://www.who.int/drugresistance/surveillance_use/es/).
- RODRIGUEZ-BAÑO J, CISNEROS JM, VILA J, PASCUAL A, MARTINEZ-MARTINEZ L, BOU G, 2001: estudio multicéntrico de la epidemiología de *Acinetobacter baumannii*, X Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), Sevilla 17-20 de Marzo 2002. Pág. 119.
- RODRÍGUEZ CAVALLINI, Evelyn. GAMBOA CORONADO, María del Mar. HERNÁNDEZ CHAVARRIA, Francisco. GARCIA HIDALGO, Jorge Danilo. 2005. Bacteriología general, principios y prácticas de laboratorio. 2005. Editorial universitaria de Costa Rica. Pagina127
- RYAN Kenneth J. / RAY, C. George. CHAMPOUX, drew. 2005. Sherris. Microbiología médica. Cuarta edición. Mc Graw Hill interamericana. Página 195, 213, 231, 237, 245 y 289.
- TORRES, Miguel F. 1996. Manual práctico de bacteriología. Guatemala. Editorial Serviprensa C: A. Página 177.
- TORTORA G. y DERRICKSON, principios de anatomía y fisiología. 11ª edición. Editorial Médica Panamericana. 2006. Pág. 103
- VICENTE M, 1994, Avances en Ingeniería Genética. Series Nuevas Tendencias. Madrid: CSIC, 191-224

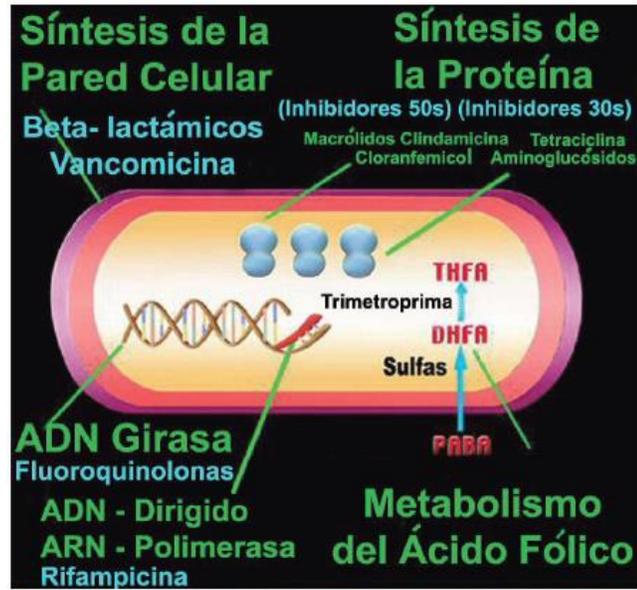
ANEXO 1. Aparato respiratorio e intercambio gaseoso a nivel alveolar.



ANEXO 2. Comparación de pared celular



Anexo 3. Mecanismo de acción de los antibióticos



Anexo 4. Clasificación de antibióticos según mecanismo de acción.

Tabla 1 y 2

Inhiben la síntesis de ácidos nucleicos			
(ADN girasa y ARN polimeras)	Sulfonamidas		sulfadimetoxina
			sulfametazona
			sulfatiazol
			sulfadiazina
	Trimetoprim		trimetoprim
	Quinolonas	1ra generacion	A. nalidixico
			A. oxilico
2da generacion		Difloxacina	
		Levofloxacina	
		Sarafloxacina	
Rifampicina			
Perforan la membrana citoplasmatica			
polipeptidos		Bacitracina	
		Polimixina B	
		Neomicina	

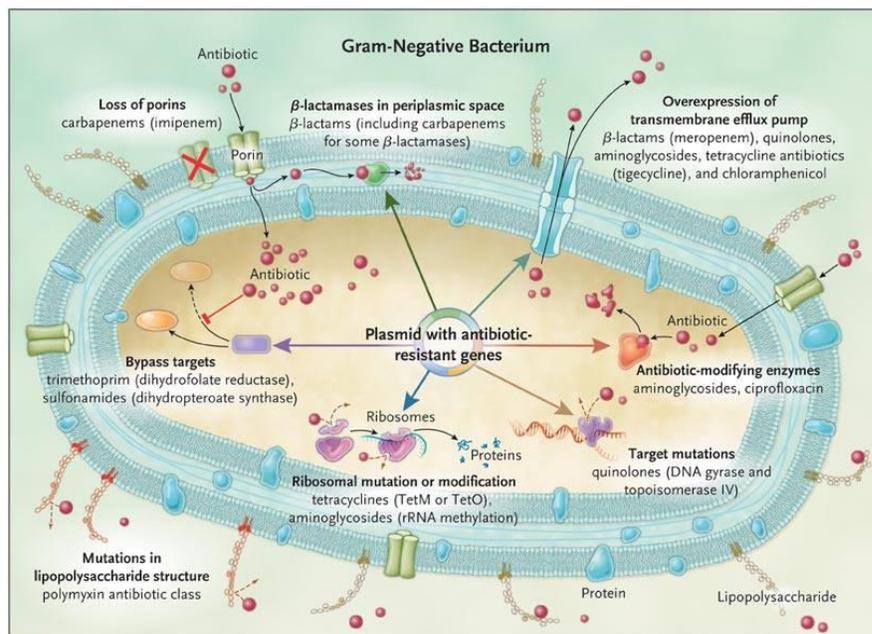
Continuacion anexo 4 (Tabla 3 y 4)

Inhibe síntesis de la pared celular			
B-Lactámicos	Penicilinas	Penicilinas naturales	Penicilina G
			Penetamato
			Ampicilina
			Amoxicilina
		Aminopenicilinas	Amoxicilinas
		Penicilinas resistentes a penicilasas	Oxaciclina
			Cloxaciclina
	Penicilinas de amplio espectro	Ticarcilina	
		Carbencilina	
	Cefalosporinas	1ra generacion	Cefadroxilo
			Cefazolina
		2da generacion	Cefactor
			Cefuroxime
		3ra generacion	Cefixima
			Ceftriaxona
		4ta generacion	Cefepime
			Cefpirome
	Monobactámicos		Aztronam
	Carbapenemes	Clase unica de B-lactámicos con el mayor espectro de accion de este grupo	Imipenem
Meropenem			
Ertapenem			

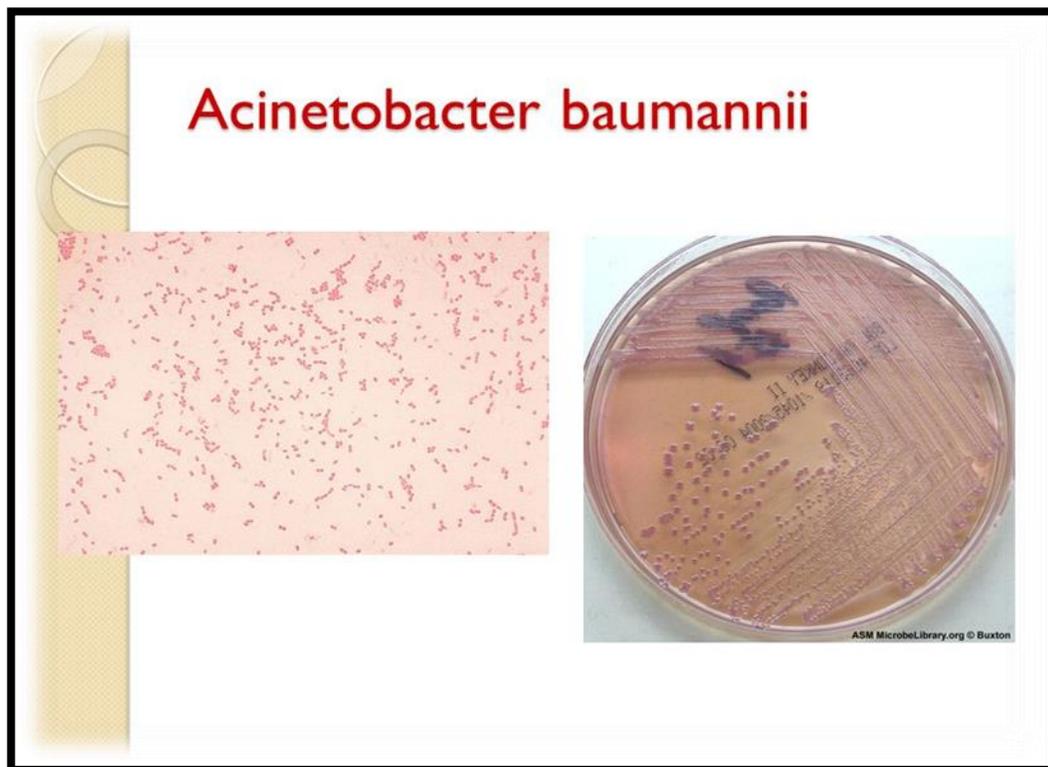
ANEXO 5 Estrategia de célula bacteriana contra los antibióticos



ANEXO 6 respuesta bacteriana aplicada para la defensa contra antibióticos.

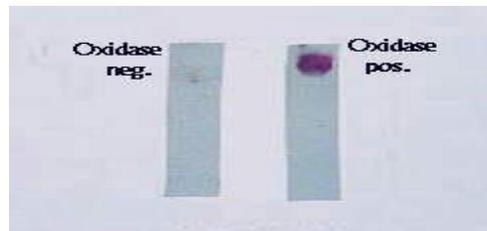
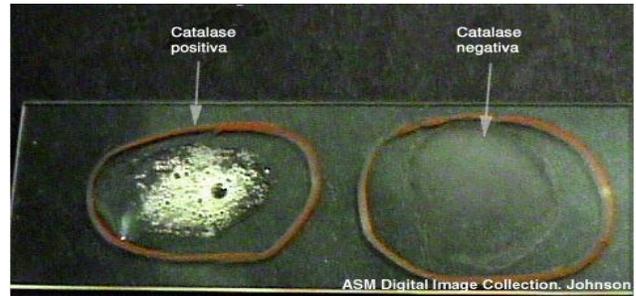


ANEXO 7 Aspecto macroscópico y microscópico de *Acinetobacter baumannii*.



ANEXO 8 Pruebas bioquímicas de identificación.

Pruebas bioquímicas, catalasa y prueba de oxidasa.



ANEXO 9

Preparar el agar Mueller-Hinton según las indicaciones del productor y con las siguientes características:

- 1- Las cajas de Petri de tamaño estándar (100 mm de diámetro), deben llenarse con aproximadamente 25 ml del agar líquido ya autoclaveado, a manera de dar un medio de 4 mm de grueso. Idealmente deben usarse cajas de Petri descartables de plástico, de 150mm de diámetro con la misma profundidad, para poder colocar los discos más separados
- 2- Deben guardarse en la refrigeradora dentro de bolsas plásticas selladas, (de 2 a 8° C), por no más de 7 días.
- 3- El pH del medio debe ser de 7.2 a 7.4. Medir el pH del medio con potenciómetro. Dejar solidificar un poco del medio dentro de un pequeño Baker alrededor del electrodo del aparato. Ajustar si es necesario, antes de autoclavar, con NaOH 1N, o HCl 1N.
- 4- De cada lote de medio, incubar dos cajas por 24 horas a 36° C para comprobar su esterilidad. Descartar estas cajas ya que no son adecuadas para efectuar antibiograma después de ser incubadas.
- 5- Inmediatamente antes de usar el medio Mueller-Hinton, secarlo a 36° C. Colocar las cajas en la incubadora por 20 minutos con el medio arriba y la tapadera ligeramente abierta.

Almacenaje de discos con antibióticos

Para que el procedimiento proporcione datos con verdadera correlación clínica, en primer lugar debe tomarse la siguiente precaución para el almacenaje de los discos de papel impregnados con los diferentes antibióticos, que se obtienen comercialmente. Almacenar los discos de acuerdo con las siguientes instrucciones, para que no pierdan su potencia:

- 1- Congelar (idealmente a -20°C) los discos de penicilina, ampicilina, carbenicilina y cefalosporinas. Descongelar periódicamente sólo los discos que serán usados durante la semana. Descongelarlos por lo menos dos horas antes de usarse.
- 2- Los discos del resto de antibióticos pueden almacenarse refrigerados sin congelación. De preferencia con una pastilla desecante.
- 3- Si se usan los cartuchos de discos montados en dispensador, introducir dos pastillas desecantes de las que vienen con los discos y cerrar bien después de usar.

PROCEDIMIENTO:

Efectuar el antibiograma así:

- 1- Con el asa flameada y fría tomar 4 a 5 colonias bien aisladas y de igual morfología del cultivo original en cualquier medio sólido. Debe trasladarse siempre un cultivo puro.
- 2- Inocular un tubo con 4 ml de caldo tripticasa soya o caldo infusión de cerebro y corazón (BHI).
- 3- Incubar el caldo de 2 a 5 horas a 36°C , hasta que aparezca una ligera turbidez.
- 4- Ajustar la turbidez del caldo a la turbidez del estándar de MacFarland 0.5. Si el caldo es más turbio que el estándar agregarle más caldo o solución salina estéril. Comparar ambos tubos (muestra y estándar) con buena luz y frente a un fondo blanco con una línea negra para evaluar visualmente la turbidez. Preparar el estándar 0.5 de MacFarland así: mezclar 0.5 ml de cloruro de bario 0.048 M (1.175 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en balón de 100 ml, aforar con agua destilada), más 99.5 ml de ácido sulfúrico 0.36 N (1 ml de H_2SO_4 en balón de 100 ml, aforar con agua destilada). Llenar tubos que cierren bien, sellarlos, guardarlos en la oscuridad con fecha. Hacer nuevo estándar cada 6 meses.
- 5- Antes de quince minutos de diluidos los caldos, inocular la caja pre secada de agar Mueller-Hinton así: introducir un hisopo estéril en el caldo de turbidez igual

al estándar; exprimir bien el hisopo presionándolo firmemente contra las paredes del tubo, arriba del nivel del caldo.

- 6- Con el hisopo exprimido sembrar la caja en tres direcciones opuestas sobre toda la superficie, cerca del mechero encendido. En caso de urgencia puede sembrarse la prueba con la muestra directa, sólo si el frotis teñido en Gram revela una sola clase de bacteria (LCR o secreciones varias), pero esto debe evitarse y considerarse preliminar.
- 7- Dejar secar la caja de 3 a 5 minutos, pero no más de 15 minutos, con la tapadera cerrada.
- 8- Con pinzas estériles o dispensador especial, colocar los discos impregnados de antibióticos a manera de que queden lo más separados entre sí que sea posible. Con las pinzas flameadas y frías presionar los discos ya colocados para adherirlos bien al medio de cultivo. Escoger los antibióticos a colocar dependiendo de la bacteria estudiada, según el listado básico actualizado de cada laboratorio y de acuerdo con los listados oficiales del NCCLS (1995). Es preferible usar discos comerciales y no los obsequiados por el productor del antibiótico. Al recibir discos obsequiados por el productor del antibiótico, debe verificarse que éstos sean elaborados por una compañía especializada (por ejemplo: DIFCO o BBL), y no por la misma compañía productora del antibiótico.
- 9- Invertir las cajas e incubarlas por 16 a 18 horas a 36° C, nunca usar jarro con candela (excepto para *Haemophilus sp.* y *Neisseria sp.*)

Fig. 12 MARCHA BACTERIOLÓGICA PARA ANTIBIOGRAMA

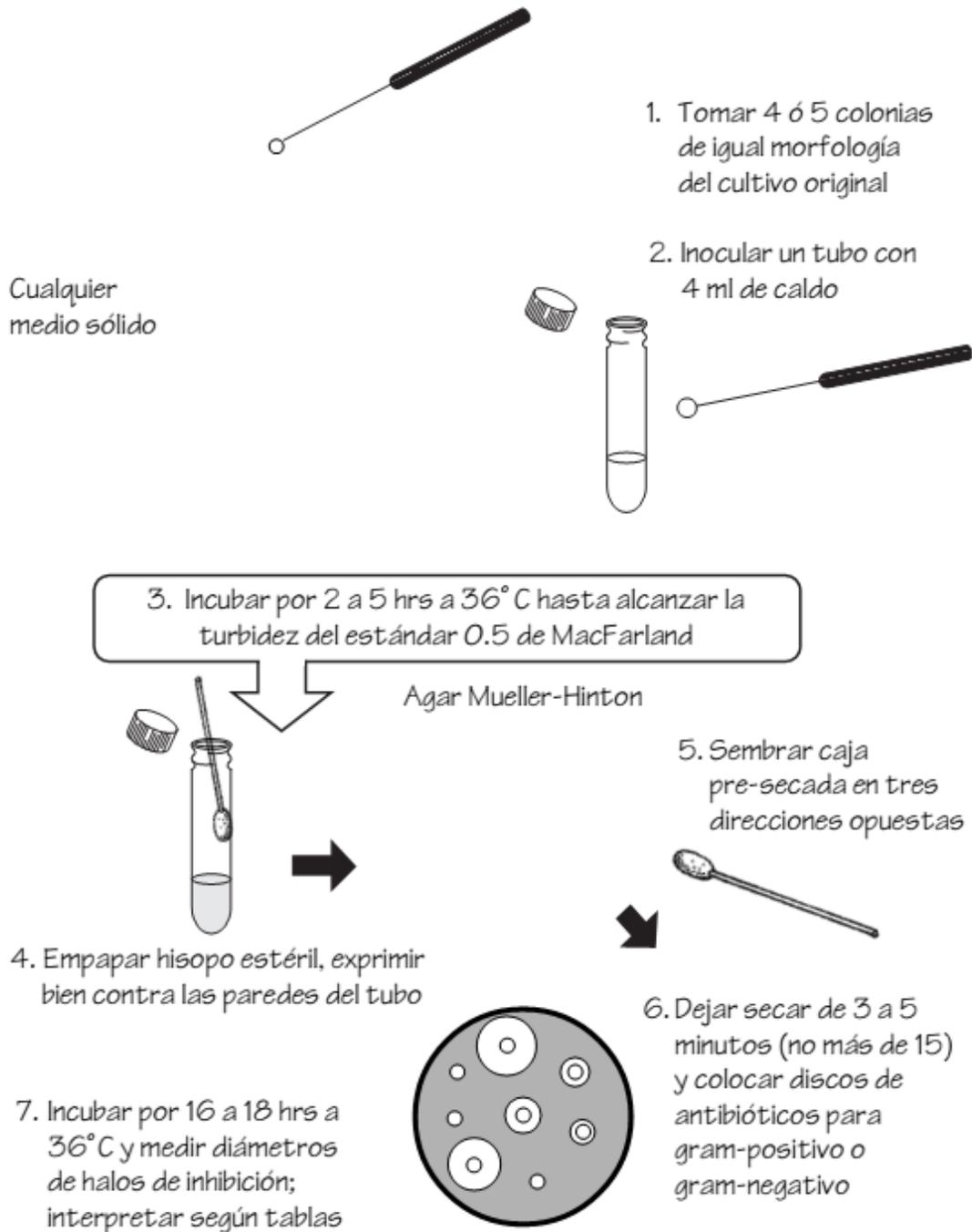


Tabla de antibióticos recomendados para las pruebas de antibiogram según Manual de bacteriología de Torres

	ENTEROBACTERIA	<i>P. aeruginosas</i> Y otros bacilos gram-negativo facultativos no de la familia Enterobacteriaceae	<i>Staphylococcus sp</i>
grupo A	Ampicilina	Metoxilina	Penicilina
	Cefazolina	Ticarciclina	Oxaciclina
	Ceflotina	Piperaciclina	Meticiclina
grupo B	Metoxilina	Ticarciclina/A.clav	Azitromicina
	Ticarciclina	Cefoperazona	Vancomicina
	Ampicilina/Sulbactam	Aztreonam	Clindamicina
	Ticarciclina/A.clavulonico	Imipenem	Claritromicina
	Cefmetazol	Amikacina	Eritromicina
	Cefoperazona	Tobramicina	Trim/Sulfa
	Cefotetan	Ciprofloxacina	
	Imipenem	Trim/Sulfa	
	Amikacina		
	Lamefloxa/norfloxa/ofloxacina		

Antibióticos sugeridos para pruebas de antibiograma para grupos no fastidiosos

	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>P. aeruginosa</i> Y otros bacilos gram-negativo facultativos no de la familia Enterobacteriaceae	<i>Stenophomonas maltophilia</i>
Grupo A test primario y reporte	Ampicilina	Ceftiazidime	Trim/Sulfa
	Ceftazidime	Gentamicina	
	Ciprofloxacín	Tobramicina	
	Levofloxacín	Piperaciclina	
	Doripenem		
	Imipenem		
	Meropenem		
	Gentamicina		
	Tobramicina		
Grupo B test primario y Reporte selectivo	Amikacina	Amikacina	Ceftacídime
	Piperaciclina-tazobactam	Aztreonam	Chloranphenicol
	Ticarciclina-Clavulanate	Cefepime	Levofloxacina
	Cefepime	Ciprofloxacina	Minocycline
	Cefotaxime	Levofloxacina	Ticarciclin-cluvalanate
	Ceftriaxone	Imipenem	Trim/Sulfa
	Doxiciclina	Meropenem	
	Minociclina	Piperaciclina-tazobactam	
	Piperaciclina	Ticarciclin-clavulanate	
	Trim/sulfametoxazol	Trim/sulfametoxazol	
Grupo C Suplemental Report selectivity		Cefotaxime	
		ceftriaxona	
		Chloranphenicol	
Grupo D suplementario solo para orina		Lomefloxacín	
		Norfloxacina	
		Sulfisoxazole	
		Tetracycline	

Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute.