

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA**  
**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD**

**“Luis Felipe Moncada “**

**UNAN- MANAGUA**



**Trabajo monográfico para optar al Título de:**

Licenciatura en Microbiología

**TEMA:**

**CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A CARBAPENEMES PROCEDENTES DE LA RED NICARAGÜENSE PARA LA VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, NICARAGUA, ENERO DEL 2014 - DICIEMBRE DEL 2016.**

**Autores**

Br. Fransisco José Caldera Gutiérrez

Br. Douglas Alexander Robles Cortes

**Tutor:**

Julissa Ávila Acuña.

Lic. Bioanálisis Clínico.

**Asesor Metodológico:**

Lic. Roberto Enrique Flores.

Docente, UNAN-Managua.

Managua, Nicaragua, Marzo del 2017

**Agradecemos a:**

*Dios, por su infinito amor y brindar la vida. Todos los docentes que compartieron sus conocimientos, especialmente a Lic. Julissa Ávila, Lic. Lissette Sandoval y Lic. Roberto Flores.*

*Al departamento de Bacteriología (CNDR), por abrirnos sus puertas y permitir procesar las cepas en sus instalaciones; y a los laboratorios de la Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos, por su colaboración en la recolección de datos.*

## **Dedicado a:**

*Dios por brindarme la vida, la sabiduría y la paciencia para poder llegar a este punto tan importante para nosotros.*

*Mis padres Juana Isabel Gutiérrez Ramos y José Francisco Caldera Rugama por los valores inculcados en mí, y todos los consejos que a lo largo de estos cinco años de aventura, han formado parte de mi día a día.*

*Mis amigos de la universidad, a los que quiero y considero como parte de mi familia; sin sus ánimos y ayuda en esos momentos en los cuales mis padres no estaban cerca, esto no hubiera sido posible.*

*-Fransisco J. Caldera.*

*Dios, creador de todo, razón de mi existencia, por su infinita fidelidad al concederme concluir esta etapa de mis estudios.*

*Mis padres, Douglas Robles & Déborah Cortés y mi abuelita Esperanza Castillo, por su ejemplo y apoyo incomparable.*

*Natán Esaú Robles Cortés, mi hermano, por animarme y ser un ejemplo de dedicación.*

*-Douglas A. Robles.*

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar fenotípicamente bacilos gram negativo resistentes a carbapenemes procedentes de la Red Nicaragüense para la Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, Nicaragua, enero del 2014 – diciembre del 2016. El estudio fue retro prospectivo de corte transversal, en el cual se estudiaron 195 cepas de bacilos gram negativos, con halos menores o iguales a 21mm a Imipenem. La investigación se llevó a cabo en 2 fases: En la primera, se recolectó de los libros de registro del CNDR la información de las cepas del 2014 – 2015, para el estudio de géneros, especies, perfil de susceptibilidad, Test de Hodge Tritón, sinergias con EDTA y APB; y en la segunda fase, se les realizó las pruebas bioquímicas, antibiogramas, sinergismo y THT a las cepas del 2016; en donde 68 eran *A. baumannii*, 62 *P. aeruginosa* y 65 enterobacterias. En el caso de las enterobacterias, el microorganismo que predominó fue *K pneumoniae* con 45 aislamientos. Las enterobacterias presentaron una resistencia del 100% a casi todos los betalactámicos, a excepción de 6 cepas que presentaron sensibilidad a Aztreonam. *P. aeruginosa* tuvo un alto nivel de resistencia a casi todos los antibióticos testados, a excepción de aztreonam, ya que solo 31 cepas fueron resistentes; además, las 62 cepas estudiadas fueron sensibles a colistín. *A. baumannii* fue resistente prácticamente todos los antibióticos probados, exceptuando Minocilina, para el cual 62 cepas presentaron sensibilidad.

Para la prueba de sinergismo con EDTA y APB, 140 cepas tuvieron sinergia con EDTA indicando la producción de carbapenemasas tipo metalo; 9 presentaron sinergismo con APB lo que sugiere la posible producción de enzimas tipo serina; y 46 no tuvieron sinergia con ninguno de los dos inhibidores, lo que indica la posible producción de enzimas OXA. 41 cepas de *A. baumannii* no presentaron sinergia con inhibidores, ya que posiblemente producían enzimas tipo OXA; 57 cepas de *P. aeruginosa* producían metalo enzimas y 56 cepas de enterobacterias eran productoras de posibles serino enzimas. En el Test de Hodge Tritón, de las 140 que presentaron sinergia con EDTA fueron Hodge positivo; de las 9 que tuvieron sinergia con APB, 8 fueron positivas, sin embargo 1 resultó negativo, lo que descarta la presencia de carbapenemasa en esa cepa; y para las 46 cepas que no presentaron inhibición 37 resultaron positivas al test y 9 fueron negativas.

## ÍNDICE

1. <b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
2. <b>ANTECEDENTES</b> .....	2
3. <b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	5
4. <b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	6
5. <b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	7
6. <b>MARCO TEÓRICO</b> .....	8
6.1. <b>Bacilos Gram Negativo</b> .....	8
6.1.1. Enterobacterias .....	8
6.1.2. No fermentadores .....	9
6.1.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	9
6.1.2.2. <i>A. baumannii</i> .....	10
6.2. <b>Antimicrobianos</b> .....	10
6.2.1. Betalactámicos .....	11
6.2.2. Tetraciclinas .....	12
6.2.3. Quinolonas .....	13
6.2.4. Sulfonamidas .....	14
6.2.5. Trimetroprima .....	15
6.2.6. Cloranfenicol .....	15
6.2.7. Nitrofurantoína .....	16
6.2.8. Polimixinas .....	16
6.3. <b>Antibiograma</b> .....	17
6.3.1. Difusión en disco .....	17
6.3.2. Resistencia a los antimicrobianos .....	18
6.4. <b>Betalactamasas</b> .....	24
6.4.1. Clasificación de las betalactamasas .....	24

6.4.1.1 Carbapenemasas .....	25
<b>6.5. Métodos fenotípicos para la identificación de Carbapenemasas .....</b>	<b>27</b>
6.5.1. Test de Hodge Modificado.....	27
6.5.2. Inhibición por EDTA .....	27
6.5.3. Inhibición por APB .....	28
<b>7. DISEÑO METODOLÓGICO.....</b>	<b>29</b>
<b>8. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....</b>	<b>33</b>
<b>9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
<b>10. CONCLUSIONES.....</b>	<b>54</b>
<b>11. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>57</b>
<b>13. ANEXOS</b>	

## **1. INTRODUCCIÓN**

Las carbapenemasas son enzimas pertenecientes a la familia de las  $\beta$ -lactamasas, las cuales, al ser producidas por las bacterias, confieren resistencia clínicamente significativa a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos (Penicilinas, Cefalosporinas y Carbapenémicos), éstas pueden ser producidas por algunas de las especies bacterianas con más importancia clínica, sobre todo asociadas a infección nosocomial (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*), que pueden llevar hasta la complicación de las alternativas terapéuticas (Rodríguez, 2013).

La presencia de carbapenemasas son un serio problema en el área de salud pública, en enterobacterias y bacilos gram negativos no fermentadores. El presente estudio tiene como objetivo describir ciertos mecanismos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos, haciendo énfasis en géneros y especies, producción de carbapenemasas, su clasificación y la caracterización fenotípica realizada a cepas resistentes a carbapenemes, remitidas al Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR), procedentes de los diferentes laboratorios pertenecientes a la Red nicaragüense para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos entre enero del 2014 a diciembre del 2016, con la finalidad de presentar una panorámica de esta problemática en Nicaragua en el período antes mencionado.

Los resultados del estudio fueron obtenidos para las cepas del 2014 – 2015, a través de la revisión de libros de registro; y para las del 2016, los resultados se obtuvieron por medio de pruebas bioquímicas, para la identificación de género y especie, Kirby-Bauer, para determinar el perfil de susceptibilidad de las cepas; Ácido Fenil Borónico (APB) y Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA) para la clasificación fenotípica de carbapenemasas; y el test de Hodge más tritón (THT), como método complementario para la caracterización fenotípica de las enzimas anteriormente mencionadas.

## 2. ANTECEDENTES

Calvo et al., en País Vasco, en el año 1999, llevaron a cabo la detección de carbapenemasas en aislamientos de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem recogidos durante 19 meses en un hospital del Servicio de Salud, y la caracterización genética de los clones, en donde fueron resistentes a Imipenem 76 aislamientos y, de ellos, 49 lo eran a todos los betalactámicos ensayados. Las técnicas de tipificación genética mostraron la presencia de tres genotipos predominantes denominados I (9 aislamientos), II (48 aislamientos) y III (8 aislamientos). El test de Hodge mostró positividad en 45 cepas del genotipo II, 8 del I y 7 del III. El test de EDTA resultó positivo en 8 aislamientos del genotipo II, 4 del I, y 3 del III. Mediante E-test, 7 cepas mostraron resultado positivo (45% de los casos positivos por el ensayo con EDTA).

Anzola et al., en la ciudad de Caracas, Venezuela, durante el 2008, realizaron la detección de carbapenemasas tipo OXA en 60 cepas aisladas de *Acinetobacter baumannii* de diferentes centros hospitalarios, en el cual se llevó a cabo la detección de la producción de carbapenemasas mediante el test de Hodge usando un disco de imipenem 10 µg. El 91,8% de los aislados de *A. baumannii* mostraron un resultado positivo en el test de Hodge. En el ensayo para la detección de metalo-betalactamasas el 100% de las cepas presentaron un resultado negativo. Los genes que codifican para las carbapenemasas tipo OXA se detectaron en 96,6% de los aislados. En el 93,4% de los aislados se detectó blaOXA-23-like. El gen blaOXA-58-like se detectó en el 6,6% de los aislados, del cual un 3,3% se halló en cepas con sensibilidad disminuida a carbapenémicos y otro 3,3% en aislados con resistencia a carbapenémicos y en coexistencia con blaOXA-23-like. Con respecto a la detección molecular de metalo-betalactamasas no se observó producto.

Álvarez et al., en Bogotá, entre los años 2008 y 2010, realizaron un trabajo para describir la diseminación de aislamientos clínicos de *K. pneumoniae* productores de la enzima KPC-3 recuperados en hospitales de la ciudad, en el cual se analizaron 82 aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a antibióticos carbapenémicos. En todos los aislamientos se observó amplificación con el iniciador para KPC, confirmándose posterior-mente la variante KPC-3 por ensayo de restricción en la totalidad de los aislamientos; Todos los aislamientos fueron positivos para blaTEM, 96 % fue positivo para blaSHV

y tres aislamientos fueron positivos para CTX-M (dos aislamientos del filo-grupo CTX-M-1 y un aislamiento del CTX-M-2).

Aguilar et al., Venezuela, en el período de mayo del 2010 a junio del 2011, realizaron una investigación acerca de la presencia de carbapenemasas tipo KPC en aislados de Enterobacterias resistentes a carbapenemes, provenientes de diversos centros de salud a nivel nacional. En esta investigación se analizaron 91 aislados de Enterobacterias. El 95% resultaron positivos para el test de Hodge modificado, el test con ácido borónico, y para el gen blaKPC. En el test de Hodge “doble modificado” se observó 100 % de positividad.

Ávila, J., Nicaragua, durante el 2012, realizó la caracterización fenotípica y genotípica de enterobacterias productoras de carbapenemasas tipo KPC en 8 hospitales de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los antimicrobianos, en el cual se estudiaron 47 aislados y se confirmó la presencia del gen blaKPC en 33 cepas de las cuales 27(82%) fueron *Klebsiella pneumoniae* y 6 (18%) *Escherichia coli*. Al realizar la búsqueda de la clonalidad las 27 cepas de *Klebsiella pneumoniae* presentaron 13 clones, 7 (K), 3(B), 4(G) en esta se incluyen dos subtipos G1, 3(I) subgrupo (II), 2(M), 1(A, C, D, E, F, H, J y L). En las 6 cepas de *Escherichia coli* se encontró 4(A) y 2 clon (B).

Delpiano et al., En Chile, para el 2012 realizaron la descripción del primer caso clínico de identificación de *K. pneumoniae* portadora de blaKPC, en un paciente trasladado de Italia. Por reacción de polimerasa en cadena se demostró la presencia de  $\beta$ -lactamasas tipo TEM, SHV y KPC-2/KPC-3, no detectándose la presencia de otras serino-carbapenemasas de clase A o de metalo- $\beta$ - lactamasas.

Duarte, González, Realpe y Saavedra, en Colombia, durante el 2013, trabajaron en un estudio para describir la presencia de carbapenemasas en aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos procedentes de siete departamentos del país, en el cual se recibieron 57 aislamientos de *P. aeruginosa* en el Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud. Sólo se confirmaron 43 aislamientos productores de carbapenemasas, y estos presentaron perfil de multirresistencia: 76,7 % fue positivo con el test modificado de Hodge y 79,1 % presentó sinergia con MBL. Treinta y tres aislamientos fueron positivos para blaVIM, nueve para blaKPC y un aislamiento fue productor tanto de carbapenemasas KPC como de VIM. Ningún aislamiento amplificó para blaIMP y blaNDM.

Candiotti et al., en su trabajo realizado en Perú, en el año 2013, obtuvieron resultados positivos tanto para el test de Hodge como el test de sinergia con ácido amino fenil borónico en el estudio del primer caso de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas tipo KPC. Los resultados fueron compatibles con la presencia de una carbapenemasa tipo KPC en la cepa de *K. pneumoniae*.

Garrido Ortega, en Guatemala, durante el 2014, llevó a cabo una investigación para determinar la presencia de carbapenemasas, además de determinar su fenotipo en 62 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* resistentes a carbapenemes provenientes del Hospital General San Juan de Dios. Se encontraron 14 (23%) aislamientos de *Klebsiella spp.* con presencia de carbapenemasas, de los cuales 13 (93%) productores de carbapenemasa tipo MBL y 1 (7%) productor de carbapenemasa tipo KPC. De éstos, la única especie del género *Klebsiella* que se identificó fue *K. pneumoniae*. De *E. coli* no se obtuvo ningún aislamiento con presencia de carbapenemasas.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Las enzimas degradantes de antibióticos se han convertido en la actualidad, en uno de los principales mecanismos de resistencia. Los genes productores de carbapenemasas con su gran capacidad de diseminación entre géneros y especies bacterianas; y la amplia acción que tienen sobre los betalactámicos, han convertido en algo alarmante el tema de la resistencia a antimicrobianos, en Nicaragua y el mundo entero.

Nuestro país no cuenta con una recopilación de información actualizada y oficial procedente del Ministerio de Salud, acerca del comportamiento de los mecanismos de resistencia a los carbapenemes y cómo han evolucionado los efectos de éstas a nivel de infecciones en el área de salud pública, durante los últimos tres años; por tal razón decidimos realizar la caracterización de bacilos gram negativos resistentes a carbapenemes, procedentes de la red nicaragüense para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, en Nicaragua, entre enero del 2014 a diciembre del 2016; para así poder contar una panorámica más detallada acerca del comportamiento de los mecanismos de resistencia a carbapenemes, especialmente las carbapenemasas.

Este estudio pretende contribuir a la información oficial y objetiva existente de las cepas resistentes a carbapenemes, en las cepas remitidas al CNDR; la cual servirá para dar a conocer e informar a toda la comunidad médica (Especialistas en el área de salud, Médicos generales, Analistas Clínicos y estudiantes de carreras afines a la salud), acerca de la seria situación y postura actual con la que contamos en estos momentos ante la resistencia, contra prácticamente una de las más importantes líneas de opción terapéutica para bacilos gram negativos con multiresistencia, limitando de forma drástica opciones terapéuticas para los pacientes.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es la caracterización fenotípica de Bacilos Gram Negativos resistentes a carbapenemes procedentes de la red nicaragüense para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016?

¿Qué géneros y especies de bacilos gram negativos son resistentes a carbapenemes?

¿Cuál es el perfil de susceptibilidad en las cepas resistentes a carbapenemes?

¿Cuál es el fenotipo de las carbapenemasas producidas por bacilos gram negativos utilizando Ácido Fenil Borónico y Ácido Etilendiaminotetracético?

¿Cuál es la aplicación del Test de Hodge Tritón al momento de confirmar la producción de carbapenemasas y diferenciarlas de otros tipos de resistencia a carbapenemes?

## **5. OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar fenotípicamente de Bacilos Gram Negativos resistentes a carbapenemes de la red nicaragüense para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir género y especie de los bacilos Gram Negativos resistentes a carbapenemes.
2. Caracterizar el perfil de susceptibilidad en las cepas resistentes a carbapenemes.
3. Clasificar el fenotipo de las carbapenemasas producidas por bacilos Gram negativos utilizando Ácido Fenil Borónico y Ácido Etilendiaminotetraacético.
4. Aplicar el Test de Hodge Tritón para confirmar la producción de carbapenemasas y diferenciarlas de otros tipos de mecanismos de resistencia a los carbapenémicos.

## **6. MARCO TEÓRICO**

### **6.1. Bacilos Gram Negativo**

Entre los microorganismos de importancia médica, los bacilos Gramnegativo constituyen un grupo muy grande de bacterias. Aunque no debe considerarse una clasificación taxonómica, para fines prácticos es conveniente establecer cuatro grupos:

- ✓ Bacilos de crecimiento rápido en medios de cultivo usuales, que fermentan la glucosa (bacilos fermentadores).
- ✓ Bacilos de crecimiento rápido en medios de cultivo usuales que NO fermentan la glucosa (bacilos no fermentadores).
- ✓ Bacilos de crecimiento rápido o lento, que pueden o no fermentar la glucosa, pero que necesitan de condiciones y medios de cultivo especiales para su crecimiento.
- ✓ Bacilos Gram-negativo anaerobios estrictos (Zepeda).

#### **6.1.1. Enterobacterias**

Estas son bacterias en gran parte constituyen parte de la biota normal del intestino y de allí derivan su nombre. Comúnmente se les llama entero bacterias o bacilos entéricos. Estos vocablos no son oficialmente aceptados en taxonomía bacteriana y a veces pueden usarse para designar otros bacilos que aunque no formen parte de la familia mencionada, son miembros de la biota intestinal normal (Zepeda).

La familia Enterobacteriaceae está constituida por bacilos Gram (-); no esporulados, no móviles o móviles por flagelos peritricos, algunos géneros son encapsulados; crecen en medios de cultivo simples de peptona o extracto de carne sin agregado de suplementos como cloruro de sodio, vitaminas y factores de crecimiento. Crecen en Agar MacConkey; son aerobios y anaerobios facultativos; fermentan la glucosa con producción de ácido o ácido y gas, son catalasa positivos y oxidasa negativos\_ reducen nitrato a nitrito y tienen contenido de G+C del 39 - 59% (Damiáni, Esteves, & Torrico).

### 6.1.2. No fermentadores

Son bacilos o cocobacilos Gram negativos, aerobios estrictos, que no fermentan los hidratos de carbono, y lo utilizan por vía oxidativa, sin formación de gas. Generalmente son oxidasa positiva, pueden ser inmóviles o móviles, presentar flagelos polares, bipolares, lofotricos o peritricos.

Alrededor del 15% de los bacilos Gram negativos aislados de muestras clínicas corresponde a bacilos no fermentadores y de este porcentaje, *P. aeruginosa*, *P. stutzeri*, el complejo *A. baumannii-calcoaceticus*, *A. iwoffii*, *S. maltophilia* y *B. cepacia* son las de mayor incidencia. El aislamiento de los otros géneros es menos frecuente, por lo cual presentaremos sólo a los géneros de mayor aislamiento (Torrico, Bacilos Gram negativos no fermentadores: Pseudomonas, Stenotrophomonas, Acinetobacter, Burkholderia).

#### 6.1.2.1. Pseudomonas aeruginosa

*P. aeruginosa* es un bacilo aerobio, móvil, gramnegativo que es más delgado y más pálido a la tinción que otras enterobacterias. Su característica bacteriológica más notable es la producción de pigmentos hidrosolubles de color. *P. aeruginosa* también muestra resistencia a los antimicrobianos de manera más consistente que todas las demás bacterias de importancia médica.

*P. aeruginosa* es lo suficientemente versátil en cuanto a sus necesidades energéticas y de crecimiento como para utilizar moléculas simples como amoníaco y dióxido de carbono como sus únicas fuentes de nitrógeno y carbono. Así, no se requiere de medios enriquecidos para su cultivo y puede sobrevivir y multiplicarse en un amplio intervalo de temperatura (20 a 42 °C) en casi cualquier ambiente, lo que incluye entornos ricos en sales. El microorganismo utiliza mecanismos productores de energía por oxidación y altas concentraciones de oxidasa de citocromo (positivo para oxidasa).

Aunque es necesaria una atmósfera aeróbica para el crecimiento y metabolismo óptimos, casi todas las cepas crecen con lentitud anaeróbicamente si hay nitrato como aceptor de electrones.

El crecimiento en todos los medios de aislamiento comunes es espectacular; las colonias tienen un borde fino. El crecimiento confluyente a menudo les brinda un brillo metálico característico y emite un intenso olor “afrutado”. En medios de cultivo, con la agar sangre por lo común produce hemólisis. La

reacción positiva para la oxidasa de *P. aeruginosa* la diferencia de otras enterobacterias, y la producción de pigmentos azulosos, amarillentos o pardos la diferencia de la mayor parte de otras bacterias gram negativas. El pigmento azuloso, conocido como piocianina, es producido sólo por *P. aeruginosa*. La fluoresceína es un pigmento amarillento que adquiere un color fluorescente bajo la luz ultravioleta y que es producido por *P. aeruginosa* y por otras bacterias del género *Pseudomonas* menos patógenas y de vida libre. La piocianina y la fluoresceína combinadas producen un color verde brillante que difunde a través del medio de cultivo (Ahmad, Drew, & Plorde, 2011).

#### 6.1.2.2. *A. baumannii*

El género *Acinetobacter* está compuesto por bacterias cocoides o cocobacilos Gram negativos, a menudo se ven como diplococos. Después de 24 horas de crecimiento en agar sangre, las colonias miden entre 0,5 a 2mm de diámetro, translúcidas a opacas, blancas o grisáceas, a veces hemolíticas (nunca pigmentadas) convexas y enteras, no son exigentes, crecen bien en agar MacConkey. La mayoría crece a 35°C, algunas crecen a 44°C. Son oxidasa negativa, inmóviles, nitrato movilidad negativa y resistente a la penicilina (Torrico, Bacilos Gram negativos no fermentadores: *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*).

*A. baumannii* es la especie que se aísla con más frecuencia. A veces se aísla *A. lwoffii*, *A. johnsonii*, *A. haemolyticus*, y otras especies. Se ha aislado *A. baumannii* de sangre, esputo, piel, líquido pleural y orina, por lo general en infecciones relacionadas con dispositivos (Brooks, Butel, Carroll, Mietzner, & Morse, 2011).

#### 6.2. Antimicrobianos

Son moléculas de origen natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos.

Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo (Seija & Vignoli).

## 6.2.1. Betalactámicos

### 6.2.1.1. Estructura Química

El anillo betalactámico forma parte de la estructura de varias familias de antibióticos; consiste en un anillo heterocíclico de cuatro átomos, tres de carbono y uno de nitrógeno y según la naturaleza de los radicales se diferencian las distintas moléculas, siendo las cadenas laterales complementarias las más relacionadas con su actividad antimicrobiana, farmacocinética y toxicidad.

### 6.2.1.2. Mecanismo de acción

Su mecanismo de acción consiste la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, interfiriendo en la síntesis del peptidoglicano mediante un bloqueo en la última etapa de su producción (transpeptidación), pero también actúan activando la autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano.

Son bactericidas parciales, ya que sólo actúan en fase de crecimiento celular, y su eficacia es tiempo dependiente ya que su efecto bactericida máximo ocurre a concentraciones del antibiótico libre 4-5 veces por encima de la concentración mínima inhibitoria (CMI), por lo que es muy importante respetar o acortar los intervalos entre las dosis (obtención de un tiempo de persistencia de antibiótico libre por encima de la CMI en torno al 50-60% del intervalo entre dos dosis consecutivas), especialmente en las infecciones graves por bacilos gramnegativos (BGN) resistentes, dado que no tienen efecto post-antibiótico frente a éstos, mientras que sí lo muestran (de cerca de 2 horas) frente a cocos gram positivos. Tienen un espectro de actividad antimicrobiana que abarca a cocos gram positivos, excepto *Staphylococcus* resistente a meticilina y BGN (enterobacterias y no fermentadores), con excepción de los productores de enzimas que hidrolizan las moléculas de estos agentes (productores de betalactamasas, productores de betactalamasas de espectro extendido –BLEE-, metalo-betalactamasas y carbapenemasas), cuya distribución clínica varía según las áreas y hospitales (Gómez, García, & Hernández, 2015).

### 6.2.1.3. Mecanismos de Resistencia bacteriana

Las bacterias podrían presentar resistencia a los betalactámicos por cualquiera de las siguientes razones:

- Destrucción del antibiótico mediante  $\beta$ -lactamasas. Es lo más frecuente. Estas enzimas reaccionan de forma covalente con el anillo  $\beta$ -lactámico, lo hidrolizan con rapidez e inactivan al fármaco.
- Incapacidad para penetrar en el lugar de acción debido a las porinas o a las bombas de expulsión. La ausencia o delección de porinas evitan que el antibiótico atraviese la membrana externa de los microorganismos gramnegativos para alcanzar la PBP mientras que las bombas lo expulsan a través de la misma.
- Modificación de la diana en las PBPs. Diferentes alteraciones (mutaciones, hiperexpresión, modificación de la afinidad) pueden dificultar la unión del  $\beta$ -lactámico a la proteína, lo que disminuye su actividad (Pena, 2016).

## 6.2.2. Tetraciclinas

### 6.2.2.1. Estructura química

Las tetraciclinas son antimicrobianos de amplio espectro, con actividad contra una gran gama de bacterias gram-positivas y gram-negativas, aerobios y anaerobios, microorganismos atípicos como *Chlamydia* sp, *Rickettsia* sp, *Mycoplasma* sp, *Borrelia* sp, *Treponema pallidum*, *Helicobacter pylori*, *Plasmodium* sp y algunas micobacterias. Pertenecen a un grupo de antibióticos con una estructura química tetracíclica básica y actividad biológica común, formadas por la fusión de cuatro anillos bencénicos con diversos sustituyentes.

### 6.2.2.2. Mecanismo de acción

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos que inhiben, en forma reversible, la síntesis de proteínas, impidiendo la unión del aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma bacteriano, uniéndose directamente a la proteína S7 de la subunidad 30S.

### 6.2.2.3. Mecanismos de resistencia

Se han descrito tres mecanismos principales de resistencia a tetraciclinas:

- Eflujo activo.
- Protección ribosomal.
- Inactivación enzimática.

Se describen 39 genes *tet* y *otr* que incluyen 25 genes que codifican proteínas de eflujo activo, 11 genes que codifican proteínas de protección ribosomal y 3 que codifican una enzima inactivante, además de un gen con un mecanismo de acción desconocido (Jara, 2007).

### **6.2.3. Quinolonas**

#### **6.2.3.1. Mecanismo de acción**

El blanco específico de las quinolonas es interferir en la síntesis del ADN, conduciendo a muerte celular bacteriana mediante la fragmentación cromosómica.

Penetran la pared celular a través de porinas, inhibiendo directamente la replicación bacteriana al interactuar con dos enzimas; ADN girasa (proteína tetramérica compuesta por dos pares de subunidades A y B, codificadas por los genes *GyrA* y *GyrB*) y topoisomerasa IV (proteína tetramérica compuesta por dos pares de subunidades A y B, codificados por los genes *ParC* y *ParE*)<sup>15</sup>, las cuales son necesarias para realizar el superenrollamiento del ADN. Específicamente, ADN girasa es el blanco primario en bacterias gram negativas, mientras que topoisomerasa IV lo es en bacterias gram positivas (Álvarez, Garza, & Vásquez, 2015).

#### **6.2.3.2. Mecanismos de resistencia**

Las bacterias resistentes a las quinolonas aparecen en clínica como resultado de la terapia con estos agentes. Su efecto citotóxico depende de que penetren a través de la membrana bacteriana y alcancen su diana celular (DNA girasa o topoisomerasa IV) para inducir la muerte de la célula. En principio, las resistencias a las quinolonas pueden deberse a mutaciones que afecten cualquier paso de este proceso. Así, los mecanismos de resistencia bacteriana a las quinolonas pueden agruparse en tres categorías:

- ✓ Resistencias de tipo cromosómico que dan lugar a mutaciones en segmentos definidos de los genes que codifican la DNA girasa (especialmente en la subunidad A) y la topoisomerasa IV, dando lugar a las QRDR (del inglés "Quinolone Resistance-Determining Region").
- ✓ Resistencias por alteraciones en la membrana externa bacteriana que disminuyen la penetración intracelular del fármaco. Estas modificaciones se originan en alteraciones de los genes que codifican los canales de las porinas, lo que impide la entrada del quimioterápico en la bacteria.

- ✓ Resistencias basadas en la expulsión del antibacteriano desde el medio intracelular al extracelular por acción de transportadores endógenos activos (Taléns, Garrigues, & Cantón).

#### **6.2.4. Sulfonamidas**

##### **6.2.4.1. Estructura química**

El compuesto base de las sulfonamidas es la sulfanilamida, cuya estructura es similar al PABA, factor requerido por las bacterias para la síntesis del ácido fólico. Importa el grupo amino libre en posición 4 pues se relaciona con su actividad. Las sustituciones a nivel del radical sulfonilo modifican las características farmacocinéticas, pero no la actividad antibacteriana. Las sustituciones en el grupo amino en posición 4 dan compuestos de menor absorción intestinal.

##### **6.2.4.2. Mecanismo de acción**

Las sulfonamidas son análogos estructurales y antagonistas del PABA (ácido para amino benzoico) e impiden la utilización de este compuesto para la síntesis de ácido fólico. Este a su vez actúa en la síntesis de timina y purina. Esta acción se ejerce compitiendo por la acción de una enzima bacteriana responsable de la incorporación de PABA al ácido dihidropterico, precursor del ácido fólico. Las células de los mamíferos requieren ácido fólico preformado ya que no pueden sintetizarlo y por lo tanto no son atacadas.

El efecto sinérgico de las sulfonamidas asociadas a trimetoprim se debe a la inhibición secuencial de esta vía metabólica.

##### **6.2.4.3. Mecanismos de resistencia**

La resistencia a las sulfonamidas está muy extendida, tanto para gérmenes comunitarios como nosocomiales.

Los microorganismos desarrollan resistencia por mecanismos que pueden ser de naturaleza cromosómica o extracromosómica.

- ✓ Cromosómica: A través de mutaciones que producen un cambio en las enzimas de lo que resulta una disminución de afinidad por las sulfas, o aumentando la producción de PABA lo que neutraliza la competencia de las sulfas.
- ✓ Extracromosómica: La producción de una enzima dihidripteroato sintetasa alterada, que es 1.000 veces menos sensible a la droga, es el principal mecanismo de resistencia a sulfonamidas.

## **6.2.5. Trimetroprima**

### **6.2.5.1. Estructura química**

Fue obtenido por síntesis, tratándose de una pirimidina. En nuestro medio no se encuentra sola sino en combinación con sulfametoxazol.

### **6.2.5.2. Mecanismo de acción**

Es un poderoso inhibidor de la dihidrofolato reductasa bacteriana, enzima que actúa en la síntesis del ácido fólico. Sulfonamidas y Trimetroprimas ejercen un bloqueo secuencial en la biosíntesis del ácido fólico, su combinación tiene acción sinérgica.

### **6.2.5.3. Mecanismos de resistencia**

El desarrollo de resistencia se relaciona a múltiples mecanismos. La resistencia clínica ha ido en aumento y puede deberse a cambios en la permeabilidad celular, pérdida de la capacidad de fijación o sobreproducción o alteración de la dihidrofolato reductasa (Lima).

## **6.2.6. Cloranfenicol**

### **6.2.6.1. Mecanismo de acción**

El fármaco penetra por difusión facilitada al interior de la bacteria donde se une a la fracción 50S del ribosoma impidiendo la transpeptidación entre los aminoácidos de la cadena peptídica, con lo que impide la elongación de la cadena en crecimiento.

### **6.2.6.2. Mecanismos de resistencia**

El mecanismo de resistencia más importante es extracromosómico, y se debe a un plásmido adquirido por conjugación que transmite la capacidad para acetilar el antibiótico. El cloranfenicol acetilado no se une al ribosoma (Universidad Autónoma de Madrid).

## **6.2.7. Nitrofurantoína**

### **6.2.7.1 Mecanismo de acción**

No se conoce exactamente. Se sabe que inhiben la síntesis de ciertas enzimas bacterianas. Su actividad es mayor en medio ácido.

El compuesto es atacado por reductasas bacterianas, dando metabolitos que inhiben la síntesis proteica. Los gérmenes susceptibles poseen esas reductasas, existiendo una relación inversamente proporcional entre los niveles de actividad de éstas y la concentración inhibitoria mínima.

### **6.2.7.2. Mecanismos de resistencia**

La resistencia adquirida es rara. Ha sido descrita en aislamientos de *E. coli*. Puede existir resistencia cruzada con aminoglucósidos (Tórres).

## **6.2.8. Polimixinas**

### **6.2.8.1. Estructura química**

Las polimixinas son un decapeptido cíclico catiónico ligado a una cadena de ácidos grasos por una unión  $\alpha$ -amida. Su peso molecular es de 1750 Da. El compuesto de aminoácido en la molécula de colistín es: D-leucina, L-treonina y L- $\alpha$ - $\gamma$ -ácido diaminobutírico. Este último está ligado a residuos de ácidos grasos: ácido-6-metil-octanoico (colistín A) y ácido-6-metileptanoico (colistín B).

### **6.2.8.2. Mecanismo de acción**

El sitio de acción o actividad antimicrobiana del colistín es la membrana celular bacteriana y ocurre mediante interacciones electrostáticas entre el polipeptido catiónico (colistín) y las moléculas aniónicas de los lipopolisacáridos de la membrana externa de las bacterias Gram negativas lo que favorece el desarreglo de la membrana celular bacteriana. El colistín desplaza magnesio ( $Mg^{+2}$ ) y calcio ( $Ca^{+2}$ ) lo que desestabiliza la molécula de lipopolisacárido de la parte cargada negativamente, lo que produce una alteración de la membrana externa. El resultado de este proceso es un aumento en la permeabilidad de la envoltura celular, fuga del contenido y, subsecuentemente, muerte celular.

### 6.2.8.3. Mecanismos de resistencia

La particularidad de las bacterias Gram negativas de desarrollar resistencia al colistín/polimixina B se debe a mecanismos de mutación o adaptación que involucran cambios en la membrana externa de la bacteria. La mutación es hereditaria, de bajo nivel e independiente de la continuidad del antibiótico; en la adaptación ocurre el fenómeno opuesto. Debido a los componentes de estos antimicrobianos, puede aparecer resistencia cruzada entre colistín y polimixina B. De forma reciente se demostró otro mecanismo de resistencia en patógenos como *Yersinia spp*, en el que el sistema de flujo de bombeo de potasio se asoció con resistencia a polimixina B. Una situación paradójica es que, aunque no se reporta resistencia enzimática bacteriana al colistín, el *Bacillus polymyxa* (del que derivan las polimixinas) subespecie *colistimus*, produce una enzima denominada colistinasa que inactiva al colistín.

Es importante resaltar que cuando el colistín se usa como monoterapia, puede generar resistencia mutacional en las bacterias Gram negativas incluidas *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *E. coli*; cuando no se usa como monoterapia, no se observa resistencia, ni en patógenos multidrogosresistentes como *P. aeruginosa*

### 6.3. Antibiograma

El estudio de la sensibilidad a antimicrobianos de las diferentes bacterias aisladas en muestras biológicas tiene 2 objetivos fundamentales: guiar al clínico en la elección del mejor tratamiento individual, y monitorizar la evolución de la resistencia bacteriana con objeto de revisar el espectro del antimicrobiano y poder actualizar los tratamientos empíricos. Este estudio se realiza mediante el antibiograma, que mide la sensibilidad de una bacteria frente a diferentes antimicrobianos *in vitro* y a partir de estos resultados predice la eficacia *in vivo*.

Con un antibiograma se pueden obtener resultados cualitativos que indican si la bacteria es sensible o resistente a un antibiótico, o cuantitativos que determinan la concentración mínima (CMI) de antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano

#### 6.3.1. Difusión en disco

Se emplean discos de papel impregnados con una solución estandarizada de antibiótico que se disponen sobre la superficie de un medio sólido previamente inoculado en su superficie con una

suspensión bacteriana. Tras un período de incubación de 18 h, el diámetro del halo formado está en relación con el grado de sensibilidad del microorganismo. La carga del disco está ajustada para que los halos de inhibición permitan diferenciar los microorganismos sensibles de los resistentes.

### **6.3.1.1. Interpretación**

La interpretación de los resultados del antibiograma (sensible, intermedio o resistente) se realiza en función de los valores establecidos por diferentes comités, como el Clinical and Laboratory Standards Institute en Estados Unidos, el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing en Europa y la Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos. Estos comités determinan y establecen puntos de corte basados en propiedades microbiológicas, farmacocinéticas y de eficacia clínica, para definir la sensibilidad (éxito terapéutico) o resistencia de las diferentes especies bacterianas a cada antimicrobiano (Cercenado & Saavedra, 2009).

### **6.3.1.2. Ventajas**

Es un método sencillo, barato y de fácil control y estandarización. Una ventaja adicional del método y específicamente del medio, es que se le pueden realizar algunas modificaciones en cuanto a los requerimientos nutricionales para poder llevar a cabo el antibiograma con microorganismos exigentes o muy exigentes que necesitan más nutrientes que los que este medio les puede ofrecer (Taroco, Seija, & Vignoli).

### **6.3.2. Resistencia a los antimicrobianos**

La resistencia antibiótica es la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico. La misma puede ser natural o adquirida.

La resistencia natural es aquella propia del género o especie bacteriana, por ejemplo la resistencia a vancomicina en bacilos Gram negativos o la resistencia a penicilina en enterobacterias.

La resistencia adquirida aparece como consecuencia de mecanismos bioquímicos codificados a nivel cromosómico o por diversos elementos móviles (por ejemplo: plásmidos). Esta última posibilidad añade mayor gravedad al problema, pues la diseminación del correspondiente elemento móvil favorece la aparición de brotes nosocomiales.

### **6.3.2.1. Clasificación bacteriana según su perfil de resistencia**

- ✓ Multidrogorresistente (MDR): Patógeno resistente a por lo menos 3 clases de antimicrobianos a la que habríamos esperado fuera susceptible.
- ✓ Xtreme drugresistant (XDR): Sólo quedan 1 o 2 opciones de antimicrobianos frente a los cuáles el microorganismo es susceptible.
- ✓ Panresistente (PDR): Patógeno resistente a todos los agentes antimicrobianos comercialmente disponibles (Paciel, y otros, 2011).

### **6.3.2.2. Resistencia en enterobacterias**

#### **6.3.2.2.1 La resistencia enzimática a $\beta$ -lactámicos en enterobacterias**

La hidrólisis de  $\beta$ -lactámicos por medio de enzimas  $\beta$ -lactamasas es el mecanismo de resistencia más común para esta clase de antibióticos en bacterias Gram-negativas. Estos antibióticos, entre ellos penicilina, cefalosporinas y carbapenemes, son utilizados como tratamiento de primera elección en gran cantidad de infecciones, por lo que la detección de estas enzimas tiene un gran impacto clínico en la selección de la terapia a utilizar.

#### **6.3.2.2.1.2. $\beta$ -lactamasa tipo AMP-C en enterobacterias**

Estas enzimas según la clasificación estructural de Ambler están dentro de las serin  $\beta$ -lactamasas y de acuerdo a la clasificación funcional de Bush pertenecen al Grupo 1 (Ambler 1980; Bush, 2010). Estas  $\beta$ -lactamasas se caracterizan en su mayoría por:

- Son resistentes a inhibidores (ac. clavulánico, sulbactam y tazobactam).
- Son activas sobre aztreonam, cefamicinas (como cefoxitina) y cefalosporinas de primera, segunda generación y en menor medida a cefalosporinas de tercera. Las cefalosporinas de cuarta generación son las más estables.
- Son inhibidas por aztreonam, cloxacilina, oxacilina y ácido borónico.

La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, siendo los niveles de producción dependientes del grado de expresión del gen blaAmpC. Cuando el gen blaAmpC se expresa de forma constitutiva puede hacerlo a niveles basales, confiriendo un fenotipo de resistencia natural o salvaje

característico de la especie bacteriana, o puede hacerlo a unos niveles muy superiores al basal, produciendo cantidades elevadas de AmpC (hiperproducción de AmpC).

Algunos organismos de importancia clínica que contienen Amp-C cromosómica son: *Enterobacter spp*, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp*, *Morganella morganii* y *Providencia*, por lo que muestran resistencia natural a algunos antibióticos  $\beta$ -lactámicos como cefalosporinas de primera generación (C1G) y aminopenicilinas. En estos organismos son enzima inducibles y pueden ser expresadas en altos niveles (derrepresión).

La sobreexpresión de AmpC puede causar resistencia a cefalosporinas de tercera generación (cefotaxime, ceftazidime y ceftriaxone), carboxipenicilinas y acilureido penicilinas, determinando además disminución de la sensibilidad a cefalosporinas de cuarta generación (C4G). Un grupo de  $\beta$ -lactamasas de tipo AmpC están codificadas por genes blaAmpC asociados a integrones, como los de clase 1, o transposones localizados en plásmidos conjugativos (AmpC plasmídicas).

Las AmpC plasmídicas se han descrito principalmente en algunas especies de enterobacterias (*Klebsiella spp.*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *shigella spp.* y *Salmonella spp.*, entre otras) con relevancia clínica y epidemiológica. Desde el punto de vista epidemiológico, las AmpC plasmídicas tienen mucha mayor relevancia o trascendencia que las AmpC cromosómicas, debido a su capacidad para movilizarse, y se pueden transferir tanto en el ambiente nosocomial, donde tienen un claro potencial epidémico, como en la comunidad. En la actualidad se conocen varios fenotipos de enzimas tipo AmpC: inducible, basal, hiper-inducible, semi-derreprimido, derreprimido, inducible +  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido y derreprimido +  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido.

#### **6.3.2.2.1.3. $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE)**

En los años 80 se describió por primera vez la  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE). Estas enzimas se encuentran dentro del grupo 2 que contiene las serine  $\beta$ -lactamasas, según la actual clasificación funcional de Bush, pueden ser inhibidas por ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam (Philippon 1994; Bush 2010). La detección en el laboratorio de enzimas tipo BLEE es de suma importancia en el laboratorio, debido a que la presencia de esta enzima involucra un cambio de interpretación de algunos de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, sin importar el halo de inhibición o la

concentración inhibitoria mínima (CIM) obtenida. De esta forma, toda cepa BLEE positiva debe ser reportada como resistente a todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam. En el caso de cefoxitina, carbapenemes y combinaciones de  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas se deben reportar acorde al resultado del antibiograma (CLSI, 2011).

#### **6.3.2.2.1.4. $\beta$ -lactamasa tipo carbapenemasa en enterobacterias**

En los últimos años se ha producido una alarmante preocupación por la gran diseminación de los bacilos Gram negativos resistentes a los carbapenémicos, en los que el mecanismo implicado es la producción de  $\beta$ -lactamasas (carbapenemasas) capaces de hidrolizar este grupo de antimicrobianos y que se han asociado a elementos genéticos transferibles. Estas enzimas presentan la capacidad de hidrolizar carbapenemes (imipenem, meropenem, ertapenem) y la mayoría o todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos existentes. Según la clasificación funcional, se encuentran en el grupo 2 y 3 (Bush 2010).

#### **6.3.2.2.2. Resistencia a fluoroquinolonas**

Puede estar mediada por:

- Mutaciones cromosomales: Entre estas se encuentran las QRDRs (quinolone resistance-determining regions) de los genes blancos (*gyrA* y *gyrB*, que codifican la subunidad A y B de la ADN girasa, respectivamente y *parC* y *parE* que codifican la subunidad A y B de la topoisomerasa IV, respectivamente). Estas mutaciones dan lugar a topoisomerasas con menor afinidad por las quinolonas que se traducen en un aumento de los valores de CIM de las fluoroquinolonas.
- Sobreexpresión de bombas de eflujo o las alteraciones de las porinas. Conducen a alteraciones en la permeabilidad de la membrana, lo que disminuye la penetración intracelular del antibiótico y la actividad de transportadores activos endógenos que provocan la expulsión de los antimicrobianos desde la membrana celular al medio exterior.
- La resistencia plasmídica: Estos genes codifican proteínas Qnr que son pentapéptidos repetidos que pueden bloquear la unión de las fluoroquinolonas a la ADN girasa y topoisomerasas IV de las bacterias.
- La inactivación enzimática de ciertas quinolonas es un mecanismo recientemente descrito. La variante cr de *aac(6')-Ib* codifica una enzima aminoglicósido acetiltransferasa, que confiere sensibilidad reducida a ciprofloxacina por una N-acetilación de sus amino piperazilina

- Bombas de expulsión activas de codificación plasmídica QepA y OqxAB (quinolone-efflux-pump). Este tipo de bombas causa un aumento moderado en el nivel de resistencia a norfloxacin y ciprofloxacina, y no afecta de forma significativa al ácido nalidíxico, ni al resto de fluoroquinolonas (Jiménez, Vargas, & Tijerino, 2011).

### **6.3.2.3. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa***

#### **6.3.2.3.1. Betalactamasas**

*P. aeruginosa* posee dos clases de - lactamasas: Amp-C y las -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Amp-C, está codificada en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios - lactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. Cuando esto sucede, hay resistencia a penicilinas y cefalosporinas (ceftazidime, cefepime); el grado de resistencia, depende del grado de represión de la Amp-C.

#### **6.3.2.3.2. Bomba de expulsión**

*P. aeruginosa* ya poseía estos complejos enzimáticos. Este complejo llamado MexAB- OprM, se compone de una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa. Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración, -lactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclinas y trimetoprim.

#### **6.3.2.3.3. Porinas de membrana**

OprD es una porina de membrana presente en *Pseudomonas aeruginosa*. Su papel primitivo es permitir la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. Se sabe además, que es capaz de permitir la entrada de carbapenémicos, aunque no de otros betalactámicos. La afinidad y la capacidad de difusión de imipenem a través de esta porina es casi 70 veces más alta que la de meropenem. El imipenem tiene la capacidad de seleccionar durante el tratamiento cepas que muestran mutaciones en la porina OprD, que demuestran disminución de la afinidad y el transporte de este antibiótico a través de esta proteína.

#### 6.3.2.3.4. Otros mecanismos

Mecanismos de resistencia menos frecuentemente documentados incluyen la resistencia a quinolonas asociadas a mutaciones de los sitios blancos. La mutación de la topoisomerasa tipo II, sitio blanco de ciprofloxacina, confiere una resistencia aislada a esta quinolona. Desde el punto de vista epidemiológico este mecanismo se considera menos importante, debido a que en el medio hospitalario el aumento de la resistencia a ciprofloxacina, está asociado con mayor frecuencia a bombas de expulsión que tienen como sustrato a este antibiótico (Gómez, Leal, Pérez, & Navarrete, 2005).

#### 6.3.2.4. Mecanismos de resistencia en *Acinetobacter baumannii*

- Amp-C: *A. baumannii* posee una cefalosporinasa tipo AmpC no inducible denominada ADC (del inglés: Acinetobacter-derived cephalosporinase), siendo éste el mecanismo de resistencia más frecuente de esta bacteria a los  $\beta$ -lactámicos.
- OXA- 51: cuya expresión basal hidroliza débilmente penicilinas y carbapenémicos; su sobreexpresión también es mediada por la secuencia de inserción ISAbal en un mecanismo similar a la AmpC cromosómica.
- $\beta$ -lactamasas de clase A: se encuentran las de amplio espectro relacionadas con resistencia a penicilinas (TEM-1, TEM-2 y la carbenicilinas CARB-5), las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) como VEB-1, PER-1, TEM-92 y CTX-M-2 y las de tipo KPC.
- $\beta$ -lactamasas de clase B o metalo- $\beta$ - lactamasas: comprenden un grupo de enzimas que no son inhibidas por el ácido clavulánico ni por el tazobactam, pero son sensibles a la inhibición por agentes quelantes como el EDTA. De los seis grupos descritos hasta la fecha, cinco han sido identificados en *A. baumannii* incluyendo IMP, VIM, SIM, SPM y NDM.
- $\beta$ -lactamasas de clase D u oxacilinasas: son las que se describen con mayor frecuencia en cepas de *A. baumannii*, siendo las principales OXA-24, OXA-23, OXA-51 y OXA-58, estas tres últimas asociadas con el elemento de inserción ISAbal que aumenta su expresión.
- OMPs: (del inglés: outer membrane proteins), que conducen a una disminución de la permeabilidad de la membrana, bombas de expulsión que, como su nombre lo indica, expulsan el antibiótico y alteración de las proteínas de unión a penicilina o PBPs (del inglés: penicillin binding protein), cuando son blanco del medicamento.

- Bomba AdeABC, que puede expulsar  $\beta$ -lactámicos (incluyendo carbapenémicos), aminoglicósidos, macrólidos, cloranfenicol, tigeciclina, tetraciclinas, fluoroquinolonas y trimetoprim.
- También puede presentar resistencia a aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclinas, trimetroprimas, sulfonamidas y cloranfenicol (Vanegas, Roncancio, & Jiménez, 2014)

## **6.4. Betalactamasas**

En las bacterias gram negativas la resistencia a los betalactámicos está originada por varios mecanismos, pero el más importante, por su frecuencia y eficacia, es la producción de betalactamasas. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos y se producen de manera constitutiva o inducible. De todas las betalactamasas descritas hasta el momento, cabe destacar, por su interés e implicaciones clínicas, las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), las betalactamasas (cefalosporinas) tipo AmpC y las carbapenemasas. El incremento de la resistencia mediante la producción de betalactamasas restringe el empleo de los antibióticos betalactámicos como tratamiento empírico en las infecciones ocasionadas por estos microorganismos (García, Castillo, & Salazar, 2014).

### **6.4.1. Clasificación de las betalactamasas**

Las betalactamasas se clasifican principalmente atendiendo a dos esquemas: mediante la clasificación de Ambler y la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros.

La clasificación de Ambler divide las betalactamasas en cuatro clases (A-D). Se basa en la homología de las proteínas. Las clases A, C y D son serino-betalactamasas y la clase B son metalo-betalactamasas.

La clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros también consta de cuatro grupos y diversos subgrupos. Se basa en las características funcionales, teniendo en cuenta distintos criterios como las propiedades bioquímicas (peso molecular, secuenciación de nucleótidos), las propiedades físicas (punto isoelectrico), el espectro de hidrólisis, el espectro de inhibición, la codificación (plasmídica o cromosómica), etc. Esta clasificación es mucho más importante en el diagnóstico microbiológico de

laboratorio ya que considera los sustratos y los inhibidores de las betalactamasas clínicamente relevantes (Carrillo & García, 2007).

#### **6.4.1.1 Carbapenemasas**

Las carbapenemasas representan la familia más versátil de las  $\beta$ -lactamasas. Tienen la capacidad de hidrolizar tanto a los carbapenémicos como a otros  $\beta$ -lactámicos. Además presentan la característica de ser resistentes contra la acción de los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas disponibles. Pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en elementos genéticos móviles. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: serino-carbapenemasas que pertenecen a la clase molecular A o D de Ambler y metalo- $\beta$ -lactamasas (MBLs) que corresponden a la clase B de Ambler, denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Estos grupos difieren en su mecanismo de hidrólisis, el modo de transferencia y la acción de los inhibidores.

##### **6.4.1.1.1. Carbapenemasas tipo serino**

###### **6.4.1.1.1.1. Serino-carbapenemasas Clase A**

Las serino-carbapenemasas clase A hidrolizan penicilinas, cefalosporinas (en menor grado cefalosporinas de tercera y cuarta generación), monobactámicos y carbapenémicos. Su actividad hidrolítica depende del sustrato sobre el que actúan, por ejemplo, SME-3 y KPC-2 hidrolizan mejor el Imipenem que el Doripenem y son levemente inhibidas por el ácido clavulánico y el tazobactam.

Las carbapenemasas clase A pueden dividirse fenotípicamente en seis diferentes grupos, de los cuales cuatro grupos están formados por miembros de las enzimas SME, IMI/NMC-A, KPC y GES/IBC, que se caracterizan por tener en común tres motivos altamente conservados esenciales para su actividad, mientras que SHV-38 y SFC-1 constituyen cada una un grupo diferente. Estas enzimas usualmente se encuentran presentes en bacterias que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, sin embargo han sido reportadas en aislamientos de *P. putida*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* y *Klebsiella spp.*, en casos aislados o causantes de pequeños brotes, procedentes de diferentes partes del mundo.

Los genes que codifican por las enzimas SME, IMI, NCM, SHV-8 y SFC- 1 se localizan principalmente en el cromosoma pero existen reportes de aislamientos de *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* que poseen enzimas SME, IMI y NCM presentes en plásmidos. Los genes blaGES residen en cassettes genéticos principalmente dentro de integrones de clase 1, mientras que los genes blaKPC y blaIMI-2 están flanqueados por transposones ubicados dentro de plásmidos.

#### 6.4.1.1.2. Serino-carbapenemasas clase D

Las oxaciclinasas se ubican dentro del grupo 2df de Bush descritas en 1980. Se caracterizan por su capacidad de hidrolizar cloxacilina y oxacilina (de ahí su nombre “oxacillinhidrolizing”), carbapenémicos, no hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido ni aztreonam (a excepción de OXA 27) y en general son inhibidas por el ácido clavulánico (menos OXA 23 que es resistente).

Aunque se ha descrito que la hidrólisis a los carbapenémicos es débil, se incrementa si otros mecanismos de resistencia como bombas de eflujo, alteraciones en las porinas o modificaciones en el sitio blanco están presentes.

Las betalactamasas tipo OXA se detectan principalmente en *A. baumannii*, habitualmente dentro de integrones situados en plásmidos o transposones, aunque ciertos casos se han asociado a secuencias de inserción. Sin embargo, también se han hallado más raramente en *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* y otras especies próximas como *Aeromonas spp.* En el caso de *P. mirabilis* las cepas aisladas en Francia describen la producción de OXA-23 a partir de un gen cromosómico.

#### 6.4.1.1.2. Carbapenemasas tipo Metallo (Clase B)

Este es quizá el grupo más relevante de carbapenemasas debido tanto a su diversificación estructural como a su diseminación prácticamente mundial y en diferentes especies bacterianas.

Son enzimas que típicamente hidrolizan todos los  $\beta$ -lactámicos excepto monobactámicos y son inhibidas por quelantes de iones metálicos tales como EDTA, ácido dipicolínico o 1,10- $\sigma$  phenantrolina, pertenecen al grupo 3a y 3b en la clasificación de Bush. Los genes MBLs pueden ser transportados en cassettes dentro de integrones, transposones, plásmidos, elementos denominados regiones comunes (CRs) que pueden o no ser transferibles, o estar insertos en el cromosoma, lo que le

confiere a especies como *S. maltophilia* resistencia intrínseca a los carbapenémicos. La adquisición de estos genes potencialmente puede conferir resistencia a un amplio espectro de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y en algunas ocasiones pueden estar asociados con genes que confieren resistencia a aminoglicósidos, por lo que se pueden identificar bacterias con un fenotipo de resistencia a  $\beta$ -lactámicos y aminoglicósidos.

Dentro de las MBLs se distinguen ocho grupos: IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, AIM, DIM y KHM.14 Las más importantes incluyen las familias VIM, IMP y SPM-1 las cuales han sido detectadas en cepas de *P. aeruginosa*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y *A. baumannii*. Es importante recalcar que existen reportes que indican que el Doripenem es estable ante la hidrólisis de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y que es de 5 a 150 veces menos hidrolizado que el Imipenem por las enzimas IMP-1 y VIM-2. En el caso de SPM-1, esta enzima hidroliza el Meropenem y Doripenem cuatro veces más que al Imipenem (Moreno, 2013).

## 6.5. Métodos fenotípicos para la identificación de Carbapenemasas

### 6.5.1. Test de Hodge Modificado

Este test consiste en demostrar el crecimiento de una bacteria susceptible a carbapenémicos alrededor de otra sospechosa de producir carbapenemasas por la difusión de ésta al medio de cultivo en el cual se ha colocado un disco con una concentración estandarizada de alguno de los carbapenémicos. Si bien la sensibilidad de este test es buena, presenta falsos positivos en casos de altas prevalencias de enzimas tipo BLEE o AmpC con hiperproducción (De la Lastra, Ulloa, Pinto, Vidal, & Silva, 2010).

Si se observa una invaginación del halo de inhibición alrededor de la cepa probada, la cepa sospechosa será productora de carbapenemasa. Si se encuentra un halo completo, la prueba puede ser considerada negativa (Duarte & Muñoz, 2012).

### 6.5.2. Inhibición por EDTA

El disco de EDTA, es empleado en la detección fenotípica de Metallo- $\beta$ -lactamasa (MBLs), por el método de triple disco, el cual consiste en colocar, sobre una placa de agar Mueller-Hinton inoculado

con la cepa problema, un disco que contiene un agente quelante (EDTA, SMA, ácido dipicolínico o ácido 2-mercaptopropiónico) rodeado por un disco de imipenem (10µg) y otro de meropenem (10µg). Esta prueba es positiva si se observa un aumento del halo de inhibición o la presencia de una zona de inhibición entre el imipenem y/o el meropenem y el agente quelante. Machado (Ortiz, Rodríguez, & Urbina, 2015).

### **6.5.3. Inhibición por APB**

Se utilizan para la detección de carbapenemasas de la clase A. Tienen algunas limitaciones en las especies de enterobacterias productoras de AmpC (*Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, *M. morganii*, *Providencia spp*, *Serratiaspp...*) porque el ácido borónico también les afecta. La inhibición de la actividad de las cefalosporinas se consigue mediante el uso de cloxacilina. Combinando el ácido borónico y la cloxacilina se consigue diferenciar las cepas productoras de carbapenemasas clase A de las cepas productoras de AmpC (Pena, 2016).

## **7. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **Área de estudio:**

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Bacteriología en el CNDR, ubicado en Managua, al cual se remiten las cepas con diversos mecanismos de resistencia.

### **Tipo de estudio:**

Descriptivo, retro-prospectivo de corte transversal, en el cual se realizó la identificación fenotípica de bacilos Gram negativos resistentes a carbapenemes remitidas al CNDR, procedentes de 17 laboratorios pertenecientes a la Red nicaragüense de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, desde enero 2014 a diciembre 2016.

### **Universo:**

**575** cepas de bacilos Gram negativos remitidas de los diferentes laboratorios de la Red nicaragüense para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, con resistencia a los carbapenems.

### **Muestra:**

195 cepas resistentes a carbapenemes, remitidas al CNDR por los siguientes laboratorios:

- ✓ Hospital Roberto Calderón (HRC)
- ✓ Hospital Manuel de Jesús Rivera, La Mascota (HMJR)
- ✓ Hospital Alemán Nicaragüense (HAN)
- ✓ Hospital Bertha Calderón (HBC)
- ✓ Hospital Lenin Fonseca (HLF)
- ✓ Hospital Solidaridad (HSOL)
- ✓ Centro de Salud Sócrates Flores (CSSF)
- ✓ Centro de Salud Villa Venezuela (CSVV)
- ✓ Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales (HEODRA)
- ✓ \* Hospital Aldo Chavarría (HACH)
- ✓ Centro de Salud Ticuantepe (CST)
- ✓ MID Boaco (MIDBOAC)
- ✓ Hospital Masaya (HMAS)

- ✓ Hospital San Juan de Dios (SJDD)
- ✓ Hospital Humberto Alvarado (HUA)
- ✓ Hospital de Granada
- ✓ Hospital España Chinandega.

\* Este no manda las cepas, pero si las muestras, de las cuales se aislaron las cepas incluidas en el estudio.

**Muestreo:**

No probabilístico, por conveniencia.

**Criterios de inclusión:**

- ✓ Cepas de Bacilos Gram Negativos
- ✓ Cepas que se remitieron al CNDR con halos  $\leq 21$  mm a Imipenem.
- ✓ Cepas recibidas en el CNDR entre enero del 2014 y Diciembre del 2016.
- ✓ Cepas que no produzcan carbapenemasas de forma natural.

**Criterios de exclusión:**

- ✓ Cepas que no sean de Bacilos Gram Negativos
- ✓ Cepas que se remitieron al CNDR con halos mayores de  $\geq 22$  mm a Imipenem.
- ✓ Cepas recibidas fuera del período de estudio.
- ✓ Cepas que produzcan carbapenemasas de forma natural.

**Procesamiento y Análisis:**

La identificación del microorganismo (género y especie) y su caracterización fenotípica del perfil de susceptibilidad para las cepas del 2014 y 2015, se realizó por la revisión de los cuadernos de registro en el área de Bacteriología del CNDR para lo que se llenó una ficha de recolección de datos (ver anexo 18); y para las del 2016 se les realizó las pruebas bioquímicas necesarias, antibiogramas, sinergismo y THT. Se utilizó esta técnica mixta con el objetivo de abarcar una mayor cantidad de cepas y para poder ampliar el período de estudio.

Se realizó una base de datos en Microsoft Office Excel 2013/2016, en la cual se registraron todos los datos que se creían importantes para la investigación.

Las gráficas fueron obtenidas mediante el análisis de datos con el programa Excel 2013.

**Recuperación del microorganismo:**

- Tomar tres asadas del caldo leche que contienen las cepas en estudio y las cepas controles.
- Sembrar la muestra por agotamiento de estrías, en Agar McConkey.
- Incubar de 16 - 24 horas a 37°C.
- Tomar una unidad formadora de colonias (UFC) y se realizar una estría en Agar Tripticasa de Soya.
- Incubar de 16 - 24 horas a 37OC.

**Identificación bacteriana:**

- ✓ Realizaron las pruebas bioquímicas para la identificación, según el Manual de Procedimientos de Bacteriología del MINSa 2004 (ver anexos 9, 10 y 11).

**Perfil de susceptibilidad (Kirby-Bauer)**

- ✓ Preparar una suspensión con solución salina (0.85%) estéril con una densidad óptica de 0.5 McFarland del inóculo en tubos de ensayo, utilizando un densitómetro.
- ✓ Sumergir un hisopo estéril en la suspensión preparada y escurrirlo en las paredes internas del tubo para retirar el excedente de suspensión.
- ✓ Sembrar por el método del rayado tri-direccional en agar Mueller-Hinton (MH).
- ✓ Colocar los sensidiscos de manera estratégica para la detección de los mecanismos de resistencia (ver anexos 12, 13 y 14).
- ✓ Incubar a 37°C durante 24 horas.
- ✓ Realizar la lectura de los halos con un calíper, según las normas CLSI 2014, 2015 y 2016 (ver anexos 15, 16 y 17).

**Preparación de los discos de EDTA**

- ✓ Agregar 10 µl del EDTA [0.1 µmol] a un disco de papel filtro en blanco.

**Preparación de los discos de APB**

- ✓ A un disco de papel filtro en blanco, agregar 10 µl APB con una concentración de 300µl/ml.

### **Clasificación de carbapenemasas mediante el uso de inhibidores:**

- ✓ Inocular una placa de agar Muller-Hinton, por el método de Kirby Bauer.
- ✓ Colocar los discos de la siguiente manera: IMI – EDTA – MEM para la identificación de Metalobetalactamasas; y discos de IMI- APB – MEM para la detección de carbapenemasas tipo KPC, con una distancia de 15mm entre cada centro de los discos (Ver anexos 12, 13, 14).
- ✓ Incubar a 37° C, por 24 horas.
- ✓ Testar CAZ – EDTA, en los casos de las cepas de *P. aeruginosa* con sinergia negativa sospechosa de metalo betalactamasas.

### **Test de Hodge Tritón (Según Pasteran et al., 2016)**

- ✓ Agregar 50 µl de Tritón en una placa de Agar MH.
- ✓ Extender sobre el plato por el método tri-direccional.
- ✓ Dejar reposar durante 2 minutos.
- ✓ Inocular la suspensión de *E. coli* ATCC 25922 (preparada con anterioridad, a 0.5 Mc Farland), sobre la superficie del plato por el método de rayado anteriormente mencionado.
- ✓ Colocar el disco de MEM (30 µg) en el centro del plato.
- ✓ Usando un hisopo estéril, tomar una porción de las cepas a estudiar (control positivo, control negativo o cepas en estudio).
- ✓ Realizar una estría recta desde el disco hacia la periferia del plato.
- ✓ Incubar a 37° C por 24 horas.

## 8. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

<i>Variable</i>	<i>Subvariable</i>	<i>Indicador</i>	<i>Valores</i>	<i>Criterios</i>
<i>Agente etiológico</i>	Identificación bacteriana	Pruebas bioquímicas para gram (-)	Enterobacterias	Positiva
				Negativa
			No fermentadores ( <i>A. baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i> )	Positiva
				Negativa
<i>Perfil de susceptibilidad a antimicrobianos</i>	Antibiograma Enterobacterias	Ampicilina	Resistente	Puntos de corte según CLSI
			Intermedio	
			Sensible	
		Piperacilina	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Amoxicilina – clavulánico	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Cefepime	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Cefotaxima	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Ceftriaxona	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Cefoxitin	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Cefuroxima (parenteral)	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Ceftazidime	Resistente	
			Intermedio	
			Sensible	
		Cefuroxima (oral)	Resistente	
Intermedio				
Sensible				

	Cefaclor	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Aztreonam	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Doripenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Ertapenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Imipenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Meropenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Gentamicina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Amikacina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Tetraciclina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Ciprofloxacina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
Levofloxacina	Resistente	
	Intermedio	
	Sensible	
Ácido nalidíxico	Resistente	
	Intermedio	
	Sensible	
Trimetroprim sulfametoxazol	Resistente	
	Intermedio	
	Sensible	

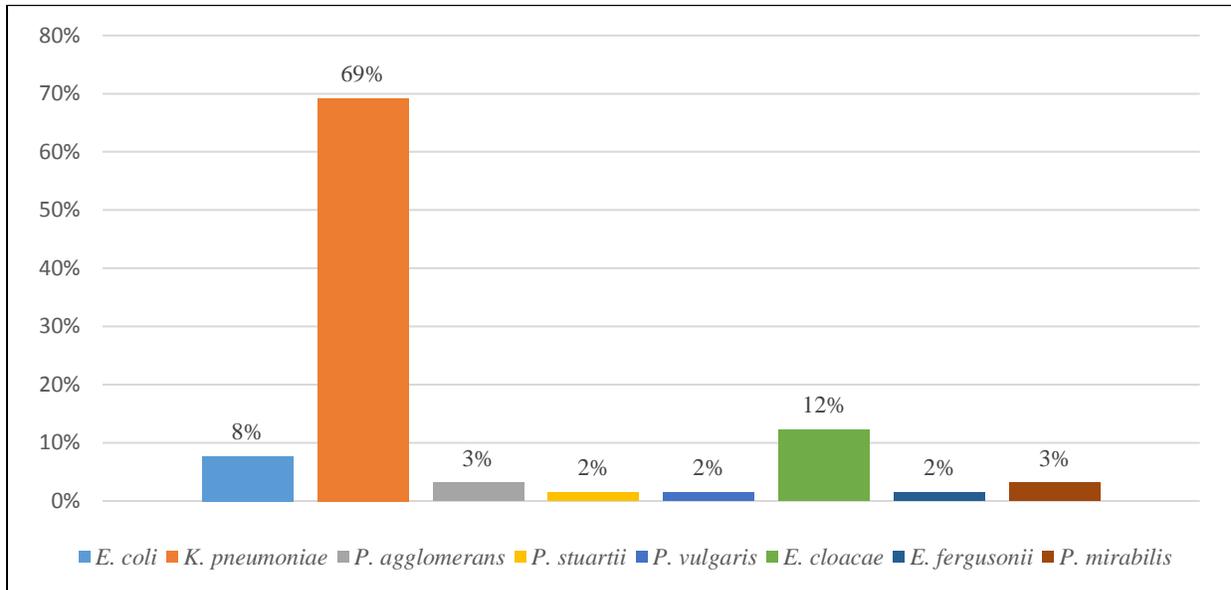
	Cloranfenicol	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Nitrofurantoína	Resistente
		Intermedio
		Sensible
Antibiograma <i>P. aeruginosa</i>	Piperacilina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Piperacilina Tazobactam	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Cefepime	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Ceftazidime	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Aztreonam	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Doripenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Imipenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Meropenem	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Gentamicina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Amikacina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Tetraciclina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Ciprofloxacina	Resistente
		Intermedio
		Sensible
		Resistente

	Levofloxacin	Intermedio
		Sensible
	Colistín	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Polimixina B	Resistente
		Intermedio
		Sensible
	Antibiograma <i>A. baumannii</i>	Piperacilina
Intermedio		
Sensible		
Piperacilina Tazobactam		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Cefepime		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Imipenem		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Meropenem		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Gentamicina		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Amikacina		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Tetraciclina		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Minociclina		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Ciprofloxacina		Resistente
		Intermedio
		Sensible
Levofloxacin		Resistente
		Intermedio
		Sensible

	Trimetroprim sulfametoxazol	Resistente		
		Intermedio		
		Sensible		
		Ampicilina sulbactam		Resistente
				Intermedio
				Sensible
		Ceftazidime		Resistente
				Intermedio
				Sensible
	Cefotaxima	Resistente		
		Intermedio		
		Sensible		
	Cefotaxima	Resistente		
		Intermedio		
		Sensible		
<i>Fenotipo de Carbapenemasas</i>	EDTA	Presencia de Sinergia	Positiva	
		Ausencia de Sinergia	Negativa	
	APB	Presencia de Sinergia	Positiva	
		Ausencia de Sinergia	Negativa	
	<i>Test Complementario</i>	Test complementario de Hodge más Tritón	Invaginación en el halo de Meropenem	Positiva
				Negativa
Ausencia de invaginación en el halo de Meropenem			Positiva	
			Negativa	

## 9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

**Gráfico 1: Frecuencia de Enterobacterias resistentes a carbapenemes, remitidas por Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia los Antimicrobianos, según género y especie; CNDR, enero 2014 – diciembre 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 1.

Como se demuestra en este gráfico, los agentes etiológicos encontrados en nuestra investigación fueron: *K. pneumoniae* con 45 aislamientos (69%), *E. cloacae* 8(12%), *E. coli* 5 (8%), *P. mirabilis*, 2 (3%) y *P. stuartii*, *P. vulgaris* y *E. fergusonii* con 1 (2%) cada uno.

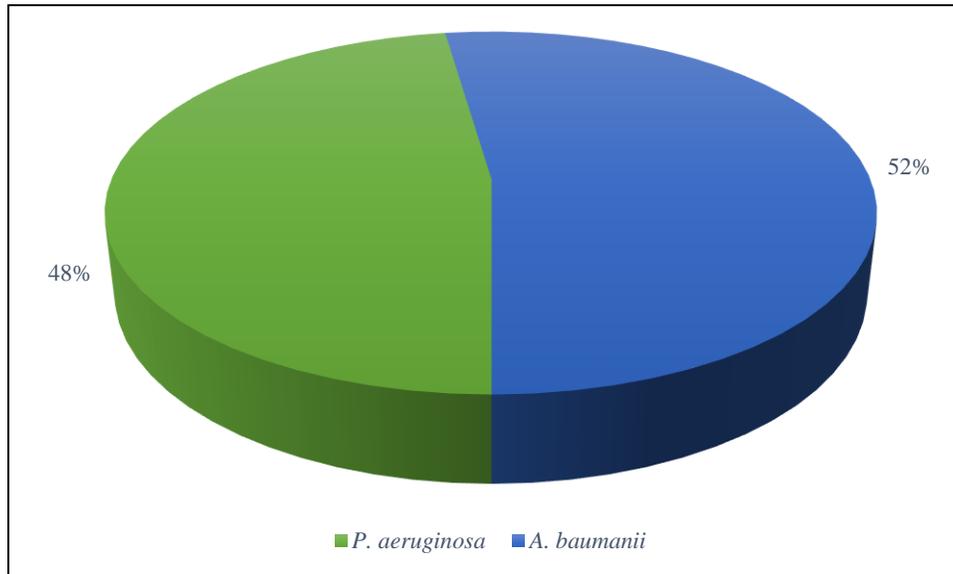
Gordillo, et al., Guatemala (2011-2012), en el Hospital Roosevelt determinaron la presencia Enterobacterias portadoras de BLEE y carbapenemasas, en el que *K. pneumoniae* presentó una frecuencia del 1.2% de las cepas, mientras que *E. coli* y *E. cloacae* tienen porcentajes más bajos, 0,1% y 0.5% respectivamente. En otro estudio Tato M, et al. determinaron la epidemiología clonal y plasmídica en el primer brote de infección por Enterobacteriaceae que involucra MBL VIM-1, (2005, 2006), en España, en el cual encontraron que de 28 aislamientos estudiados (100%), *K. pneumoniae* fue el agente etiológico más frecuente con 50%, seguido de *E. cloacae* con 43%, *E. coli* y *K. oxytoca* 4% cada uno.

Oliveros, et al. en Medellín, Colombia (enero 2010-diciembre 2013), en su estudio de bacteremias causadas por Enterobacterias resistentes a carbapenemes reporta que en 64 casos estudiados, los microorganismos más frecuentes fueron *K. pneumoniae*, *S. marcescens* y *Enterobacter spp.* (64%, 20% y 11% respectivamente).

Los resultados de nuestro estudio concuerdan con los datos reportados por Gordillo, et al., Tato M, et al. y Oliveros, et al.; e indican que el microorganismo involucrado con más frecuentemente en las infecciones asociadas a la atención de la salud es *K. pneumoniae*. En cuanto al segundo microorganismo más frecuentemente aislado, nuestro estudio difiere de los resultados de Gordillo, et al., y Oliveros, et al., quienes reportan respectivamente que *E. coli* y *S. marcescens* son más frecuentes que *E. cloacae*.

El alto porcentaje de *K. pneumoniae* encontrados, son de gran interés, ya que dentro del grupo de las enterobacterias, es uno de los agentes etiológicos más importantes a nivel hospitalario, debido a su elevada resistencia a los antimicrobianos y alto número de aislamientos en diferentes tipos de muestras procedentes de infecciones, tales como heridas quirúrgicas, vías urinarias, aparato respiratorio y septicemias. Su importancia como agente causal de IAAS radica en la fácil adaptación de éste microorganismo al ambiente hospitalario y su sobrevivencia prolongada en superficies y manos del personal de salud, debido a su cápsula, la cual le permite resistir a la desecación y a sobrevivir en la piel; esto explica la fácil diseminación entre personas, así como entre salas de un mismo hospital.

**Gráfico 2: Frecuencia de las cepas resistentes a los carbapenemes pertenecientes al grupo de bacilos Gram negativos no fermentadores, según su género y especie, procedentes de los laboratorios que pertenecen a la Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos, INIS-MINSA, enero 2014 - diciembre 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 2.

En nuestro estudio, de 130 muestras analizadas, *A. baumannii* fué el agente más frecuente con 68 aislamientos (62%), seguido de *P. aeruginosa* con 62 aislamientos (47,7%).

Briceño, et al., mediante la actualización de la resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de nivel III de Colombia en los años 2006-2008, obtuvieron que en las salas generales se obtuvo frecuencia de 7% para *P. aeruginosa* y de 1% de *A. baumannii*; de manera similar en las salas de cuidados intensivos se obtuvo 9% de frecuencia de *P. aeruginosa* y 3% de *A. baumannii*; estos resultados a partir de la totalidad de los aislamientos de Gram negativos. Hernández-Gómez, et al., mediante la evaluación de la evolución de la resistencia microbiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos (enero 2019 – diciembre 2012) en Colombia, en donde de 24.203 bacilos Gram negativos aislados, el 15% correspondió *P. aeruginosa* y solo el 6% a *A. baumannii*.

Por lo tanto, nuestros resultados no concuerdan con los obtenidos por Briceño, et al. y Hernández-Gómez, et al., debido a que indican que *P. aeruginosa* presenta mayor frecuencia que *A. baumannii* en la totalidad de los aislamientos.

Los bacilos gram negativos no fermentadores siempre han demostrado una alta incidencia en infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) en pacientes con distintos tipos de procedimientos invasivos, deficiencias inmunológicas y con una larga estancia intrahospitalaria; lo que podría explicar el hallazgo de un porcentaje muy alto de éstos en nuestro estudio. Debido a las altas tasas de resistencia que presentan a los antimicrobianos, al aumento creciente de sus aislamientos, la facilidad de adaptación al ambiente hospitalario y los innumerables objetos inanimados que pueden ser reservorios de éstos microorganismos (equipos médicos, sistemas de ventilación, camas, soluciones de limpieza, desinfectantes, etc), es que deben ser permanentemente vigilados, y adoptar medidas de prevención, como prioridad, sobre aquellas medidas de tipo terapéutico.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada día, las IAAS provocan la prolongación de las estancias hospitalarias, discapacidad a largo plazo, una mayor resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos, enormes costos adicionales para los sistemas de salud, elevados costos para los pacientes y sus familias, y muertes innecesarias.

*A. baumannii* es, en el grupo de bacilos gram negativos no fermentadores, el agente etiológico que más se asocia a infecciones hospitalarias. Debido a su gran nivel de supervivencia en el ambiente intrahospitalario y la fácil adaptación a éste, la capacidad de sobrevivir en superficies húmedas o secas, la resistencia a desecación y el débil cumplimiento de medidas preventivas la diseminación de microorganismos; éste realiza una compleja dinámica dentro del área hospitalaria, lo que le permite migrar de una sala otra, exponiéndose a diferentes pacientes a los que se les aplican distintos tipos de tratamientos antimicrobianos, lo que contribuye al desarrollo de mecanismos de resistencia, o al intercambio de material genético con otras bacterias dentro del mismo ambiente, que pueden poseer mecanismos de resistencia adquiridos.

**Gráfico 3: Perfil de susceptibilidad de las enterobacterias resistentes a carbapenemes remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, enero del 2014 - diciembre del 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 3.

Las infecciones por enterobacterias resistentes a carbapenemes o productoras de carbapenemasas han emergido como un importante desafío en todo el mundo. Nuestro estudio describe que las 65 cepas de enterobacterias que fueron analizadas, muestran elevados niveles de resistencia en la mayoría de las familias de antibióticos. En  $\beta$ -lactámicos, las 65 (100%) cepas fueron resistentes a ampicilina (AMP), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), cefepime (FEP), cefaclor (CEC), cefalotina (CEF), Cefoxitina (FOX), amoxicilina-clavulánico (AMC), meropenem (MEM), imipenem (IMP) y piperacilina–tazobactam (TZP). Con respecto a las fluoroquinolonas, 59 (91%) fueron resistentes a ácido nalidíxico (NAL), 52 (80%) a ciprofloxacina (CIP) y 50 (77%) a levofloxacina (LEV). En el caso de trimetoprim-sulfametoxazol (STX) 59 cepas (91%) fueron resistentes. Al evaluar la familia de los aminoglucósidos, encontramos que gentamicina (GEN) presentó 59 cepas (89%) con resistencia. El único antibiótico sensible para estas cepas fue colistina (COL), con 61 aislamientos (94%) (donde el 6% restante corresponde a 4 cepas que poseen resistencia natural a este antibiótico). Cloranfenicol

(CHL) obtuvo 9 aislamientos (14%) sensibles. nitrofurantoína (NIT) se obtuvo 2 cepas (100%) que presentaron sensibilidad (estas fueron las únicas testadas con este antibiótico, porque provenían de orina).

De la Lastra et al., en abril-septiembre 2010 realizó la detección de serino-carbapenemasas de clase A y otros mecanismos de resistencia enzimática a  $\beta$ -lactámicos en cepas de Enterobacterias con susceptibilidad disminuida a carbapenems, de pacientes de un hospital universitario de Santiago, Chile, se analizaron 23 cepas (100%). Melgarejo, et al., analizó 76 cepas de enterobacterias resistentes a carbapenemes por producción de KPC, aisladas en hospitales de Asunción y Departamento Central en el 2013, Paraguay, en el cual se presentaron altos porcentajes de resistencia a  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y STX. Nuestro estudio, de manera similar, demostró que las cepas analizadas también presentaron multirresistencia, lo que prácticamente deja sin opciones terapéuticas aplicables.

Las cepas estudiadas se clasifican como extremadamente resistentes debido a que presentaron altos porcentajes de resistencia a los antimicrobianos; este tipo de cepas de dejan pocas opciones terapéuticas para el manejo de pacientes que sufren infecciones por las mismas. El uso incorrecto de antibióticos, inadecuadas medidas asépticas al momento de contacto con los pacientes, falta de vigilancia y control de la dosificación en los pacientes hospitalizados, deficientes medidas para evitar la diseminación de microorganismos, son algunas de las causas que contribuyen al aumento de resistencia antimicrobiana, lo que conlleva a un problema de salud pública a nivel nacional, ya que se traduce en el aumento de la morbi – mortalidad por infecciones causadas por estos microorganismos.

**Gráfico 4: Perfil de susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* remitidas por la Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 4.

El perfil de susceptibilidad de las 62 (100%) cepas de *P. aeruginosa*, limitó dramáticamente las opciones terapéuticas, ya que encontramos un elevado porcentaje de resistencia en la familia de los betalactámicos: 62 (100%) AMC, 57 (92%) CAZ y FEP, 60 (97%), MEM, 59 (90%) IMP, 31 (50%) ATM, 53 cepas (85%) piperacilina (PIP), 24 (39%) TZP; este último betalactámico presenta 19% de sensibilidad absoluta y 42% de sensibilidad disminuida, esto es característico en cepas productoras de metalo betalactamasas con fenotipo puro. En el caso de los aminoglucósidos, 53 cepas (86%)

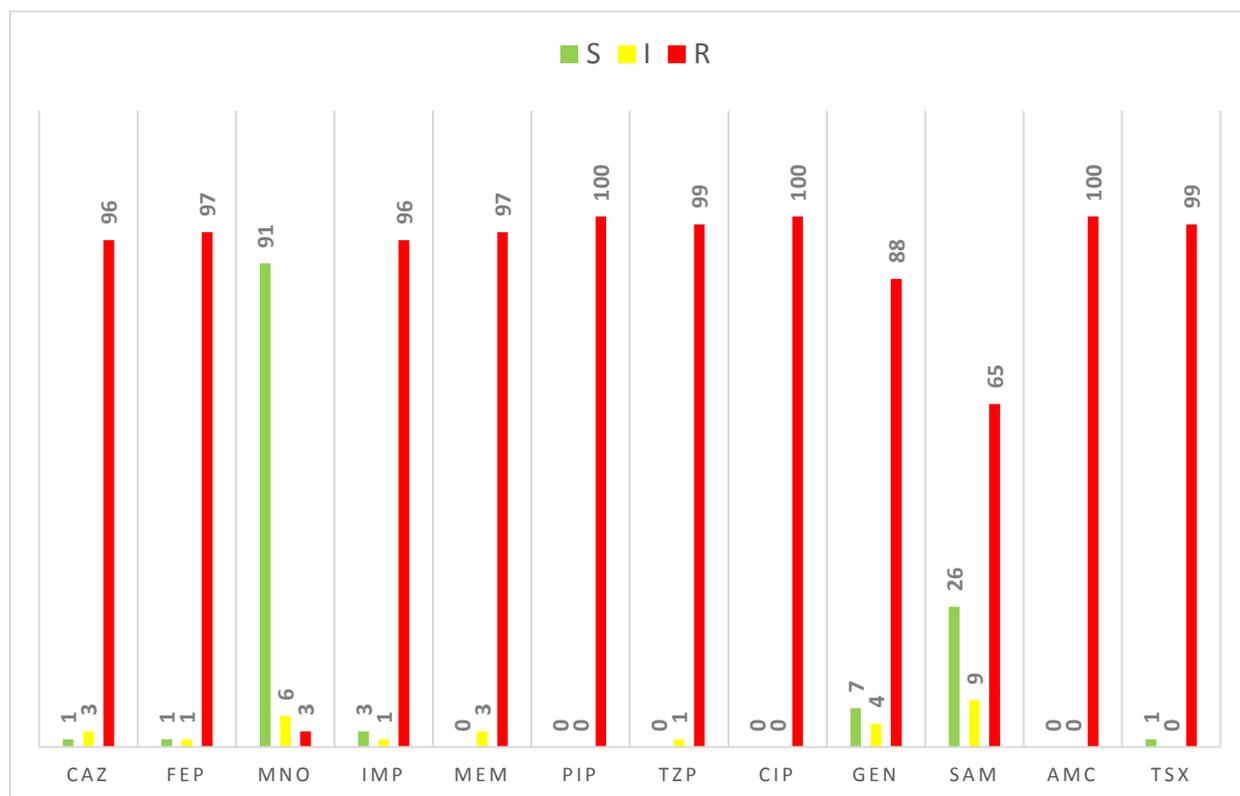
presentaron resistencia a GEN. En las fluoroquinolonas, 52 (84%) fueron resistentes CIP. Con respecto a los polipéptidos, las 62 cepas (100%) presentaron sensibilidad a COL.

En un estudio realizado por Sanchez, Salso, Culebra y Picazo en el que analizaron la resistencia a carbapenemes por metalo enzimas en 133 aislamientos de *P. aeruginosa*, obtuvieron que el 100% de las cepas tuvieron resistencia a por lo menos a uno de los carbapenémicos, el 1.7% fue resistente a gentamicina, otro 58.6% fue sensible a PIP; de 67 cepas resistentes a PIP, el 21.2% eran sensibles a la TZP y el 52,6% presentó resistencia a ATM.

Los resultados de nuestro estudio concuerdan con los obtenidos por Sánchez et al., ya que ambos revelan un alto porcentaje de resistencia a carbapenemes. Como podemos observar en el gráfico, el incremento de la resistencia antimicrobiana posiblemente se deba al uso irracional de los antimicrobianos, lo que viene a limitar los esquemas terapéuticos para las infecciones asociadas a la atención de la salud, aumento en la morbilidad, estancia hospitalaria y el incremento en los costos de atención.

La importancia de *Pseudomonas aeruginosa* radica en que es resistente, tanto de manera natural como adquirida, a un gran número de antibióticos, como cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad. La resistencia a los antimicrobianos usualmente activos sucede en el medio hospitalario. Las cepas pueden transmitirse entre ellas el material genético que media la resistencia, incluso a partir de otras bacterias Gram negativas como las enterobacterias. Otro factor preocupante es la capacidad de *P. aeruginosa* de tornarse resistente en el curso del tratamiento antibiótico. Los mismos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia (Gómez, Leal, Pérez, & Navarrete, 2005).

**Gráfico 5: Perfil de susceptibilidad en las cepas de *Acinetobacter baumannii* remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al INIS, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 5.

Las 68 (100%) cepas de *A. baumannii* estudiadas, presentaron resistencia a AMC y a PIP, 67 (99%) a TZP, 65 (96%) CAZ e IMP, 66 (97%) MEM y FEP, y 44 (65%) ampicilina - sulbactam (SAM). En el caso de los aminoglucósidos, 60 cepas (88%) presentaron resistencia a GEN, mientras que la resistencia a CIP se detectó en las 68 cepas (100%), con respecto a SXT 67 cepas (99%) fueron resistentes; minociclina (MNO) 62 cepas (91%) presentaron sensibilidad.

En un estudio realizado por Chávez, et al. en el que determinaron los patrones de resistencias a antibióticos de *A. baumannii* en un hospital de Colombia (2009-2010), donde se recuperaron 52 aislamientos, de los cuales el 100% presentó resistencia a GEN, AMK, tobramicina, STX, FEP, CAZ, IMP, y ticarcilina/clavulanato, mientras que la resistencia fue de 98% a CIP, 90% a LVX, 94% a SAM y 96% a MEM.

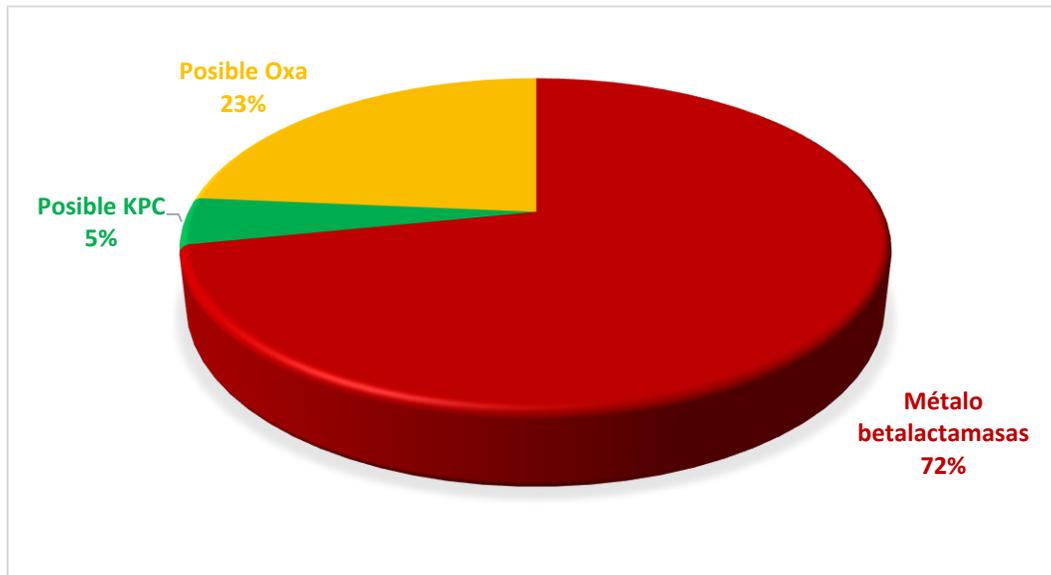
En otro estudio sobre identificación y caracterización de genes de carbapenemasas en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenemes en un hospital de Tailandia por Santimaleeworagun et al., encontraron cepas totalmente resistentes a CAZ, IMP y MEM usando el ensayo de difusión en disco y la mayoría de los aislamientos fueron resistentes a CIP, GEN, amikacina (AMK), y cefoperazona/Sulbactam (95%, 93%, 91% y 95%, respectivamente).

Los resultados obtenidos por Chávez et al. y Santimaleeworagun et al., concuerdan con los de nuestra investigación, debido que ambos presentaron una elevada resistencia a todos los antimicrobianos testados, excepto MNO. Este perfil fenotípico de *A. baumannii*, al igual que el resto de los aislamientos incluidos en este estudio, son clasificados como cepas Extremadamente Resistentes (XDR) por sus siglas en inglés, estas cepas con este tipo de resistencia dejan disminuir dramáticamente las alternativas antimicrobianas para tratar las infecciones asociadas a la atención de la salud.

La resistencia a antimicrobianos entre las distintas especies de *Acinetobacter* se ha incrementado de manera sustancial en la última década. Su capacidad para adquirir resistencia a múltiples antimicrobianos puede deberse a la relativa impermeabilidad de su membrana externa y a la exposición ambiental a un gran reservorio de genes de resistencia (Hernández, García, Yague, & Gómez, s.f.).

*Acinetobacter baumannii* es un agente patógeno oportunista asociado con graves infecciones intrahospitalarias, las cuales a menudo son tratadas con carbapenémicos como única alternativa terapéutica. Sin embargo, se han observado aislados clínicos con disminución de susceptibilidad o resistencia a carbapenémicos (Ikonomidis, y otros, 2010) más comúnmente causadas por betalactamasas, tales como carbapenemasas; que se encuentran codificadas en elementos móviles como plásmidos, integrones o transposones.

**Gráfico 6: Clasificación de las carbapenemasas, según la presencia o ausencia de inhibición utilizando EDTA o APB, en cepas remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al INIS, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 6.

Se les realizó la prueba de sinergismo con EDTA y APB a las cepas en estudio para identificar presencia de carbapenemasas, el 72% (140/195) de las cepas remitidas presentaron inhibición con EDTA indicando la producción de carbapenemasas de tipo Metallo; 9 (5%) presentaron sinergismo con APB, lo que indica la posible presencia de enzimas tipo serina. Las 46 cepas restantes (23%) no presentaron sinergia con ninguno de los inhibidores, lo que nos revela que ese porcentaje de cepas probablemente producen carbapenemasas de tipo OXA u otro mecanismo de resistencia.

En un estudio realizado por Torres Espín en Quito, Ecuador, en el cual determinaron las características fenotípicas de carbapenemasas en el Hospital Pediátrico Baca Ortiz en el año 2013; concluyeron que el 61% de las cepas estudiadas presentaron resistencia mediada por KPC; lo cual difiere a los resultados de nuestra investigación, ya que en nuestros resultados, el mayor porcentaje de carbapenemasas corresponde a las enzimas de tipo metalo, mientras que la resistencia mediada por enzimas de tipo serina, se detectaron en menor porcentaje

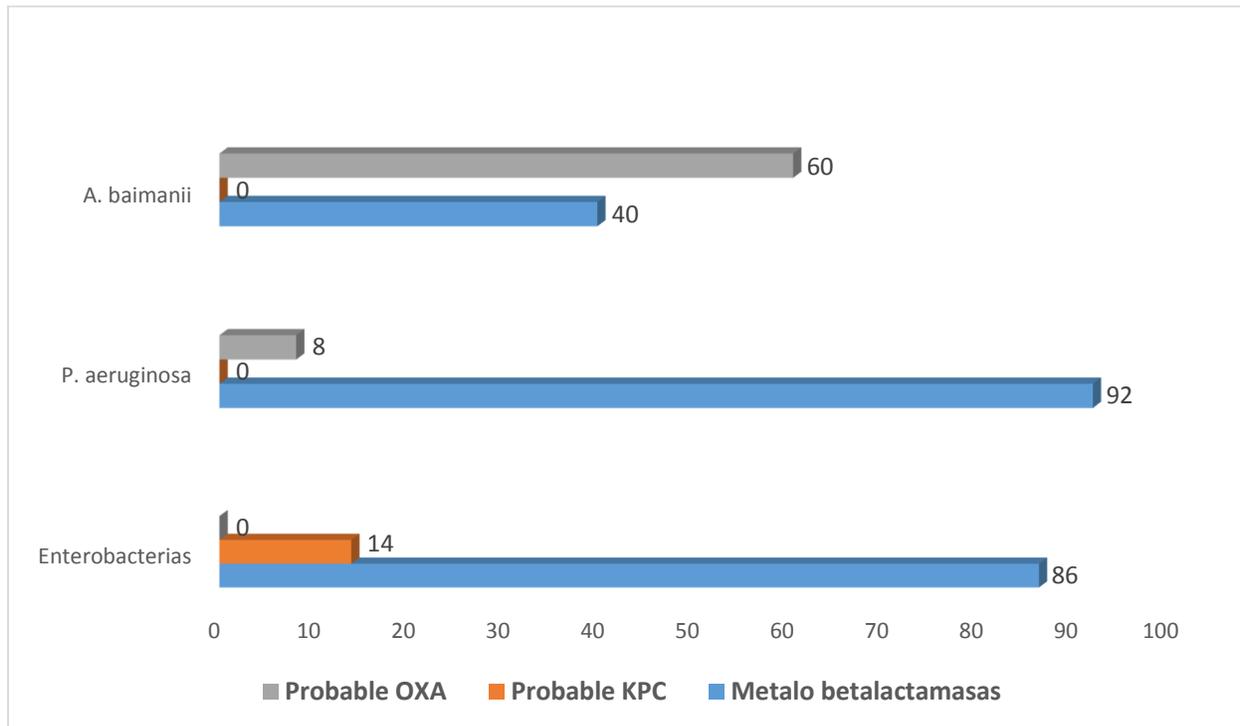
Según los datos obtenidos en nuestra investigación, el tipo de carbapenemasas que más ha circulado a nivel hospitalario durante el período de estudio son las metalo enzimas.

El elevado porcentaje de carbapenemasas del tipo metalo en nuestro país es de suma importancia, ya que estudios revelan que en otros países de la región, circula más cepas con enzimas de tipo KPC, sobre todo en cepas de enterobacterias, contrario a lo que encontramos en nuestro estudio, en el que las de tipo metalo fueron las que predominaron.

Según Marcelo Galas, del Instituto de Referencia de Malbrán, Argentina, es complicada conocer la razón de la alta prevalencia de metalo enzimas en Nicaragua, ya que muchas veces no depende del tipo de mecanismo que más se presente, si no del tipo de clon en la que se encuentre y la facilidad que tenga de diseminarlo. Si la metalo enzima llegó a Nicaragua en un clon exitoso, entonces quizás ese sea un factor intermitente por el cual se hayan diseminado. Por ejemplo, Campos et al., En Colombia, durante el 2015 estudiaron brotes de *K. pneumoniae* y la gran relación de cepas productoras de KPC con el clon ST258.

En Argentina, KPC entró en otro clon, para el 2006 y hubo casos esporádicos durante años, sin embargo, apareció KPC en el clon ST258 en el 2010 y se diseminó de forma veloz.

**Gráfica 7: Clasificación de las carbapenemasas según el tipo de microorganismo, utilizando EDTA o APB, en cepas remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al INIS, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 7.

De las 68 cepas estudiadas de *A. baumannii* (100%), 41 (60%) no presentaron sinergia con ninguno de los inhibidores, lo que indica la posible producción de carbapenemasas tipo OXAs u otro tipo de mecanismo de resistencia (impermeabilidad más E- flujo o BLEE más impermeabilidad), y las restantes 27 (40%) fueron productoras de Metallo-betalactamasas, por presentar sinergia con EDTA.

En las 62 (100%) de *P. aeruginosa*, 57 (92%) presentaron inhibición con EDTA, indicando la producción de carbapenemasas del tipo metalo y las 5 restantes (8%) no presentó sinergia con los inhibidores, lo que sugiere la producción de enzimas tipo OXAs, impermeabilidad más E- flujo o un fenotipo puro de impermeabilidad.

De las 65 cepas de enterobacterias (100%), 56 de las cepas (86%) presentaron sinergia con EDTA y tan solo 9 (14%) con APB.

A diferencia de nuestros resultados en *A. baumannii*, un estudio realizado por Santimaleeworagun, et al. en el cuál realizó la identificación y caracterización de genes en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenems de un hospital general en Tailandia; determinaron que el 100% de las cepas en estudio (43 cepas de la bacteria anteriormente mencionada) tenían resistencia mediada por enzimas codificadas por los genes *bla<sub>OXA-23</sub>* y *bla<sub>OXA-40</sub>*. Además, en otro estudio realizado en España por Ruiz, Marti, Fernández, Pascual y Vila durante el año 2007, se concluyó que hay una gran prevalencia de oxacilinasas con actividad contra carbapenems en *A. baumannii*, y la concomitante expresión de dos tipos de carbapenemasas (OXA-51-like y cualquier OXA-40-like or OXA-58-like).

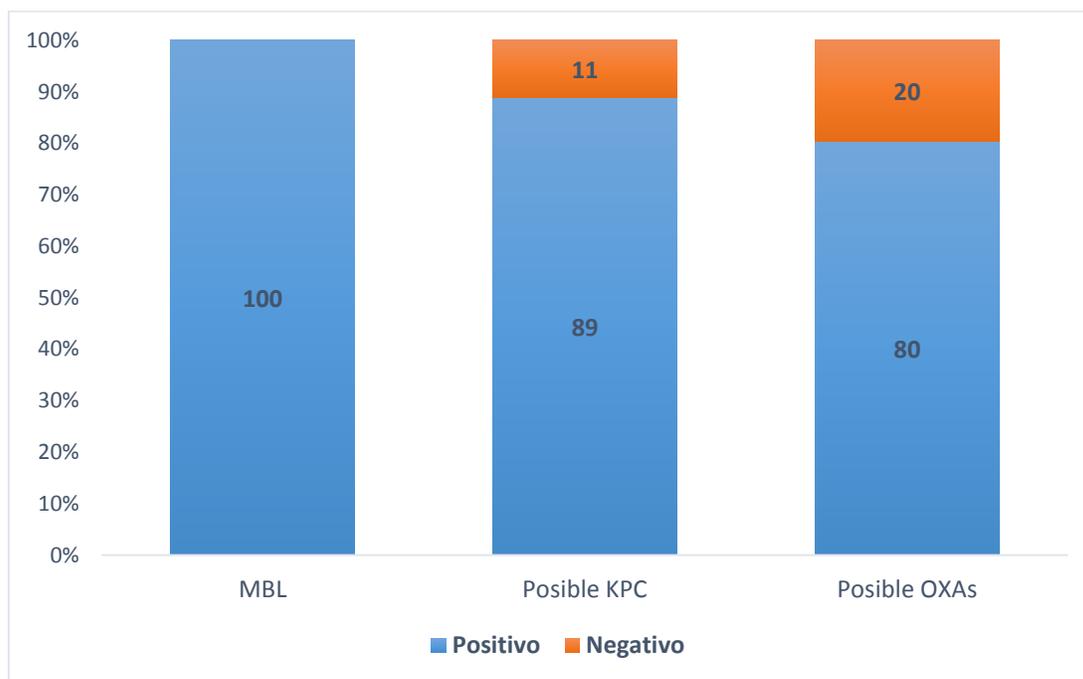
En el caso de *P. aeruginosa*, los resultados obtenidos se asemejan con los de Duarte et al., en donde el 79.1% de las 43 cepas productoras de carbapenemasas presentó sinergia para MBL.

En la investigación de Saavedra, Duarte, Gonzáles y Realpe, en la cual caracterizaron aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas de siete departamentos de Colombia, el 79,1 % de las cepas productoras de carbapenemasas presentó sinergia con MBL.

Nuestros resultados difieren de los obtenidos por Ortiz et al., realizado en el Hospital Antonio Lenin Fonseca durante el 2015, difieren un poco con los resultados obtenidos en este estudio, ya que en su investigación el 100% de las enterobacterias resistentes a carbapenems (13 cepas) resultaron positivos a la sinergia con EDTA. Por otro lado, difiere del estudio de Gómez Jaramillo en el que determinaba la presencia de carbapenemasas en enterobacterias de muestras recolectadas de nueve hospitales de Quito, de Mayo del 2009 a Noviembre del 2010, ya que el 100% de los aislamientos productores de carbapenemasas presentó sinergia con APB.

La producción de carbapenemasas es el mecanismo de resistencia mayormente involucrado en el hallazgo de bacterias multirresistentes (MDR) o XDR; y el alto porcentaje de cepas productoras de carbapenemasas encontradas en nuestro estudio, demuestra que son un desafío para el personal médico, por las pocas alternativas que estas enzimas dejan como opciones terapéutica; convirtiéndose así, en uno de los problemas más urgentes para la prevención, control y vigilancia de la infecciones intrahospitalarias.

**Gráfico 8: Producción de carbapenemasas según método de Hodge modificado más tritón, aplicado a cepas remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al INIS, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**



Fuente: Tabla del anexo 8.

En el Test de Hodge Tritón, de las 140 cepas (100%) que presentaron sinergia con EDTA, las 140 (100%) resultaron positivas para este test, corroborando la presencia de carbapenemasas; De las 9 (100%) cepas con posible producción de enzimas tipo serina, 8 (89%) fueron positivas, lo cual indica también la producción de carbapenemasas, y 1 (11%) resultó negativa, lo que sugiere que esta cepa presentó resistencia a carbapenemes mediadas por enzimas tipo AMP-C (ya que estas enzimas también son inhibidas con APB) combinado con otros mecanismo de resistencia (impermeabilidad más E-flujo). De las 46 cepas (100%) que habían sido catalogadas como posibles OXAs, 37 (80%) resultaron positivo al test de Hodge, sin embargo 9 (20%) fueron negativas, lo que sugiere que estas últimas porcentaje de cepas resistentes a carbapenémicos también poseen otros mecanismos de resistencia combinados, pero no carbapenemasas; esto explica la ausencia de inhibición con EDTA y APB.

Nuestro estudio difiere de la investigación de Ling Toledo durante la caracterización fenotípica y genotípica de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa KPC en una institución de salud del estado Zulia durante el año 2009, en la que el total de cepas estudiadas 158 (25%) fueron

resistentes a los carbapenemes y de estas el 100% resultaron productoras de carbapenemasas según el Hodge modificado.

Los resultados de nuestro estudio también difieren del estudio de Le et al., 2010, donde todas las cepas sospechosas de producción de carbapenemasa que fueron confirmadas mediante el HMT fueron positivas, lo que indica que ellos no encontraron mecanismos de resistencia a carbapenémicos, que no fueran carbapenemasas.

Un informe médico realizado por Ornelas et al., donde valoraron la utilidad del sistema automatizado Vitek 2<sup>®</sup> Compact y los métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas tipo KPC, mencionan un aislamiento positivo con APB, pero presentó un gen codificador de KPC. El aislamiento era un *Citrobacter freundii* que se caracteriza por ser productor natural de AmpC y se conoce el APB es un inhibidor importante tanto de KPC como de AmpC y puede producirse sinergia en estos casos; esto respalda la hipótesis de que la cepa de *A. baumannii* que resultó falso positivo con APB probablemente se trate de una cepa hiperproductora AMP-C combinado con otro mecanismo de resistencia.

## 10. CONCLUSIONES

1. De los 195 bacilos Gram negativos estudiados, 65 fueron Enterobacterias, de las cuales 45 (69%) fueron *K. pneumoniae*, 8 (12%) *E. cloacae*, 5 (8%) *E. coli*, 2 (3%) *P. agglomerans* y *P. mirabilis* (cada una); y 1 (2%) *E. fergusonii*, *P. vulgaris* y *P. stuartii* (cada una). El resto, 130 fueron bacilos gram negativos no fermentadores, de los cuales 62 (48%) eran *P. aeruginosa* y 68 (52%) *A. baumannii*.
2. En caracterización de la susceptibilidad antimicrobiana en las Enterobacterias resistentes a carbapenemes, se encontraron diferentes perfiles de resistencia en los 65 aislamientos evaluados (100%). En  $\beta$ -lactámicos AMP, CAZ, CRO, FEP, CEC, CEF, FOX, AMC, MEM, IMP y TZP presentaron resistencia en 65 cepas (100%). En fluoroquinolonas, 59 aislamientos (91%) presentaron resistencia al NAL y 52 (80%) a CIP y 50 (77%) a LEV. STX presentó 59 cepas (91%) con resistencia. De aminoglucósidos, se presentaron 59 cepas (89%) con resistencia a GEN. El antibiótico con mayor porcentaje de sensibilidad fue COL con 61 aislamientos (94%) (El 6% restante es de 4 cepas que poseen resistencia natural). CHL tuvo 9 aislamientos (14%) sensibles (63/65 cepas eran procedentes de muestras de tejidos) y NIT obtuvo 2 cepas (100%) sensibles, (estas fueron las únicas testadas con este antibiótico, puesto que provenían de orina). *P. aeruginosa* con 62 cepas (100%) estudiadas, los betalactámicos presentaron elevada resistencia, 62 cepas (100%) fueron resistentes a AMC, 57 (92%) a CAZ y FEP, 60 (97%) a MEM, 59 (90%) a IMP, 31 (50%) a ATM, 53 cepas (85%) a piperacilina (PIP), y solo 24 (38%) a TZP. Para aminoglucósidos, 53 cepas (86%) fueron resistentes a GEN. En el caso de fluoroquinolonas, 52 (84%) fueron resistentes a CIP. Las polimixinas (POLB o COL), 62 (100%) presentaron sensibilidad. De *A. baumannii* fueron 68 cepas (100%) estudiadas (100%), en la familia de betalactámicos 68 cepas (100%) presentaron resistencia a AMC, 67 (99%) a PIP, 65 (96%) a TZP, 65 (96%) a CAZ e IMP, 66 (97%) MEM y FEP, y 44 (65%) a SAM. En los aminoglucósidos, 60 cepas (88%) presentaron resistencia a GEN. En las fluoroquinolonas, las 68 cepas (100%) fueron resistentes a CIP. 67 cepas (99%) fueron resistentes para STX. Minociclina (MNO) fue sensible en 62 cepas (91%).

3. De las 195 cepas (100%) en estudio, 140 cepas (72%) producían carbapenemasas del tipo Metalo; 9 (5%) expresaron la producción de posibles serino enzimas; 46 cepas (23%) fueron posibles productoras carbapenemasas de tipo OXA u otro mecanismo de resistencia a carbapenems, por la falta de sinergismo con los inhibidores. En el 60% de las cepas de *A. baumannii* se observó la producción de posibles carbapenemasas tipo OXAs y un 40% eran producían metalo  $\beta$ -lactamasas; en las *P. aeruginosa*, el 92% presentaron metalo- $\beta$ -lactamasas y el 8% restante posiblemente producían enzimas tipo OXAs. En Enterobacterias, un 86% producían metalo  $\beta$ -lactamasas y un 14% posiblemente KPC.
  
4. En el Test de Hodge-Tritón, las 140 cepas (100%) que presentaron sinergia con EDTA resultaron positivas al test; 8 cepas (89%) de las cepas que presentaron sinergia con APB tuvieron un resultado positivo y 11% fueron negativas; para las posibles OXAs, 37 aislamientos (80%) fueron THT positivo y 9 (20%) fueron negativos. Las cepas que resultaron positivas al test sugieren la producción carbapenemasas, mientras que los negativos refieren a la acción de otros mecanismos de resistencia a estos antibióticos y no la producción carbapenemasas.

## **11. RECOMENDACIONES**

### **Al comité de infecciones intrahospitalarias:**

1. Controlar el uso de antibióticos, para así evitar el desarrollo de más cepas resistentes a los antimicrobianos.
2. Poner en práctica medidas para la vigilancia y control en la diseminación de bacterias resistentes a antimicrobianos.

### **A la dirección de docencia de cada hospital:**

1. A la dirección de docencia del hospital: Implementar educación al personal médico que labora en las diferentes salas para hacer conciencia acerca del impacto que tiene la aplicación de medidas para prevenir la propagación de bacterias multirresistentes.

### **Al personal de laboratorio:**

1. Informar de periódicamente la resistencia a los antimicrobianos al comité de infecciones intrahospitalarios de sus respectivos hospitales.
2. Poner en marcha metodologías estandarizadas difusión de resultados al personal médico.

### **A la universidad:**

1. Hacer conciencia a los estudiantes del área de la salud acerca de la importancia de los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos y cómo evitar su diseminación.
2. Promover la concientización y el entendimiento de la resistencia a los antimicrobianos.

### **A los estudiantes:**

1. Fortalecer los conocimientos a través de la investigación acerca de la importancia de los mecanismos de resistencia bacteriana, y su impacto a nivel de la salud pública.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, N., Drew, L., & Florde, J. (2011). *Sherris Microbiología Médica* (Quinta edición ed.). (K. Ryan, & G. Ray, Edits.) México D.F.: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A. de C. V. doi:ISBN: 978-607-15-0554-5
- Álvarez, D., Garza, G., & Vásquez, R. (2015). Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Revista chilena de Infectología*, 500. doi:32 (5): 499-504
- Aportela, J., Flores, L., Serrato, A., & Sierra, E. (s.f.). PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa. En *Herramientas moleculares aplicadas a la Ecología* (pág. 55). México D.F. Obtenido de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/710/pcr.pdf>
- Brooks, G., Butel, J., Carroll, K., Mietzner, T., & Morse, S. (2011). *Jawetz, Melnick y Adelberg: Microbiología Médica* (Vol. 25a Edición). Mexico D.F.: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V. doi:ISBN: 978-607-15-0503-3
- Carrillo, A., & García, A. (2007). Taller del Laboratorio Clínico. *Betalactamasas de espectro extendido. Importancia clínica*. 2, págs. 18 - 19. Asociación Española de Biopatología Médica. doi:I.S.S.N.- 1988-7469
- Cercenado, E., & Saavedra, J. (2009). *El antibiograma: Interpretación del antibiograma (I)*. Madrid. doi:2009;7(4):214-7
- Damiáni, E., Esteves, R., & Torrico, E. (s.f.). Bacilos Gram negativos Fermentadores: ENTEROBACTERIAS. *Vigilancia, prevención y control de infecciones asociadas a servicios de salud*, 305. Obtenido de <http://www.ops.org.bo/textocompleto/nenterobac32452.pdf>
- De la Lastra, V., Ulloa, T., Pinto, E., Vidal, M., & Silva, F. (2010). Serinocarabapenemasas de clase A en Enterobacterias. *Revista Hospital Clínico Universidad de Chile*, 234.

Duarte, C., & Muñoz, A. (2012). *Manual de procedimientos para la determinación de susceptibilidad antibiótica en patógenos de importancia hospitalaria.*

García, T., Castillo, A., & Salazar, D. (2014). Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. *Revista Cubana de Salud Pública*, 40, 129. doi: ISSN 0864-3466

Gómez, C., Leal, A., Pérez, M., & Navarrete, M. (Enero de 2005). Mecanismos de resistencia en pseudomonas aeruginosa: Conociendo a un peligroso enemigo. *Revista de la Facultad de Medicina*, 53(1).

Gómez, J., García, E., & Hernández, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Revista Española de Quimioterapia*, 1. Obtenido de <http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/1/gomez.pdf>

Hernández, A., García, E., Yague, G., & Gómez, J. (s.f.). *Acinetobacter baumannii multirresistente.* Recuperado el 29 de Marzo de 2017, de <http://seq.es/seq/0214-3429/23/1/hernandez.pdf>

Ikonomidis, A., Neou, E., Gogou, V., Vrioni, G., Tsakris, A., & Pournaras, S. (Abril de 2010). Resistencia a meropenem en *Acinetobacter baumannii*. *Revista chilena de infectología*, 27(2).

Jara, M. (Enero - diciembre de 2007). Tetraciclinas: un modelo de resistencia antimicrobiana. *Avances en ciencias veterinarias*, 22(1 y 2).

Jiménez, A., Vargas, J., & Tijerino, A. (2011). *Mecanismos de resistencia a los antibióticos de importancia clínica en enterobacterias.* Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Costa Rica.

Lima, E. (s.f.). Sulfonamidas y Trimetoprim. Recuperado el 3 de Enero de 2017, de <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/sulfo/sulfonamidas.htm>

- Moreno, K. (2013). Carbapenémicos: Tipos y Mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica LXX*, 602-604. Obtenido de <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/608/art8.pdf>
- Ochoa, D. (s.f.). *Tetraciclinas, Cloranfenicol y Polipeptídicos*. Madrid. Recuperado el 3 de marzo de 2017, de [http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F\\_General/FG\\_T65.pdf](http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F_General/FG_T65.pdf)
- Ortiz, D., Rodríguez, M., & Urbina, J. (2015). *Identificación fenotípica de Enterobacterias productoras de carbapenemasa y genes que*. Managua.
- Paciel, D., Seija, V., Prieto, J., Vignoli, R., Medina, J., & Savio, E. (2011). Enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae*). *Revista Tendencias*.
- Pena, I. (2016). *Enterobacterias productoras de carbapenemasas: tipos, epidemiología molecular y alternativas terapéuticas*. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- Rodriguez, J. (Junio de 2013). *Sociedad Valenciana de Microbiología Clínica*. Obtenido de <http://www.svamc.com>
- Seija, V., & Vignoli, R. (s.f.). Principales grupos de antibióticos. *Temas de bacteriología y vorología médica*, 631.
- Taléns, R., Garrigues, T., & Cantón, E. (s.f.). *Mecanismos de resistencia bacteriana a las quinolonas*. Valencia. Obtenido de [http://seq.es/seq/html/revista\\_seq/ultima/rev1/rev1.html](http://seq.es/seq/html/revista_seq/ultima/rev1/rev1.html)
- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Tecnología en Salud*, 2(2), 71. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2013/ir132d.pdf>

Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (s.f.). *Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica*. Obtenido de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

Tórres, M. (s.f.). *Nitrofurantoína*. Recuperado el 3 de Enero de 2017, de <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/nitro/nitro.html>

Torrice, E. (s.f.). Bacilos Gram negativos no fermentadores: Pseudomonas, Stenotrophomonas, Acinetobacter, Burkholderia. *Vigilancia, prevención y control de infecciones asociadas a servicios de salud*, 319-320. Obtenido de <http://www.ops.org.bo/textocompleto/npseu32453.pdf>

Torrice, E. (s.f.). Bacilos Gram negativos no fermentadores: Pseudomonas, Stenotrophomonas, Acinetobacter, Burkholderia. *Vigilancia, prevención y control de infecciones asociadas a servicios de salud*, 330. Obtenido de <http://www.ops.org.bo/textocompleto/npseu32453.pdf>

Universidad Autónoma de Madrid. (s.f.). *Tetracilclinas, cloranfenicol y antibióticos polipeptídicos*. Curso de farmacología, Departamento de Farmacología y Terapéutica, Madrid.

Vanegas, J., Roncancio, G., & Jiménez, J. (2014). Acinetobacter baumannii: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *Rev CES Med*, 233 - 241. doi:28(2): 233-246

Zepeda, C. (s.f.). Bacilos Gram Negativo, anotaciones de interés clínico. *Revista Médica Honduras*, 49, 105.

### 13. ANEXOS

**Anexo 1: Frecuencia de Enterobacterias resistentes a carbapenemes, remitidas por Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia los Antimicrobianos, según género y especie al CNDR, enero 2014 – diciembre 2016.**

Enterobacteria	Frecuencia	Porcentaje
<i>E. coli</i>	5	8%
<i>K. pneumoniae</i>	45	69%
<i>P. agglomerans</i>	2	3%
<i>P. stuartii</i>	1	2%
<i>P. vulgaris</i>	1	2%
<i>E. cloacae</i>	8	12%
<i>E. fergusonii</i>	1	2%
<i>P. mirabilis</i>	2	3%
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>100%</b>

Fuente: Ficha de recolección de datos.

**Anexo 2: Frecuencia de las cepas resistentes a los carbapenemes pertenecientes al grupo de bacilos Gram negativos no fermentadores, según género y especie, procedentes de los laboratorios que pertenecen a la Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos, CNDR, enero 2014 - diciembre 2016**

No fermentadores	Frecuencia	Porcentaje
<i>P. aeruginosa</i>	62	48%
<i>A. baumannii</i>	68	52%
<b>Total</b>	130	100%

Fuente: Ficha de recolección de datos

**Anexo 3: Perfil de susceptibilidad de las Enterobacterias remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, enero del 2014 - diciembre del 2016.**

ETB		R	I	S	Total
<b>AMP</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>CEC</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>CEF</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>MEM</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>IMP</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>FOX</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>TZP</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>FEP</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>CAZ</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>AMC</b>	N	65	0	0	65
	%	100%	0%	0%	100%
<b>CRO</b>	N	65	0	0	65

	%	100%	0%	0%	100%
<b>CIP</b>	N	52	7	6	65
	%	80%	11%	9%	100%
<b>ATM</b>	N	55	5	5	65
	%	85%	8%	8%	100%
<b>STX</b>	N	59	5	1	65
	%	91%	8%	2%	100%
<b>NAL</b>	N	59	5	1	65
	%	91%	8%	2%	100%
<b>COL</b>	N	4	0	61	65
	%	6%	0%	94%	100%
<b>LVX</b>	N	50	0	15	65
	%	77%	0%	23%	100%
<b>GEN</b>	N	58	0	7	65
	%	89%	0%	11%	100%
<b>CHL*</b>	N	37	16	9	62
	%	59%	27%	14%	100%
<b>NIT*</b>	N	0	0	2	2
	%	0%	0%	100%	100%

\*NIT y CHL poseen diferente frecuencia en el total, debido que no son testados en todos los aislamientos, por el tipo de muestra del que provienen.

Fuente: Ficha de recolección de datos.

**Anexo 4: Perfil de susceptibilidad de las *P. aeruginosa* remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, enero del 2014 - diciembre del 2016.**

ATB		S	I	R	Total
<b>CAZ</b>	N	4	1	57	62
	%	6	2	92	100
<b>FEP</b>	N	4	1	57	62
	%	6	2	92	100
<b>ATM</b>	N	6	25	31	62
	%	10	40	50	100
<b>IMP</b>	N	2	1	59	62
	%	3	2	95	100
<b>MEM</b>	N	1	1	60	62
	%	2	2	97	100
<b>PIP</b>	N	7	2	53	62
	%	11	3	85	100
<b>TZP</b>	N	12	26	24	62
	%	19	42	39	100
<b>CIP</b>	N	8	2	52	62
	%	13	3	84	100
<b>GEN</b>	N	9	0	53	62
	%	15	0	85	100
<b>POL</b>	N	62	0	0	62

	%	100	0	0	100
<b>AMC</b>	N	0	0	62	62
	%	0	0	100	100

Fuente: Ficha de recolección de datos.

**Anexo 5: Perfil de susceptibilidad en las cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenemes, remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**

ATB		S	I	R	Total
<b>CAZ</b>	N	1	2	65	68
	%	1	3	96	100
<b>FEP</b>	N	1	1	66	68
	%	1	1	97	100
<b>MNO</b>	N	62	4	2	68
	%	91	6	3	100
<b>IMP</b>	N	2	1	65	68
	%	3	1	96	100
<b>MEM</b>	N	0	2	66	68
	%	0	3	97	100
<b>PIP</b>	N	0	0	68	68
	%	0	0	100	100
<b>TZP</b>	N	0	1	67	68
	%	0	1	99	100
<b>CIP</b>	N	0	0	68	68

	%	0	0	100	100
<b>GEN</b>	N	5	3	60	68
	%	7	4	88	100
<b>SAM</b>	N	18	6	44	68
	%	26	9	65	100
<b>AMC</b>	N	0	0	68	68
	%	0	0	100	100
<b>TSX</b>	N	1	0	67	68
	%	1	0	99	100

Fuente: Ficha de recolección de datos.

**Anexo 6: Clasificación de las carbapenemasas según la presencia o ausencia de inhibición utilizando EDTA o APB, en cepas remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**

Tipo de carbapenemasa	No. de aislamientos	
	N	%
<b>Métalo betalactamasas</b>	140	72
<b>Posible KPC</b>	9	5
<b>Posible OXA</b>	46	23
<b>Total</b>	195	100.00

Fuente: Ficha de recolección de datos.

**Anexo 7: Clasificación de las carbapenemasas según el tipo de microorganismo, utilizando EDTA o APB, en cepas remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, enero del 2014 - diciembre del 2016.**

Tipo de Carbapenemasa	<i>Enterobacterias</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>	
	N	%	N	%	N	%
<b>Metalo betalactamasas</b>	56	86	57	92	27	40
<b>KPC</b>	9	14	0	0.00	0	0
<b>Probable OXA</b>	0	0	5	8	41	60
<b>Total</b>	65	100	62	100	68	100

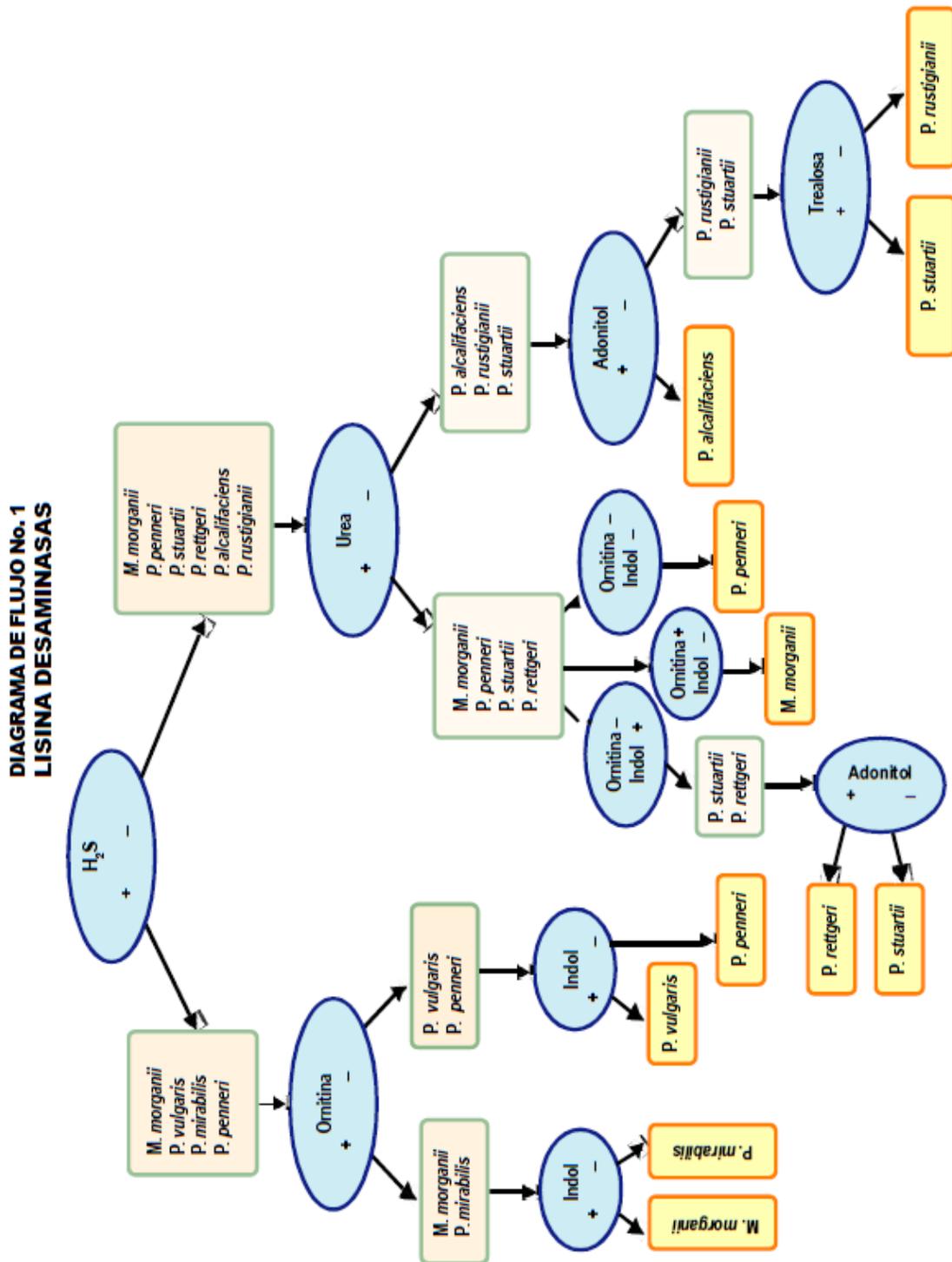
Fuente: Ficha de recolección de datos.

**Anexo 8: Producción de carbapenemasas según Test de Hodge Tritón, aplicado a cepas remitidas por parte Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos al CNDR, Nicaragua, Enero del 2014 - Diciembre del 2016.**

Resultado del test	MBL		KPC		Posible OXA	
	N	%	N	%	N	%
<b>Positivos</b>	140	100	8	89	37	80
<b>Negativo</b>	0	0	1	11	9	20
<b>Total</b>	140	100	9	100	46	100

Fuente: Ficha de recolección de datos.

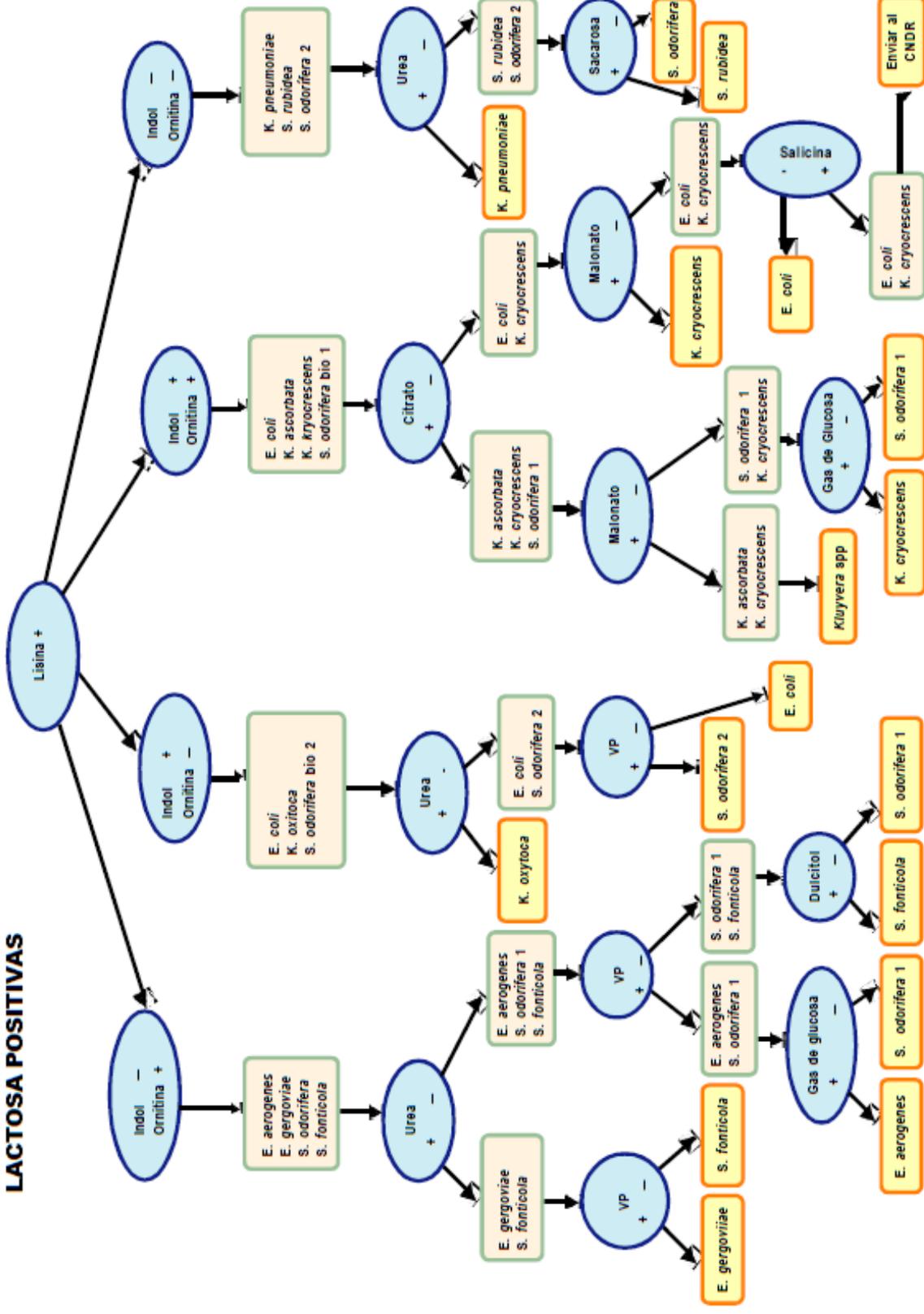
## Anexo 9: Flujogramas para la identificación de Enterobacterias:



Fuente: Manual de procedimientos de Bacteriología, 2004, MINSA

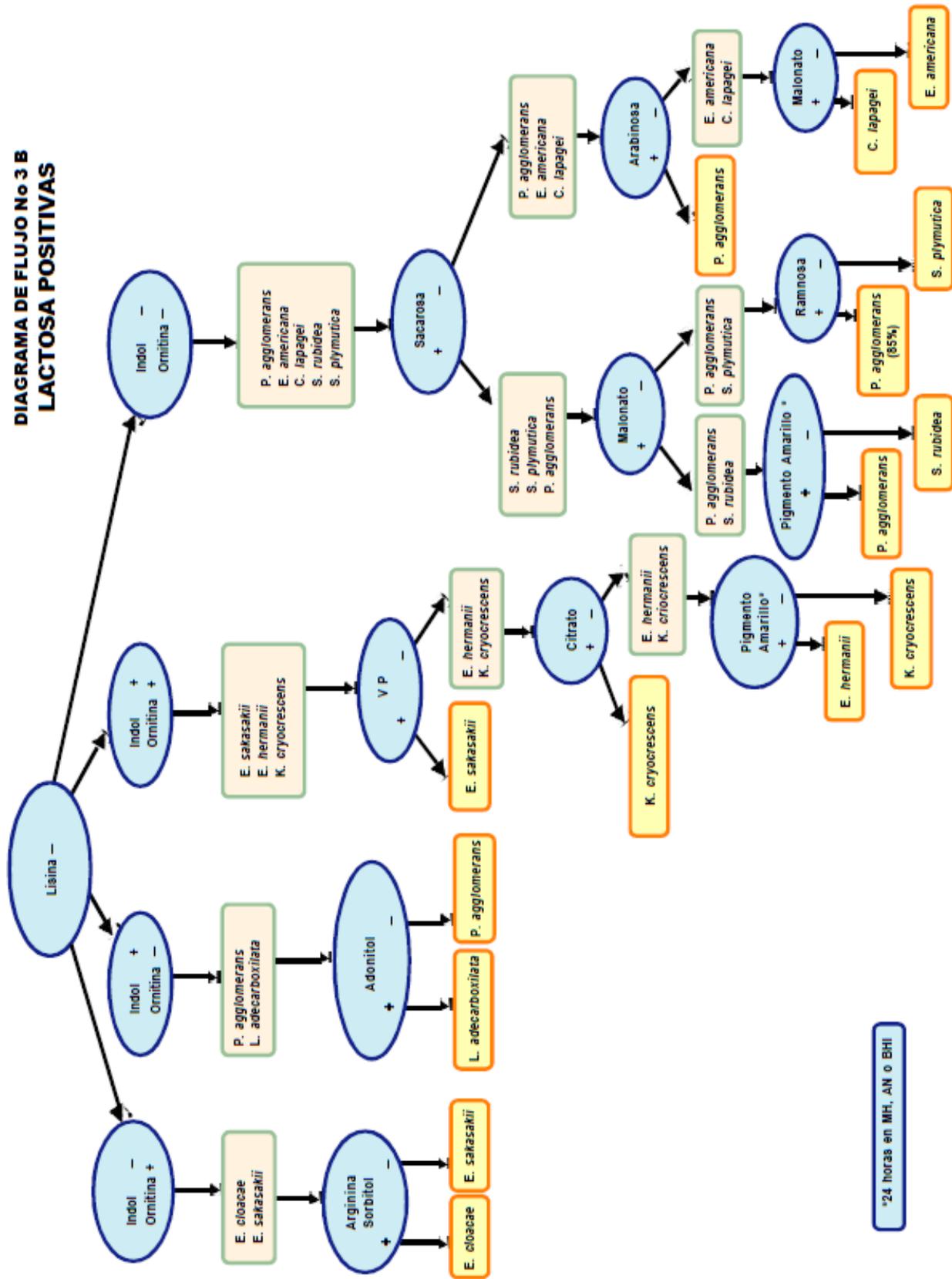


**DIAGRAMA DE FLUJO No. 3 A  
LACTOSA POSITIVAS**



Fuente: Manual de procedimientos de Bacteriología, 2004, MINSA

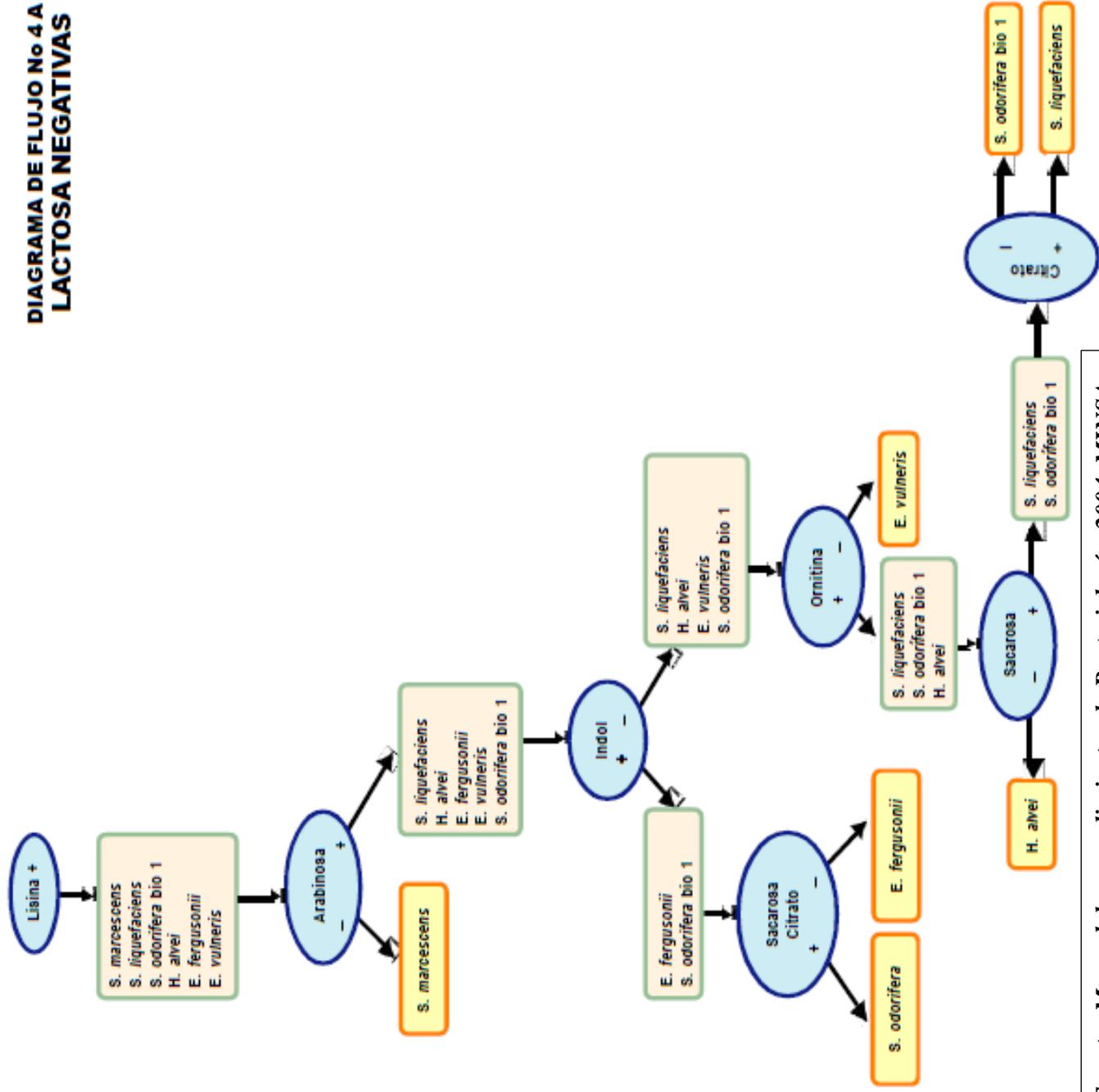
**DIAGRAMA DE FLUJO No 3 B  
LACTOSA POSITIVAS**



\*24 horas en MH, AN o BHI

Fuente: Manual de procedimientos de Bacteriología, 2004, MINSA

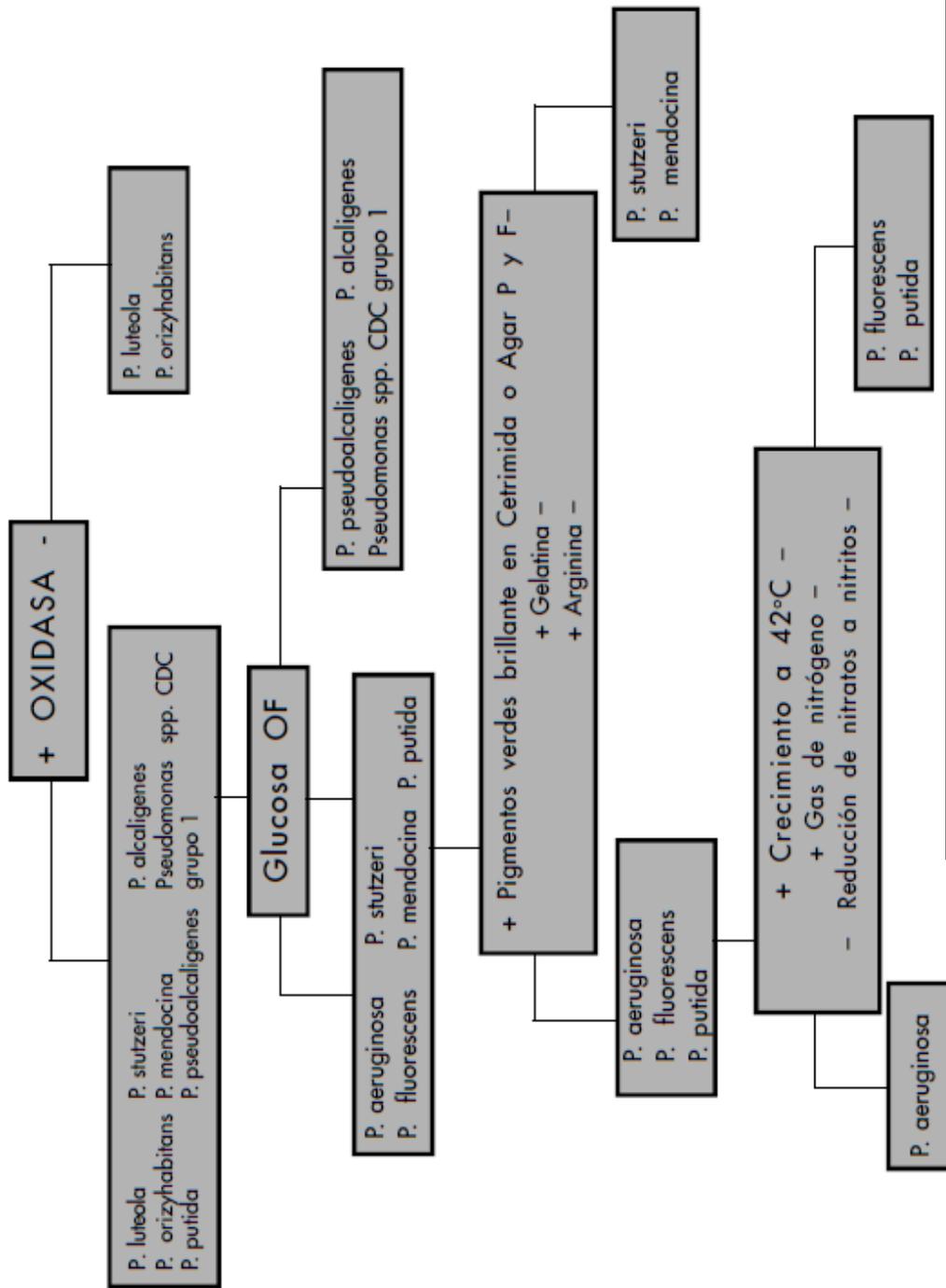
**DIAGRAMA DE FLUJO No 4 A  
LACTOSA NEGATIVAS**



Fuente: Manual de procedimientos de Bacteriología, 2004, MINSA

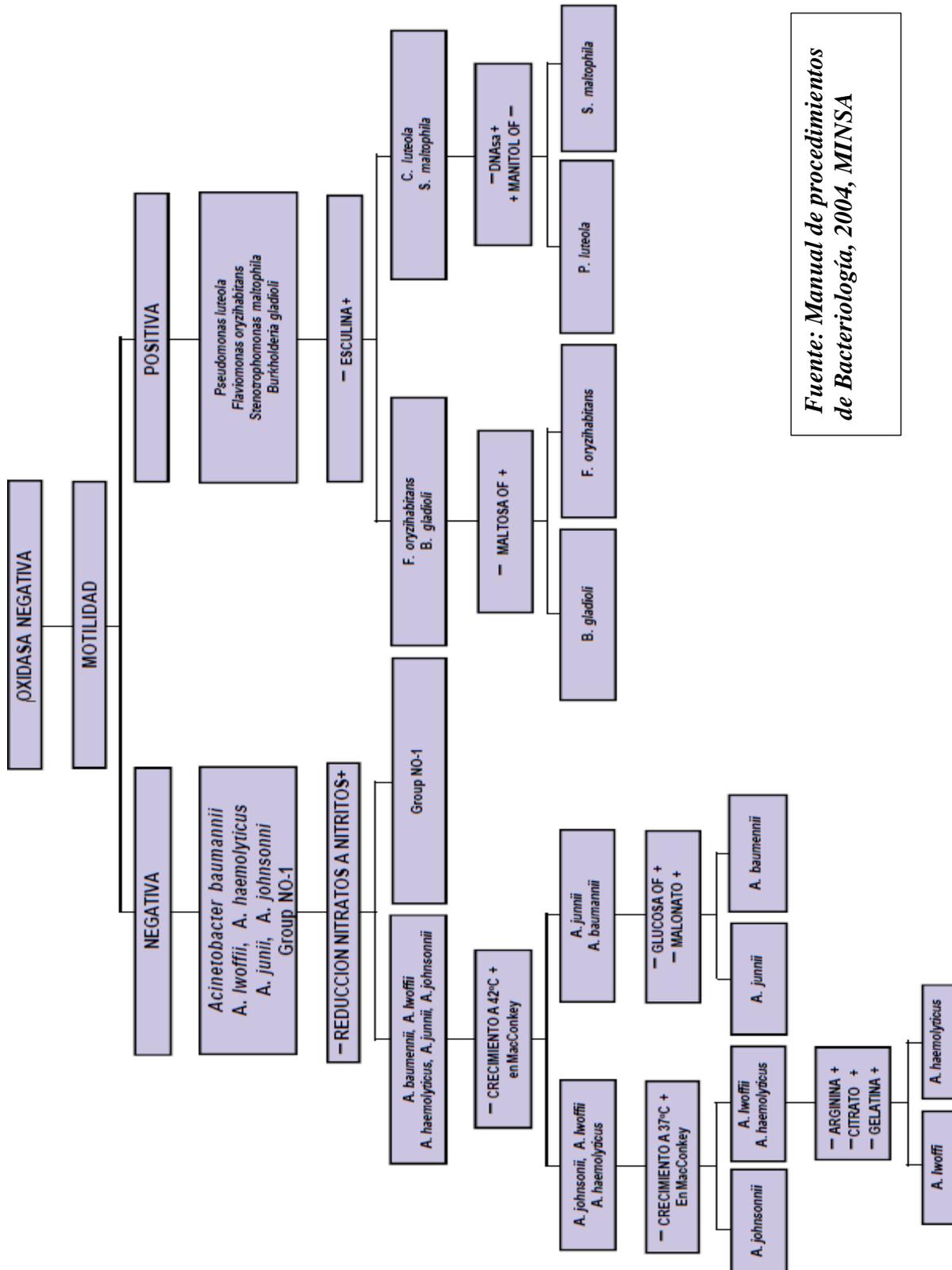
Anexo 10: Diagrama de flujo utilizado para la identificación de *P. aeruginosa*

DIAGRAMA DE FLUJO PARA NO FERMENTADORES MOVILIDAD POSITIVA



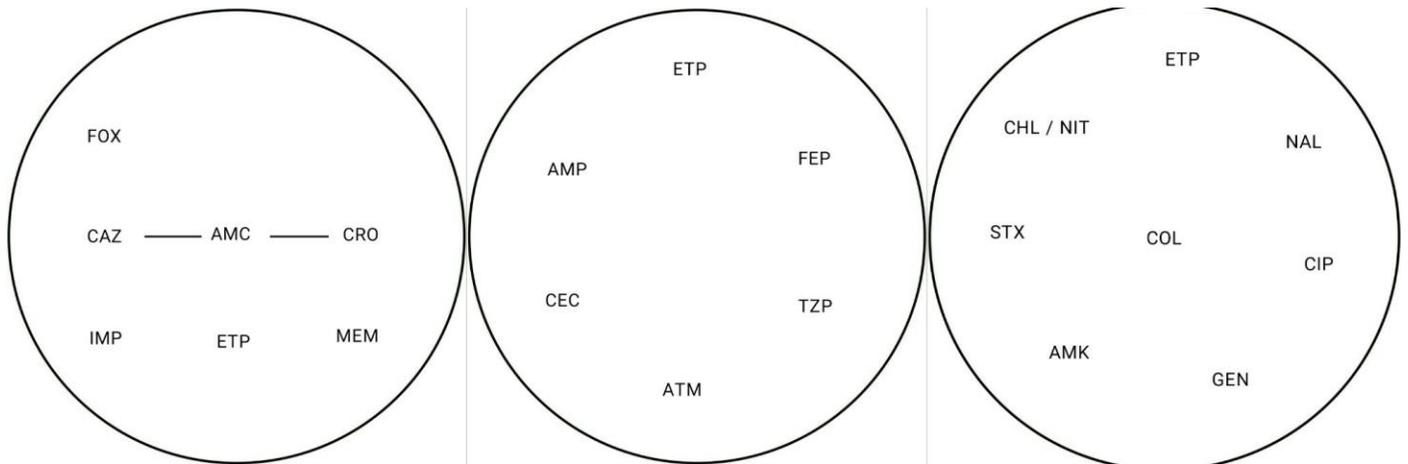
Fuente: Manual de procedimientos de Bacteriología, 2004, MINSA

Anexo 11: Diagrama de flujo utilizado para la identificación de *A. baumannii*

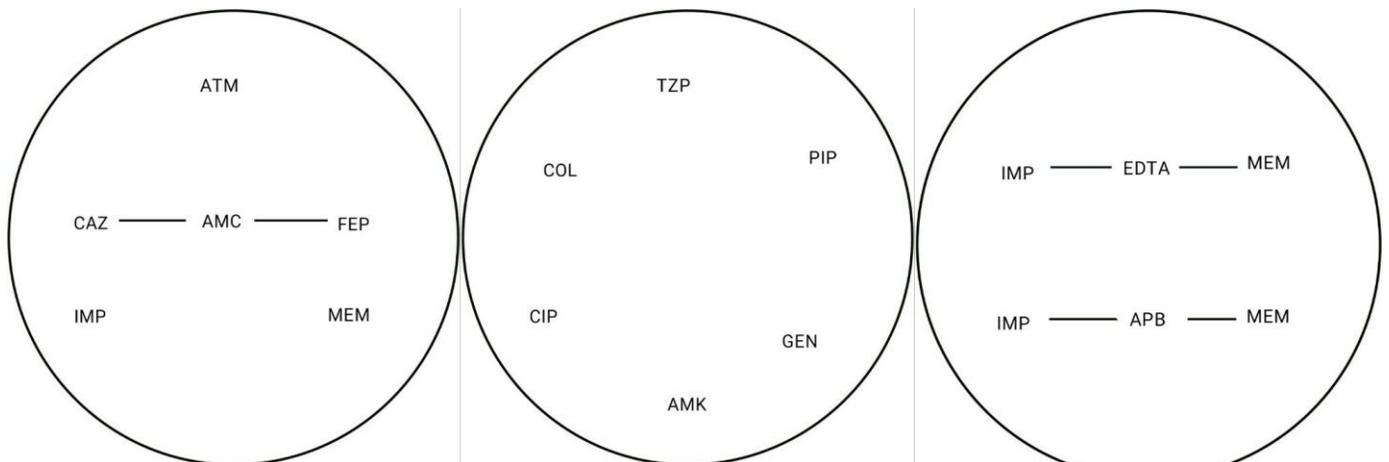


Fuente: Manual de procedimientos de Bacteriología, 2004, MINSA

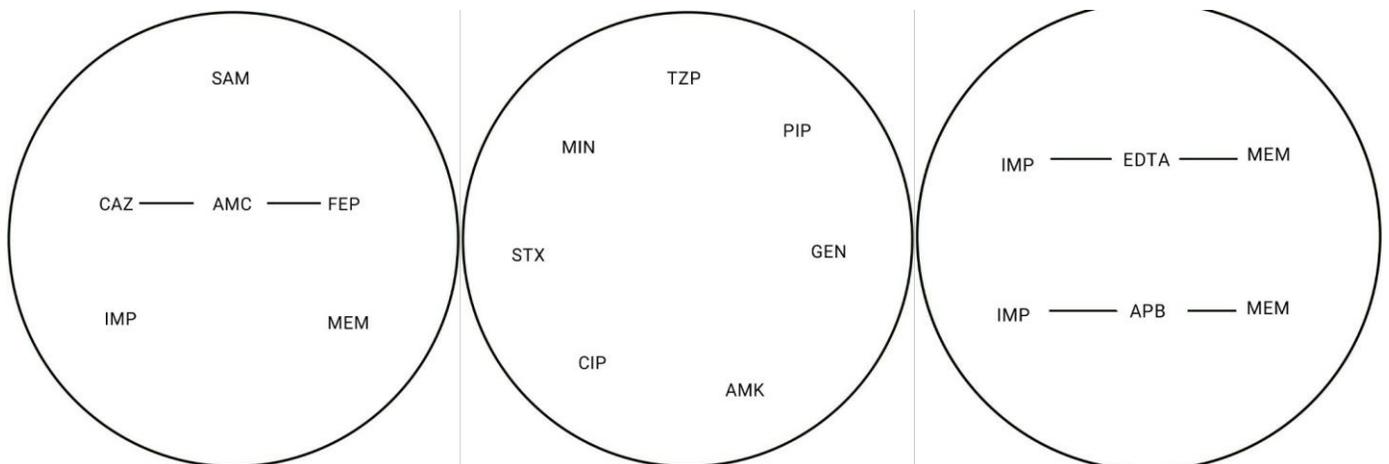
## Anexo 12: Ubicación de los discos para antibiogramas en Enterobacterias:



## Anexo 13: Ubicación de los discos para antibiograma en *P. aeruginosa*



## Anexo 14: Ubicación de los discos para antibiograma en *A. baumannii*



## Anexo 15: Discos para antibiogramas en Enterobacterias

Antimicrobiano	Concentración del disco	Interpretación		
		S	I	R
<b>Ampicilina</b>	10µg	≥ 17	14 - 16	≤ 13
<b>Piperacilina</b>	100 µg	≥ 21	18 - 20	≤ 17
<b>Amoxicilina – clavulánico</b>	20/10 µg	≥ 18	14 - 17	≤ 13
<b>Cefepime</b>	30 µg	≥ 25	-	≤ 18
<b>Cefotaxima</b>	30 µg	≥ 26	23 - 25	≤ 22
<b>Ceftriaxona</b>	30 µg	≥ 23	20 - 22	≤ 19
<b>Cefoxitin</b>	30 µg	≥ 18	15 - 17	≤ 14

<b>Cefuroxima (parenteral)}</b>	30 µg	$\geq 18$	15 – 17	$\leq 14$
<b>Ceftazidime</b>	30 µg	$\geq 21$	18 – 20	$\leq 17$
<b>Cefuroxima (oral)</b>	30 µg	$\geq 23$	15 – 22	$\leq 14$
<b>Cefaclor</b>	30 µg	$\geq 18$	15 -17	$\leq 14$
<b>Aztreonam</b>	30 µg	$\geq 21$	18 – 20	$\leq 17$
<b>Doripenem</b>	10 µg	$\geq 23$	20 -22	$\leq 19$
<b>Ertapenem</b>	10 µg	$\geq 22$	19 – 21	$\leq 18$
<b>Imipenem</b>	10 µg	$\geq 23$	20 – 22	$\leq 19$
<b>Meropenem</b>	10 µg	$\geq 23$	20 – 22	$\leq 19$

<b>Gentamicina</b>	10 µg	≥ 15	13 – 14	≤ 12
<b>Amikacina</b>	30 µg	≥ 17	15 – 16	≤ 14
<b>Tetraciclina</b>	30 µg	≥ 15	12 – 14	≤ 11
<b>Ciprofloxacina</b>	5 µg	≥ 21	16 – 20	≤ 15
<b>Levofloxacina</b>	5 µg	≥ 17	14 – 16	≤ 13
<b>Ácido nalidíxico</b>	30 µg	≥ 19	14 – 18	≤ 13
<b>Trimetroprim sulfametoxazol</b>	1.25/ 23.75 µg	≥ 16	11 – 15	≤ 10
<b>Cloranfenicol</b>	30 µg	≥ 18	13 – 17	≤ 12
<b>Nitrofurantoína</b>	300 µg	≥ 17	15 – 16	≤ 14

*Nota: Las CLSI a partir del 2014 hasta el 2016 no tuvieron variaciones.*

**Fuente:** CLSI 2014, 2015 y 2016

### Anexo 16: Puntos de corte para *P. aeruginosa*

Antimicrobiano	Concentración del disco	Interpretación		
		S	I	R
<b>Piperacilina</b>	100 µg	≥ 21	15 - 20	≤ 14
<b>Piperacilina Tazobactam</b>	100/ 10 µg	≥ 21	15 - 20	≤ 14
<b>Cefepime</b>	30 µg	≥ 18	15 - 17	≤ 14
<b>Ceftazidime</b>	30 µg	≥ 18	15 - 17	≤ 14
<b>Aztreonam</b>	30 µg	≥ 22	16 - 21	≤ 15
<b>Doripenem</b>	10 µg	≥ 19	16 - 18	≤ 15
<b>Imipenem</b>	10 µg	≥ 19	16 - 18	≤ 15

<b>Meropenem</b>	10 µg	≥ 19	16 – 18	≤ 15
<b>Gentamicina</b>	10 µg	≥ 15	13 – 14	≤ 12
<b>Amikacina</b>	30 µg	≥ 17	15 – 16	≤ 14
<b>Tetraciclina</b>	30 µg	≥ 15	12 – 14	≤ 11
<b>Ciprofloxacina</b>	5 µg	≥ 21	16 – 20	≤ 15
<b>Levofloxacina</b>	5 µg	≥ 17	14 – 16	≤ 13
<b>Colistín</b>	10 µg	≥ 11	-	≤ 10
<b>Polimixina B</b>	300 unidades	≥ 12	-	≤ 11

*Nota: Las CLSI a partir del 2014 hasta el 2016 no tuvieron variaciones.*

**Fuente:** CLSI 2014, 2015 y 2016

### Anexo 17: Puntos de corte para antibiogramas de *A. baumannii*

Antimicrobiano	Concentración del disco	Interpretación		
		S	I	R
<b>Piperacilina</b>	100 µg	≥ 21	18 - 20	≤ 17
<b>Ampicilina sulbactam</b>	10/10 µg	≥ 15	12 - 14	≤ 11
<b>Piperacilina Tazobactam</b>	100/ 10 µg	≥ 21	18 -20	≤ 17
<b>Cefepime</b>	30 µg	≥ 18	15 – 17	≤ 14
<b>Ceftazidime</b>	30 µg	≥ 18	15 – 17	≤ 14
<b>Cefotaxima</b>	30 µg	≥ 23	15 - 22	≤ 14
<b>Doripenem</b>	10 µg	≥ 18	15 - 17	≤ 14
<b>Imipenem</b>	10 µg	≥ 22	19 – 21	≤ 18
<b>Meropenem</b>	10 µg	≥ 14	15 - 17	≤ 14
<b>Gentamicina</b>	10 µg	≥ 15	13 – 14	≤ 12
<b>Amikacina</b>	30 µg	≥ 17	15 - 16	≤ 14
<b>Tetraciclina</b>	30 µg	≥ 15	12 - 14	≤ 11

<b>Minociclina</b>	30 µg	≥ 16	13 - 15	≤ 12
<b>Ciprofloxacina</b>	5 µg	≥ 21	16 – 20	≤ 15
<b>Levofloxacina</b>	5 µg	≥ 17	14 – 16	≤ 13
<b>Trimetoprim sulfametoxazol</b>	1.25/ 23.75 µg	≥ 16	11 - 15	≤ 10

*Nota: Las CLSI a partir del 2014 hasta el 2016 no tuvieron variaciones.*

**Fuente:** CLSI 2014, 2015 y 2016



**MINISTERIO DE SALUD, NICARAGUA  
CENTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA (CNDR)  
DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA**

La siguiente ficha está únicamente diseñada para la recolección de datos clínicos y epidemiológicos de cepas resistentes a carbapenems, remitidas por diferentes laboratorios pertenecientes a la Red Nicaragüense para la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos, con el fin de realizar un estudio monográfico, y ser presentado en la UNAN- Managua para optar por el título de Licenciatura en Microbiología.

**I. Datos generales de la cepa en estudio**

Código de almacenamiento: \_\_\_\_\_ Código de registro: \_\_\_\_\_

Fecha de la recepción: \_\_\_\_\_ Tipo de Muestra: \_\_\_\_\_

**II. Identificación Bacteriana**

Género: \_\_\_\_\_ Especie: \_\_\_\_\_

**III. Perfil de susceptibilidad (Especificar tamaño del halo en milímetros e interpretación)**

CIP: \_\_\_\_\_ LVX: \_\_\_\_\_ NAL: \_\_\_\_\_ AMC: \_\_\_\_\_

CN: \_\_\_\_\_ ANK: \_\_\_\_\_ STX: \_\_\_\_\_ AMP: \_\_\_\_\_

CEC: \_\_\_\_\_ CEF: \_\_\_\_\_ MEM: \_\_\_\_\_ IMP: \_\_\_\_\_

ETP: \_\_\_\_\_ DOR: \_\_\_\_\_ FOX: \_\_\_\_\_ TZP: \_\_\_\_\_

FEP: \_\_\_\_\_ CHL: \_\_\_\_\_ CAZ: \_\_\_\_\_ CRO: \_\_\_\_\_

COL: \_\_\_\_\_ ATM: \_\_\_\_\_ PIP: \_\_\_\_\_ PB: \_\_\_\_\_

CXM: \_\_\_\_\_ CTX: \_\_\_\_\_ TIG: \_\_\_\_\_ SAM: \_\_\_\_\_

MNO: \_\_\_\_\_ TET: \_\_\_\_\_ NIT: \_\_\_\_\_ Otro: \_\_\_\_\_

**IV. Inhibición de carbapenemasas con EDTA o APB (Valorar como positivo o negativo)**

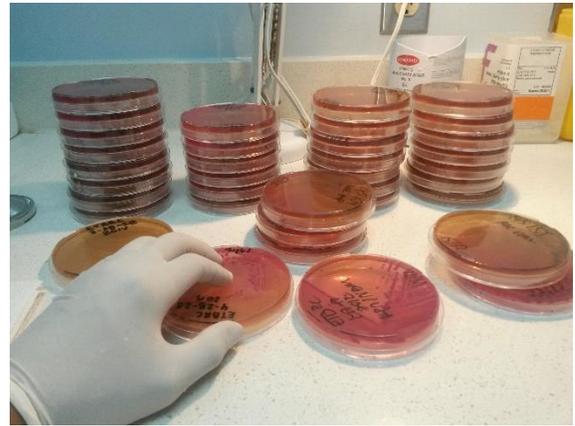
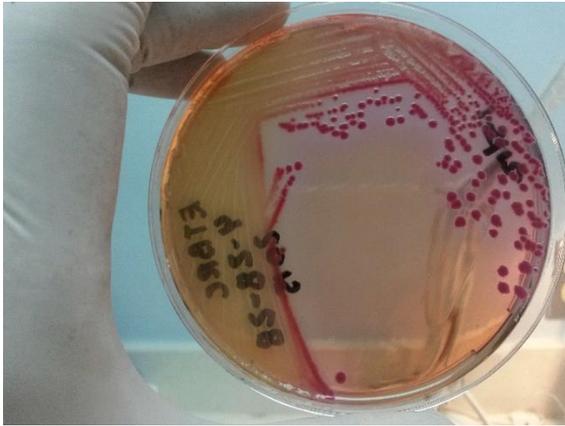
IMP- EDTA- MEM: \_\_\_\_\_ EDTA - CAZ: \_\_\_\_\_

IMP- APB- MEM: \_\_\_\_\_ APB - CAZ: \_\_\_\_\_

**V. Test complementario (Reporte como positivo o negativo)**

Hodge más tritón: \_\_\_\_\_

### Pases a Mc Conkey:



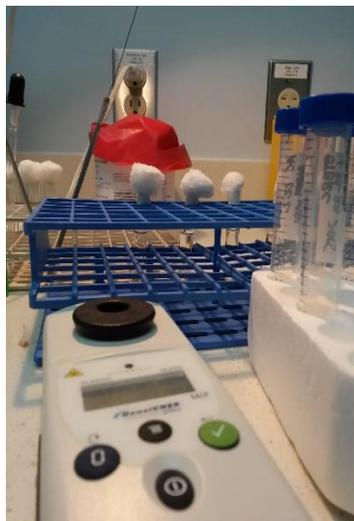
### Pases a Agar Tripticaasa Soya:



### Pruebas Bioquímicas:



### Preparación del inóculo para antibiogramas y sinergias



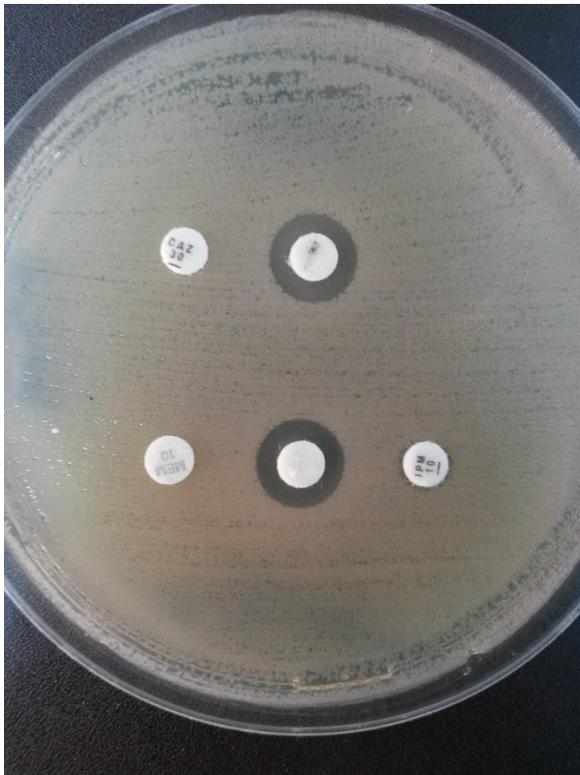
**Antibiogramas y Sinergias juntos:**



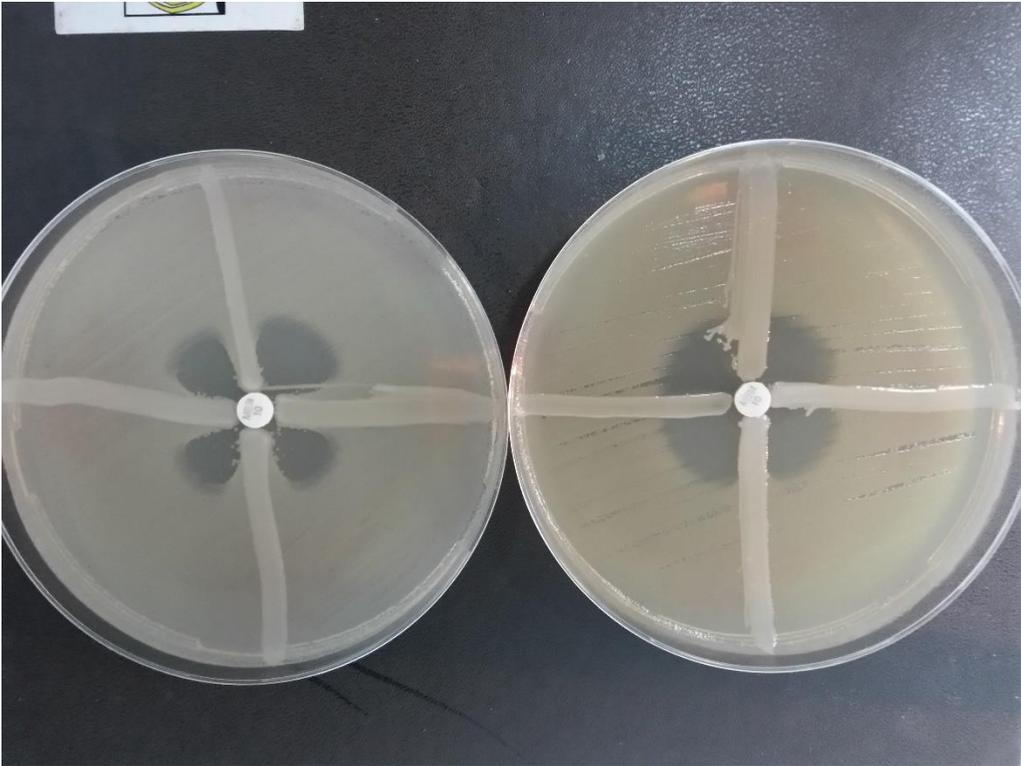
**Sinergias con carbapenemes y/o Ceftazidima:**



### Sinergias negativas en posibles OXAs



**Test de Hodge más tritón vs. Hodge modificado simple (utilizando las mismas cepas):**



**Test de Hodge Tritón:**

