

**HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE
“DR. ANTONIO LUACES IRAOLA”**

**Resistencia bacteriana en cepas intrahospitalarias, un nuevo reto a enfrentar.
Bacterial resistance of nosocomial isolate strains, a new challenge.**

Lemis Dueñas Rosquete (1), Ana Margarita Cadre Ratón (2), Oxana Cabrera Espinosa (3)

RESUMEN

Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo de cepas bacterianas intrahospitalarias recibidas en el laboratorio de Microbiología, provenientes de servicios cerrados del Hospital General Docente “Dr. Antonio Luaces Iraola”, y se efectuó un análisis de la susceptibilidad de estos gérmenes frente a un grupo de antimicrobianos. De las muestras procesadas se obtuvieron un total de 177 casos positivos y un crecimiento bacteriano de 8 géneros bacterianos, siendo los más frecuentes *Escherichia coli* y *Estafilococo aureus*, detectando una presencia significativa de enterobacterias y bacilos no fermentadores. La Penicilina y sus derivados presentaron elevados niveles de resistencia ante la totalidad de las cepas aisladas, con valores superiores al 60%. Las cefalosporinas es otro grupo de antibióticos cuya sensibilidad se encuentra disminuida y con la cual debemos tener cuidado en su uso. Es significativo la presencia de cepas de *Pseudomona sp.*, resistentes a Ceftazidima.

Palabras Clave: RESISTENCIA BACTERIANA, SEPSIS ENTRAHOSPITALARIA.

1. Especialista de I Grado en Microbiología. Master en Parasitología.
2. Especialista de I Grado en Microbiología.
3. Especialista de I Grado en Microbiología.

INTRODUCCION

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico.

Desde el principio de la era antibiótica los fenómenos de resistencia a estas sustancias han sido descritos. Inicialmente el problema fue resuelto con el descubrimiento o síntesis de nuevas sustancias que eran capaces de controlar las bacterias con este fenómeno, y aparecen medicamentos como los aminoglucósidos, macrólidos, glicopéptidos, entre otros. Sin embargo, esto no es suficiente y cada vez aparecen nuevos mecanismos que son difíciles de controlar por estos medicamentos. Se ha encontrado que la prevalencia de organismos patógenos humanos resistentes a los antibióticos es cada vez mayor, pero el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos que controlen éstos es mucho más lento(1).

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente con implicaciones sociales y económicas enormes dadas por el incremento de morbilidad y mortalidad, aumento de los costos de los tratamientos y de las largas estancias hospitalarias generadas.

Varios son los factores que han contribuido a su aparición:

- La presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso terapéutico en humanos o animales.

- La utilización generalizada de antimicrobianos en pacientes inmunocomprometidos y en la unidad de cuidados intensivos.
- El uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana.
- El desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los diferentes gérmenes teniendo en cuenta la flora local de cada institución o comunidad.

El fenómeno biológico de la resistencia depende de la aparición y conservación de los genes de resistencia, como elementos génicos cromosómicos y extracromosómicos(2). En pocas palabras es la modificación en el genoma lo que determina la aparición de dichos genes; estos cambios se clasifican en microevolutivos y macroevolutivos. Los primeros son el resultado de mutaciones únicas que comprometen nucleótidos pareados, mientras las macroevolutivas afectan segmentos de ADN.

Los plásmidos y transposones son elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia. Los plásmidos son fragmentos de DNA bacteriano con longitud variable, algunos con capacidad para replicarse independiente de la maquinaria genética que dispone la célula, lo que les da el apelativo de conjugativos y no conjugativos según esta capacidad.

Por otro lado los transposones son secuencias de DNA (doble cadena) que pueden ser trasladados entre cromosomas o de un cromosoma a un plásmido o entre plásmidos, gracias a un sistema de recombinación propio; esto sumado a la capacidad de los plásmidos de trasladarse de una célula a otra, durante la conjugación, permite la adquisición de genes de resistencia entre bacterias de la misma especie o especies distintas lo que facilita la expansión epidémica de la resistencia(3,4).

Mecanismos de resistencia

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico:

- Inactivación del antibiótico. (Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de B-lactamasa, B-lactamasa de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos).
- Alteración del sitio blanco del antibiótico. (En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidad 50s, 30S ribosomales, etc).
- Barreras de permeabilidad. (Incluye la estructura de la membrana externa de la bacteria, las porinas y las características fisicoquímicas del antimicrobiano)(5).

En nuestro hospital este fenómeno se nos presenta con frecuencia y cada vez son mas los casos sépticos que necesitan de multiples tratameintos antimicrobianos, sin resolver en ocasiones. Por todo esto es que decidimos realizar este trabajo con el objetivo de comprobar la existencia de cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas intrahospitalarias con elevados índices de resistencia ante determinados antibióticos.

METODO

Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo con el objetivo de conocer las cepas bacterianas intrahospitalarias más frecuentes en nuestro hospital y sus niveles de resitencia ante un determinado grupo de antimicrobianos. Para esto fueron procesadas las muestras bacteriológicas de sepsis nosocomiales recibidas en el laboratorio de Microbiología del Hospital General Docente “Dr. Antonio Luaces Iraola” durante el periodo comprendido entre mayo del 2004 y mayo del 2005, provenientes de los servicios cerrados de nuestro centro.

Los cultivos se identificaron según la metodología usual del laboratorio, consistente en siembra en placas con medio agar sangre de carnero 5%, incubación por 24 horas a 37 grados y selección de colonias con características típicas de la especie y hemólisis. Se prepararon frotis

y se les realizó coloración de Gram a partir de estas colonias y se corroboró la existencia de las características morfológicas tintoriales esperadas para la especie. Después se realizaron las pruebas de catalasa, coagulasa libre y fermentación en manitol salado. Se empleó como control positivo la cepa de *S. aureus* ATCCC 25923 y como control negativo para las pruebas de coagulasa y fermentación en manitol una cepa de *Staphylococcus epidermidis*.

En el caso de los Gram negativos se inocularon en placas de agar McConkey se les realizó coloración de Gram y se llegó a diagnóstico de las especies por las pruebas bioquímicas establecidas como son: klinger, lisina, citrato, motilidad, indol, urea, fenilalanina y oxidasa.

Determinación de la susceptibilidad frente a los antimicrobianos:

La susceptibilidad antimicrobiana de cada cepa fue determinada por el método DIRAMIC. A partir de una cepa pura, se tomaron de 3-4 colonias de un cultivo fresco y se inoculó en 4.5 mL de medio de cultivo estéril se midió la concentración de células equivalentes en la escala de McFarland. Se consultó la tabla de diluciones par determinar el volumen en microlitros que se agregó a otro medio de cultivo. Se agitó para homogeneizar. A partir de esta solución se distribuyeron 0.2 mL en la tira para antibiograma en los pocillos correspondientes al control positivo y en los pocillos que contienen los discos de antibióticos. Se dispensaron en el segundo pocillo destinado al control negativo la misma cantidad de medio de cultivo estéril. Se selló la tira nuevamente y se incubó junto con la dilución residual a 37 grados durante 4 horas. Pasado este tiempo se extrajo de la incubadora la dilución residual comprobando en el calibrador si el cultivo alcanzó valores iguales a 0.7 unidades. Al alcanzar este valor se retiraron las tiras de la incubadora y se realizó la lectura en DIRAMIC. Los resultados fueron procesados por el sistema operativo Mapas Microbianos 0.6 de DIRAMIC(6).

RESULTADOS

De las muestras procesadas se obtuvieron un total de 177 casos positivos, siendo diagnosticadas 8 especies bacterianas que se muestran a continuación:

Gérmenes	Total
<i>Escherichia coli</i>	42
<i>Estafilococo aureus</i>	37
<i>Enterobacter sp.</i>	30
<i>Pseudomona sp.</i>	22
<i>Klebsiella sp.</i>	19
<i>Proteus sp.</i>	12
<i>Acinetobacter sp.</i>	9
<i>Citrobacter sp.</i>	6

Es significativo el predominio de enterobacterias lo cual, seguidas por *S. aureus* y la presencia de bacterias no fermentadoras como *Acinetobacter* y *Citrobacter*, las cuales resultan muy agresivas y resultan multiresistentes con gran frecuencia, según varios reportes internacionales.

Como se muestra en la Tabla 1 se obtuvo una elevada resistencia en el caso de Ampicillina frente a casi todos los gérmenes estudiados, lo que unido a que el índice de resistencia del *S. aureus* frente a la Penicilina es de un 66.1%, nos hace pensar seriamente en que debemos extremar los cuidados con el uso de los derivados sintéticos del primer antibiótico utilizado por el hombre, pues resulta evidente que su utilidad en sepsis nosocomiales está muy limitado(7,8).

De igual manera ocurre con la Cefazolina, la cual solo presenta bajos porcentos de resistencia ante el *S. aureus*, pues frente a la totalidad de los Gram negativos la resistencia sobrepasa el 60%. Somos de la opinión que este antibiótico debe ponerse en reposo durante un tiempo, para lograr restablecer su efectividad. En cuanto a cefalosporinas de tercera generación como Ceftriaxone y Cefotaxima ya se ven cepas de Klebsiellas que sobrepasan el 70% de resistencia(9).

Los aminoglucósidos al igual que Tetraciclina, Cloranfenicol y Ciprofloxacino son medicamentos que mantienen buenos índices de sensibilidad y que debían ser utilizados de una manera más eficiente y racional en estos servicios para obtener mejores resultados en los pacientes sépticos y al mismo tiempo disminuir la resistencia de los antibióticos que comentamos con anterioridad.

Es importante señalar que en las cepas de *Pseudomona sp.* estudiadas 7 resultaron resistentes a la Ceftazidima la cual constituye una cefalosporina de elección para el tratamiento de este bacilo no fermentador. Este es un tipo de resistencia que se encuentra en bacterias Gram negativas y que es mediado por plásmidos. El mecanismo de acción es una lisis de las moléculas de oximino-lactámicos. En este caso se encuentra frecuentemente un perfil de sensibilidad a cefotetan con resistencia a ceftazidima y aztreonam. Hasta el momento el principal manejo que se da a este tipo de pacientes es el uso de imipenem o meropenem pero desafortunadamente existen cepas que ya están desarrollando resistencia a este tipo de antibióticos(10).

Con este trabajo pretendemos llamar la atención del personal médico sobre las dimensiones que toma en nuestros hospitales el fenómeno de la resistencia bacteriana, pues cada día nos enfrentamos a germenés con mayor resistencia a las drogas antimicrobianas por lo que depende de cada profesional utilizar herramientas para ayudar a optimizar el uso de los antibióticos en el hospital y hacer un manejo racional de los mismos. Siendo uno de los mecanismos más efectivos la instauración de formularios de antibióticos que restringen el uso de los mismos autorizando el uso de una droga de cada clase disponible.

ABSTRACT

An observational descriptive retrospective study of bacterial nosocomial isolate at the microbiology lab, coming from closed services of the "Dr. Antonio Luaces Iraola" General teaching hospital was conducted and the susceptibility of these organisms was analyzed. Out of the culture specimens grown, as many as 177 were found positive and a bacterial growth of other eight bacterial genders was seen, being *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* the most frequent. A significant presence of enterobacteria and non-fermentable bacilli was detected. Penicillin and its derivatives have shown to have high levels of resistance to all of the isolate strains (60%). Cephalosporins belong into another group of antibiotics which susceptibility is decreased; so we must be more cautions when using it. The strains of *Pseudomona sp.* are significantly resistant to ceftazidima.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Sussmann OA, Mattos L, Restrepo A. Apuntes de resistencia bacteriana.(en línea)2001(fecha de acceso 20 de noviembre de 2005) URL disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF>.
2. Burke A. Antibiotic Resistance. *Med Clin NA* 2000; 84(6):235-240.
3. De Jawetz. Microbiología médica. Madrid: Manual Moderno; 1997.
4. Departamento de Biología Molecular. Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. *Salud Públ Mex* 1998; 36(4):428-438.

5. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Dirección de Diagnóstico Microbiológico. Manual de usuario. Sistema CNIC. Ciudad Habana: MINSAP; s.a.
6. Sanders CH. B-lactamase resistance. Supplement to u.s pharmacist. Clin Infect Dis July 1996; 12(3): 245-249.
7. Maranan MC, Moreira B, Boyle-Vavra S, Daum RS. Antimicrobial resistance in Staphylococci: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical relevance. Infect Dis Clin NA 1997; 11(4): 813-849.
8. Jacoby GA. Extended-spectrum b-Lactamases and other enzymes providing resistance to Oxyimino-Lactams. Infect Dis Clin NA 1997; 11(4): 875-887.
9. Trexler M. Antibacterial therapy. Principles of selection and use of antibacterial agent. Infect Dis Clin NA June 2000; 14(2): 412-416.
10. Jorgenser J. Antimicrobial susceptibility testing. Special needs for fastidious organism and difficult-to-detect resistance mechanisms. Clin Infect Dis 2000; 30:799-808.

ANEXOS

Tabla 1. Índices de resistencia detectadas en las cepas bacterianas estudiadas.

Gérmenes	Índices de Resistencia frente a los antibióticos estudiados.								
	Amp	Kz	Cro	Ctx	G	Ak	Cip	T	R
E. coli	79.5	64.2	46.3	34.6	55	34.2	37.3	49.8	39.3
S. aureus	67.4	32.7	34.1	21.5	40.9	24.6	40.6	36	23.2
Enterobacter sp.	77	78.3	51.2	51.2	53.9	25.6	46.2	50.6	53.7
Pseudomona sp.	75	95.8	47.4	61.6	54.1	19.5	11.2	16.6	16.2
Klebsiella sp.	77.5	87.5	83.3	75	33.3	31.6	36.2	39.1	56.6
Proteus sp.	76.6	70	47.5	60	61.6	40	25	40	48.3
Acinetobacter	66.6	100	37.7	38.8	24.4	35.5	35.5	50	88.8
Citrobacter sp.	100	100	45	50	66.6	50	66.6	50	83.4