

## UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

### RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

### DERECHOS DE PUBLICACIÓN

#### DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

#### Capítulo VI, Art. 46

**“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”**

#### PUBLICADO BAJO LA LICENCIA CREATIVE COMMONS

Reconocimiento-NoComercial 4.0 Unported.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



“Se permite la generación de obras derivadas siempre que no se haga un uso comercial. Tampoco se puede utilizar la obra original con finalidades comerciales.”

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

**UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**“DR. LUIS EDMUNDO VÁSQUEZ”**  
**DOCTORADO EN MEDICINA**



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ  
**MATÍAS DELGADO**  
SAN SALVADOR, EL SALVADOR C. A.

**"Efectividad in vitro de rifampicina, imipenem y sulbactam, en comparación con la antibioticoterapia convencional en infecciones por *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Nacional San Rafael"**

**Tesis presentada para optar al título de**  
**DOCTOR EN MEDICINA**

**Autores:**

Rodrigo Edgardo Martínez Mejía

Marta Corina Menjívar Guadrón

Amyda Montoya Novoa

**Asesor:**

Licda. Ena Yolanda González Pimentel

**Antiguo Cuscatlán, La Libertad, 1 de marzo de 2017**



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ  
**MATÍAS DELGADO**  
SAN SALVADOR, EL SALVADOR C. A.

## **AUTORIDADES**

Dr. David Escobar Galindo  
**RECTOR**

Dr. José Enrique Sorto Campbell  
**VICERRECTOR Y VICERRECTOR ACADÉMICO**

Dr. José Nicolás Astacio Soria  
**DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
"DR. LUIS EDMUNDO VÁSQUEZ"**

## **TRIBUNAL CALIFICADOR**

Dra. Leonor Isabel Murillo de Linares  
**Presidente del Jurado evaluador**

Dra. Tatiana Guadalupe Ascencio  
**Jurado evaluador**

Dra. Rosselyn Suncín Trejo  
**Jurado evaluador**

**ANTIGUO CUSCATLÁN, LA LIBERTAD, 1 DE MARZO 2017**

## ACTA DE EVALUACIÓN DE TESIS POR EL JURADO N°

En la ESCUELA DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO,  
a las diez horas con cuarenta minutos del día uno del mes de marzo de dosmil diecisiete  
reunidos los suscritos miembros del jurado examinador de la Tesis de Grado titulada:

**TEMA:**

Efectividad in vitro de rifampicina, imipenem y sulbactam en comparación con la antibioticoterapia convencional en infecciones por Acinetobacter baumannii y Pseudomonas aeruginosa en el Hospital Nacional San Rafael

Presentada por el (los) la (s) egresados(as):

1. RODRIGO EDGARDO MARTÍNEZ MEJÍA
2. MARTA CORINA MENJÍVAR GUADRÓN
3. ARMYDA MONTOYA NOVOA

Para optar al Grado de:

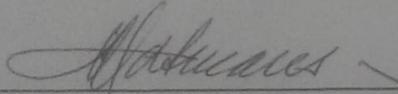
DOCTORADO EN MEDICINA

Respectivamente

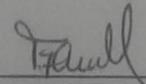
**HACE CONSTAR QUE: Habiendo revisado y evaluado en forma individual su contenido escrito, de conformidad al Art. 41, 42 y 43 del Reglamento de Graduación ACORDARON DECLARARLA:**

- APROBADA SIN OBSERVACIONES  
 APROBADA CON OBSERVACIONES  
 REPROBADA

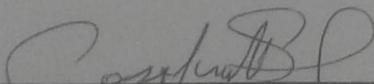
No habiendo más que hacer constar, damos por terminada la presente acta que firmamos, entregando el original a la Secretaría de esta Unidad Académica.

  
Dra. Leonor Isabel Murillo de Linares

Presidente

  
Dra. Tatiana Guadalupe Ascencio

Primer Vocal

  
Dra. Rosselyn Suncín Trejo

Segundo Vocal

## Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la efectividad in vitro del esquema combinado de antibióticos compuesto por rifampicina, imipenem y sulbactam, en comparación con el esquema convencional de antimicrobianos, compuesto por amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina, en muestras de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* obtenidas del laboratorio del Hospital Nacional San Rafael, en el período de junio a noviembre de 2016.

Se obtuvo un total de 100 muestras, de las cuales 60 fueron *P. aeruginosa* y 40 *A. baumannii*. Para cada muestra se inocularon 3 placas de Agar Müller Hinton por el método de Kirby-Bauer, en las que se evaluó la sensibilidad in vitro al esquema de antimicrobianos convencional, la sensibilidad a rifampicina, imipenem y subactam, sin evaluar sinergia entre ellos, y el sinergismo entre rifampicina, imipenem y sulbactam.

Se encontró que las muestras de *P. aeruginosa* son sensibles a amikacina (75%) y piperacilina/tazobactam (50%), y resistentes a fosfomicina y ceftazidima. Con respecto a las muestras de *A. baumannii*, ninguno de los antibióticos utilizados en el esquema convencional (amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina) obtuvo porcentajes de sensibilidad superiores al 50%.

Al estudiar la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* para rifampicina, imipenem y sulbactam, se demostró que 51.7% de las muestras fueron sensibles al imipenem, siendo éste el antimicrobiano con mejor porcentaje de sensibilidad al ser utilizado de manera no combinada. Sin embargo, al utilizarse de manera combinada se evidenció un incremento en la sensibilidad de por lo menos el 10% para cada antimicrobiano.

En el caso de *A. baumannii* se demostró que al utilizar rifampicina, imipenem y sulbactam en forma no combinada, se obtuvieron niveles muy bajos de sensibilidad, con porcentajes menores al 30%. Sin embargo, al utilizarse de manera combinada se observó un incremento más marcado de la sensibilidad para los tres antimicrobianos (rifampicina 30%, imipenem 50% y sulbactam 47.5%), siendo rifampicina el antimicrobiano con el aumento más notable en su sensibilidad, la cual se vio incrementada en un 25%.

# Índice

1. Introducción .....	1
1.1 Planteamiento del problema .....	1
1.2 Pregunta de investigación .....	2
1.3 Justificación .....	2
1.4 Objetivos .....	5
1.5 Planteamiento de hipótesis.....	6
2. Marco teórico .....	7
2.1 Generalidades .....	7
2.2 Epidemiología .....	10
2.3 Factores de riesgo.....	14
2.4 Mecanismos de resistencia .....	16
2.5 Factores de virulencia .....	21
2.6 Infecciones producidas por <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	24
2.7 Infecciones producidas por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	27
2.8 Manejo de las infecciones por <i>Acinetobacter baumannii</i> a nivel nacional. ....	29
2.9 Manejo de infecciones por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a nivel nacional .....	30
2.10 Manejo de las infecciones por <i>Acinetobacter baumannii</i> a nivel internacional .....	31
2.11 Manejo de infecciones por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a nivel internacional.....	33
2.12 Tratamiento antimicrobiano con rifampicina, imipenem y sulbactam .....	34
2.13 Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica .....	39
2.14 Método de aproximación de discos para evaluar sinergismo de antimicrobianos.	43
3. Metodología .....	44
3.1 Tipo de estudio.....	44
3.2 Población .....	44
3.3 Muestra .....	44
3.3.1 Marco muestral .....	44
3.3.2 Unidad de análisis.....	44
3.3.3 Selección de la muestra.....	44
3.4 Criterios de inclusión .....	45

3.5 Criterios de exclusión .....	45
3.6 Variables .....	45
3.7 Proceso de recolección de datos.....	46
3.8 Procesamiento de muestra.....	47
3.9 Análisis estadístico de datos .....	47
4. Resultados.....	49
4.1 Sensibilidad in vitro de P. aeruginosa y A. baumannii al esquema de antibióticos convencional. ....	50
4.1.1 Sensibilidad in vitro de P. aeruginosa al esquema de antibióticos convencional. ....	50
4.1.2 Sensibilidad in vitro de A. baumannii al esquema de antibióticos convencional. ....	50
4.2 Sensibilidad in vitro de P. aeruginosa y A. baumannii al esquema de antibióticos RIS, no combinado.....	51
4.2.1 Sensibilidad in vitro de P. aeruginosa al esquema RIS, no combinado. ....	51
4.2.2 Sensibilidad in vitro de A. baumannii al esquema RIS, sin evaluar sinergia. ....	52
4.3 Sensibilidad in vitro de P. aeruginosa y A. baumannii al esquema RIS, evaluando sinergismo.....	52
4.3.1 Sensibilidad in vitro de P. aeruginosa a esquema RIS, evaluando sinergismo. ....	52
4.3.2 Sensibilidad in vitro de A. baumannii a esquema RIS, evaluando sinergismo. .	53
4.4 Comparación de la sensibilidad in vitro de P. aeruginosa y A. baumannii al esquema RIS combinado vs. esquema no combinado.....	53
4.4.1 Comparación de la sensibilidad in vitro de P. aeruginosa a esquema RIS combinado (sinérgico) vs. no combinado. ....	54
4.4.2 Comparación de la sensibilidad in vitro de A. baumannii a esquema RIS combinado (sinérgico) vs. no combinado. ....	54
4.5 Tipos de sinergismo obtenido en muestras de P. aeruginosa y A. baumannii al utilizar el esquema combinado RIS in vitro. ....	55
4.5.1 Tipos de sinergismo obtenidos en muestras de P. aeruginosa al utilizar el esquema combinado RIS in vitro. ....	55
4.5.2 Tipos de sinergismo obtenidos en muestras de A. baumannii al utilizar el esquema combinado RIS in vitro. ....	56
5. Discusión .....	57
5.1 Limitaciones del estudio .....	59
6. Conclusiones .....	60
7. Recomendaciones .....	61

8. Referencias.....	62
9. Anexos.....	69
9.1 Presupuesto .....	69
9.2 Tabla de interpretación de halo de inhibición de crecimiento bacteriano (mm) NCCLS.....	70
9.3 Cronograma .....	71
9.4 Carta de aceptación de tesis por comité de ética de HNSR.....	72
.....	72

# 1. Introducción

## 1.2 Planteamiento del problema

*Acinetobacter baumannii* es un cocobacilo gramnegativo que ha tomado gran relevancia clínica en las últimas dos décadas debido a su gran facilidad para desarrollar resistencia a antimicrobianos, esta capacidad lo ha convertido en un importante patógeno nosocomial, siendo agente causal de diversas infecciones, entre ellas: neumonías asociadas a ventilación mecánica, bacteriemias, meningitis, infecciones de heridas y tejidos blandos e infecciones de vías urinarias asociadas a catéter y peritonitis. (1)

*Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo gramnegativo causante de un gran número de infecciones hospitalarias, siendo la causa principal de neumonía asociada a ventilación mecánica en los servicios de Cuidados Intensivos a nivel mundial.(2)

Los pacientes más susceptibles a infecciones por éstos microorganismos son aquellos que padecen de enfermedades subyacentes graves, pacientes sometidos a cirugía, distintos tipos de manipulaciones y procedimientos invasivos (tales como ventilación mecánica, colocación de catéter venoso central, nutrición enteral y parenteral y colocación de sonda transuretral), uso previo de antibióticos de amplio espectro e ingresos prolongados, incluyendo estancia en Unidades de Cuidados Intensivos. (3,4)

Ambas bacterias poseen una gran capacidad de sobrevivir en superficies inertes, debido a sus bajos requerimientos nutricionales, tolerancia a una amplia variedad de condiciones físicas, y resistencia intrínseca a antimicrobianos, siendo comúnmente encontradas en el ambiente hospitalario en las mesas, camillas, suelo e incluso en los instrumentos médicos. (4,5) Esto facilita su transmisión de persona a persona, y a través de objetos contaminados, siendo frecuente el apareamiento de epidemias o brotes dentro de un mismo centro hospitalario.

*A. baumannii* y *P. aeruginosa* desarrollan resistencia a los antimicrobianos comúnmente utilizados en la práctica clínica debido a diversos mecanismos: producción de  $\beta$ -lactamasas (confieren resistencia a  $\beta$ -lactámicos), bombas de eflujo (otorgan resistencia a aminoglucósidos y tetraciclinas) y mutaciones a dianas bacterianas (proveen resistencia a fluoroquinolonas). (4,6)

Se sabe que en el Hospital Nacional San Rafael hay infecciones nosocomiales causadas por ambas bacterias, sin embargo, no se encontraron datos sobre la incidencia y prevalencia de estas infecciones, así como patrones de resistencia encontrados para ambos patógenos o esquemas de tratamiento estandarizados para ellos. Por lo tanto, se ha vuelto una prioridad identificar los esquemas de antimicrobianos que son capaces de erradicar estas bacterias.

## **1.2 Pregunta de investigación**

¿Cuál es la efectividad in vitro de la rifampicina, imipenem y sulbactam en comparación con el esquema de antibióticos utilizado de forma convencional, compuesto por amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina, en cepas de *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en el Hospital Nacional San Rafael?

## **1.3 Justificación**

*A. baumannii* y *P. aeruginosa* han emergido como significativos patógenos nosocomiales en pacientes hospitalizados en todo el mundo. A nivel nacional, según datos publicados por el Ministerio de Salud (MINSAL) en el año 2013 *P. aeruginosa* y *A. baumannii* fueron aislados en el 7.4% y el 5.3% de cultivos bacteriológicos en pacientes con infecciones nosocomiales respectivamente, siendo el 4° y 5° patógenos nosocomiales más frecuentes en El Salvador. (7)

A nivel mundial en el año 2007 las infecciones por *A. baumannii* representaron el 8% del total de infecciones en pacientes ingresados en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). En Latinoamérica alcanza el 13,8% de todos los aislados bacterianos de pacientes ingresados en ese servicio. (8)

Se considera que *P. aeruginosa* representa el 11–13,8% de todas las infecciones nosocomiales a nivel mundial y el 13,2–22,6% de las infecciones que se producen en pacientes ingresados en el servicio de cuidados intensivos. Esta bacteria ha sido identificada como la causa principal de neumonía asociada a ventilación mecánica en los servicios de Cuidados Intensivos a nivel mundial, (2) la segunda causa más común de neumonía adquirida en la comunidad, y neumonía nosocomial. Así mismo, es responsable del 6% infecciones de herida operatoria, 9% de infecciones de tracto urinario hospitalarias, y 4-6% de casos de bacteriemia. (9)

Se ha demostrado que las diferencias en la prevalencia de estas infecciones en cada país son muy significativas y que éstas podrían atribuirse a condiciones propias de cada región y a las medidas de control de transmisión local. (10)

La resistencia múltiple a antimicrobianos es muy frecuente en estas especies, lo que complica su tratamiento en infecciones graves. En la última década se han identificado cepas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a prácticamente todos los antimicrobianos comercialmente disponibles, lo que obliga a dirigir las investigaciones para establecer nuevas opciones de tratamiento. (8)

Durante los últimos años se han realizado diversos estudios sobre la eficacia de distintos regímenes antimicrobianos frente a *A. baumannii*. En un estudio realizado por Pachón et al. se compararon dos modelos de tratamiento para neumonía causada por *A. baumannii* multirresistente en roedores. El primer grupo se trató con rifampicina como monoterapia, y el segundo grupo con imipenem/sulbactam, demostrando una disminución de la mortalidad del 28% en el grupo tratado con rifampicina, y del 14% en el grupo tratado con imipenem/sulbactam. Por ello, se concluyó que ambos esquemas de antibiótico fueron eficaces para tratar la

neumonía murina por *A. baumannii* multirresistente. (11) Estos resultados se han visto apoyados por otras investigaciones, y aunado a la disponibilidad de estos antibióticos a nivel nacional, se convierten en una opción viable para desarrollar una propuesta terapéutica eficaz en el tratamiento de infecciones causadas por ésta bacteria.

En el caso de *P. aeruginosa*, en un estudio realizado en 2007 por Gamero et. al, se analizaron 3019 cepas aisladas a nivel intra y extrahospitalario, encontrándose que los antimicrobianos más activos contra esta bacteria fueron imipenem y meropenem. (12) De igual forma, un estudio realizado en Kanagawa, Japón, demostró que para las cepas de *P. aeruginosa*, el efecto de los  $\beta$ -lactámicos se vio potenciado al utilizarse en combinación con sulbactam, ya que disminuye en gran medida las concentraciones inhibitorias mínimas de los antimicrobianos. (13) (14) La rifampicina también ha demostrado una buena actividad contra *P. aeruginosa* MDR. Según un estudio realizado en Tokio, en 2008, la rifampicina obtuvo los mejores resultados en las curvas de tiempo-muerte, en modelos de neumonía murina, incluso al compararse con imipenem. Sin embargo, pudo evidenciarse un rápido apareamiento de resistencia bacteriana, por lo que los autores no recomiendan su uso como monoterapia. (14) (15)se

A nivel nacional, los lineamientos técnicos para la vigilancia, prevención y contención de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos proponen que en caso de infección por *A. baumannii* multirresistente se deberá utilizar como tratamiento empírico la combinación de meropenem o imipenem a altas dosis más amikacina, más ampicilina/sulbactam más fosfomicina, todos usados por vía intravenosa por un período de 14 días. (16) Para las infecciones causadas por *P. aeruginosa* no se cuenta con un régimen de tratamiento empírico en esos lineamientos. Se sugiere que el tratamiento vaya dirigido según el patrón de resistencia definido por el antibiograma, tomando en cuenta combinaciones de ceftazidima, amikacina, gentamicina, aztreonam, cefepime, ciprofloxacina, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam y colistina. Por lo anterior se

considera conveniente determinar la efectividad in vitro de un esquema antibiótico compuesto por rifampicina, imipenem y sulbactam contra *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, con el propósito de optimizar los recursos disponibles en el Hospital Nacional San Rafael y disminuir el impacto causado por estas infecciones, respecto a costos, estancia intrahospitalaria, y morbi-mortalidad de los pacientes.

El presente protocolo de investigación tuvo como fin abrir las posibilidades para el desarrollo de una estrategia de atención y manejo de pacientes afectados por infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Nacional San Rafael.

## **1.4 Objetivos**

### **Objetivo general:**

Comparar la efectividad in vitro del esquema combinado de antibióticos compuesto por rifampicina, imipenem y sulbactam con los antibióticos propuestos por el esquema convencional, compuesto por amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina para el manejo de infecciones por *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Nacional San Rafael.

### **Objetivos específicos:**

- Determinar mediante un modelo in vitro la sensibilidad de *A. baumannii* al esquema convencional compuesto por amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina.
- Evaluar a través de un modelo in vitro la sensibilidad de *P. aeruginosa* al esquema antibiótico compuesto por amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina.

- Mostrar mediante un modelo in vitro la sensibilidad de *A. baumannii* al esquema de antibióticos combinado compuesto por rifampicina, imipenem y sulbactam.
- Estimar mediante un modelo in vitro la sensibilidad de *P. aeruginosa* al esquema de antibióticos combinado compuesto por rifampicina, imipenem y sulbactam.

## **1.5 Planteamiento de hipótesis**

### **Hipótesis de investigación.**

El esquema de antibióticos combinado compuesto por rifampicina, imipenem y sulbactam demostró una mayor efectividad in vitro en comparación con el esquema convencional compuesto por amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y fosfomicina para infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Nacional San Rafael.

## **2. Marco teórico**

### **2.1 Generalidades**

#### ***Acinetobacter baumannii***

El género *Acinetobacter* incluye cocobacilos gramnegativos, aerobios estrictos, oxidasa negativa, catalasa positiva, no fermentadores, no esporulados y no reductores de nitratos, que crecen bien en todos los medios de cultivo de rutina, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 33 a 35° C, siendo *A. baumannii* la especie más representativa del género. (15) (17)

Los miembros del género *Acinetobacter* han sufrido una gran cantidad de cambios taxonómicos a lo largo de la historia, lo cual ha dificultado su estudio adecuado. La última definición taxonómica de *Acinetobacter* corresponde a Bouvet y Grimont, la cual incluye 17 genoespecies, siendo *A. baumannii* la más frecuentemente aislada y, por tanto, con mayor relevancia clínica. (17)

La clasificación se basa en la capacidad selectiva que tienen las bacterias de este género de utilizar 6 fuentes de carbono (levulinato, citraconato, L-fenilacetato, L-fenilalanina, 4-hidroxibenzoato y L-tartrato), así como la capacidad de estas bacterias para crecer a ciertas temperaturas.(17)

*A. baumannii* crece fácilmente en todos los medios de cultivo de rutina, siendo su temperatura óptima de crecimiento entre 33-35 °C. Debido a esto y a sus escasos requerimientos de crecimiento, *A. baumannii* sobrevive en múltiples medios animados e inanimados; así puede ser aislado en material hospitalario, como en aparatos de ventilación mecánica, catéteres, líquido de diálisis peritoneal y una amplia variedad de instrumentos de uso diario, por ejemplo: humidificadores, colchones y cojines, en donde estudios muestran una capacidad de supervivencia mayor a 25 días, relacionándose por tanto con brotes nosocomiales. (18)

*A. baumannii* puede formar parte de la flora normal de la piel de los adultos sanos, especialmente las manos, y puede colonizar la cavidad oral, faringe e intestino, constituyendo éstos unos reservorios epidemiológicos muy importantes en brotes nosocomiales.(19,20) La tasa de portador de *Acinetobacter* spp. en pacientes no hospitalizados es baja comparada con la de los pacientes hospitalizados, especialmente durante los brotes de infección. (19)

En los últimos años se han empleado distintos términos para definir la multirresistencia de *A. baumannii* frente a los diferentes antimicrobianos. Actualmente no existe una definición globalmente establecida para multirresistencia y pan-resistencia de *A. baumannii*.

La definición de multirresistencia más aceptada es cuando se pierde la sensibilidad a más de dos de los siguientes grupos de antibióticos: cefalosporinas antipseudomonas (cefepime, ceftazidima), carbapenémicos antipseudomonas (meropenem, imipenem), fluoroquinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina), aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina) y/o sulbactam. (19,20)

Por otro lado, se considera que *A. baumannii* es panresistente cuando no existe sensibilidad a todos los antibióticos considerados de primera línea para el tratamiento de infecciones causadas por este patógeno, lo que incluye a los  $\beta$ -lactámicos (incluidos carbapenémicos y sulbactam), fluoroquinolonas y aminoglucósidos. En la actualidad se considera que, dado el incremento en el uso de polimixinas y tigeciclina y el desarrollo de resistencia a estos antimicrobianos, esta definición tendrá que incluir también a estos agentes.

El cultivo continúa siendo el método diagnóstico de elección; permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación, el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos.(21)

La última definición taxonómica de *Acinetobacter* corresponde a Bouvet y Grimont (Tabla 1) e incluye 17 genoespecies, siendo *A. baumannii* la más frecuentemente aislada y con mayor importancia clínica.(22)

**Tabla 1.** Clasificación de genoespecies del género *Acinetobacter* por Bouvet&Grimont.

	1	2	3	4	5	6	7	8/9	10	11	12	13	14	15	16	17
Crecimiento a 44 °C	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento a 41 °C	-	+	+	+	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento a 37 °C	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	89	+	+	+	75
Acido de D-glucosa	+	95	+	60	-	50	-	6	+	-	40	+	+	-	-	-
Hidrólisis de gelatina	-	-	-	96	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Utilización de:																
● DL-lactato	+	+	+	-	+	-	+	99	+	+	+	+	+	+	+	+
● DL-4-aminobutirato	+	+	+	+	90	-	35	40	+	+	+	11	+	-	25	+
● trans-aconitato	+	99	+	52	-	-	-	-	-	-	-	11	67	-	-	50
● Citrato	+	+	+	90	82	+	98	-	+	+	-	+	+	+	+	+
● Glutarato	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+
● Aspartato	+	+	+	64	40	66	61	-	+	+	+	-	-	-	-	-
● Azelato	+	90	+	-	-	-	-	+	50	25	+	-	+	-	-	-
● β-alanina	+	95	95	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	75	+
● L-histidina	+	98	94	96	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
● D-malato	-	98	+	96	+	66	20	60	+	+	-	+	+	+	+	+
● Malonato	+	98	85	-	-	-	15	-	-	-	+	11	+	-	50	50
● Histamina	-	-	-	-	-	-	-	-	75	+	-	-	-	-	-	-
● L-fenilalanina	+	87	66	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
● Fenilacetato	+	87	66	-	-	-	-	94	25	50	+	+	+	+	+	+

**Tabla 1.** La numeración de genoespecies según Bouvet y Grimont identifica la especie 2 como *A. baumannii*. +: cepas positivas, -: cepas negativas, los números indican los porcentajes de cepas positivas para esa prueba.

### ***Pseudomonas aeruginosa***

Pertenece a la familia *Pseudomonaceae*. Es un bacilo gram negativo, aerobio, móvil debido a la presencia de un único flagelo polar, no formador de esporas, no fermentador de glucosa, oxidasa y catalasa positiva. (23,24)

Su temperatura óptima de crecimiento es entre 30-37°C, pero puede sobrevivir y multiplicarse en cualquier ambiente, incluyendo aquellos con alto contenido de sales y temperaturas entre los 20-42°C. (23,25)

Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, pudiéndose encontrar en fuentes comunes de agua, así como en el ámbito hospitalario y equipo médico (respiradores, humidificadores, vertederos, duchas, piscinas de hidroterapia y ocasionalmente en las manos de los trabajadores de la salud). (26)

Es capaz de sobrevivir por tiempos prolongados en líquidos y superficies como antisépticos, alimentos parenterales, equipos de inhaloterapia, fluidos de diálisis, grifos de agua, etc. En contraste, es excepcional encontrarla como parte de la microflora normal de individuos sanos, en quienes se ha aislado de 0-6,6 % en axilas, tracto respiratorio y faringe, y de 2,6-24 % en heces. (23,24)

Debido a su alto grado de adaptabilidad fisiológica y los elevados niveles de resistencia que manifiesta frente a numerosos agentes antimicrobianos, constituye uno de los patógenos nosocomiales más frecuentes y es reconocida como un gran problema de salud al nivel mundial, manteniéndose entre los 3 primeros gérmenes de alto riesgo causante de sepsis en los diferentes servicios hospitalarios. (23,25)

## **2.2 Epidemiología**

### ***Acinetobacter baumannii***

Contrario a lo observado en otras especies del género *Acinetobacter*, que son frecuentemente aisladas del suelo, agua y animales, *A. baumannii* se encuentra de manera casi exclusiva en el ambiente hospitalario, particularmente en las Unidades de Cuidados Intensivos.(27) En el ambiente hospitalario, este microorganismo ha sido aislado de humidificadores, equipos de ventilación, piel del personal de salud, colchones, cojines y otros equipos. (1)

A nivel mundial en el año 2007 las infecciones por *A. baumannii* representaron el 8% del total de infecciones en pacientes ingresados en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). (8) El análisis de 86 investigaciones llevadas a cabo entre octubre de 1990 y octubre de 2004, sobre brotes de *A. baumannii*, publicado por Fournier y Richet en 2006, muestra que 2 brotes involucraron múltiples establecimientos de salud, y otros 2 brotes involucraron múltiples servicios y/o departamentos en el mismo establecimiento de salud (Tabla 2). (28)

**Tabla 2.** Localización de brotes de *A. baumannii* en establecimientos de salud

Localización	No. de brotes
Unidad de Cuidados Intensivos (Adultos)	26
Unidad de Quemados	4
Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales	3
Unidad de Neurocirugía	3
Múltiples establecimientos de salud	2
Múltiples departamentos/servicios dentro del mismo establecimiento	2
Unidad de Cirugía	2
Unidad de Medicina Interna	1
Unidad de Oncología	1

Fournier y Richet. Epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in HealthCareFacilities. *Clinical Infectious Diseases* 42, 2006.

Se considera que *A. baumannii* es parte de la microbiota cutánea. El 31% del personal de salud es portador de bacilos gramnegativos en sus manos, de los cuales el 7,5% corresponde a *A. baumannii*. Cuando se analiza la portación de especies de *Acinetobacter* comparando entre el personal sanitario que maneja directamente pacientes, y los que no lo hacen, es más común la portación de *A. baumannii* en éstos últimos.(1) Adicionalmente, estudios muestran que la colonización del tracto digestivo puede ser común dentro del ambiente hospitalario, con porcentajes de colonización tan altos como 41% en pacientes en UCI.(28)

Berlau et al. estudiaron la distribución de las especies del género *Acinetobacter* en la piel de 192 voluntarios sanos, encontrándose que el 40% de los voluntarios era portador de especies de *Acinetobacter*, siendo 60% de los casos *Acinetobacter lwoffii*, y que solamente 1 individuo era portador de *A. baumannii*. (28)

De manera menos frecuente, *A. baumannii* puede causar infecciones adquiridas en la comunidad, como neumonía, bacteriemia, infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones oculares, meningitis secundaria y endocarditis. La neumonía extrahospitalaria por *A. baumannii* representa el 85% de infecciones adquiridas en la comunidad por esta bacteria, además es usualmente fulminante, produciéndose la muerte en los primeros 8 días de enfermedad, siendo su tasa de mortalidad hasta del 60%. (27)

En una revisión del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), el 7% de todas las neumonías adquiridas en UCI fueron causadas por *A. baumannii* en 2003, comparado con el 4% en 1986. La proporción de infecciones de tracto urinario, infecciones de piel y tejidos blandos también incrementó significativamente durante éste período. (29)

En Latinoamérica, para el año 2007, *A. baumannii* alcanza el 13,8% de todos los aislados de pacientes ingresados en el servicio de Cuidados Intensivos. (8) Las tasas de resistencia a meropenem, imipenem, ceftazidima, piperacilina-tazobactam, ciprofloxacina y gentamicina en Latinoamérica se encuentran entre las más elevadas del mundo. En un programa de vigilancia llevado a cabo entre 2002-2004, el 71% de los aislados fueron susceptibles a meropenem o imipenem. (29) En un estudio en Argentina, Chile, Brasil y Colombia entre 1997 y 2001 se encontró que las tasas de resistencia más altas se encontraban en Argentina, sin embargo, ninguno de estos países se encontraba libre de cepas multirresistentes. (29) Se ha encontrado una variedad de carbapenemasas en aislados de *A. baumannii* en Latinoamérica, incluyendo IMP-1 e IMP-6 en Brasil, OXA-23 en Brasil y Colombia, y OXA-58 en Argentina. (29)

## ***Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* es un importante patógeno extrahospitalario, siendo responsable de numerosas infecciones, como queratitis ulcerativa (relacionada al uso de lentes de contacto), otitis externa e infecciones de piel y tejidos blandos. (9)

En el ámbito intrahospitalario, *P. aeruginosa* ha aumentado su relevancia en las últimas décadas debido a su facilidad para adquirir resistencia a antimicrobianos, causando infecciones nosocomiales de difícil erradicación, que aumentan la morbilidad y mortalidad de los pacientes. Entre ellas se encuentran: neumonías, infecciones de vías urinarias, bacteriemias, infecciones de sitio operatorio, quemaduras, y colonización sinusopulmonar crónica en pacientes con fibrosis quística. (9)

A nivel mundial, *P. aeruginosa* es responsable de 11-13,8% de todas las infecciones intrahospitalarias, afectando especialmente a los servicios de Cuidados Intensivos, donde esta bacteria ocasiona el 13,2-22,6% de todas las infecciones. Además, ocasiona el 6% de infecciones de herida quirúrgica, y 9% de todas las infecciones de vías urinarias intrahospitalarias. (9) Además, mundialmente es la 4° causa más frecuente de bacteriemia nosocomial, (2) y la segunda causa más común de Neumonía Asociada con la Atención Médica (NAAM), y Neumonía asociada a Ventilación Mecánica (NAVM), superada únicamente por *Staphylococcus aureus*. (2,9)

En un reporte del programa de vigilancia antimicrobiana SENTRY, se muestran las variaciones geográficas en la actividad de los antimicrobianos frente a *P. aeruginosa*, y muestra que las cepas encontradas en América Latina fueron generalmente más resistentes a todas las clases de antimicrobianos, comparadas con las cepas de EE.UU. y Asia. (30)

## 2.3 Factores de riesgo

La inmunosupresión juega un papel determinante en el desarrollo de bacteriemia por *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resaltando el rol oportunista que tienen éstos microorganismos, afectando a neonatos de bajo peso, pacientes con tratamientos prolongados con corticoesteroides (duración del tratamiento  $\geq 2$  semanas), pacientes con tratamientos antineoplásicos ( $\geq 4$  semanas de tratamiento), post esplenectomía, pacientes con SIDA o posterior a trasplantes de órganos.(31) En un estudio realizado en Barcelona por Álvarez-Lerma et al. se observó que pacientes que presentan granulocitopenia, terapia con corticoesteroides y neoplasias hematológicas desarrollaban bacteriemia por *P. aeruginosa* en una relación aproximada de 3:1, 2:1 y 2:1 en comparación con otras bacterias respectivamente.(32)

Los procedimientos invasivos se presentan como otro factor de riesgo para bacteriemias por *A. baumannii* y *P. aeruginosa*. En un estudio realizado por García et al. en Sevilla, se dejó en evidencia que los casos de bacteriemia por *A. baumannii* se dieron con más frecuencia en pacientes que han sido sometidos a mayor número de procedimientos invasivos, así como una relación inversamente proporcional a la sobrevivencia de éstos.(31) La ventilación mecánica, colocación de Catéter Venoso Central (CVC), Sonda Transuretral (STU) y Sonda Nasogástrica (SNG) son los procedimientos invasivos que se ha demostrado que generan bacteriemia por *A. baumannii* con mayor frecuencia, en especial en UCI, ya que es el servicio hospitalario donde se utilizan en mayor cantidad. (6) (31) Para el caso de bacteriemias por *P. aeruginosa*, los procedimientos invasivos descritos anteriormente también son considerados como principales factores de riesgo, con la excepción de la STU, que no es un factor de riesgo extrínseco significativo para desarrollar bacteriemia por este patógeno.(32)

El tratamiento antimicrobiano previo al ingreso a la UCI aumenta el riesgo de infección por *A. baumannii*, según fue demostrado por Lee et al., quien encontró que luego del uso de cefalosporinas de tercera generación o imipenem,

aumentaron significativamente los cultivos positivos para *A. baumannii*, a comparación con el uso de otros antimicrobianos.(33)

Según un estudio realizado en 2014 por Ossa-Giraldo et al. se evidenció que la terapia con aminoglucósidos y carbapenémicos previa era un importante factor de riesgo para infecciones por *P. aeruginosa*. Esto es debido a que estos antimicrobianos tienen un impacto en la microbiota normal de los pacientes, predisponiendo para la adquisición de nuevas cepas o aumentando la expresión de microorganismos resistentes ya albergados por los mismos, teniendo en cuenta además que los aminoglucósidos no deben ser utilizados como monoterapia en microorganismos multirresistentes, lo que constituye otro factor de riesgo para desarrollar infecciones por esta bacteria. Por otra parte, la estancia hospitalaria prolongada es otro importante factor a tomar en cuenta, ya que el riesgo calculado para adquirir una infección por *P. aeruginosa* aumenta en un 3% por cada día de estancia intrahospitalaria.(34)

En un estudio realizado por Villers et al. se identificó que hay mayor riesgo de infección por *A. baumannii* en pacientes que fueron sometidos a procedimientos invasivos como cirugía de urgencia y colocación de catéter arterial previo al ingreso a UCI.(35) Por otra parte, en un estudio realizado por Corbella et al. se encontró que la cirugía abdominal y la nutrición por SNG, yeyunostomía o gastrostomía son otros factores de riesgo para infección por *A. baumannii*.(36)

En un estudio realizado por Ruvinsky et al. en 2015 en Buenos Aires, se evidencia que en el caso de la población pediátrica las bacteriemias por *A. baumannii* son más frecuentemente relacionadas a la colocación de CVC y en segundo lugar a las infecciones de quemaduras, a diferencia de la población adulta en la cual el foco pulmonar es la causa más común de bacteriemia por éste microorganismo.(37)

## 2.4 Mecanismos de resistencia

Se entiende por resistencia al mecanismo mediante el cual una bacteria adquiere la capacidad para disminuir la acción que los agentes antimicrobianos poseen ante ésta. Desde el punto de vista clínico se considera que una bacteria es sensible a un antibacteriano cuando la concentración de este en el lugar de la infección es al menos 4 veces superior a la concentración inhibitoria mínima (CIM). Una concentración por debajo de la CIM califica a la bacteria de resistente y los valores intermedios como de moderadamente sensibles.(38)

Existen 2 tipos de resistencia bacteriana

- Natural o intrínseca: es determinada genéticamente, es una propiedad específica de las bacterias. Todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunos antibióticos. Ésta resistencia es no correlacionable con el incremento de dosis del antibiótico.
- Adquirida: aparece por cambios puntuales en el ADN (mutación) o por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias (plásmidos, transposones o integrones).(38)

La resistencia antimicrobiana de los bacilos gramnegativos como son el género *Acinetobacter* y *Pseudomonas* se ha incrementado de manera sustancial en la última década. Ésta capacidad puede deberse a la relativa impermeabilidad de su membrana externa y a la exposición ambiental a un gran reservorio de genes de resistencia. (20) Diversos reportes han comunicado altas tasas de resistencia antimicrobiana que varían según especies aisladas y zona geográfica.(1)

En general, *A. baumannii* y *P. aeruginosa* poseen varios factores de gran importancia para el desarrollo de resistencia a antimicrobianos que se abordan a continuación:

- Alta capacidad de supervivencia en superficies inertes y biológicas.

*Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* pueden sobrevivir en diferentes tipos de ambientes, muebles y equipos hospitalarios debido a los bajos requerimientos nutricionales que necesitan las bacterias para crecer, y su capacidad de tolerancia a una extensa variedad de condiciones físicas, como un amplio rango de temperatura y pH en los que puede sobrevivir, y la capacidad de colonizar la piel de los trabajadores de salud. (39,40)

- Enzimas inactivadoras de antimicrobianos.

Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas que le confieren a *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistencia a la acción de los  $\beta$ -lactámicos. Existen varios tipos de estas enzimas que son producidas por estas bacterias. Se conoce que hay 2 tipos intrínsecos que se encuentran en casi todas los aislados de *A. baumannii*: la cefalosporinasa AmpC y oxacilinasas variantes OXA-51/69. En el caso de *P. aeruginosa*, es intrínseca la cefalosporinasa AmpC. (41)

De la misma forma, *A. baumannii* y *P. aeruginosa* también pueden adquirir otras  $\beta$ -lactamasas mediante la inserción de genes que amplían su espectro de resistencia:

- Metallo- $\beta$ -lactamasas expresadas mediante la inserción de los grupos de genes IMP-like (habiéndose identificado las variantes IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6 y IMP-11), VIM-like (expresándose muy raramente en *A. baumannii* VIM-2) y SIM-1. Éstas  $\beta$ -lactamasas le confieren a *A. baumannii* y a *P. aeruginosa* una alta resistencia a carbapenémicos y a casi todos los  $\beta$ -lactámicos con excepción de aztreonam, cefepime y cefpiroma. (38,41)
- Oxacilinasas que hidrolizan carbapenémicos. Éste tipo de  $\beta$ -lactamasa es frecuentemente identificada en *A. baumannii*, sin embargo, confieren menor resistencia a carbapenémicos comparados con las metallo- $\beta$ -lactamasas. Se expresan por activación y expresión de diferentes genes (OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40, OXA-49, OXA-51, OXA-58) confiriendo resistencia a penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. (41)

- $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE). Son mediadas por plásmidos, característica que las diferencia de las AmpC. Éstas  $\beta$ -lactamasas son frecuentemente expresadas por *P. Aeruginosa*, otorgándole resistencia a cefalosporinas de 3° generación, aztreonam, penicilinas y cefalosporinas de espectro reducido, pero son incapaces de hidrolizar los carbapenémicos. Las BLEE son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como sulbactam, tazobactam y ácido clavulánico.(38)

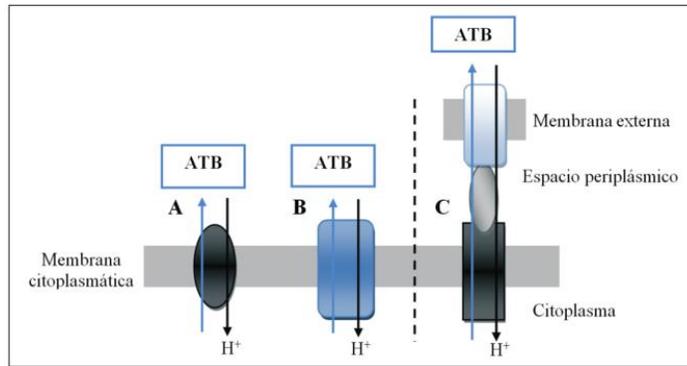
- Limitación del acceso a las dianas bacterianas.

*A. baumannii* y *P. aeruginosa* tienen la capacidad de disminuir la permeabilidad a algunos antimicrobianos a través de la membrana, por medio de las Bombas de Expulsión Multidrogas (BEM) que son transportadores capaces de expulsar una gran variedad de sustratos no relacionados estructuralmente, evitando así que lleguen al sitio de acción. Se han descrito varias familias de BEM, con diferentes mecanismos que permiten ejercer su función en *A. baumannii* y *P. aeruginosa*:

- MFS (Major Facilitator Superfamily): Sistemas compuestos por una proteína de membrana, utilizan la fuerza portón-motriz para expulsar antimicrobianos. Hay 3 principales encontrados en *A. baumannii*:
  - Tet(A). Es un gen que codifica para un sistema que se encarga de expulsar tetraciclinas, a través del intercambio de un protón por un complejo tetraciclina-Mg<sup>+2</sup>.(40)
  - Tet(B). Al igual que Tet(A), expulsa tetraciclinas, pero además también minociclinas.(39)
  - CmlA. Codifica una bomba de expulsión que se encarga de expulsar cloranfenicol.(39)
- RND (Resistance-Nodulation-Division Family): Son sistemas compuestos por 3 componentes: una proteína transportadora ubicada en la membrana interna, una proteína periplasmática y una proteína de membrana externa. La mayoría de bombas de expulsión en bacterias gramnegativas pertenecen a ésta familia y son comúnmente encontradas en *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, les confieren la capacidad de expulsar un amplio rango

de sustratos además utilizan la fuerza protón-motriz como fuente de energía.

- El sistema más conocido es la bomba AdeABC (proteína de fusión AdeA, proteína transportadora AdeB y proteína de membrana externa AdeC), que confiere resistencia a tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, cefotaxima, gentamicina, kanamicina y tigeciclina.(39)
- La bomba AdeIJK se encuentra tanto en cepas susceptibles como resistentes de *A. baumannii* constituyendo resistencia de tipo intrínseca a antimicrobianos y confiere resistencia a  $\beta$ -lactámicos, cloranfenicol, tetraciclina, eritromicina y en bajo grado a fluoroquinolonas; sin embargo, su presencia no está relacionada con resistencia a rifampicina, lincosamida o azitromicina.(39)
- El complejo MexAB-OprM es el más frecuentemente encontrado en *P. aeruginosa*. Está compuesto por una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplasmático y un canal de salida en la membrana externa. Otorga resistencia a  $\beta$ -lactámicos, cloranfenicol, fluoroquinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclinas, trimetoprim e incluso meropenem, pero excluye al imipenem. (39)
- MATE (multidrug and toxic compound extrusión family): compuestas por una proteína de membrana, la bomba principal de ésta familia encontrada en *A. baumannii* es AdeM que utiliza la fuerza protón-motriz para ejercer su función, a diferencia del resto de bombas de la familia MATE que utilizan un gradiente de  $\text{Na}^+$ .(39) Ésta bomba confiere resistencia a norfloxacin, ciprofloxacina, gentamicina, 4'-6-diamino-fenilindol (DAPI), triclosán, bromuro de etidio, daunorubicina, doxorubicina y en menor grado kanamicina, eritromicina, cloranfenicol y trimetoprim.(40)



**Figura 1.** Esquema de las principales bombas de expulsión multidrogas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa*. **A.** MFS: Tet(A), Tet(B), CmlA. **B.** MATE (AdeM). **C.** RND (AdeABC, AdeIJK, MexAB-OprM). ATB: antibiótico.

- Mutaciones en dianas bacterianas.

Se ha demostrado que mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* derivan en modificaciones en la estructura de la ADN girasa bacteriana, lo que conlleva a una baja afinidad de unión de las fluoroquinolonas al complejo enzima-ADN y como resultado a una resistencia adquirida a éstos antimicrobianos.(42) En un estudio realizado por Martínez et al. en Colombia, se identificó que la secuenciación del gen *gyrA* en los aislados susceptibles a ciprofloxacina no mostró mutación puntual en el codón 83. Sin embargo, en los aislados resistentes a ciprofloxacina se presentó mutación en el codón 83 del gen *gyrA*, que resultó en el cambio del aminoácido serina a leucina, lo cual sugiere que este es el principal mecanismo implicado en la resistencia de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* a las fluoroquinolonas. (26)

- Cambios en la permeabilidad de la membrana.

Las porinas son proteínas transmembranales que forman canales en la membrana externa de las bacterias y regulan la entrada de elementos, entre ellos, los antibióticos. OprD es una porina presente en *P. aeruginosa* cuya función es permitir la entrada de aminoácidos básicos a través de la membrana externa y es capaz de permitir la entrada de carbapenémicos (con una capacidad de difusión de imipenem 70 veces más que meropenem). Al existir mutación del gen OprD se produce pérdida de la porina, confiriendo una excepcional resistencia a imipenem sin afectar a otros  $\beta$ -lactámicos. (4)

## 2.5 Factores de virulencia

### ***Acinetobacter baumannii*:**

En los últimos años, se han utilizado modelos genómicos, fenotípicos e infecciosos, que han permitido identificar factores de virulencia importantes en la patogenicidad de *A. baumannii*.(27) Estudios comparativos entre *A. baumannii* y otras especies del género *Acinetobacter*, han encontrado genes involucrados en la biogénesis de pili, mecanismos de adquisición y metabolismo de hierro, percepción de quórum (autoinducción), y sistemas de secreción, formando todos ellos parte del “viruloma” bacteriano. (43)

Entre los principales factores de virulencia de *A. baumannii* se encuentra la capacidad de formación de biofilm, que facilita la colonización en materiales inertes y biológicos, y contribuye a su resistencia a antibióticos y evasión de la respuesta inmune del huésped.(43)

Estudios recientes demuestran que la formación de biofilm está estrechamente relacionada a la percepción de quórum.(27) La percepción de quórum es un importante sistema regulatorio global en las bacterias, que provee mecanismos para coordinar el comportamiento de una bacteria individual en una colonia. (44) Un gran número de moléculas de señal capaces de regular enzimas dependientes de percepción de quórum son reconocidas como reguladoras para la formación de biofilm. En bacterias gramnegativas, las lactonasacil-homoserina (AHLs) son principalmente utilizadas como autoinductores, siendo importantes en la formación y el mantenimiento de biofilm.(44)

El pili de *A. baumannii* es codificado por un sistema de ensamblaje chaperonausher (Csu) *csuA/BABCDE*, el cual es controlado por un sistema regulatorio de dos componentes, codificado por genes *BfmS* (cinasa sensora) y *BfmR* (cinasa reguladora). Ha sido demostrado que *BfmR* es esencial para la estabilización de la expresión del operón *Csu*, y la expresión de los genes *csuC* y *csuE* está

involucrada en la adhesión de superficie inicial en la formación de biofilm. Estos datos sugieren que el pili es un factor primordial en la formación de biofilm de *A. baumannii*.(27,44)

La adhesión inicial es seguida de una producción de expolisacárido, que suprime la actividad de los polimorfonucleares y contribuye a la resistencia sérica, y la formación de una cápsula de polisacárido que convierte a la superficie bacteriana en hidrofílica.(43,45)

Los lipopolisacáridos (LPS) derivados de *A. baumannii* constituyen un importante factor de virulencia, incrementando la patogenicidad de la bacteria y contribuyendo en la resistencia a diversos antibióticos.(46) En modelos experimentales con monocitos humanos, los LPS derivados de *A. baumannii* han sido asociados con un incremento en la respuesta proinflamatoria, aumentando la expresión de citoquinas, principalmente Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) e Interleucina-8 (IL8), los cuales se piensa que son importantes contribuyentes en la sepsis y coagulación intravascular diseminada (CID).Existe evidencia que la mayoría de LPS de *A. baumannii* contienen una cadena polisacárida O (antígeno-O), que influencia en el potencial patogénico de otras bacterias gramnegativas.(43)

Así mismo, se ha demostrado que el lípido-A de los LPS producidas por *A. baumannii* funciona como una endotoxina, con un potencial inflamatorio comparable al de *Escherichia coli*, siendo superior al de otras bacterias gramnegativas no-entéricas, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacteroides fragilis*.(47)

Además, la acumulación de algunas glicoproteínas externas de membrana (Outer Membrane Proteins, OMPs) se asocia con la habilidad de formar biofilm, así como la expresión de la  $\beta$ -lactamasa PER-1, contribuyendo a la resistencia natural a  $\beta$ -lactámicos.(43) La OMP-A está asociada principalmente a la invasión y apoptosis de células epiteliales, y también juega un papel importante en la formación de biofilm.

Diversos experimentos coinciden en que *A. baumannii* posee la capacidad de obtener y utilizar hierro, y que éste es un factor importante que contribuye a su habilidad para sobrevivir dentro del huésped y en ambientes inertes.(43) La evidencia apunta a que la bacteria produce diversos sideróforos, entre ellos el llamado *acinetobactín*,(27) así como diversos sistemas de recaptación de hierro de alta afinidad, que permiten convertir hierro polimérico en quelados solubles y proteínas de membrana externa (Iron Repressible Outer Membrane Proteins, IROMPs).(45)

En combinación, todos estos factores de virulencia confieren a *A. baumannii* la capacidad de sobrevivir en medios deficientes en hierro, resistir temperaturas elevadas asociadas a fiebre, así como a la desecación y a los antibióticos utilizados comúnmente en el medio hospitalario. (27)

### ***Pseudomonas aeruginosa:***

*P. aeruginosa* tiene un flagelo único que permite su motilidad y puede mediar las interacciones iniciales de superficie. También tiene múltiples cilios en la superficie celular que son responsables de la adherencia a las membranas celulares y otras superficies. (9) Esto favorece su capacidad de invadir tracto respiratorio, y vías urinarias. (48) En las vías respiratorias, el glucolípido asialo-gangliósido M1 (aGM1) es uno de los blancos para la unión a la superficie epitelial celular. (9)

Algunos aislamientos de *P. aeruginosa* poseen una cápsula extracelular de alginato, un polímero de polisacáridos que confiere un aspecto mucoso en los cultivos. Ésta cápsula facilita la adherencia a la superficie epitelial pulmonar, obstaculiza la depuración bacteriana por el huésped infectado mediante la antioxidación de los radicales libres liberados por los macrófagos, actúa como una barrera física que impide la fagocitosis y la inhibición de la quimotaxis de los neutrófilos y la activación del complemento. (24) Además, los alginatos parecen ser importantes para la formación de biofilm. Se ha encontrado que en general, los aislamientos mucoides expresan mutaciones en el gen *mucA*. (9)

Cuando *P. aeruginosa* se une a las células epiteliales puede activarse el sistema de secreción tipo III, que permite la liberación de ciertas toxinas dentro de la célula epitelial, con la consiguiente alteración en la respuesta inmunitaria, la lesión tisular y la muerte celular. (24) Cuatro exoenzimas conocidas (ExoS, ExoT, ExoU, ExoY) tienen expresión variable en diferentes cepas de *P. aeruginosa* y distintas actividades. Entre ellas, ExoS y ExoT desorganizan el citoesqueleto de actina de la célula hospedera, bloquean la fagocitosis y favorecen la apoptosis. (24) ExoU es considerada responsable de la mayor virulencia, ya que provoca un estado proinflamatorio, incrementando el daño tisular y la muerte celular.(24) La secreción de exoenzimas por el sistema de secreción tipo III se asocia con infección invasiva o más aguda, en comparación con los estados de infección crónica observados por lo general en los pacientes con FQ. La expresión del sistema de secreción tipo III en los aislamientos de *P. aeruginosa* se asoció con aumento de la mortalidad en los pacientes con neumonía, sepsis e insuficiencia respiratoria. (9)

Hay otros factores de virulencia secretados por *P. aeruginosa*, como la exotoxina A que inhibe el factor 2 de elongación eucarionte, inhibiendo la síntesis proteica de la célula hospedera, y afectando la respuesta tisular a la infección(24); las proteasas alcalinas, elastasas y proteasa IV, que degradan múltiples proteínas inmonorreguladoras del huésped; y las fenacinas, como la piocianina, que producen disfunción ciliar en las vías respiratorias, además de efectos proinflamatorios y oxidantes que dañan las células del huésped y dificultan la eliminación de la bacteria.(9)

## **2.6 Infecciones producidas por *Acinetobacter baumannii***

Las infecciones producidas por *A. baumannii* corresponden en su mayoría a infecciones adquiridas en centros hospitalarios, con un mayor número de casos en la Unidad de Cuidados Intensivos.(49) La colonización por ésta bacteria ocurre dentro de los primeros 9 días de estancia intrahospitalaria, siendo la vía más precoz la cutánea y la más tardía por vía rectal.(18)

En Estados Unidos, el Centro de Control de Enfermedades ha reportado una tasa anual de infecciones nosocomiales por especies de *Acinetobacter* de 7.2/10,000 pacientes-día, siendo *A. baumannii* responsable del 90% de esas infecciones nosocomiales y del 92% del total de bacteriemias intrahospitalarias. En hospitales generales de España se ha identificado una tasa de colonización-infección de 0.39/1000 pacientes-día y de 1.93/1000 pacientes-día en la unidad de cuidados intensivos.(18)

La bacteriemia, las infecciones del tracto respiratorio y las infecciones del sitio operatorio, representan las tres primeras causas de morbilidad producidas por *A. baumannii*. (49,50) Sin embargo, la incidencia de infecciones producidas por *A. baumannii* varía dependiendo de la presencia o no de un brote de casos, así como, del centro hospitalario afectado y de características propias de cada paciente, ya que se ha demostrado que los pacientes adultos en estado crítico o con una infección previa tienen mayor riesgo de ser colonizados-infectados por una cepa multirresistente de *A. baumannii*. (18) (33)

### **Bacteriemia producida por *A. baumannii*.**

Las bacteriemias representan el cuarto de lugar dentro de las infecciones adquiridas en el hospital, y dentro de los servicios afectados el 51% de los casos ocurre en la Unidad de Cuidados Intensivos. (18)

Las características clínicas de la bacteriemia producida por *A. baumannii* son inespecíficas, puede manifestarse como eritema maculo-papular en la palma de las manos que posteriormente se extiende hasta los pies, o puede presentarse como lesiones necróticas en la piel y tejidos blandos. (49)

La fuente más frecuente de bacteriemia es la vía intravascular y a través del tubo endotraqueal. Aunque también se han reportado casos originados a partir de heridas quirúrgicas, quemaduras e infecciones del tracto urinario, y extremadamente raro a partir de casos de endocarditis.(49,50) El pronóstico de los pacientes afectados por ésta infección es controversial, ya que del 25-30% de los casos desarrollan shock séptico.(49)

### **Neumonía asociada a *A. baumannii***

*Acinetobacter baumannii* representa una causa importante de neumonía nosocomial. En España ocupa el tercer lugar en frecuencia tras *P. aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. La neumonía por *A. baumannii* en su mayoría está asociada a ventilación mecánica y es de presentación tardía ya que suele afectar a pacientes con una estancia en UCI mayor o igual a 10 días. (20)

El cuadro de neumonía puede presentarse como sepsis en un 25% de los pacientes, como sepsis grave en un 25% y en el 50% de los casos se manifiesta como shock séptico. La bacteriemia se presenta en el 20% de los pacientes con neumonía por *A. baumannii*, representando el origen más frecuente de bacteriemia por ésta bacteria. (1,3)

El diagnóstico de neumonía por *A. baumannii* se realiza mediante la obtención de muestras respiratorias a través de técnicas invasivas (broncoscopia y fibrobroncoscopia) y la realización de cultivos cuantitativos que permiten diferenciar la verdadera infección de la colonización por ésta bacteria, ya que estudios demuestran que la colonización previa por *A. baumannii* es frecuente, sobretodo en pacientes ingresados en UCI. El patrón radiológico es inespecífico; en el 50% de los casos se presenta un infiltrado lobar y en el otro 50% se produce un patrón difuso bilateral. (1,3)

La tasa de mortalidad de los pacientes con neumonía por *A. baumannii* asociada a ventilación mecánica se encuentra entre el 40 y el 70%, sin embargo, éstos datos son controversiales debido a que *A. baumannii* usualmente afecta a pacientes que padecen de comorbilidades graves. (3)

### **Infecciones de Sitio Operatorio.**

Las infecciones de sitio operatorio (ISO) son frecuentes a nivel intrahospitalario, produciéndose principalmente por bacterias grampositivas, pero también puede incluir bacterias aerobias y bacterias gramnegativas.

Las ISO representan la tercera causa de morbilidad producida por *A. baumannii* a nivel intrahospitalario. (49)

En un estudio realizado en Colombia, en el Hospital El Tunal E.S.E. durante los años 2001 a 2005, para la especialidad de cirugía en el que se identificaron un total de 444 microorganismos provenientes de pacientes con infección del sitio operatorio, incisional superficial, profunda u órgano/espacio, se identificó que *A. baumannii* produce el 6.7% del total de las Infecciones de Sitio Operatorio. Sin embargo, la existencia de factores de riesgo representa un factor determinante en el desarrollo de éstas infecciones. (51)

## **2.7 Infecciones producidas por *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno muy versátil, que puede causar distintos tipos de infecciones. Existen infecciones que son más comunes dentro del ámbito extrahospitalario, entre las que se incluyen foliculitis, síndrome de uña verde o síndrome del pie caliente, posterior a la exposición recreacional a agua contaminada (jacuzzis, piscinas, tinas o saunas), artritis séptica en usuarios de drogas intravenosas, y otitis externa. Ésta última puede manifestarse como una otitis externa severa, potencialmente mortal en pacientes inmunocomprometidos.(52)

Enfermedades pulmonares de base, como la fibrosis quística y la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), son un factor predisponente muy importante para infecciones del tracto respiratorio por *P. aeruginosa*. (52)

La mayor parte de infecciones graves por *P. aeruginosa* son vistas dentro del ámbito hospitalario, constituyendo un grave problema clínico. Además, se podría mencionar que en casi todos los casos clínicos de infección por *P. aeruginosa* existe compromiso de las defensas del hospedero.(24) Las principales infecciones asociadas a esta bacteria son: neumonía, bacteriemia, infección de tracto urinario y las infecciones de heridas.(24) (52)

Las infecciones causadas por *P. aeruginosa*, además de su importancia clínica, también son cuantitativamente importantes. Un resumen del Sistema de Vigilancia Nacional para Infecciones Nosocomiales de EE.UU. publicado en el año 2008, coloca a *P. aeruginosa* como el sexto patógeno nosocomial más frecuente, segunda causa más común de NAVM y la séptima causa más frecuente de infecciones del torrente sanguíneo secundarias a catéter.(52)

### **Neumonía:**

En los pacientes con ventilación mecánica *P. aeruginosa* comprende el principal y más grave agente etiológico. Se encuentra asociado una de las tasas de morbi-mortalidad más elevadas de todas las infecciones nosocomiales. Algunos estudios han determinado una tasa de mortalidad de 50-70% entre los pacientes afectados. Esa elevada mortalidad se atribuye tanto al perfil de los pacientes críticos y con enfermedades de base, como a la virulencia de la bacteria determinándose una tasa de colonización de hasta 54%.(53)

En general, la neumonía por *P. aeruginosa*, es una neumonía de aparición tardía, generalmente a partir de la primera semana de ventilación, y se presenta en pacientes con un elevado grado de disfunción orgánica previo al desarrollo de la neumonía y que en más del 85% de los casos han recibido antibióticos previamente.(53)

### **Bacteriemia:**

*P. aeruginosa* es una de las bacterias gramnegativas más comúnmente aisladas. Con una incidencia de aproximadamente 1 episodio por cada 1000 ingresos, la cual se ha mantenido estable en las últimas décadas. (54)

Se han descrito infecciones por este microorganismo en pacientes quemados, con infección de tracto urinario, cáncer, neutropénicos y neonatos. La tasa de mortalidad es alta y varía entre 17 y 50%. Algunos de los factores asociados a esta elevada mortalidad son neutropenia, presencia de shock séptico, terapia antibiótica inapropiada y origen de bacteriemia en el pulmón. (24)

### **Infección de tracto urinario (ITU):**

En las infecciones de tracto urinario, *P. aeruginosa* es uno de los agentes etiológicos frecuentemente encontrados, elevando significativamente la morbimortalidad. En particular la cateterización es un evento mecánico que favorece el ingreso de este microorganismo en las vías urinarias. (24) Estas infecciones elevan las tasas de morbi-mortalidad, pero no son consideradas de alto riesgo, excepto en pacientes críticamente enfermos o ingresados en la UCI, en donde tal infección puede producir falla renal y otras complicaciones.(54)

## **2.8 Manejo de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* a nivel nacional.**

Los Lineamientos técnicos para la prevención, vigilancia y contención de resistencia bacteriana a los antimicrobianos desarrollados por el Ministerio de Salud (MINSAL) en el año 2014 y actualizados en el año 2015 presentan las recomendaciones para el abordaje y control de los brotes epidémicos causados por bacterias sujetas a vigilancia que ocurren en los establecimientos de salud a nivel nacional. (16)

Según estos Lineamientos, *A. baumannii* representa una bacteria sujeta a vigilancia epidemiológica, debido a la alta capacidad de desarrollar brotes epidémicos asociados a la atención sanitaria brindada al paciente. (16)

En caso de infección por *A. baumannii* multidrogorresistente (MDR) se deberá utilizar como tratamiento empírico de primer escoge la combinación de: meropenem o imipenem a altas dosis más amikacina, más ampicilina y sulbactam más fosfomicina, todos de uso intravenoso por un período de catorce días. (16) Sin embargo, en ésta norma no se determinan las dosis que deberán ser utilizadas para el tratamiento de estas infecciones.

Además, se sugieren medidas generales para el control de los brotes, entre las cuales se mencionan: limitar la recepción de nuevos pacientes al área afectada,

así como el traslado de y hacia otros servicios, implementación de medidas de aislamiento de contacto (uso de guantes y batas desechables), ubicación de los pacientes infectados en habitaciones individuales (según el número de casos y necesidades del servicio) y el lavado adecuado de manos con povidona jabonosa o clorhexidina. (16)

En caso de pacientes recibiendo ventilación mecánica, el circuito deberá ser desechado y nunca re-esterilizado, y el aspirador de secreciones debe ser de uso exclusivo para cada paciente. (16)

Se recomienda también que en caso de infección por *A. baumannii* en un paciente hospitalizado se deba realizar un cultivo semanal para determinar la evolución del caso. Y se deberá dar el alta a la mayor brevedad posible, según las condiciones de cada caso. (16)

## **2.9 Manejo de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* a nivel nacional**

*Pseudomonas aeruginosa* forma parte de los microorganismos gramnegativos que se encuentran bajo vigilancia de resistencia a antibióticos, por el Ministerio de Salud de El Salvador, cuando es causante de infecciones asociadas con la atención sanitaria. Los perfiles de resistencia bacteriana sujetos a vigilancia para *P. aeruginosa* son: ceftazidima, gentamicina, amikacina, aztreonam, cefepime, ciprofloxacina, imipenem, meropenem, piperacilina/tazobactam, o colistina. (16)

Según los Lineamientos técnicos para la prevención, vigilancia y contención de la resistencia bacteriana a antimicrobianos del MINSAL, el esquema de tratamiento escogido para las bacterias resistentes que se encuentran bajo vigilancia será de acuerdo a las necesidades individuales de cada paciente, tomando en cuenta el patrón de resistencia bacteriano revelado en el antibiograma. Se sugiere que el tratamiento esté compuesto por combinaciones de ceftazidima, amikacina,

gentamicina, aztreonam, cefepime, ciprofloxacina, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam y colistina. (16)

## **2.10 Manejo de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* a nivel internacional**

La elección del tratamiento empírico y definitivo apropiado en infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii* es difícil. Sin embargo, una antibioticoterapia adecuada se asocia estadísticamente con menor mortalidad, especialmente con el uso de combinaciones de antibióticos. (20)

Imipenem ha sido el estándar para el tratamiento para infecciones causadas por *A. baumannii*. Sin embargo, la frecuente aparición de resistencia a los antimicrobianos más comúnmente usados, establece la necesidad de identificar nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento de éstas infecciones.(20) A continuación se resumen las principales opciones para el manejo de éstas infecciones:

### **Carbapenémicos:**

Los carbapenémicos son considerados como el tratamiento de elección frente a infecciones por *A. baumannii* debido a que son los antibióticos que poseen mayor actividad in vitro y los de mayor experiencia clínica. Debido a su amplio espectro, también son utilizados como el tratamiento empírico de elección en los pacientes con neumonía grave o sospecha de infección por *A. baumannii*. Estudios demuestran que imipenem posee un efecto más prolongado a nivel pulmonar por lo cual, se considera una opción eficaz para el tratamiento de neumonía asociada a *A. baumannii*. El uso de meropenem se reserva para cuando imipenem está contraindicado. (3,20)

**Sulbactam:**

Es una sulfona del ácido penicilánico que además de ser un inhibidor de las  $\beta$ -lactamasas, posee actividad intrínseca bactericida frente a *A. baumannii*. La presencia de un  $\beta$ -lactámico, como la ampicilina, en combinación con el inhibidor de las  $\beta$ -lactamasas, no parece contribuir a la actividad o la sinergia, por lo tanto, esta asociación es innecesaria ya que la actividad de la ampicilina/sulbactam frente a *A. baumannii* es exclusiva del sulbactam.(3)

Sulbactam generalmente se indica como alternativa a los carbapenémicos en las infecciones graves causadas por *A. baumannii*.(20)

**Aminoglucósidos:**

Particularmente amikacina y tobramicina son opciones terapéuticas para la infección por cepas de *A. baumannii* sensibles, pero dadas las características farmacocinéticas y farmacodinámicas, normalmente se deben usar en combinación con otros antimicrobianos (excepto en infecciones urinarias). Se recomiendan combinados con los  $\beta$ -lactámicos para el tratamiento de las neumonías por *A. baumannii*, aunque no se ha demostrado que la combinación sea superior al uso del  $\beta$ -lactámico en monoterapia. Por el contrario, sí se ha demostrado en un modelo de neumonía experimental por *A. baumannii*, en ratones inmunocompetentes, que la combinación de amikacina e imipenem no es más eficaz que la monoterapia con imipenem. Por lo tanto, no hay razones para recomendar el tratamiento combinado de imipenem más aminoglucósidos en el tratamiento de la neumonía por *A. baumannii*.(20)

Se han descrito cepas de *A. baumannii* multirresistente que muestran sensibilidad intermedia a amikacina o tobramicina, en relación con enzimas modificadoras de aminoglucósidos o mecanismos de bombas de eflujo.(20)

## 2.11 Manejo de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* a nivel internacional

El reporte del programa de vigilancia antimicrobiana SENTRY, muestra los patrones de resistencia antimicrobiana a nivel mundial para distintos patógenos, así como los antibióticos con mejor actividad para cada bacteria. En el caso de *P. aeruginosa*, se reporta que para Latinoamérica son los betalactámicos los que cuentan con mayor rango de potencia, siendo los carbapenémicos los más activos. En el estudio se concluye que se muestra una mejor potencia antipseudomonas con la combinación de aminoglucósidos, más un carbapenémico, más cefepima o piperacilina/tazobactam. (30)

Según un consenso publicado en 2005 por la Asociación Española de Cirujanos, Sociedad Española de Medicina Interna y Unidades Coronarias, Sociedad Española de Medicina Interna, Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias, y la Sociedad Española de Quimioterapia, para el tratamiento empírico de infecciones intraabdominales, se reporta que los antibióticos con mejor actividad contra *P. aeruginosa* son: piperacilina/tazobactam, cefepime, imipenem, aminoglucósidos (cepas sensibles a amikacina y tobramicina) y aztreonam. (55)

En un estudio publicado por la Sociedad Americana de Microbiología en el año 2005, en el que se estudiaron 305 pacientes con bacteriemia por *P. aeruginosa*, se reporta que los antibióticos con mejor efectividad contra esta bacteria son: cefepime, ceftazidima, imipenem y aminoglucósidos (incluyendo gentamicina, tobramicina y amikacina), constituyendo alternativas apropiadas para un tratamiento empírico eficaz contra *P. aeruginosa*. (56)

## 2.12 Tratamiento antimicrobiano con rifampicina, imipenem y sulbactam

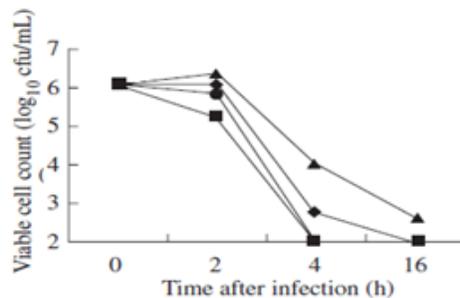
### Monoterapia.

Los carbapenémicos, como monoterapia o en combinación, son el principal tratamiento para infecciones por bacterias gramnegativas multidrogorresistentes como *A. baumannii* y *P. aeruginosa*. El imipenem se ha propuesto como el fármaco de primera línea (20) teniendo utilidad clínica en casos de bacteriemia o neumonía asociada a ventilación mecánica; sin embargo, en los últimos años las opciones terapéuticas se han acortado debido al desarrollo de cepas resistentes a éstos antimicrobianos.(57) Gamero et al en 2007 luego de analizar 3019 cepas de *P. aeruginosa*, expusieron que los antimicrobianos más activos fueron imipenem y meropenem, sin importar si son cepas aisladas a nivel intra o extrahospitalario. (12)

Sulbactam es un fármaco inhibidor de  $\beta$ -lactamasas que posee actividad intrínseca contra *A. baumannii* y es una buena opción de manejo para tratar infecciones por ésta bacteria, ya que ha demostrado actividad bactericida en cepas de *A. baumannii* MDR in vitro.(57) Se ha aceptado que en casos en los que *A. baumannii* es susceptible a éste antimicrobiano, se considere como la principal alternativa terapéutica.(58) Experimentos realizados en ratones por Rodríguez-Hernández et al. han demostrado que sulbactam es tan efectivo como imipenem en el tratamiento de neumonía e infección sistémica por *A. baumannii*.(59) Para el caso de infecciones causadas por *P. aeruginosa*, el papel del sulbactam como potente inhibidor de  $\beta$ -lactamasas se ve evidenciado en un estudio realizado en Kanagawa, Japón, en el cual se vio potenciado el efecto de los  $\beta$ -lactámicos al estar en terapia sinérgica con sulbactam, ya que disminuye en gran medida las CIM (Concentraciones Inhibitorias Mínimas) de los antimicrobianos. (13)

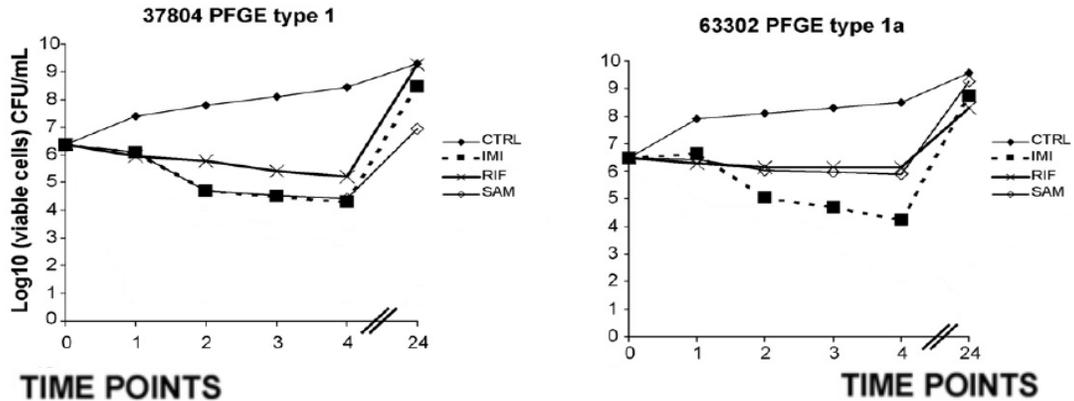
Rifampicina es considerado como un antimicrobiano que usualmente se utiliza para tratar infecciones por bacterias grampositivas, sin embargo estudios in vitro

han demostrado el efecto bactericida que éste fármaco posee en contra de *A. baumannii* MDR.(58) Estudios realizados por Saballs et al. en 2006 con pacientes, demostró que rifampicina a altas dosis (20mg/Kg/día) generó mejores resultados que colistina en neumonía por cepas de *A. baumannii* susceptibles y resistentes a carbapenémicos.(60) La rifampicina también ha demostrado actividad en contra de *P. aeruginosa* MDR según un estudio realizado en 2008 en Tokio, donde se evidenciaron los mejores resultados en las curvas de tiempo-muerte, seguidos por imipenem en modelos de neumonía murina (Figura 2).(61) Sin embargo, rifampicina al ser utilizada como monoterapia para infecciones por bacterias gramnegativas ha demostrado un rápido desarrollo de resistencia bacteriana, por lo que se utiliza en combinaciones en la mayoría de casos. (15)



**Figura 2.** Curva tiempo-muerte de cepa de *P. aeruginosa* MDR. Se observa una comparación de antibioticoterapia con ciprofloxacino (triángulos), amikacina (rombos), rifampicina (círculos) e imipenem (cuadros). A las 4 horas se evidencia que no hay unidades formadoras de colonias viables con los últimos 2 fármacos.

En un estudio realizado en 2007 por Tripodi et al. se dejó evidenciado que la monoterapia in vitro con imipenem, ampicilina/sulbactam y rifampicina en cepas de *A. baumannii* levemente resistentes y altamente resistentes a carbapenémicos generó un efecto inhibitorio transitorio hasta 4 horas con posterior rebrote de la cepa a las 24 horas que se puede comprobar en las curvas de letalidad, (Figura 3) lo que sugiere la monoterapia con éstos fármacos no es una buena opción de tratamiento (Figura 3).(15)



**Figura 3.** Se muestra las curvas de tiempo-muerte de dos cepas de *A. baumannii*: 37804 PFGE tipo 1 (levemente resistente a carbapenémicos), 63302 PFGE tipo 1a (altamente resistente a carbapenémicos). La monoterapia con imipenem, ampicilina/sulbactam y rifampicina demostró un efecto inhibitorio transitorio hasta 4 horas con posterior rebrote de la cepa, por lo que no se recomienda la monoterapia como abordaje efectivo de infecciones por *A. baumannii*. CTRL: Control, IMI: Imipenem, RIF: Rifampicina, SAM: Ampicilina/Sulbactam.

### Terapia combinada.

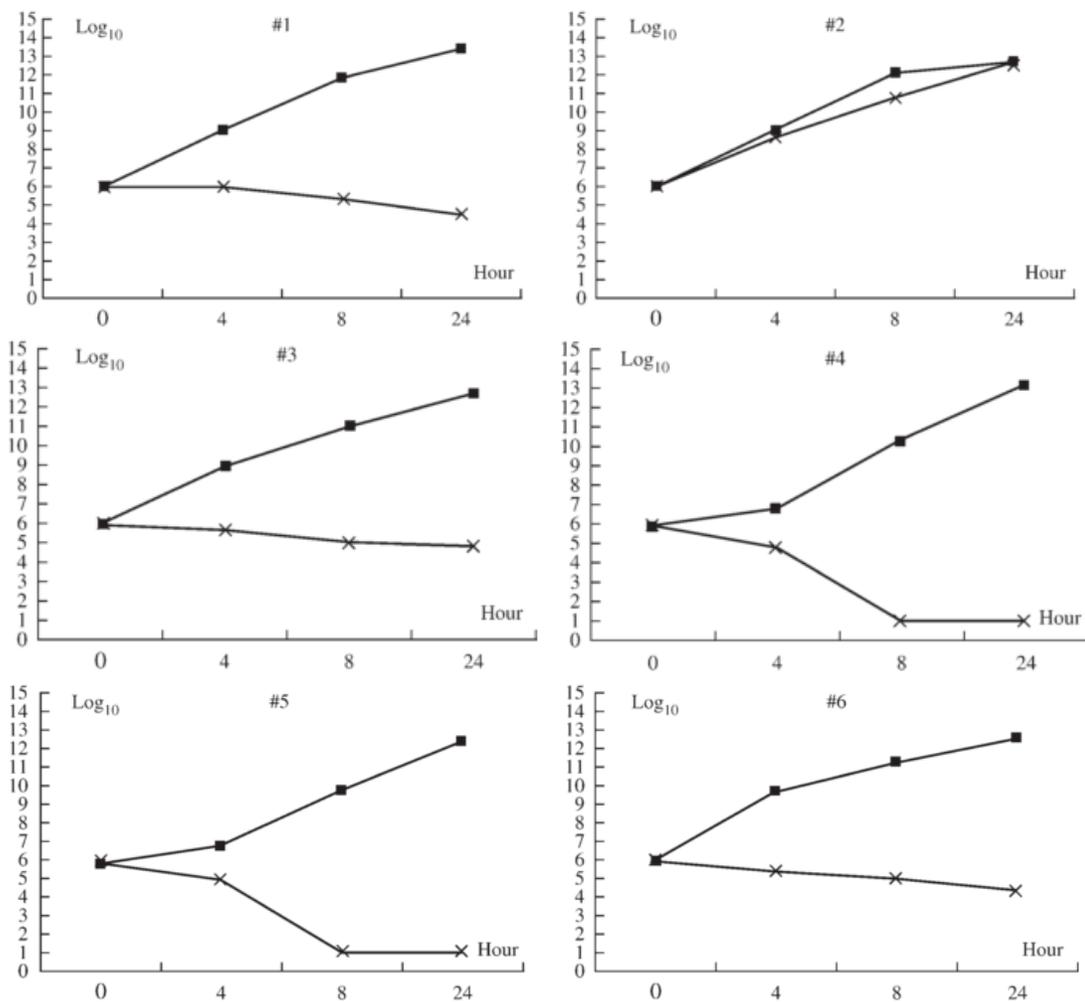
A pesar que la monoterapia con imipenem, rifampicina y sulbactam no es una opción viable de tratamiento, se han realizado varios estudios utilizando estos antimicrobianos de forma combinada, obteniendo resultados que prometen un abordaje adecuado para tratar infecciones por bacterias gramnegativas.

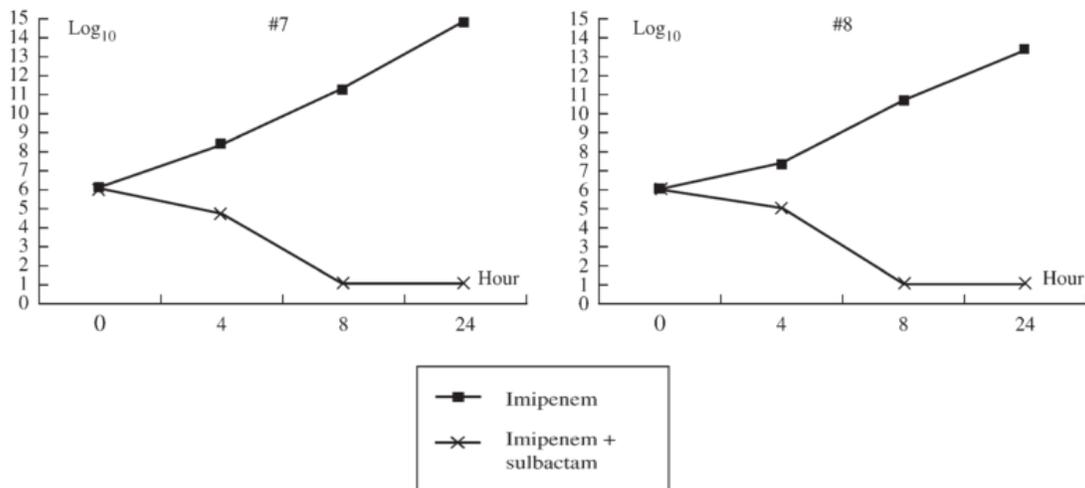
La terapia antimicrobiana combinada es frecuentemente utilizada para tratar infecciones severas producidas por bacterias gramnegativas. En comparación con la monoterapia, la terapia antimicrobiana combinada ofrece un amplio espectro de acción, efectos sinérgicos y menor probabilidad de resistencia bacteriana durante el tratamiento.(62)

En un estudio realizado en Uppsala, Suecia en 2014 se demostró que existen efectos sinérgicos en combinaciones dobles con  $\beta$ -lactámicos anti-pseudomonas y rifampicina para el abordaje terapéutico de infecciones por *P. aeruginosa*, así como excelentes resultados con combinaciones triples con ampicilina/sulbactam, carbapenémico y rifampicina para el tratamiento de infecciones por *A. baumannii*. En este mismo estudio se dejó evidenciado que la terapia antimicrobiana combinada es de elección cuando hay situaciones clínicas en las cuales la monoterapia con  $\beta$ -lactámicos no es viable debido a que éstos antimicrobianos por

si solos son insuficientes para tratar infecciones severas por *P. aeruginosa* y *A. baumannii*.(62)

En un estudio in vitro realizado en 2007 por Song et al. en 8 cepas de *A. baumannii* resistentes a imipenem se demostró que la combinación imipenem/sulbactam presenta sinergia contra la mayoría de cepas resistentes a carbapenémicos observándose actividad bactericida en las curvas de tiempo-muerte que duró más de 24 horas, a diferencia de monoterapia con imipenem que no produjo disminución en el recuento bacteriano viable (Figura 4).(63)

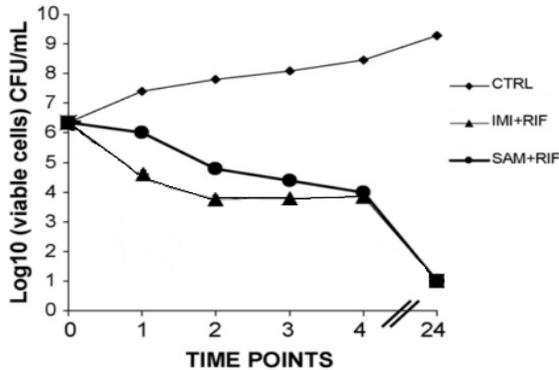




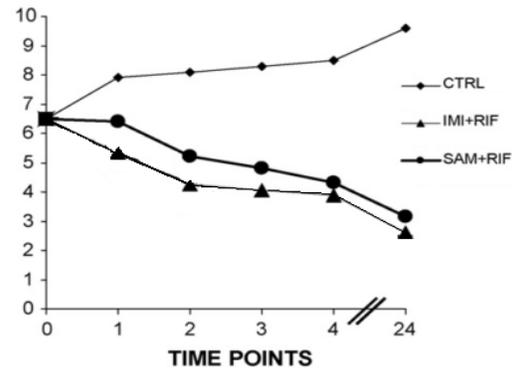
**Figura 4.** Las curvas de letalidad muestran disminución del recuento de bacterias viables  $\geq 2 \log_{10}$  ufc/mL con la terapia combinada imipenem/sulbactam dejando en evidencia el efecto sinérgico que poseen estos fármacos comparado con la monoterapia de imipenem en cepas de *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos.

La terapia combinada imipenem/rifampicina ha demostrado ser de las más documentadas a la fecha. Saballs et al. evidenciaron en 10 pacientes (9 en UCI), con infecciones por *A. baumannii*, que luego de haberles administrado la terapia imipenem/rifampicina por 6-24 días se evidenció un excelente efecto sinérgico entre éstos dos antimicrobianos en las curvas de tiempo-muerte; por lo que se llegó a la conclusión que la terapia combinada imipenem/rifampicina era la mejor opción terapéutica para tratar infecciones de cepas de *A. baumannii* tanto susceptibles como resistentes a carbapenémicos. (60) Montero et al. expusieron que la combinación imipenem/rifampicina produce una buena actividad bactericida en cepas de *A. baumannii* altamente resistentes a carbapenémicos.(64) En estudios realizados por Tripodi et al. se evidencia la actividad sinérgica de la terapia imipenem/rifampicina a través de las curvas de tiempo-muerte.(15) (Figura 5)

### 37804 PFGE type 1



### 63302 PFGE type 1a



**Figura 5.** Curva de letalidad de dos cepas de *A. baumannii*: 37804 PFGE tipo 1 (levemente resistente a carbapenémicos), 63302 PFGE tipo 1a (altamente resistente a carbapenémicos). Se observa que la combinación imipenem/rifampicina y ampicilina-sulbactam/rifampicina produjo efectos sinérgicos con actividad bactericida en ambas cepas de *A. baumannii*. CTRL: Control, IMI+RIF: Imipenem/rifampicina, SAM+RIF: Ampicilina-sulbactam/rifampicina.

La terapia combinada rifampicina/sulbactam ha sido investigada en los últimos años; Tripodi et al. en el 2007 dejaron en evidencia la actividad sinérgica de estos antimicrobianos tanto para el tratamiento de cepas de *A. baumannii* levemente resistentes a carbapenémicos como altamente resistentes a estos. En las curvas de tiempo-muerte se muestra una disminución en el recuento de bacterias viables lo que indica una buena actividad bactericida con la combinación rifampicina/ampicilina-sulbactam. (15)

## 2.13 Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica

Pueden clasificarse en cualitativos y cuantitativos. Métodos cuantitativos son aquellos procedimientos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM). Se define CIM como la mínima concentración de antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento in vitro de un inóculo bacteriano previamente estandarizado. (65)

Se define como CBM la mínima concentración de un antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inducir la muerte in vitro del 99.9% de una población bacteriana previamente estandarizada.(65)

Se denominan métodos cualitativos a aquellos procedimientos que permiten clasificar directamente a un microorganismo como sensible, intermedio o resistente.

### **Estandarización**

Todos los métodos de estudio están estandarizados, de manera que los resultados sean reproducibles y comparables. Dentro de los parámetros a estandarizar se encuentran los siguientes:

- a) El tipo de bacterias a estudiar. La realización de estos procedimientos requiere la utilización de cepas de control de calidad con resultados conocidos.(65)
- b) Los medios de cultivo para realizar las pruebas. De los medios disponibles se considera que tanto el agar como el caldo Mueller-Hinton (MH) son los más apropiados para las pruebas de sensibilidad de rutina, ya que son adecuados para la mayoría de las bacterias patógenas en cuanto a requerimientos nutricionales, y existen suficientes datos recopilados que avalan su uso en las pruebas de sensibilidad. A pesar de estas cualidades, algunos parámetros del medio se deben controlar en cada lote de uso, como el pH, que debe ser 7.2-7.4 a temperatura ambiente. Si el pH es demasiado bajo, ciertas drogas como aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos parecerán menos activas, mientras otras como las tetraciclinas parecerán tener mayor actividad. Si el pH es más alto se podrán esperar los resultados opuestos.(65)
- c) La temperatura de incubación, lo cual altera la velocidad de crecimiento bacteriano y su viabilidad.(65)
- d) El estado de los antibióticos, su fecha de vencimiento si se trata de discos, o su potencia si se trata de antibiótico como droga.

## **Método de difusión en disco (Método de Kirby-Bauer)**

Este es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. Consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MH previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano.(65)

- Preparación del inóculo estandarizado:

Para estandarizar la densidad del inóculo se usa una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez, que corresponde a 0,5 del nefelómetro de McFarland. La densidad se corrobora con un espectrofotómetro. Con un asa bacteriológica se toman cuatro a cinco colonias bien aisladas del mismo tipo morfológico y se inocula en 4 a 5 ml de caldo apropiado, como caldo MH. Los cultivos de caldo se dejan incubar a 35°C hasta que aparece una turbidez ligeramente visible (generalmente de 2 a 5 horas).(65) Si la turbidez del inóculo es más alta que el estándar, el caldo se ajusta con solución salina estéril para obtener una turbidez ópticamente comparable a 0,5 en la escala de McFarland, que corresponde a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml. (64)

- Inoculación de medio Agar Mueller-Hinton:

Antes de 15 minutos de preparado el inóculo, sumergir un hisopo de algodón en la suspensión estandarizada, el cual debe ser rotado varias veces y presionado firmemente contra la pared interna del tubo sobre el nivel de líquido. Con el hisopo exprimido, se inocula la superficie de la placa de agar mediante estriado. Se deja secar el medio de 3 a 5 minutos, sin exceder los 15 minutos, con la tapadera cerrada.

- Colocación de discos impregnados con antibiótico utilizando pinzas estériles:

Se coloca los discos de papel filtro impregnados con una concentración conocida de antibiótico. Deben ser distribuidos en forma constante y no debe quedar a menos de 24 mm de distancia entre centros.(65) Luego se debe invertir las cajas e incubarlas a 35°C durante 18 a 24 horas.

Posterior a la incubación, cada placa es examinada. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento. Los diámetros de la zona de inhibición completa son medidos en milímetros pasando por el centro del disco.(65) Los tamaños de las zonas de inhibición son interpretados en las Tablas NCCLS para ser informado como susceptible, intermedio, o resistente a los antimicrobianos que se han probado.

### **Métodos de dilución**

Las primeras determinaciones se realizan empleando una cantidad considerable de tubos con caldo de cultivo, a los cuales se le colocaban diluciones crecientes de antibióticos, con el objetivo de identificar la CIM y CBM.(65) Este procedimiento se denominó macrodilución en caldo. La aparición de un sistema de inoculación múltiple para placas de agar popularizó el método de dilución en agar, en el que cada placa, con una cierta concentración de antimicrobiano, permite inocular simultáneamente un gran número de microorganismos. La utilización de micropipetas y de placas de microtitulación facilitó la utilización del método de microdilución en caldo; en la actualidad se han popularizado los métodos automatizados comerciales de microdilución en caldo, fácilmente integrables en sistemas semiautomáticos de lectura e interpretación de resultados, pero con el grave inconveniente del incremento de su costo. (65)

## **2.14 Método de aproximación de discos para evaluar sinergismo de antimicrobianos.**

Descrito originalmente por Jarlier et al., consiste en la colocación de discos de fieltro impregnados con una concentración de antibióticos conocida, colocados a una distancia equidistante de 20 mm entre cada disco, en un medio de Agar Mueller Hinton, previamente estriada con el aislado bacteriana.(66,67)

Se mide el diámetro de la zona de inhibición, considerándose que existe actividad sinérgica entre los antimicrobianos cuando se interponen sus halos de inhibición.(66)

Este método es útil para poder determinar si dos o más antimicrobianos aumentan su acción microbicida al entrar en contacto entre sí. Además, ha sido descrito por las guías de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) usando cepas de bacterias gramnegativas como *Escherichia coli* (no productora de  $\beta$ -lactamasa) y *Klebsiella pneumoniae* (productora de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido); siendo una guía para evaluar sinergismo antimicrobiano en bacterias gramnegativas.(66)

## **3. Metodología**

### **3.1 Tipo de estudio**

Descriptivo, transversal, prospectivo.

### **3.2 Población**

Pacientes ingresados en el Hospital Nacional San Rafael, sin importar la causa del ingreso, e independientemente del servicio de ingreso, con cultivo positivo para *A. baumannii* o *P. aeruginosa*.

### **3.3 Muestra**

#### **3.3.1 Marco muestral**

Cultivo positivo para *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, reportado por el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional San Rafael, sin importar la causa del ingreso, e independientemente del servicio de ingreso, en el período de julio a noviembre de 2016.

#### **3.3.2 Unidad de análisis**

Cepas de *A. baumannii* o *P. aeruginosa* aislado de cultivo de paciente ingresado en el Hospital Nacional San Rafael, independientemente del sitio de infección de junio a noviembre del año 2016.

#### **3.3.3 Selección de la muestra.**

Se realizó un muestreo según conveniencia, tomando en cuenta la totalidad de cultivos positivos para *A. baumannii* y *P. aeruginosa* que se presentaron en el período de tiempo del estudio. Incluyendo solamente 1 cultivo positivo por cada paciente que reunió criterios de inclusión.

### 3.4 Criterios de inclusión

- Cultivo positivo para *A. baumannii* o *P. aeruginosa* reportado por el laboratorio del Hospital Nacional San Rafael durante el periodo comprendido entre junio a noviembre del año 2016.
- Cepas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* identificadas exclusivamente por reporte bacteriológico del laboratorio del Hospital Nacional San Rafael.

### 3.5 Criterios de exclusión

- Cultivos positivos de otros microorganismos reportados por el laboratorio del Hospital Nacional San Rafael durante el periodo comprendido entre junio a noviembre del año 2016.

### 3.6 Variables

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Indicador
Número de cultivos positivos para <i>A. baumannii</i>	Cantidad determinada en número enteros, de cultivos en los cuales se reporte aislamiento de <i>A. baumannii</i> .	Reporte de cultivo positivo a través del equipo Vitek 2 Compact.	Cantidad de cultivos que reporten Unidades Formadoras de Colonias de <i>A. baumannii</i> en el período de junio a noviembre de 2016.
Número de cultivos positivos para <i>P. aeruginosa</i>	Cantidad determinada en número enteros, de cultivos en los cuales se reporte aislamiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Reporte de cultivo positivo a través del equipo Vitek 2 Compact.	Cantidad de cultivos que reporten Unidades Formadoras de Colonias de <i>P. aeruginosa</i> , en el período de junio a noviembre de 2016.
Tiempo de inhibición bacteriana (tiempo de observación)	Cantidad de tiempo necesaria, determinado en horas, para identificar inhibición de crecimiento bacteriano en el medio de cultivo.	Inhibición de crecimiento bacteriano en 18-24 horas en estufa	Tiempo medido en horas, en el cual se identifica inhibición de crecimiento bacteriano determinado por la aparición de halo inhibitorio del antibiótico utilizado, en medio Agar Mueller Hinton.

		bacteriológica a 35°C ±2	
Halo de inhibición	Diámetro del círculo formado alrededor del disco de determinado antibiótico, medido en milímetros.	Medición de halo de inhibición a través de regla milimetrada.	Número de milímetros que mide el halo inhibitorio formado alrededor del disco antimicrobiano de un determinado antibiótico, medido con una regla milimetrada.
Susceptibilidad in vitro	Capacidad de crecimiento de los microorganismos frente a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas.	Sensible Intermedio Resistente	Comparación del halo de inhibición antimicrobiano con tablas estandarizadas.

### 3.7 Proceso de recolección de datos

Previa autorización del comité de ética (ver Anexo 3) y demás autoridades del Hospital Nacional San Rafael, se obtuvieron las muestras de aislados positivos de *A. baumannii* o *P. aeruginosa*, identificadas previamente por el área de microbiología del laboratorio clínico utilizando un método automatizado por el equipo Vitek 2 Compact, independientemente del sitio de infección, patrón de resistencia, y demás datos clínicos relacionados con el paciente, en el período comprendido entre junio a noviembre de 2016. Se llevó un registro de las muestras en un libro, por el personal de laboratorio del Hospital Nacional San Rafael, y en otro libro por el equipo investigador. En el registro del personal de laboratorio se incluyó número de expediente clínico de paciente para evitar la repetición de muestras provenientes del mismo paciente; en el registro del equipo investigador se anotó fecha y número de muestras. Las muestras fueron entregadas por el Laboratorio Clínico del HNSR en tubos de ensayo con medio de transporte de Stuart, previamente proporcionados por el equipo investigador, y fueron trasladadas cumpliendo las normas de bioseguridad (en una hielera con tubos de ensayo sellados y manipulados con guantes, mascarilla, gorro y uso de

guardapolvo por el equipo investigador), hasta el laboratorio de microbiología de FACSALEV, donde fueron almacenadas en refrigeración a 4°C.

### **3.8 Procesamiento de muestra**

Para el estudio de la sensibilidad a los antibióticos de las muestras obtenidas del Hospital Nacional San Rafael, se utilizó el método estandarizado de Kirby – Bauer.

Cada muestra obtenida de un aislado positivo en el Hospital Nacional San Rafael fue subcultivada en medio de triptacasa-soya-agar, por el método de estrías. A partir de ese subcultivo, se inocularon tres placas con agar Mueller-Hinton utilizando el método de Kirby-Bauer. En la 1° placa se estudió la sensibilidad bacteriana a rifampicina, imipenem y sulbactam (RIS), en la 2° placa se evaluó la acción sinérgica entre los antibióticos previamente mencionados según el modelo estandarizado para bacterias gramnegativas, el cual consiste en la colocación de los discos impregnados con antibiótico a una distancia de 20 milímetros entre sí, categorizándose como sinergia cuando se fusionen los halos de inhibición de crecimiento bacteriano. En la 3° placa se colocaron los discos de antimicrobianos utilizados en el esquema convencional (amikacina, piperacilina/tazobactam, ceftazidima y fosfomicina). Se midieron los halos de inhibición bacteriana, que fueron registrados en un documento Excel para elaborar la base de datos utilizada para el análisis estadístico.

### **3.9 Análisis estadístico de datos**

Cada variable fue sometida a un test estadístico exploratorio, que consistió en la búsqueda de medidas de tendencia central y la aplicación del test de D'Agostino & Pearson para determinar si las variables tenían una distribución normal.

En el caso de variables con distribución normal, se utilizó la prueba T de Student para indagar la diferencia entre dos grupos. Se utilizó ANOVA en el caso de tener

más de dos grupos. La asociación entre variables fue realizada mediante la prueba de Chi Cuadrado.

En el caso de variables que no tuvieron distribución normal, se utilizó la prueba de Mann Whitney para buscar asociación entre variables.

También se utilizaron tablas de contingencia para expresar las diferencias o razones de proporción en forma porcentual.

## **4. Resultados**

En el presente estudio se analizaron 60 muestras de *P. aeruginosa* y 40 muestras de *A. baumannii*, obtenidas del laboratorio del Hospital Nacional San Rafael, en el período de julio a noviembre de 2016, mediante el método estandarizado de Kirby-Bauer.

Se comparó la sensibilidad in vitro al esquema convencional descrito en lineamientos nacionales e internacionales, versus el esquema combinado de rifampicina, imipenem y sulbactam (en adelante: RIS), midiendo el halo de inhibición del crecimiento bacteriano. Además, se comparó la efectividad in vitro del esquema combinado RIS utilizando cada antibiótico por separado, y utilizándolos de una manera sinérgica.

Los resultados obtenidos han sido agrupados en 5 secciones:

- Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema de antibióticos convencional.
- Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema de antibióticos RIS, sin evaluar sinergia.
- Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema de antibióticos RIS, evaluando sinergia.
- Comparación de la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema RIS sinérgico y no sinérgico.
- Tipos de sinergismo in vitro obtenido en muestras de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al utilizar el esquema RIS combinado.

## 4.1 Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema de antibióticos convencional.

### 4.1.1 Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* al esquema de antibióticos convencional.

*P. aeruginosa* mostró mayor porcentaje de resistencia a la fosfomicina y ceftazidima, con un 61.7% y 63.3% respectivamente. Los antibióticos que mostraron mayor sensibilidad in vitro fueron con amikacina y piperacilina/tazobactam con un 75% y 50% respectivamente. (Tabla 3)

**Tabla 3.** Porcentaje de sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* al esquema de antibióticos convencional.

	<b>Fosfomicina (%)</b>	<b>Piperacilina/tazobactam (%)</b>	<b>Amikacina (%)</b>	<b>Ceftazidima (%)</b>
<b>Sensible</b>	11 (18.3)	<b>30 (50)</b>	<b>45 (75)</b>	18 (30)
<b>Intermedio</b>	12 (20)	2 (3.3)	4 (6.7)	4 (6.7)
<b>Resistente</b>	37 (61.7)	28 (46.7)	11 (18.3)	38 (63.3)
N: 60				
P < 0.0001				
Fuente: Datos obtenidos por equipo investigador.				

### 4.1.2 Sensibilidad in vitro de *A. baumannii* al esquema de antibióticos convencional.

Al analizar la efectividad in vitro del esquema de antibióticos convencional propuesto para *A. baumannii*, se encontró que los antibióticos con mayor porcentaje de resistencia fueron fosfomicina y ceftazidima, con el 77.5 y 82.5% respectivamente. Además, los porcentajes de sensibilidad fueron sumamente bajos, siendo piperacilina/tazobactam y amikacina los antibióticos con mejor efectividad in vitro, con 27.5 y 37.5% de cepas sensibles. (Tabla 4).

**Tabla 4.** Porcentaje de sensibilidad in vitro de *A. baumannii* al esquema de antibióticos convencional.

	<b>Fosfomicina (%)</b>	<b>Piperacilina/tazobactam (%)</b>	<b>Amikacina (%)</b>	<b>Ceftazidima (%)</b>
<b>Sensible</b>	3 (7.5)	<b>11 (27.5)</b>	<b>15 (37.5)</b>	1 (2.5)
<b>Intermedio</b>	6 (15)	1 (2.5)	6 (15)	6 (15)
<b>Resistente</b>	31 (77.5)	28 (70)	19 (47.5)	33(82.5)
N: 40				
P = 0.0003				
Fuente: datos obtenidos por equipo investigador.				

## 4.2 Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema de antibióticos RIS, no combinado.

### 4.2.1 Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* al esquema RIS, no combinado.

Al estudiar la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* para rifampicina, imipenem y sulbactam, sin evaluar sinergia entre ellos, se demostró que 51.7% de las muestras fueron sensibles al imipenem, siendo éste el antimicrobiano con mejor porcentaje de sensibilidad al ser utilizado de manera no combinada (Tabla 5). En contraste, se encontró que el antibiótico con menor porcentaje de sensibilidad fue la rifampicina, con únicamente el 10% de muestras sensibles.

**Tabla 5.** Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* a rifampicina, imipenem y sulbactam, sin evaluar sinergia.

	<b>Rifampicina (%)</b>	<b>Imipenem (%)</b>	<b>Sulbactam (%)</b>
<b>Sensible</b>	6 (10)	<b>31 (51.7)</b>	19 (31.7)
<b>Intermedio</b>	7 (11.7)	10 (16.7)	9 (15)
<b>Resistente</b>	47 (78.3)	19 (31.6)	32 (53.3)

N: 60
P <0.0001
Fuente: datos obtenidos por equipo investigador.

#### 4.2.2 Sensibilidad in vitro de *A. baumannii* al esquema RIS, sin evaluar sinergia.

Los resultados del esquema no combinado con rifampicina, imipenem y sulbactam para *A. baumannii*, muestran que más del 50% de las muestras es resistente a todos los antibióticos utilizados de forma individual. Aunado a esto, menos del 30% de las muestras analizadas fueron sensibles al esquema ya descrito, teniendo rifampicina el menor porcentaje de sensibilidad, con 5%.

**Tabla 6.** Sensibilidad in vitro de *A. baumannii* a rifampicina, imipenem y sulbactam, sin evaluar sinergia.

	Rifampicina (%)	Imipenem (%)	Sulbactam (%)
<b>Sensible</b>	2 (5)	<b>11 (27.5)</b>	<b>11 (27.5)</b>
<b>Intermedio</b>	12 (30)	8 (20)	7 (17.5)
<b>Resistente</b>	26 (65)	21 (52.5)	22 (55)
N: 40			
P = 0.0633			
Fuente: datos obtenidos por equipo investigador.			

#### 4.3 Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema RIS, evaluando sinergismo.

##### 4.3.1 Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* a esquema RIS, evaluando sinergismo.

*P. aeruginosa* obtuvo una mayor sensibilidad al imipenem, con un 61.6% de muestras sensibles. En contraste, rifampicina evidenció una menor acción antimicrobiana, con un 23.3% de muestras sensibles (Tabla 7).

**Tabla 7.** Sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* al esquema sinérgico con rifampicina, imipenem y sulbactam

	<b>Rifampicina (%)</b>	<b>Imipenem (%)</b>	<b>Sulbactam (%)</b>
<b>Sensible</b>	14 (23.3)	<b>37 (61.6)</b>	30 (50)
<b>Intermedio</b>	14 (23.3)	6 (10)	5 (8.3)
<b>Resistente</b>	32 (53.4)	17 (28.4)	25 (41.7)
N: 60			
P = 0.0004			
Fuente: datos obtenidos por equipo investigador.			

#### 4.3.2 Sensibilidad in vitro de *A. baumannii* a esquema RIS, evaluando sinergismo.

Los resultados al utilizar el esquema sinérgico con rifampicina, imipenem y sulbactam para *A. baumannii*, arrojaron que el antibiótico con mayor sensibilidad in vitro fue imipenem con un 50%. Por otro lado, el menor porcentaje de sensibilidad se obtuvo con rifampicina, con un 30% de cepas sensibles. (Tabla 8)

**Tabla 8.** Sensibilidad in vitro de *A. baumannii* al esquema sinérgico con rifampicina, imipenem y sulbactam.

	<b>Rifampicina (%)</b>	<b>Imipenem (%)</b>	<b>Sulbactam (%)</b>
<b>Sensible</b>	12 (30)	<b>20 (50)</b>	19 (47.5)
<b>Intermedio</b>	10 (25)	5 (12.5)	6 (15)
<b>Resistente</b>	18(45)	15(37.5)	15 (37.5)
N: 40			
P= 0.3297			
Fuente: datos obtenidos por equipo investigador.			

#### 4.4 Comparación de la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al esquema RIS combinado vs. esquema no combinado.

#### 4.4.1 Comparación de la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* a esquema RIS combinado (sinérgico) vs. no combinado.

Al utilizar el test de ANOVA para comparar los resultados de sensibilidad de muestras de *P. aeruginosa* se mostró una mayor sensibilidad al utilizar el esquema combinado de antibióticos. En la Tabla 9 se muestran los porcentajes de sensibilidad a rifampicina, imipenem y sulbactam. Con el esquema combinado se demuestra un aumento superior al 10% en la sensibilidad a los 3 antimicrobianos, al compararse al esquema no combinado.

**Tabla 9.** Comparación de la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* a esquema RIS combinado vs. no combinado.

	<b>RIS combinado (% de muestras sensibles)</b>	<b>RIS no combinado (% de muestras sensibles)</b>
<b>Rifampicina</b>	14 (23.3)	6 (10)
<b>Imipenem</b>	37 (61.7)	31 (51.7)
<b>Sulbactam</b>	30 (50)	19 (31.7)
P = 0.0107		
Fuente: datos obtenidos por equipo investigador. Se muestran únicamente cepas sensibles.		

#### 4.4.2 Comparación de la sensibilidad in vitro de *A. baumannii* a esquema RIS combinado (sinérgico) vs. no combinado.

Utilizando el test de ANOVA se estableció un incremento estadísticamente significativo de la sensibilidad in vitro al utilizar el esquema combinado RIS en muestras de *A. baumannii*, en comparación con la sensibilidad in vitro encontrada para los mismos antimicrobianos evaluados individualmente (Tabla 10). El cambio más significativo fue la sensibilidad a rifampicina utilizado de manera individual (5%), que se vio aumentada seis veces al utilizarse en manera combinada con los otros antibióticos (30%).

**Tabla 10.** Comparación de la sensibilidad in vitro de *A. baumannii* al esquema RIS combinado vs. no combinado.

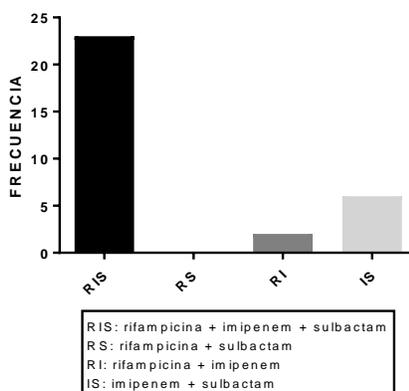
	RIS sinérgico (% de muestras sensibles)	RIS no sinérgico (% de muestras sensibles)
Rifampicina	12 (30)	2 (5)
Imipenem	20 (50)	11 (27.5)
Sulbactam	19 (47.5)	11 (27.5)
P= 0.0109		
Fuente: datos obtenidos por esquema investigador. Se muestran únicamente cepas sensibles.		

#### 4.5 Tipos de sinergismo obtenido en muestras de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* al utilizar el esquema combinado RIS in vitro.

##### 4.5.1 Tipos de sinergismo obtenidos en muestras de *P. aeruginosa* al utilizar el esquema combinado RIS in vitro.

Al analizar las muestras de *P. aeruginosa* mediante el método estandarizado para evaluar sinergia en bacterias gramnegativas, se obtuvo que, del total de 60 muestras, el 51.7% mostró algún tipo de sinergia entre los antibióticos propuestos. (Gráfica 1)

**Gráfica 1.** Tipos de sinergismo encontrados en muestras de *P. aeruginosa*.

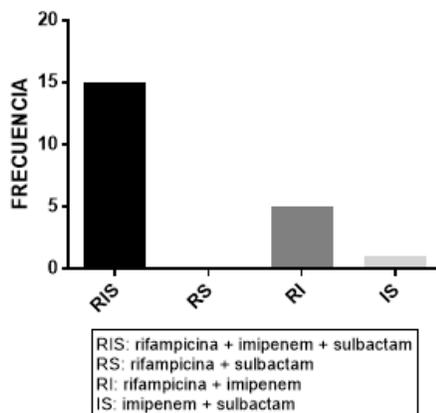


La sinergia formada por rifampicina, imipenem y sulbactam, se obtuvo en un 38.3% de las muestras analizadas, seguido por la combinación de imipenem y sulbactam, y rifampicina con imipenem, 10 y 3.4% de las muestras respectivamente. No se evidenció ningún resultado de sinergia formada por rifampicina y sulbactam.

#### 4.5.2 Tipos de sinergismo obtenidos en muestras de *A. baumannii* al utilizar el esquema combinado RIS in vitro.

Para las muestras de *A. baumannii* analizadas según el método estandarizado para evaluar sinergia en bacterias gramnegativas, el 52.5% presentó algún tipo de sinergia. (Gráfica 2)

Gráfica 2. Tipos de sinergia encontrados en muestras de *A. baumannii*



La sinergia formada por rifampicina, imipenem y sulbactam, se obtuvo en un 37.5% de las muestras analizadas, siendo el tipo más frecuentemente encontrado, seguido por la combinación de rifampicina con imipenem, e imipenem con rifampicina, encontradas en un 12.5 y 2.5% de las muestras respectivamente. No se evidenció ningún resultado de sinergia formada por rifampicina y sulbactam.

## **5. Discusión**

En el presente estudio se demostró que el tratamiento convencional recomendado para *P. aeruginosa* presenta una baja sensibilidad para fosfomicina (18.3%) y ceftazidima (30%), con altos porcentajes de resistencia (61.7 y 63.3% respectivamente). Por el contrario, se obtuvieron altas tasas de sensibilidad para las mismas muestras de *P. aeruginosa* al utilizar amikacina y piperacilina/tazobactam, con 75 y 50% respectivamente. Esto concuerda con los hallazgos obtenidos por Gamero et al, en el año 2007, quienes reportan similares perfiles de sensibilidad y resistencia para dichos antimicrobianos. (12) Además, la alta sensibilidad obtenida para amikacina es apoyada por la investigación de Guerrero et al, en donde se reporta una resistencia menor al 5% en cepas de *P. aeruginosa* intrahospitalarias al utilizar amikacina (2). Lo anterior sugiere que amikacina y piperacilina/tazobactam pueden seguirse utilizando para tratar infecciones por esta bacteria.

Para las muestras de *A. baumannii*, se obtuvo mayores porcentajes de sensibilidad con amikacina (37.5%) y piperacilina/tazobactam (27.5%). Hubo además porcentajes altos de resistencia, variando entre 47.5% con amikacina, y 82.5% con ceftazidima. Hallazgos que son apoyados por el estudio realizado por Hart et al, en 2010, donde se obtuvo una resistencia del 70% para amikacina, 92.5% para piperacilina/tazobactam, 82.5% para imipenem, y 100% para ceftazidima.(68)

Lo anterior evidencia que el tratamiento convencional establecido en normativas nacionales e internacionales para infecciones por *A. baumannii* presenta baja efectividad in vitro, probablemente debido a la gran cantidad de mutaciones y mecanismos de resistencia que estas bacterias son capaces de producir a lo largo del tiempo (26,38–41), por lo cual se reafirma la necesidad de buscarse nuevas opciones terapéuticas.

Al evaluar la sensibilidad in vitro de *P. aeruginosa* para rifampicina, imipenem y sulbactam utilizando cada medicamento de manera individual, se observó que rifampicina y sulbactam no son eficaces como monoterapia, con una resistencia del 78.3 y 53.3% respectivamente. Sin embargo, la sensibilidad para imipenem es del 51.7%, siendo el antimicrobiano que presentó mayor efectividad in vitro. En contraste, los hallazgos obtenidos por Gamero et. al para cepas de *P. aeruginosa* evidencian una sensibilidad del 98% al imipenem, lo cual evidencia una menor sensibilidad al imipenem en las cepas encontradas en el HNSR, que pueden deberse a la variabilidad geográfica de los patrones de resistencia, y la adquisición de mecanismos de resistencia. (12)

Por el contrario, en el caso de las muestras de *A. baumannii* se demostró que al utilizar rifampicina, imipenem y sulbactam en forma no combinada, se obtuvieron niveles muy bajos de sensibilidad, con porcentajes menores al 30%. Lo cual concuerda con los hallazgos obtenidos por Tellado et. al., que recomiendan el uso de carbapenémicos como medicamentos de primer escoge para el tratamiento de infecciones por bacterias gramnegativas multirresistentes, idealmente en combinación con otros antimicrobianos y no como monoterapia. (16,20,55)

Al utilizar el esquema RIS combinado para *P. aeruginosa* se evidencia un incremento en el porcentaje de sensibilidad de los tres antimicrobianos analizados (rifampicina 23.3%, imipenem 61.6% y sulbactam 50% de sensibilidad). De forma global, esto significa un aumento en por lo menos el 10% en la efectividad in vitro, al utilizar estos antimicrobianos de forma sinérgica. En el caso de *A. baumannii* se observó un incremento más marcado de la sensibilidad para los tres antimicrobianos (rifampicina 30%, imipenem 50% y sulbactam 47.5%), siendo rifampicina el antimicrobiano con el aumento más notable en su sensibilidad, la cual se vio incrementada en un 25%. Estos resultados son respaldados por estudios realizado por Tripodi et al., y por Tängden et al., cuyos estudios demuestran que el uso combinado de estos tres antibióticos potencia su actividad bactericida, incluso en cepas que son resistentes a carbapenémicos. (12,60,62) De igual forma, Song et al reportan una acción sinérgica entre imipenem y sulbactam, con efectividad contra la mayoría de cepas resistentes a carbapenémicos.

En el presente estudio también se analizaron los tipos de sinergismo obtenidos al utilizar el esquema combinado RIS. El principal tipo de sinergismo encontrado fue el conformado por los tres antimicrobianos (23 muestras de *P. aeruginosa* y 15 de *A. baumannii*). Los siguientes tipos de sinergismo predominantes fueron los obtenidos con imipenem y rifampicina, e imipenem y sulbactam. No se encontró ningún caso de sinergismo con rifampicina y sulbactam, lo que apoya los resultados de Song et al. sobre el uso de un carbapenémico como base del tratamiento antimicrobiano para bacterias gramnegativas multirresistentes en combinación con rifampicina y sulbactam, los cuales potencian su acción.(63)

## **5.1 Limitaciones del estudio**

La principal limitante encontrada por el equipo investigador fue la negación del permiso para revisar los expedientes clínicos de los pacientes infectados, así como la revisión de los reportes de los cultivos positivos, que hubieran permitido conocer previamente si las bacterias eran multidrogoresistentes, panresistentes, o si eran sensibles a la mayoría de antibióticos. Además, se hubiera podido conocer cuáles son los servicios en el Hospital Nacional San Rafael con mayor prevalencia de infecciones por *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, y establecer una correlación clínica con el estado de los pacientes y el grado de resistencia a antimicrobianos que presentaba la bacteria responsable de su infección.

Sin embargo, esta limitante permite dejar una puerta abierta a futuras investigaciones, que abonen al conocimiento de estas infecciones, no solo a nivel hospitalario, sino a nivel nacional.

## **6. Conclusiones**

El tratamiento convencional descrito en normativas nacionales e internacionales para infecciones causadas por *A. baumannii* demostró una baja efectividad in vitro para los cuatro antibióticos estudiados. Sin embargo, para el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*, únicamente amikacina y piperacilina/tazobactam mostraron una adecuada eficacia in vitro, por lo cual pueden considerarse como parte de la terapéutica en infecciones causadas por este microorganismo. Por otro lado, debido a las altas cifras de resistencia in vitro obtenidas con ceftazidima y fosfomicina para cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, su uso para el tratamiento de infecciones causadas por estas bacterias deberá ser sometido a más estudios.

El tratamiento no combinado con rifampicina, imipenem y sulbactam tuvo una baja eficacia in vitro, tanto para cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* por lo que no se recomienda el uso de estos antimicrobianos como monoterapia para infecciones producidas por estos agentes.

Al utilizar de forma sinérgica el esquema de rifampicina, imipenem y sulbactam se obtuvo un aumento significativo de la sensibilidad in vitro, por lo que su uso combinado debe ser considerado como una opción terapéutica para el tratamiento de infecciones causadas por *A. baumannii* y *P. aeruginosa*.

El imipenem en combinación con otros antimicrobianos continúa siendo el medicamento de elección para el tratamiento de infecciones por bacterias gramnegativas multirresistentes.

La alta variabilidad que se pudo observar en la sensibilidad de las muestras de *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, sugiere la existencia de múltiples cepas de dichas bacterias en el Hospital Nacional San Rafael.

El método de evaluación de sensibilidad in vitro podría ser de utilidad para pronosticar la respuesta clínica de paciente al esquema RIS combinada.

## **7. Recomendaciones**

Se recomienda actualizar de manera periódica, las normativas terapéuticas nacionales en base a los diferentes perfiles de sensibilidad mostrados por estas bacterias, reportados por los comités de infecciones nosocomiales de cada hospital, y depurar los antimicrobianos que ya no muestran eficacia contra estos microorganismos.

Además, se sugiere realizar más estudios de investigación a nivel nacional, que permitan evaluar el uso de la terapia RIS combinada para bacterias gramnegativas multirresistentes. Así mismo, se recomienda la realización de estudios que permitan la correlación clínica de la terapia RIS con el paciente, para tomar en cuenta las distintas variables que puedan afectar la efectividad in vivo del tratamiento propuesto.

Realizar estudios de identificación de las cepas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* presentes en el Hospital Nacional San Rafael, para diseñar estrategias terapéuticas dirigidas específicamente a cada cepa según su patrón de resistencia.

## **8. Referencias**

1. Hernández A, García E, Yagüe G, Gómez J. Acinetobacter baumannii multirresistente: situación clínica actual y nuevas perspectivas. Rev Esp Quimioterapia. 2010;23(1):12–9. Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/23/1/hernandez.pdf>
2. Diomedi A. Infecciones por Acinetobacter baumannii pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. Revista Chilena Infectología. 2005;22(4):298–320. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182005000600003](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182005000600003)
3. Guerrero C, Cesteros R, Miranda A, Menasalvas A, Blazquez R, Segovia M. Sensibilidad antimicrobiana de aislamientos clínicos de Pseudomonas aeruginosa en Murcia. Rev Esp Quimioterapia. el 4 de diciembre de 2003;16(4):444–9. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/16/4/444.pdf>
4. Cisneros J, Garnacho J, Pachón M. Neumonía nosocomial por Acinetobacter baumannii. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2005 [citado el 23 de marzo de 2016];23(3). Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-neumonia-nosocomial-por-acinetobacter-baumannii-S0213005X0575223X>
5. Gómez C, Leal A, Pérez M, Navarrete M. Mecanismos de resistencia en Pseudomonas aeruginosa: entendiendo a un peligroso enemigo. Rev Fac Med [Internet]. 2005 [citado el 23 de marzo de 2016];53(1). Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-00112005000100004](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112005000100004)
6. Castañeda J, Ordoñez J. La supervivencia de los gérmenes intrahospitalarios en superficies inanimadas. Rev Enf Inf Ped. 2014;27(107):394–6. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2014/eip141a.pdf>
7. Ministerio de Salud de El Salvador. Boletín Epidemiológico: Semana 33 del 2014. MINSAL [Internet]. [citado el 26 de agosto de 2016]; Disponible en: <http://www.salud.gob.sv/download/boletin-epidemiologico-semana-33-del-14-al-20-de-agosto-de-2016/>
8. Acevedo C, Villabón M, Ortíz K. Factores asociados a infección por Acinetobacter baumannii en Unidad de Cuidados Intensivos en Bogotá D.C. Universidad de Rosario, Bogotá, Colombia. 2011;1–56. Disponible en: <http://repository.urosario.edu.co/handle/10336/2671>
9. Dijshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug resistant Acinetobacter baumannii. Nat Rev Microbiol. 2007;5(12):939–51. Disponible en: <http://repository.urosario.edu.co/handle/10336/2671>

10. Driscoll J, Brody S, Kollef M. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*. 2007;67(3):351–68. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17335295>
11. Vincent J, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin C, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in Intensive Care Units. *JAMA*. 2009;302(21):2323–9.
12. Pachón M, Docobo F, López R, Domínguez J, Jiménez M, García A, et al. Efficacy of Rifampin and Its Combinatios with Imipenem, Sulbactam and Colistin in Experimental Models of Infection Caused by Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010;54:1165–72.
13. Gamero M, García A, Rodríguez F, Ibarra A, Casal M. Sensibilidad y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos. *Rev Esp Quimioterap*. 2007;20(2):230–3.
14. Nakae T, Saito K, Nakajima A. Effect of sulbactam on anti-Pseudomonal activity of beta-lactam antibiotics in cells producing various levels of the MexAB-OprM efflux pump and beta-lactamase. *Microbiol Immunol*. 2000;44(12):997–1001.
15. Tripodi M, Durante E, Fortunato R, Utili R, Sarrilli L. Comparative activities of colistin, rifampicin, imipenem and sulbactam/ampicillin alone or in combination against epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producen OXA-58 carbapenemases. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30(6):537–40.
16. Ministerio de Salud de El Salvador. Lineamientos técnicos para la prevención, vigilancia y contención de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos. MINSAL [Internet]. 2014 [citado el 2 de febrero de 2016]; Disponible en: [http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/lineamientos/lineamientos\\_tecnicos\\_resistencia\\_bacteriana\\_antimicrobianosv2.pdf](http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/lineamientos/lineamientos_tecnicos_resistencia_bacteriana_antimicrobianosv2.pdf)
17. Munera J, Ronancio G, Jiménez J. *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *Rev CES Med*. 2014;28(2):233–46.
18. Jiménez V. *Acinetobacter baumannii*: actualidades. *Rev Enf Inf Ped*. 2010;23(92):104–5.
19. Marcos M. *Acinetobacter baumannii*. Departamento de Microbiología y Parasitología, Hospital Clínico, Universidad de Barcelona. :1–4.

20. Aguirre-Ávalos G, Mijangos-Méndez J, Zavala-Silva M, Coronado-Magaña H, Amaya-Tapia G. Bacteriemia por *Acinetobacter baumannii* en pacientes en estado crítico. *Gac Med Méx.* 2009;145(1):21–5.
21. Bou G, Fernández A, García C, Saez J, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29(8):601–8.
22. Bouvet J, Grimont A. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recombination of *A. baumannii* sp. nov., *A. haemolyticus* sp. nov., *A. johnsonii* sp. nov., *A. junii* sp. nov. and Emended descriptions of *A. calcoaceticus* and *A. lwoffii*. *International Journal of Systematic Bacteriology.* 1986;36(2):228–40.
23. Lebeque Y, Morris H, Calas N. Infecciones nosocomiales: Incidencia de la *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Cub Med [Internet].* 2006 [citado el 15 de abril de 2016];45(1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232006000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232006000100005)
24. Luján D. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2014;48(4):465–74.
25. Ruíz L. *Pseudomonas aeruginosa*: aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. Tesis Doctoral Universitat de Barcelona [Internet]. 2007 [citado el 5 de mayo de 2016]; Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/2521>
26. Martínez P, Mattar S. Mutación del gen *gyrA* de aislamientos hospitalarios de *Acinetobacter baumannii* en Montería, Colombia. *Infectio.* 2010;14(2):97–104.
27. Antunes L, Visca P, Tower K. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog Dis.* 2014;71(3):292–301.
28. Fournier P, Richet H. Epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in Health care facilities. *Clin Infect Dis.* 2006;42(5):692–9.
29. Peleg A, Seifert H, Patelson D. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(3):538–82.
30. Morales J, Andrade J. Factores asociados a la mortalidad y patrones de susceptibilidad antibiótica en bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*. *Bol Med Hosp Inf Mex.* 2006;63(5):291–300.
31. García-Garmendia J, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez F, Pérez-Paredes C, Barrero-Almodóvar A, et al. Risk factors for

- Acinetobacter baumannii nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. *Clin Infect Dis*. 2001;33(7):939–46.
32. Álvarez-Lerma F, Pavesi M, Calizaya M, Valles J, Palomar M. Factores de riesgo y factores pronósticos de las bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes ingresados en servicios de cuidados intensivos. *Med Clin (Barc)*. 2001;117(19):721–6.
  33. Lee S, Kim N, Choi S, Hyong Kim T, Chung J, Woo J, et al. Risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: a case-control study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(3):224–8.
  34. Ossa-Giraldo A, Echeverri-Toro M, Santos Z, García M, Aguledo Y, Ramírez F, et al. Factores de riesgo para infección por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente en un hospital de alta complejidad. *Rev Chil Infectol*. 2014;31(4):39–399.
  35. Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, Giauffret F, Ninin E, Richet H. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med*. 1998;129(3):182–9.
  36. Corbella X, Montero A, Pujol M, Domínguez M, Ayats J, Argerich M, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2000;38(11):4086–95.
  37. Ruvinsky S, Fiorilli G, Pérez G, Motto E, Cambaceres C, Mannino L, et al. Factores de riesgo para la adquisición y características microbiológicas de las bacteriemias por *Acinetobacter baumannii* multi-resistente en pediatría. Estudio de casos y controles. *Rev Chil Infectol*. 2015;32(1):19–24.
  38. Tafur J, Torres J, Villegas M. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*. 2008;12(3):217–26.
  39. Opazo A, Mella S, Domínguez M, Bello H, González G. Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. *Rev Chil Infectol*. 2009;26(6):499–503.
  40. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59(6):1210–5.
  41. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(9):826–36.
  42. Pérez F, Hujer A, Hujer K, Decker B, Rather P, Bonomo R. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(10):3471–84.

43. Gordon N, Wareham D. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;35(3):219–26.
44. Luo L, Wu L, Xiao Y, Zhao D, Chen Z, Kang M, et al. Enhancing pili assembly and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* ATCC19606 using non-native acyl-homoserine lactones. *BMC Microbiology* [Internet]. 2015 [citado el 22 de febrero de 2016];15(62). Disponible en: <http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-015-0397-5>
45. Braun G, Vidotto M. Evaluation of adherence, hemagglutination, and presence of genes codifying for virulence factors of *Acinetobacter baumannii* causing urinary tract infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(8):839–44.
46. Guiguère D. Surface polysaccharides from *Acinetobacter baumannii*: structures and syntheses. *Carbohydr Res*. 2015;418:29–43.
47. Erridge C, Moncayo-Nieto O, Morgan R, Young M, Poxton I. *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharides are potent stimulators of human monocyte activation via Toll-like receptor 4 signalling. *J Med Microbiol*. 2007;56(2):165–71.
48. Casellas J. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Panam Salud Publica*. 2011;30(6):519–28.
49. Cisneros J, Rodríguez-Baño J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8(11):687–93.
50. Montero A. Problemática clínica de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* multirresistente: aplicación de un modelo de neumonía experimental en el ratón. Tesis Doctoral Universitat de Barcelona [Internet]. [citado el 6 de febrero de 2016]; Disponible en: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/36536>
51. Valderrama A, Olarte N, Reyes R, Lemos E. Guía para un ambiente quirúrgico seguro, en prevención de infecciones del sitio operatorio. Hospital El Tunal E.S.E. 2006. Hospital El Tunal [Internet]. 2006 [citado el 18 de marzo de 2016]; Disponible en: <http://www.vigepi.com.co/educacion/documentos/4.pdf>
52. Kerr K, Snelling A. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *J Hosp Infect*. 2009;73(4):338–44.
53. Vallés J, Mariscal D. Neumonía por *Pseudomonas aeruginosa*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(3):30–6.

54. Gómez J, Alcántara M, Simarro E, Martínez B, Ruíz J, Guerra B, et al. Bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiología, clínica y tratamiento. Estudio prospectivo de siete años. *Rev Esp Quimioterapia*. 2002;15(4):360–5.
55. Tellado J, Sitges-Serra A, Palomar M, Serrano R, Barberán M, Moya M, et al. Pautas de tratamiento antibiótico empírico en infecciones intraabdominales. *Rev Esp Quimioterapia*. 2005;18(2):179–86.
56. Micek S, Lloyd A, Ritchie D, Reichley R, Fraser V, Kollef M. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(4):1306–11.
57. Michalopoulos A, Falagas M. Treatment of *Acinetobacter* infections. *Expert Opin Pharmacother*. 2010;11(5):779–88.
58. Neonakis I, Spandidos D, Petinaki E. Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37(2):102–9.
59. Rodríguez-Hernández M, Cuberos L, Pichardo C, Caballero F, Moreno I, Jiménez-Mejías M, et al. Sulbactam efficacy in experimental models caused by susceptible and intermediate *Acinetobacter baumannii* strains. *J Antimicrob Chemother*. 2001;47(4):479–82.
60. Saballs M, Pujol M, Tubau F, Peña C, Montero A, Domínguez M, et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(3):697–700.
61. Aoki N, Tateda K, Kikuchi Y, Kimura S, Miyazaki C, Ishii Y, et al. Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(3):534–42.
62. Tängden T. Combination antibiotic therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Ups J Med Sci*. 2014;119(2):149–53.
63. Song J, Kee S, Hwang I, Seo Y, Jeong H, Kim W, et al. In vitro activities of carbapenem/sulbactam combination, colistin, colistin/rifampicin combination and tigecycline against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(2):317–22.
64. Montero A, Ariza J, Corbella X, Dómenech A, Cabellos C, Ayats J, et al. Antibiotic combinations for serious infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a mouse pneumonia model. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54(6):1085–91.

65. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Ministerio de Salud del Perú. Instituto Nacional de Salud; 2002 [citado el 20 de junio de 2016]. Disponible en: [http://190.102.152.73/repositorioaps/0/4/jer/1/manua\\_l%20sensibilidad.pdf](http://190.102.152.73/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf)
66. Modi D, Patel D, Patel S, Jain M, Bhatt S, Vegad M. Comparison of various methods for the detection of Extended Spectrum Beta Lactamase in *Klebsiella pneumoniae* isolated from Neonatal Intensive Care Unit, Ahmedabad. *Natl J Med Res.* 2012;2(3):348–53.
67. Giriapur R, Nandihal N, Krishna B, Patil A, Chandrasekhar M. Comparison of disc diffusion methods for the detection of Extended Spectrum Beta Lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Lab Physicians.* 2011;3(1):33–6.
68. Hart M, Espinosa F, Halley M, Martínez M, Montes Z. Resistencia a antibióticos en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de enero a marzo del 2010 en el Hospital Clínicoquirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. *Rev Cub Med.* 2010;49(2):218–27.

## **9. Anexos**

### **9.1 Presupuesto**

#### Insumos:

- Asas bacteriológicas descartables, caja por 100 unidades: \$8.31
- Aplicadores de madera con Algodón (Hisopos), caja por 100 unidades: \$3.34
- Cajas de Petri descartables, 200 unidades: \$28.00
- Tabla de Lectura de NCCLS
- Guantes Talla "M", caja por 100 unidades: \$8.65
- Mascarillas N95, caja por 20 unidades: \$13.95
- Lápiz Graso, 1 unidad: \$1.83
- Regla Milimetrada, 1 unidad: \$1.00
- Formularios Registro de Información
- Mechero de Bunsen
- Hipoclorito de sodio al 10%

#### Materiales de vidrio:

- Tubos de Vidrio tapón de rosca 16 X 125mm, caja por 10 unidades: \$7.33
- Tubos de Vidrio tapón de rosca 16 X 125mm con turbidez de 0.5 en la Escala McFarland.
- Frascos con Solución Salina Fisiológica Esteril, 1 unidad: \$2.56
- Beaker 500ml: \$20.00

#### Medios de cultivo:

- Medios de transporte Stuart, frasco 500g: \$126.34
- Caldo Trypticase Soya, frasco 500g: \$112.90
- Agar Mueller – Hinton, frasco 500g: \$138.95
- Agar Trypticase Soya, frasco 500g: \$127.60

#### Discos de sensibilidad antimicrobiana

- Vial con 50 discos impregnados con Sulbactam 10mcg: \$3.90
- Vial con 50 discos impregnados con Amikacina 30mcg: \$3.90

- Vial con 50 discos impregnados con Ceftazidima 30mcg: \$3.90
- Vial con 50 discos impregnados con Imipenem 10mcg: \$3.90
- Vial con 50 discos impregnados con Rifampicina 5mcg: \$3.90
- Vial con 50 discos impregnados con Fosfomicina 50mcg: \$3.90
- Vial con 50 discos impregnados con Piperacilina/Tazobactam 100/10mcg: \$3.90

Equipo:

- Balanza.
- Refrigeradora.
- Estufa Bacteriológica.
- Autoclave.
- Hot plate.

## 9.2 Tabla de interpretación de halo de inhibición de crecimiento bacteriano (mm) NCCLS.

Antibiótico	Resistente	Intermedio	Susceptible
Amikacina	≤14	15-16	≥17
Ampicilina-sulbactam	≤11	12-14	≥15
Ceftazidima	≤14	15-17	≥18
Imipenem	≤13	14-15	≥16
Rifampicina	≤16	17-19	≥20
Fosfomicina	≤12	13-15	≥16
Piperacilina/Tazobactam A. baumannii	≤17	18-20	≥21
Piperacilina/Tazobactam P. aeruginosa	≤17	----	≥18

**Procedimientos en Microbiología Clínica.** Editor: Juan J Picaso. Métodos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos



## 9.4 Carta de aceptación de tesis por comité de ética de HNSR.



Santa Tecla, 30 de enero de 2017.

A quien interese:

Por medio de la presente se autoriza a los integrantes del grupo investigador del trabajo **Efectividad in vitro de Rifampicina, Imipenem y Sulbactam en comparación con la antibioticoterapia convencional en infecciones por *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Nacional San Rafael** a realizar dicho estudio.

Rodrigo Edgardo Martínez Mejía  
Marta Corina Menjivar Guadrón  
Armyda Montoya Novoa

Siendo esta una que llena todo los requisitos que demanda el Comité, se concluye la revisión, quedando aprobado el protocolo para que inicie la investigación.

Atentamente,

Dr. Manuel Enrique Bello

Presidente Comité de Ética de la Investigación

Dr. Manuel Enrique Bello Quezada  
DOCTOR EN MEDICINA  
J.V.P.M. No. 6899