INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI"

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA

TÍTULO: PSEUDOMONAS AERUGINOSA, RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS ENTRE LOS AÑOS 2015-2017 EN EL HOSPITAL CLÍNICO QUIRÚRGICO HERMANOS AMEIJEIRAS.

TRABAJO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE

MÉDICO ESPECIALISTA DE PRIMER GRADO EN MICROBIOLOGÍA

Autora: Dra. Mayurisleyvi Navarro Madrigal

Tutora: Dra. Marcia Hart Cáceres, MrC.

Asesoras: Dra. María Luisa Martínez Batista, MrC.

Dra. Dianelys Quiñones, DrC

La Habana, 2018

Ministerio de Salud Pública

Instituto de Medicina Tropical

"Pedro Kouri"

Pseudomonas aeruginosa, resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos de pacientes hospitalizados entre los años 2015-2017 en el Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras.

Autora: Dra. Mayurisleyvi Navarro Madrigal

Tutor: Dra. Marcia Hart Caseres, MrC.

Asesor: Dra. María Luisa Martínez Batista, MrC.

Dra. Dianelys Quiñones, DrC.

Trabajo para optar por el Título de Especialista de primer grado en Microbiología

La Habana, 2018

PENSAMIENTO

Resolver el problema después de conocer sus elementos, es más fácil que resolver el problema sin conocerlos. [...] Conocer es resolver

José Martí.

DEDICATORIA

DEDICATORIA:

A mis hijos, por todo el sacrificio que un día podrán comprender

A mi esposo, por su dedicación

A mi madre, por su amor infinito

A quienes tanto me han apoyado en el empeño de graduarme en una especialidad, los que tanto quiero y respeto por esa concepción del mundo que me dieron, por infundirme esa fuerza para vencer las dificultades, por la confianza que en mi depositaron.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS:

Escribir este acápite resulta igual o más difícil que la propia realización de esta obra, y es que, llegado este momento, no quisiéramos que nadie de los que de una forma u otra contribuyeron a su culminación quedara fuera de sus bien merecidos agradecimientos y es que Gracias es una palabra pequeña, pero encierra un significado enorme.

Por este motivo agradezco a todos los que de una forma u otra contribuyeron al término de esta investigación.

A mi tutora Dra. Marcia Hart por abrirme las puertas del laboratorio y acogerme como un miembro más de la gran familia que representa el colectivo del Laboratorio de Microbiología del Hospital Hermanos Ameijeiras. Por confiar en mí y enseñarme a dar los primeros pasos en la investigación, por sus consejos y dedicación.

A mis compañeros de residencia, en especial a mis amigas Yipsi y Arlenis por siempre estar ahí en los buenos y malos momentos.

A todos los compañeros del laboratorio de Microbiología del Hospital Ameijeiras, por su ayuda incondicional y apoyo emocional cuando creí que todo era más difícil.

A todos mis profesores, gracias por sus enseñanzas.

A Lázaro de dibujo, mi segundo padre, por su cariño y paciencia.

Agradezco a mi familia por su apoyo, dedicación y desvelo y por no dejarme vencer en los momentos más difíciles de toda mi vida.

A todos, mis respetos y muchas gracias.

RESUMEN

Introducción: Dado el incremento de resistencia bacteriana a *Pseudomonas aeruginosa (Ps. aeruginosa)*; los estudios de susceptibilidad antimicrobiana de este agente patógeno resultan esenciales para determinar la opción terapéutica más efectiva de respuesta al tratamiento *in vivo.* **Objetivo:** Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *Ps. aeruginosa* en pacientes hospitalizados en el Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras en un período de 3 años. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo. De la totalidad de cepas aisladas de *Ps. aeruginosa*; 415 fueron viales. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana por el método automatizado Vitek 2 compact y la presencia de carbapenemasas a las cepas multidrogorresistentes. **Resultados:** Las cepas aisladas provenían en su mayoría del servicio de atención al paciente grave (UCI) (41.9 %), principalmente de muestras de sangre (25.7%) y secreciones endotraqueales (24.3 %). La piperacilina/Tazobactam tuvo el porcentaje más alto de resistencia, pero la colistina mostró la mayor sensibilidad a la *Ps. aeruginosa*. En los 3 años de estudio, la piperacilina/Tazobactam, ceftazidima, cefepime y Ciprofloxacina tuvieron aumento de resistencia a la *Ps. aeruginosa*. El cefepime presentó alta resistencia e intermedia para las cepas de *Ps. aeruginosa,* pero el meropenem tuvo baja resistencia en estos 3 años. Solo el 32% de estas cepas fueron multidrogorresistentes, las que el 60.4% tenían un mecanismo de resistencia carbapenemasa tipo metalobetalactamasa. **Conclusiones:** La colistina puede ser la mejor opción terapéutica en infecciones por *Ps. aeruginosa.* Sin embargo, es necesario enfatizar en las medidas de prevención y control en la UCI para evitar la diseminación de estas bacterias.

ÌNDICE

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS 4

MARCO TEÓRICO 5

Generalidades 6

Diagnóstico de laboratorio 8

Factores de virulencia 9

Epidemiología 11

Resistencia a los antibióticos 12

MATERIALES Y MÉTODOS 21

Diseño de estudio 21

Universo y Muestra 21

Operacionalización de las variables 22

Procedimientos 23

Análisis y procesamiento estadístico 26

Consideraciones éticas 27

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 28

CONCLUSIONES 444

RECOMENDACIONES 455

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 466

ANEXOS 587

INTRODUCCIÓN

A mediados del siglo XX, con el descubrimiento de la penicilina, se pensaba que las enfermedades infecciosas disminuirían su incidencia y dejarían de ser un problema grave para la salud del hombre. Sin embargo, la realidad se encargó de mostrar que la lucha contra los microorganismos causantes de enfermedades estaba lejos de ser ganada y que, con el vaivén dialéctico de la relación entre el ser humano y los microorganismos, estos nos iban a dar nuevas sorpresas. Si bien es cierto que el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming ha permitido salvar millones de vidas en todo el mundo, también implicó el inicio de un gigantesco experimento de intervención genética en los seres vivos más abundantes del planeta: las bacterias, desarrollándose una verdadera supervivencia de las especies más aptas, es decir, las especies resistentes (Wilson,1998).

La resistencia bacteriana es simplemente, un poder de adaptación y supervivencia de las bacterias. El incremento de este parámetro, a nivel internacional y la mayor frecuencia de aparición de cepas multidrogorresistentes (MDR), convierten a este fenómeno en uno de los mayores retos para las unidades asistenciales de la salud pública (Villa *et al.,*2013). Sumado a ello, muchas compañías farmacéuticas han variado sus prioridades de investigación, las cuales se han enfocado al desarrollo de medicamentos para la atención de enfermedades crónico-degenerativas; lo que ha generado una producción limitada de nuevos antimicrobianos en las últimas dos décadas (Jimenez-Guerra *et al.,*2018).

Las infecciones nosocomiales producidas por microorganismos MDR se encuentran entre las infecciones emergentes y constituyen uno de los

problemas de salud más importantes a resolver en los próximos años, ya que se asocian a fracasos terapéuticos, mayores índices de estadía hospitalaria, mayores costos y tasas de mortalidad (Villa *et al.,*2013).

Los bacilos gramnegativos no fermentadores son uno de los grupos de bacterias que más se relacionan con la resistencia a múltiples antibióticos. La *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*) es el patógeno más importante dentro del género *Pseudomonas* teniendo en cuenta la cantidad y tipos de infecciones (invasivas y toxígenas) que produce, así como la morbilidad y mortalidad que ocasiona (Ochoa *et al.,* 2013; Luján, 2014).

A partir de la década del 60 se incrementó el interés médico por *Ps. aeruginosa,* al convertirse en uno de los principales agentes causales de enfermedades adquiridas en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Dantas *et al.,*2014; Ali *et al.,*2015). Ellas cuentan con varios mecanismos capaces de producir resistencia natural o adquirida contra un número importante de antimicrobianos (Ali *et al.,*2015), el de mayor importancia son las bombas de expulsión, a las cuales se le ha adjudicado ser las causantes de la emergencia de la MDR en estas cepas (Montero,2012; Doria *et al.,* 2013), incluyendo la resistencia a los carbapenémicos, los cuales causan grandes brotes intrahospitalarias (Cacci *et al,.*2016).

Los estudios de susceptibilidad antimicrobiana son esenciales para determinar la opción terapéutica más efectiva de respuesta al tratamiento *in vivo*, así como establecer estadísticamente el porcentaje de resistencia o sensibilidad frente a determinados antibióticos. En la actualidad se le concede una mayor importancia ya que, si el patrón de resistencia o perfil fenotípico del microorganismo expresado en un antibiograma se analiza con profundidad,

permite inferir cuales son los mecanismos de resistencia subyacentes. Teniendo en cuenta que cada patrón de resistencia como expresión fenotípica, es el producto de la dotación genética presente en el microorganismo, ya sea codificada cromosómicamente o no; se pueden seleccionar los antibióticos adecuados para el desarrollo de una terapéutica efectiva en cada caso. A esta novedosa forma de utilizar con mayor productividad la información que ofrece el antibiograma se le denomina lectura interpretada del antibiograma (Gómez *et al.,* 2005).

La situación en Cuba, en cuanto a la MDR en *Ps. aeruginosa,* no es diferente a la situación internacional descrita (García, 2012), se impone la necesidad de caracterizar este fenómeno y por ello surge la necesidad de estudiar e identificar cepas de este microorganismo en muestras de pacientes ingresados en una de las instituciones más complejas del país, el Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras (HCQHA).

En este trabajo, se realizó el estudio microbiológico a cada muestra, se identificaron las cepas de *Ps. aeruginosa* y se determinaron sus mecanismos de resistencia y detección fenotípico de mecanismos de resistencia a carbapenémicos. De este modo, se brinda un importante aporte a la batalla que desarrolla la comunidad científica en aras de disminuir el flagelo, cada vez más creciente de la resistencia a los antimicrobianos.

OBJETIVOS

General:

Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *Ps. aeruginosa* en pacientes hospitalizados en el HCQHA en un período de 3 años.

Específicos:

1. Describir el origen clínico y procedencia por servicios de atención de salud de las cepas de *Ps. aeruginosa* identificadas.
2. Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *Ps. aeruginosa* en aislamientos clínicos durante 3 años.
3. Comparar en un período de 3 años las variaciones en la resistencia a las principales drogas antimicrobianas utilizadas en infecciones por *Ps. aeruginosa*.
4. Identificar las cepas MDR y los mecanismos fenotípicos de resistencia de estas cepas que tienen carbapenemasas tipo A y B.

MARCO TEÓRICO

En diciembre 11, 1945, Alexander Fleming en su lectura del premio nobel, entre líneas señaló las primeras alarmas acerca de la resistencia antibiótica. Este extracto tomado de dicha lectura ejemplifica tal distinción que al sol de hoy enmarca una preocupación global y una amenaza a la especie humana.

Desde el justo momento de la llamada *The golden era of antibiotic Discovery*, en los años de 1930 - 1960, los avances en la ciencia no han sido capaces de seguir el ritmo de la capacidad de muchos patógenos para desarrollar resistencia a los antibióticos. Es por ello, que esa primera alarma de amenaza de nuestra especie hoy día es una realidad palpable y que apenas hace pocos años hizo coincidir esfuerzos mundiales para su control como aquel instinto primitivo reconocido de “preservación de la especie animal”.

En la última década, varias organizaciones clave, incluyendo *The Infectious Diseases Society of America, The Centers for Disease Control and Prevention, The World Health Organization* (WHO), y *The World Economic Forum*, han hecho de la resistencia a antibióticos un tema de vital importancia en informes de alta visibilidad, conferencias y acciones (Cabrera *et al.,*2014) .

Junto a la resistencia bacteriana, las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) se han considerado como un problema de interés en salud pública dado al alto impacto en la morbimortalidad, aumento de la estancia hospitalaria y a su vez el aumento de los costos derivados de la prestación de los servicios de salud (Carrasco.,2018).

Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) muestran que más de 1,4 millones de personas en el mundo contraen infecciones intrahospitalarias. Entre el 5 y 10% de los pacientes que ingresan a los hospitales de países

desarrollados contraerán una o más infecciones y en países en desarrollo el riesgo de adquirir una infección asociada a la atención hospitalaria es 2 a 20 veces mayor que en los países desarrollados (Fragozo *et al.,* 2016; De Gante-Martínez ,.2011).

En el caso puntual de *Ps. aeruginosa* existe una compleja relación entre las infecciones asociadas a la atención sanitaria, la MDR y la morbimortalidad (Mendes *et al.,* 2016); por lo que es reconocido como principal causa de infecciones asociadas a cuidados de la salud. Debido a su naturaleza ubicua y potencial virulencia, *Ps. aeruginosa* es un patógeno desafiante a controlar en escenario de cuidados de la salud.

Históricamente las primeras descripciones de infecciones por *Ps. aeruginosa* en la literatura datan de 1800, cuando los médicos comenzaron a informar acerca de una “condición” que causaba coloración azul-verdosa de los vendajes y se asociaba con un olor “peculiar”. La coloración fue caracterizada inicialmente por Fordos en 1869, quien extrajo el pigmento azul cristalino denominado piocianina. Sin embargo, a pesar de que el conocimiento de esta especie está lleno de hechos históricos peculiares, con algunos científicamente anecdóticos sin duda alguna, el tópico más fascinante en el estudio de *Pseudomonas* es descubrir los medios que brindan su capacidad adaptativa, lo cual se refleja en su versátil capacidad metabólica y amplio potencial de supervivencia en condiciones ambientales fluctuantes (Fragozo *et al.,*2016).

Generalidades

El género *Pseudomonas* pertenece a la familia *Pseudomonaceae,* la cual está integrada por una variedad de especies que habitan en el suelo y las aguas estancadas, algunas forman parte de la flora residente del intestino de varias

especies de animales y del hombre. Son de vida libre, se encuentran en materiales orgánicos en descomposición y tienen un importante papel en la degradación de dicho material. Ciertas especies son patógenas para el hombre. Son bacilos gramnegativos, aerobios, no fermentadores, no esporulados y móviles. Algunos poseen micro cápsulas y pigmentos solubles en agua. (Estepa.,2014).

Las sencillas necesidades de crecimiento y la versatilidad nutricional de *Pseudomonas* hacen posible su amplia distribución ambiental. Son capaces de utilizar un gran número de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y de nitrógeno y algunas cepas crecen incluso en agua destilada al degradar los restos de los nutrientes. Las especies de *Pseudomonas* poseen muchos factores estructurales, enzimas y toxinas que aumentan su virulencia, a la vez que las hacen resistentes a los antibióticos utilizados con mayor frecuencia. (Fragozo *et al., 2016*)

Las infecciones por *Pseudomonas* son fundamentalmente oportunistas, se presentan cuando los mecanismos de defensa del hospedero están alterados, suprimidos o comprometidos, siendo necesaria la presencia de factores predisponentes para que ocurra la infección. Esta característica destaca la importancia de la capacidad del anfitrión para prevenir la colonización y evitar una posterior invasión por *Pseudomonas* (Llop *et al*.,2001).

En la mayoría de los casos, la infección comienza con alguna alteración de los mecanismos de defensa del huésped, esto puede involucrar la ruptura de las barreras físicas como: en el caso del empleo de catéteres urinarios y/o intravenosos, quemaduras extensas de la piel o tubos endotraqueales, que facilitan la colonización bacteriana. Hay otras situaciones específicas del

huésped que comprometen los mecanismos de defensa específicos, tales como la neutropenia, inmunosupresión iatrogénica o adquirida y las patologías que cursan con deterioro del sistema inmunológico como: cáncer, desnutrición y diabetes; que también son factores de riesgo para la infección (Pollack, 2002). La estancia hospitalaria prolongada, especialmente en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) y la presión de selección de los antibióticos son factores importantes que favorecen la aparición de cepas MDR (Montero, 2012; Mena *et al.,*2016).

Diagnóstico de laboratorio

Debido a que las cepas de *Ps. aeruginosa* poseen requerimientos nutricionales sencillos, pueden crecer fácilmente en los medios comunes de aislamiento, como el agar *Mac- Conkey*, y en condiciones de incubación aerobias.

La morfología de las colonias (tamaño de la colonia, actividad hemolítica, pigmentación, olor) y los resultados de una selección de pruebas bioquímicas rápidas (reacción positiva de la oxidasa) bastan para la identificación preliminar de las cepas de *Ps. aeruginosa.* Dichas cepas crecen rápidamente y forman colonias planas con bordes que se van extendiendo, producen beta hemólisis, conjuntamente con un pigmento verde (pioverdina), azul (piocianina) y en algunos casos, rojo oscuro (piorrubina) o negro (piomelanina); además de un olor característico semejante al de las uvas, debido a la producción de 2-aminocetofenona ellas pueden tolerar un amplio intervalo de temperaturas (10-42 $^{\circ}$C).

Factores de virulencia

Las cepas de *Ps. aeruginosa* tienen muchos factores de virulencia, entre los que se encuentran componentes estructurales, toxinas y enzimas, sin embargo, es difícil definir el papel que cada factor desempeña en la enfermedad, por lo que, la mayoría de los expertos en este campo cree que su virulencia es multifactorial. Brevemente se describen algunas características que poseen para producir enfermedad.

- **Pilis**

La adherencia de *Ps. aeruginosa* a las células del organismo esta mediada por los *pili* que desempeñan una importante función en la unión a las células epiteliales, los mismos, producen neuraminidasa que elimina los residuos de ácido siálico del receptor de los *pili*, aumentando la adherencia de las bacterias a las células epiteliales.

- **Cápsula de polisacáridos**

La cápsula de polisacáridos (conocida también como exopolisacárido mucoide) cubierta de alginato o glucocálix, favorece la unión de las bacterias a las células epiteliales y a la mucina traqueobronquial, protegiendo también al microorganismo frente a la fagocitosis y la actividad de antibióticos, como los Aminoglucósidos. La producción de este polisacárido mucoide está sometida a una compleja regulación, los genes que controlan la producción del polisacárido alginato pueden ser activados en algunos pacientes, como los aquejados de fibrosis quística u otras enfermedades respiratorias crónicas; los cuales están predispuestos a la colonización, a largo plazo, por las cepas mucoides de *Ps. Aeruginosa,* las cuales pueden transformarse en un fenotipo no mucoide cuando se cultivan en condiciones *in vitro.*

- **Endotoxina**

La endotoxina es un antígeno fundamental de la pared celular de la *Ps. aeruginosa.* El lípido A, componente de la endotoxina, participa en varios de los efectos bilógicos de la septicemia.

- **Piocianina**

El pigmento azul sintetizado por *Ps. aeruginosa,* la piocianina, cataliza la producción de superóxido y de peróxido de hidrógeno, formas tóxicas del oxígeno. En presencia de pioquelina (un sideróforo que se une al hierro) se genera el radical hidroxilo de mayor toxicidad, el cual puede ocasionar daños tisulares. Este pigmento estimula también la liberación de interleucina-8 (IL-8), que incrementa la quimiotaxis de los neutrófilos.

- **Exotoxina A**

Se cree que la exotoxina A es uno de los factores de virulencia más importantes producidos por las cepas patógenas de *Ps. aeruginosa*. Esta toxina altera la síntesis de las proteínas, al inhibir la elongación de la cadena peptídica en las células eucariotas de un modo semejante a la toxina diftérica producida por *Corynebacterium diphteriae, s*in embargo, las exotoxinas producidas por estos dos microorganismos son estructural e inmunológicamente diferentes y la exotoxina A siendo menos potente que la toxina diftérica. La exotoxina A, probablemente, participa en la dermatonecrosis que tiene lugar en las quemaduras, en el daño corneal en las infecciones oculares y en el daño tisular en las infecciones pulmonares crónicas. La toxina posee, igualmente, actividad inmunodepresora.

- **Elastasas**

Existen dos enzimas, Las A (serina proteasa) y Las B (metaloproteasa de zinc), que actúan de manera sinérgica para degradar la elastina, lo que ocasiona daños en los tejidos que la contienen y en el parénquima pulmonar; así como lesiones hemorrágicas (ectima gangrenoso) que se asocian a las infecciones diseminadas por esta especie.

Estas enzimas degradan también los componentes del complemento e inhiben la quimiotaxis y la función de los neutrófilos, provocando una mayor diseminación y daño tisular en las infecciones agudas.

- **Proteasa alcalina**

Participa en la destrucción tisular y en la diseminación de *Ps. aeruginosa,* al igual que las elastasas. También interfiere en la respuesta inmunitaria.

- **Fosfolipasa C**

Es una hemolisina termolábil que degrada los lípidos y la lecitina, de modo que facilita la destrucción tisular. No está claro el papel exacto de esta enzima en las infecciones respiratorias y urinarias.

- **Ramnolípido**

Es una hemolisina termoestable que altera los tejidos que contienen lecitina. Esta hemolisina se relaciona también con la inhibición de la actividad ciliar del aparato respiratorio (Murray *et al*.,2007; Jawest *et al.,*2011).

Epidemiología

La *Ps. aeruginosa* tiene distribución mundial y es principalmente un microorganismo patógeno intrahospitalario.

La infección puede provenir de fuentes endógenas y exógenas, debiendo existir factores predisponentes como la inmunosupresión, cateterismo, quemaduras,

etc. Presenta un período de incubación de 2 días a 6 meses, sobre todo, en pacientes con fibrosis quística, en los cuales puede aparecer como colonizante durante largos períodos.

La mortalidad de la bacteriemia por *Ps. aeruginosa* es de 20-39% (Pena *et al.,*2015; Paulsson *et al.,* 2017). En la neumonía asociada a ventilación mecánica (VAP) la mortalidad es aún mayor, alcanzando el 44% (Micek *et al.,*2015).

Los métodos de control de la infección son similares a los de otros patógenos intrahospitalarios. Puesto que se reproducen en medios húmedos, debe prestarse especial atención a los lavabos, calentadores de agua y otras zonas húmedas y superficies inanimadas (Llop *et al.,*2001; Murray *et al.,*2007).

Resistencia a los antibióticos

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por la capacidad natural o adquirida de una cepa bacteriana a permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antimicrobiano.

El uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental, realizada por los antisépticos y desinfectantes, ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos que los capacita para evadir eficazmente la acción bactericida de los antimicrobianos (Gastelo-Acosta et al. 2016).

La *Ps. Aeruginosa* presenta resistencia natural a muchos antimicrobianos (la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas de 1ra, 2da y muchas de 3ra generación, tetraciclinas, Cloranfenicol, Clotrimoxazol y Rifampicina).

La resistencia adquirida está dada fundamentalmente por mutaciones y la obtención de material genético (Espinosa, 2007). Esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales

de impermeabilidad y a varios sistemas de expulsión activa. Otro factor preocupante es la capacidad de la *Ps. aeruginosa* de tornarse resistente en el curso del tratamiento antibiótico. Cepas aisladas que son inicialmente sensibles, podrían transformarse en resistentes dentro de los 3 o 4 días posteriores a la iniciación de la terapia antimicrobiana.

En la terapéutica actual hay antibióticos que se consideran con buena actividad frente a la *Ps. Aeruginosa,* como las penicilinas antipseudomónicas (Piperacilina, Ticarcilina, Carbenicilina, Azlocillina) algunas asociadas a inhibidores de betalactamasas, Ceftazidima, Cefepime, monobactámicos (Aztreonam), carbapenémicos (Imipenem y Meropenem), fluoroquinolonas especialmente la Ciprofloxacina y los aminoglucósidos. Sin embargo, ante el surgimiento de aislamientos MDR a veces es necesario acudir a antibióticos que se encontraban fuera de uso por su alta toxicidad, como las polimixinas (Bassetti *et al*., 2018).

El aumento progresivo de las tasas de resistencia en *Ps. aeruginosa* ha llevado a la aparición de cepas que, en función de su grado de resistencia a los antibióticos comunes, se han definido como resistentes a 3 o más clases de antibióticos (MDR), resistentes a fármacos extendidos (XDR, resistencia a todos menos 1 o 2 clases de antibióticos) y pan- cepas resistentes a medicamentos (PDR) (Oliver, 2017).

La farmacorresistencia de *Ps. aeruginosa* está relacionada a diferentes mecanismos, como betalactamasas de amplio espectro, carbapenemasas (KPC, metalobetalactamasas (MBL) y Oxa), alteración de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP, de sus siglas en inglés), mutación de porinas, modificación enzimática plasmídica, mutación de ADN-girasas, alteración de

las bombas de eflujo o la alteración de la permeabilidad en la membrana celular. La alteración de la MexAB-OprM, que es una bomba de eflujo, compromete de manera simultánea la sensibilidad a penicilinas, cefalosporinas, quinolonas y al Meropenem. Otro ejemplo, es la pérdida de la porina OprD, que se encuentra en la membrana externa y es utilizada por los carbapenémicos, y no por otros β-lactámicos, para su penetración en la célula; cuya alteración se asocia a la resistencia a Imipenem y a una sensibilidad reducida a Meropenem. Esta pérdida es mediada por la mutación de los genes que codifican esta porina. Sin embargo, es la adquisición de genes codificantes de MBL el mecanismo de resistencia bacteriana que tiene una alta implicación epidemiológica, debido a su capacidad de diseminación horizontal (Gonzales-Escalante *et al.,*2013; Cacci *et al*., 2016).

Las MBL poseen cuatro características principales: actividad contra los carbapenemes; no hidrolizan los monobactámicos; son inhibidas por agentes quelantes, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o el mercapto acetato de sodio, y requieren cationes divalentes (generalmente Zn^{+2}) como cofactor para su actividad catalítica; además de ello, las MBL no son inhibidas por los antibióticos.

Diversas familias de MBL han sido identificadas hasta el momento y, debido a sus características bioquímicas, han sido divididas en tres subgrupos. El subgrupo 3a incluye enzimas con amplio espectro de hidrólisis para penicilinas, cefalosporinas e Imipenem. Numerosas enzimas de este subgrupo necesitan de Zn^{+2} para desarrollar su actividad, son dependientes de serina e inhibidas parcialmente por el ácido clavulánico; son inducibles y no transferibles. El subgrupo 3b comprende enzimas que hidrolizan preferentemente

carbapenemes siendo consideradas las verdaderas carbapenemasas. Todas las enzimas de este subgrupo necesitan Zn^{+2} para su actividad y son inhibidas por el EDTA, inducibles o asociadas a plásmidos conjugativos. El subgrupo 3c comprende enzimas que hidrolizan rápidamente Ampicilina (oxacilinasas) (Gonzales- Escalante *et al.,* 2013; Ochoa *et al.,* 2013*)*.

Las carbapenemasas se clasifican en tres grupos:

A: KPC

B: Metalobetalactamasa

D: oxacilinasas

Estos grupos presentan características disímiles.

La carbapenemasas de tipo KPC, descrita inicialmente en cepas de *Klepsiella pneumoniae*, de ahí su nombre, y su agente vector. Es una enzima plasmídica, obtenida a través de elementos móviles, como secuencias de inserción o trasposasas. Se han identificados diferentes variantes alrededor del mundo de la KPC-1 a la KPC-10, su perfil de hidrolisis es hacia todo los betalactámicos, teniendo la particularidad de ser inhibido total o parcialmente por el acido borònico (Fragozo *et al*., 2016; Molin., 2016).

Las metalobetalactamasas pertenecen a la clase B de Ambler y al grupo 3 de la clasificación de Bush, se consideran las carbapenemasas adquiridas de mayor relevancia clínica ya que tienen capacidad de hidrolizar a todos los antibióticos β-lactámicos, excepto el Aztreonam, y no son inhibidas por los inhibidores de betalactamasas. Sin embargo, se inhiben por agentes quelantes

de cationes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico (Bolaños e Iannacone, 2016).

Las oxacilinasas (OXA) pertenecen a la clase molecular D, están constituida por las enzimas OXA (OXA-1, OXA-2, OXA-10) estas tienen actividad contra carboxipenicilina y ureidopenicilinas pero no contra ceftazidima. Las oxacilinasas de espectro extendido hidrolizan ceftazidima cefotaxima, cefepima, cefpiroma, y aztreonam; a excepción de la OXA-18, la actividad hidrolitica no se ve suprimida por inhibidores de betalactamasa (ácido clavulánico y tazobactam), este hecho dificulta su identificación por las prácticas de laboratorio de rutina (Fragozo *et al*., 2016).

Betalactamasas

Las betalactamasas son enzimas que hidrolizan al anillo β-lactámico de los antibióticos β-lactámicos, se unen al grupo carboxilo y rompen el enlace amídico del anillo β-lactámico, lo que provoca la pérdida de la capacidad de unión a las PBP, de esta manera destruyen el sitio activo del antibiótico e impiden su actividad. Las betalactamasas se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de β-lactámicos, es por esto que algunas subclasificaciones las denominan penicilinasas, cefalosporinasas o carbapenemasas, dependiendo de la familia que tenga mayor susceptibilidad a ser atacada por la enzima. Vale la pena aclarar que, no todas las betalactamasas son susceptibles ni responden de igual forma ante sus inhibidores (Clavulanato, Sulbactam y Tazobactam) (De Gante-Martìnez *et al.,*2011).

Algo que caracteriza a las enzimas betalactamasas es que en su codificación intervienen genes cromosómicos o extra cromosómicos. En cuanto a su síntesis pueden ser inducibles o constitutivas. Las inducibles son codificadas por un gen no funcional por represión activa que se inhibe en presencia del inductor (se sintetizan solo en presencia de un β-lactámico). En el caso de las constitutivas, no se requiere presencia del inductor y la enzima se produce en cantidades constantes, cualitativa y cuantitativamente. Las betalactamasas se clasifican en cuanto a su acción en: de amplio espectro y espectro extendido, según el grupo contra el cual actúan: penicilinasas, cefalosporinasas, carbapenemasas.

Las principales betalactamasas responsables de la resistencia en *Ps. aeruginosa* son: la betalactamasa (cromosómica) inducible AmpC (clase C) y la betalactamasa (plasmídica) de amplio espectro y espectro extendido (BLEE – clase A), entre otras.

Las betalactamasas de amplio espectro presentan actividad frente a bencilpenicilinas, amino-, carboxi- y ureido- penicilinas, y cefalosporinas de espectro reducido (Cefazolina, Cefalotina, Cefuroxima, Cefamandol)

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que hidrolizan a las cefalosporinas de espectro extendido que contienen una cadena lateral oximino, entre las que están incluidas la Ceftazidima, Ceftriaxona, Cefotaxima y Cefepime y también el Aztreonam. Sin embargo, no actúan sobre los carbapenemes y son inhibidas por el ácido clavulánico, Sulbactam o Tazobactam (Luján, 2014).

Porinas de membrana

Las porinas son proteínas transmembranales que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones. Entre las diferentes porinas que se encuentran en la membrana externa de *Ps. aeruginosa,* la más abundante es la porina OprF, probablemente utilizada por la mayoría de los β-lactámicos. Las porinas OprC y OprE son canales inespecíficos, aunque son empleadas por algunos antibióticos. Una cuarta porina, la OprD, es utilizada específicamente por las carbapenemasas; si se produce una pérdida de esta porina, aparece resistencia a Imipenem y una disminución de la sensibilidad a Meropenem, sin afectarse otros β-lactámicos.

La resistencia a Meropenem por este mecanismo esta dado por: la mutación del gen que codifica la porina OprD y la activación de bombas de expulsión que toman a Meropenem como sustrato (Bassetti *et al., 2018*).

Bombas de expulsión

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana que expulsan de la célula, detergentes y sustancias antipáticas que de otra manera destruirían la bacteria. Estos complejos enzimáticos se componen de una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplasmático y un canal de salida en la membrana externa. Estas bombas tienen la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y en contra de un gradiente de concentración, β-lactámicos, Cloranfenicol, Fluoroquinolonas, Macrólidos y Tetraciclinas,ellos son los responsables de la impermeabilidad a la mayoría de los antibióticos.

Las bombas de salida se denominan por sus componentes proteicos y se han caracterizado 4 tipos (MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN y MexXY-OprM), pueden expresarse constitutivamente a bajos niveles o sobreexpresarse cuando hay mutaciones de los genes represores, también tienen la capacidad de ser inducidas por antibióticos, especialmente Ciprofloxacina.

La sobreexpresión de MexAB-OprM compromete la acción de Quinolonas, Macrólidos, Tetraciclinas, Cloranfenicol y β-lactámicos, excepto el Imipenem. La sobreexpresión de otra de las bombas de expulsión, MexEF-OprN, confiere resistencia a Quinolonas y Carbapenémicos. La sobreexpresión de MexCD-OprJ requiere como sustratos a Quinolonas, Macrólidos, Tetraciclinas, Cloranfenicol y penicilinas. Por último, la sobreexpresión de MexXY-OprM afecta a aminoglucósidos, quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, Cloranfenicol, penicilinas y Meropenem (Bassetti *et al.,*2018).

Resistencia a Aminoglucòsidos

Los mecanismos más importantes implicados en la resistencia a los aminoglucósidos de la *Ps. aeruginosa* son: inactivación por enzimas modificantes, alteraciones en la permeabilidad y eliminación de los aminoglucósidos por bombas de expulsión. Las enzimas más frecuentes en la *Ps. aeruginosa* son: nucleotidiltransferasa (ANT) que confiere resistencia a Gentamicina, Tobramicina y Kanamicina; acetiltransferasa (AAC) cuyo sustrato es Gentamicina, Tobramicina y Netilmicina; y fosfotransferasa (APH) (Bassetti *et al.,*2018).

Otros mecanismos de resistencia documentados, aunque menos frecuentes, incluyen la resistencia a quinolonas asociadas a mutaciones de los sitios blanco. La mutación de la topoisomerasa tipo IV, sitio blanco de Ciprofloxacina, confiere una resistencia aislada a esta quinolona (Briceño *et al.,*2010).

En relación con las polimixinas, la resistencia a la Colistina es más bien rara, pero puede aparecer cuando el antibiótico, debido a cambios en la membrana externa, no llega a la membrana citoplasmática. En este caso, el sistema regulatorio pmrB/pmrA parece contribuir a la resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de estudio

Se realizó un estudio observacional descriptivo prospectivo, para determinar la susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Ps. aeruginosa,* aisladas de pacientes hospitalizados en el HCQHA.

Universo y Muestra

El universo de estudio estuvo constituido por la totalidad de cepas aisladas de *Ps. aeruginosa,* que fueron obtenidas de pacientes ingresados en el HCQHA entre enero de 2015 y diciembre de 2017.

La muestra quedó conformada por aquellas cepas aisladas de *Ps. aeruginosa* viables, identificadas por el método automatizado Vitek2.

Operacionalización de las variables

Variable	Tipo	Descripción	Categorías	Indicador
Servicio de Ingreso de atención de salud	Cualitativa nominal politómica	En dependencia del servicio hospitalario donde haya ingresado	-Unidades de atención al paciente grave (UCI) -Servicios quirúrgicos -Servicios clínicos	Frecuencias absolutas y relativas
Tipo de muestra clínica	Cualitativa nominal politómica	Según el origen de la muestra de donde procede el aislamiento	-Piel y partes blandas. -Sangre -Herida quirúrgica -Líquido pleural -Catéter -Secreción endotraqueal -Orina -Otras	Frecuencias absolutas y relativas
Susceptibilidad antimicrobiana	Cualitativa nominal politómica	Según los resultados obtenidos para cada antibiótico, empleando el método automatizado VITEK-2	Sensible Intermedia Resistente	Frecuencias absolutas y relativas
Cantidad de cepas MDR	Cualitativa nominal	Si hay resistencia al menos a uno de los antimicrobianos incluidos en tres o más de los diferentes grupos como: cefalosporinas, carbapenémicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, penicilinas y polimixinas.	Si/No	Frecuencias absolutas y relativas
Productores de carbapenemasas	Cualitativa nominal	Según resultados obtenidos	Metabetalactamasa Tipo KPC	Frecuencias absolutas y relativas

Procedimientos

Las cepas de *Ps. aeruginosa*, aisladas de muestras clínicas de pacientes del HCQHA, siguiendo la metodología establecida por los procedimientos técnicos del laboratorio de microbiología de dicha institución (Manual, 2017). Se realizaron los estudios de susceptibilidad antimicrobiana y la detección fenotípica de la resistencia a carbapenémicos para determinar carbapenemasa tipo A y B.

Las cepas aisladas de *Pseudomonas* se sembraron por estrías en placas de Petri (100 x 13 mm) preparadas en agar Mac Conkey (Biocen, Cuba). Posteriormente las placas se incubaron a 37°C (Incubadora Memmert, Alemania) durante 18-24 horas. Al crecimiento obtenido se le realizó la tinción de Gram (Lab. productos biológicos Finlay, Cuba) para la observación de las características de la tinción. Una vez corroborada la pureza del cultivo, se procedió a sembrar un inóculo del mismo en medio de cultivo diferencial: Kligler Iron Agar, se incubó a 37°C por 18 a 24 horas. Cuando resultaba un Kligler alcalino, al crecimiento producido en este medio, se le realizó la prueba de oxidasa. En aquellas cepas oxidasas positivas se procedió a la identificación de especies mediante el método automatizado VITEK-2 compact (BioMérieux, Francia).

Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro*.

Se llevó a cabo por el método de dilución automatizado VITEK-2(BioMérieux, Francia), la tarjeta que se utilizó fue AST N272 VITEK (BioMérieux). Se evaluó la susceptibilidad de los aislados frente a los siguientes antimicrobianos.

Antimicrobianos	Siglas	Concentraciones	Intervalos de CMI
Ampicilina/Sulbactan	SAM	4/2, 16/8, 32/16 µg	≤ 2/1 - ≥ 32/16
Piperacilina/Tazobactan	TZP	2/4, 8/4,24/4,32/4,32/8, 48/8 µg	≤ 4/4 - ≥128/4
Imipenem	IMI	1, 2, 6, 12 µg	≤ 0.25 - ≥ 16
Ceftazidima	CAZ	1, 2, 8, 32 µg	≤ 1 - ≥64
Cefepime	FEP	2, 8, 16, 32 µg	≤ 1 - ≥64
Cefoxitin	FOX	8, 16, 32 µg	≤ 4 - ≥64
Meropenem	MEM	0.5, 2, 6, 12 µg	≤ 0.25 - ≥ 16
Gentamicina	GM	4, 16, 32 µg	≤ 1 - ≥ 16
Amikacina	AK	8,16, 64 µg	≤ 2 - ≥64
Colistina	CS	4, 16, 32 µg	≤0.5 - ≥16
Ceftriaxone	CRO	1, 2, 8, 32 µg	≤1 - ≥ 64
Ciprofloxacina	CIP	0.5, 2, 4 µg	≤ 0.25 - ≥ 4
Tigeciclina	TGC	0,75/2,4 µg	≤ 0.5 - ≥ 8

Preparación del inóculo: Partiendo de un cultivo puro (18-24 horas de incubación en agar Mac Conkey), se tomaron con asa o aguja de inocular entre 4 y 6 colonias de apariencia similar, las que se transfirieron a un tubo que contenía 3 mL de solución salina estéril y se verificó la densidad con el densitómetro Densicheck.

Se introdujeron las tarjetas de identificación y susceptibilidad en los tubos preparados con los inóculos correspondientes y se procedió a introducir los datos de los pacientes en el equipo y luego el casete con los inóculos según las instrucciones del fabricante.

Lectura e interpretación

A las 13 horas como promedio, el software del equipo informó los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana y se interpretó según las recomendaciones del CLSI, establecidos para *Pseudomonas* (CLSI,2016).

Determinación fenotípica de carbapenemasas mediante E-test

A todas las cepas que mostraron resistencia a Imipenem y/o Meropenem se les realizó confirmación del fenotipo productor de carbapenemasas mediante el método epsilométrico E-test y disco de Meropenem.

Para la preparación del inóculo se procedió de la misma forma que para el método de dilución automatizado VITEK 2.

Inoculación de las placas: Luego de 15 minutos de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, se tomó un hisopo seco y estéril, se sumergió en la suspensión bacteriana ajustada, se eliminó el exceso presionando y rotando el mismo sobre las paredes del tubo por encima del nivel del líquido. Con el hisopo se inoculó la superficie del medio de cultivo agar *Müeller Hinton* (Biolife, Italia), estriándola en tres direcciones de forma homogénea haciendo girar la placa aproximadamente 60° cada vez, para obtener una siembra uniforme. Se dejó la placa entreabierta de 3 a 5 minutos, pero no más de 15 minutos, para que cualquier humedad excesiva de la superficie pudiera ser absorbida antes de aplicar las tiras de E-test impregnados con la droga que se muestran a continuación:

Antimicrobianos*	**Siglas**
Imipenem/ Imipenem+EDTA	IMI/IMD
Meropenem/ Meropenem+ ácido borónico	MRP/MBO

Las tiras de E-test de Imipenem/ Imipenem+EDTA y Meropenem/ Meropenem+ ácido borónico se mantuvieron 30 minutos a temperatura ambiente antes de su uso y se colocaron sobre la superficie del medio previamente inoculados.

La concentración mínima inhibitoria (CIM) del antibiótico se determinó por el punto de corte donde la elipse de inhibición del crecimiento intercepta la escala de la tira de E-test (de acuerdo a las instrucciones del fabricante).

Se considera la prueba positiva a la producción de MβL o KPC a aquella que presente una concentración mínima inhibitoria (CIM) del antimicrobiano asociado a un inhibidor (Imipenem /EDTA o Meropenem /Ácido Borónico) tres diluciones menores al de los antimicrobianos solos (Imipenem o Meropenem); además si aparece una zona de fantasma o deformación de la elipse de Imipenem o Meropenem (manual del fabricante).

Cepas controles: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 35218 (para evaluar los discos de β-lactámicos con inhibidores de betalactamasa)

Análisis y procesamiento estadístico:

Los resultados obtenidos se procesaron mediante los programas Microsoft Excel 2010 y se expresaron en gráficos y tablas de contingencia estadística.

Se utilizaron medidas de estadística descriptiva como la frecuencia y el porcentaje para el análisis y la presentación de los resultados.

Consideraciones éticas

Todos los aislamientos del presente estudio realizado en el HCQHA durante el período de estudio se acompañaron de un modelo de recolección de datos (Anexo). Los datos se recogieron por el personal del laboratorio de Microbiología al recibir la muestra con su orden de cultivo bacteriológico y fueron confidenciales para este personal y los médicos que indicaron el estudio microbiológico. No se requirió la firma de un consentimiento informado ya que no procedía.

Para el trabajo en el laboratorio se tuvo en cuenta las prácticas, procedimientos y los equipos de seguridad correspondientes al nivel de seguridad biológica II, según establece la Resolución No. 103 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, de fecha 8 de octubre de 2006 (CITMA,2006) .

El presente estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de la Investigación del IPK (CEI- IPK) con el código CEI-IPK. 70-18.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las infecciones por bacilos gramnegativos no fermentadores adquieren una importancia evidente por su incidencia en las IAAS. En estos momentos especies pertenecientes al género *Pseudomonas* se destacan por su asociación con las infecciones graves. Dentro de estos microorganismos merece especial atención *Ps. Aeruginosa*, que está asociada a un incremento de la mortalidad y se ubica entre los agentes causales habituales de las infecciones detectadas en las UCI, de ahí que, en estos momentos, el tratamiento de las afecciones que ocasiona constituye un verdadero desafío terapéutico (Ali *et al.,*2015*)*.

La *Ps. aeruginosa* es uno de los principales patógenos oportunistas, responsable de las infecciones nosocomiales en el mundo (Tillotson *et al.*, 2017).

En la tabla 1 se recoge la distribución de las 415 cepas *Ps. aeruginosa* según la procedencia (servicios de atención médica) de las muestras clínicas. Los servicios de atención al paciente grave, en los que se incluyen las UCI, fueron los que aportaron mayor número de estas cepas (174), para un 41,9%. Mientras que de los servicios clínicos procedieron 150 cepas (36,1%) y de los servicios quirúrgicos, 91 cepas (21,9%).

Tabla 1. Distribución de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* estudiadas según el servicio de atención médica de procedencia (total de cepas, N=415). HCQHA, 2015-2017.

Servicios	N	%
Servicios de atención al paciente grave	174	41,9
Servicios clínicos	150	36,1
Servicios quirúrgicos	91	21,9
Total	415	100,0

La literatura consultada demuestra que el ingreso en UCI y cirugía constituyen un factor de riesgo para la infección por *Pseudomonas aeruginosa,* donde los pacientes generalmente se encuentran inmunodeprimidos y donde son frecuentes el uso prolongado de antimicrobianos de amplio espectro, los procederes invasivos y la ventilación asistida, entre otros factores que le hacen susceptibles a las infecciones por este género de microorganismos. (De Gante-Martìnez *et al.,* 2011), es importante destacar además que entre el 25 al 40% de los pacientes hospitalizados reciben antimicrobianos, aumentando este porcentaje hasta un 80% en los pacientes ingresados en las áreas críticas (UCI, Unidades de quemados, *Shock* y trauma).

Los resultados encontrados en este trabajo, donde se detectó una mayor prevalencia de aislamientos en UCI (41.9%), concuerdan con otros realizados en Cuba en el mismo hospital por García en 2011 donde se encontró el 56,3% de las cepas procedentes de los servicios de atención al grave y Ali en Pakistán en el 2015 quien obtuvo el 39% de las cepas de *Ps. aeruginosa* de las Unidades de cuidados intensivos; al igual que Gastelo-Acosta y col en Perú.

En contraparte un estudio realizado en un hospital del estado de Carabobo, Venezuela se encontró que la mayor cantidad de aislados correspondieron a servicios quirúrgicos (34.62%) y el 29.23% correspondió a unidades de cuidados intensivos (Moreno *et al.,*2015)

En la figura 1 se observan los tipos de muestras clínicas de las que se aislaron las cepas de *Ps. aeruginosa.* El porcentaje superior de cepas aisladas fueron de las muestras de sangre (N=107, 25.7%); seguidas por las secreciones endotraqueales (N=101, 24.3%), pus de herida quirúrgica (N=77, 18.5%), catéter (N=21, 5.0%) y se encontró en la orina (N=18, 4.3%). Otras fuentes en las que se identificaron estas cepas (N=91, 21.9 %), se incluyen: líquidos estériles, esputo, secreción ocular, pus y piel.

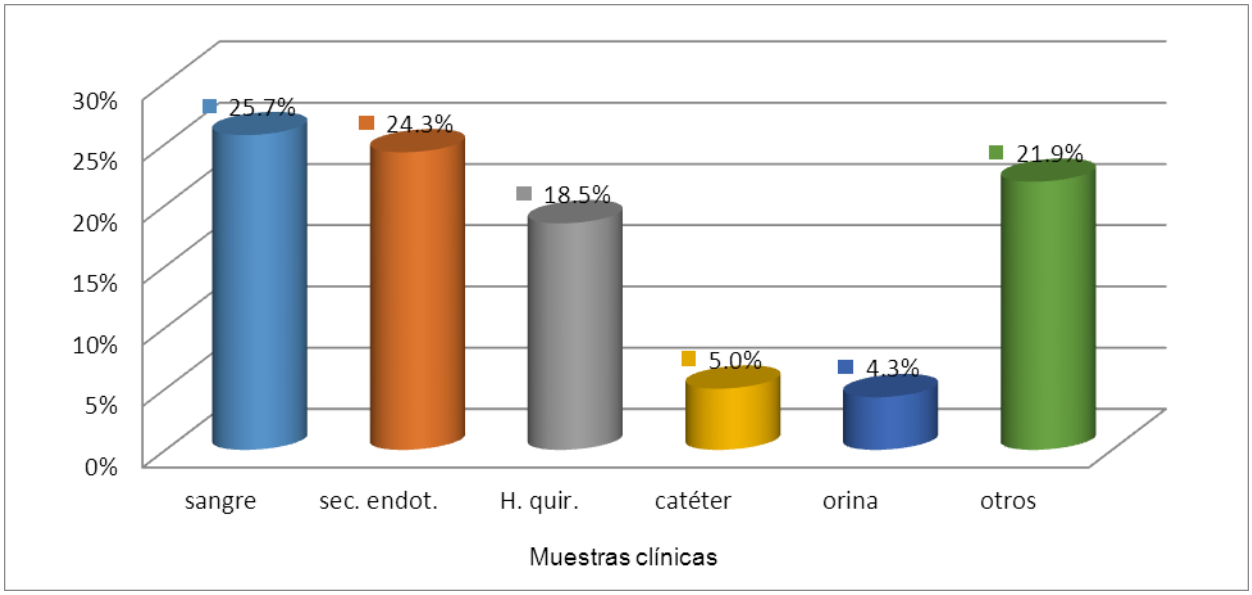

Figura 1. Distribución de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* según el tipo de muestras clínicas. (Total de cepas, N=415).

Las muestras clínicas de dónde se aislaron las cepas de *Ps. aeruginosa* se corresponden con las infecciones más frecuentes causadas por este microorganismo en pacientes críticos. En las instituciones clínicas es frecuente realizar la mayor cantidad de aislamientos de cepas de *Ps. aeruginosa* en muestras respiratorias, en esta investigación el porciento más alto de cepas se obtuvo de muestras de sangre (25.7%) seguidas de muestras endotraqueales (24.3%), lo que coincide con lo señalado por Juayang y col., 2017; Castro y col., 2016 y Guzek y col., 2015. En el trabajo de Castro y col., 2016, estos investigadores aislaron 394 de estas cepas, de las cuales 42.8% eran de origen respiratorio, también Villa y col., en Colombia en un trabajo realizado en 2013 encontraron que las muestras más frecuentes de donde se recuperaron cepas de *Ps aeruginosa* fueron del tracto respiratorio, del tracto urinario, sangre y secreciones, sin embargo, Ochoa y col., 2013, identificaron la mayor cantidad de cepas de orina(31.5%); las que fueron obtenidas de niños hospitalizados, donde se plantea que la *Ps. aeruginosa* es un agente etiológico frecuente en las infecciones de vías urinarias de estos pacientes y luego producen infecciones sistémicas.

Es importante tener en cuenta que los aislados de catéter (5.0%) ocuparon el cuarto lugar en el presente estudio lo que podría explicar el importante número de aislamientos caracterizados procedentes de sangre ya que las infecciones del torrente sanguíneo, se predisponen de manera exógena por el uso de estos dispositivos.

Debido a que resulta complejo el tratamiento de infecciones por *Ps. aeruginosa* a causa de sus múltiples mecanismos de resistencia y a la impermeabilidad de su membrana externa; es recomendado realizar un estudios de

susceptibilidad con antimicrobianos muy específicos,incluso repetir los mismos en aislamientos posteriores por la probabilidad de que las mismas desarrollen resistencia a antimicrobianos que se están utilizando

En la tabla 2 se muestran los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana de las 415 cepas de *Ps. aeruginosa* identificadas. Se observó un mayor porcentaje de resistencia a Piperacilina/Tazobactan (38.5%), seguida de las cefalosporinas, Ceftazidima y Cefepime, (33.2 y 30.8%, respectivamente) y de la Ciprofloxacina (33.0%). Sin embargo, la Colistina resultó el antibiótico para el cual un mayor número de aislados fue sensible (N=396, 95.4%). A su vez, la Piperacilina/Tazobactan fue la que tuvo un porcentaje superior de aislados con susceptibilidad intermedia (N=142, 34.2%) respecto al resto de los antibióticos evaluados.

Tabla 2. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* identificadas (total de cepas, N = 415)

Antibióticos	**Sensible**		**Intermedio**		**Resistente**	
	N	%	N	%	N	%
Piperacilina/Tazobactam	113	27.2	142	34.2	160	38.5
Ceftazidima	241	58.0	36	8.6	138	33.2
Cefepime	250	60.2	37	8.9	128	30.8
Imipenem	278	66.9	15	3.6	122	29.3
Meropenem	287	69.1	13	3.1	115	27.7
Gentamicina	293	70.6	13	3.1	109	26.2
Amikacina	289	69.6	2	0.4	124	29.8
Ciprofloxacina	260	62.6	18	4.3	137	33.0
Colistina	396	95.4	3	0.7	16	3.8

Para la Piperacilina/Tazobactam, de la cual se obtuvo el mayor número de cepas resistentes entre los antibióticos estudiados, se ha publicado una baja tasa de sensibilidad cuando es utilizada como tratamiento de primera línea (Sader *et al.*, 2017; Saeed *et al.*, 2018), sin embargo, sus porcentajes de resistencia resultan variables entre los diferentes trabajos, los cuales oscilan y no son dependiente de la cantidad de cepas aisladas (17%, N=696; 22.5%, N=74; 30.8%, N=13; 69.2%, N=4 787) (López-Martínez *et al.*, 2013; Cifuentes-D *et al.*, 2014; Castro *et al.*, 2015; Devrim *et al.*, 2018). De hecho, a partir de reportes de algunos países de Suramérica (Perú, Venezuela, Brasil, Chile y Argentina), se ha descrito que la resistencia de la Piperacilina/Tazobactam puede variar desde 5.3 hasta 80.0% (Martínez *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2005; Magalhães *et al.*, 2005; Pellegrino *et al.*, 2006; Gaspareto *et al.*, 2007; Díaz, 2008; Morales *et al.*, 2008; Tovar, 2008; Ferrero *et al.*, 2009; Núñez, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009; Bustamante y Brevis, 2010; Scheffer *et al.*, 2010; Perozo *et al.*, 2012; Vahdani *et al.*, 2012; Rehab *et al.*, 2013; Saavedra *et al.*, 2014).

También las cefalosporinas de 3ra y cuarta generación como Ceftazidima Cefepime y la Ciprofloxacina presentan cifras de resistencia de cepas *Ps. aeruginosa* variables (24.1-93.3 %), (26.1-83.56 %) y (28.3-95.0 %), respectivamente; siendo nuestros resultados correspondientes con lo planteado por esta literatura (Castro *et al.*, 2015).

Los estudios previos de susceptibilidad antimicrobiana de *Ps. aeruginosa* de nuestro país indican que para el caso de cepas aisladas de muestras de pacientes quemados existe una alta resistencia a la Ceftriaxona y a la Cefotaxima (36.3%) y con una mayor sensibilidad a las penicilinas y

aminoglucósidos (>50%) (Moya *et al.*, 2003). En un estudio realizado en el IPK en pacientes VIH/SIDA se encontraron porcentajes de resistencia bajos para Ceftazidima y Cefepime (ambas 7.1%) y de 11.9% frente a Ciprofloxacina, resultados que difieren con lo encontrado en este trabajo (Martinez,2013). Asi mismo Cabrera y col. en Mayabeque encontraron bajos porcientos de resistencia a ceftazidima (14.2%) en pacientes hospitalizados durante el 2013. A su vez, González Bonet y col., 2006 hallaron que las cefalosporinas de tercera generación poseen elevados valores de resistencia.

La alta sensibilidad a la colistina hallada en este estudio ha sido reportada previamente por otros investigadores (Ece *et al.*, 2014; Yamada *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2016; Sader *et al.*, 2017; Walkty *et al.*, 2017; Veeraraghavan *et al.*, 2018). En este sentido, Sharma y col., 2016, de una muestra de 57 cepas de *Ps. aeruginosa,* encontraron que el 95.4% de estas cepas eran susceptibles a este antibiótico. De igual manera, en 79 instituciones médicas de los Estados Unidos se aislaron un gran número de cepas de *P. aeruginosa* (N=7 452) durante un período de 4 años, encontrándose que el 99.4% eran sensibles a este antibiótico (Sader *et al.*, 2017).

A pesar de que esta variedad de comportamientos puede estar dado por múltiples factores (tipo de muestra clínica, área de procedencia de la muestra en una región determinada, características del paciente, uso de antibiótico, localización geográfica, medio ambiente hospitalario, entre otros), también parece estar asociado con la versatilidad mutacional del resistoma (genes involucrados en la resistencia intrínseca) de este patógeno, dicho término tiene en cuenta el conjunto de mutaciones involucradas en la modulación de los

niveles de resistencia del antibiótico en ausencia de una transferencia genética horizontal (Cabot *et al.*, 2016; López-Causapé *et al.*, 2017; Qin *et al.*, 2018).

El análisis del genoma involucrado en la resistencia mutacional ha permitido entender cómo han evolucionado los mecanismos de resistencia clásicos, sin embargo, en la actualidad este análisis aun es limitado debido al gran número de genes asociados a estas mutaciones, la complejidad de los fenotipos de resistencia que se ha generado y la dificultad para diferenciar mutaciones relevantes de polimorfismos naturales (Castro *et al.*, 2015).

Dado que las infecciones por *Ps. aeruginosa* son difíciles de erradicar por su alta resistencia intrínseca y su capacidad para adquirir resistencia a los antibióticos; es probable que este agente patógeno aumente su resistencia con el transcurso del tiempo. Sin embargo, según lo publicado por varios investigadores el porcentaje de resistencia de los antibióticos tiene una conducta variable entre los diferentes estudios (Villa *et al.* 2013; Coria Lorenzo *et al.*, 2016; Juayang A *et al.*, 2017; Sader *et al.*, 2017).

En la figura 2 se muestra el porcentaje de resistencia a las principales drogas antimicrobianas utilizadas en infecciones por *Ps. aeruginosa* entre el 2015 y 2017, en la que se evidencia un aumento progresivo de este parámetro en el tiempo de antibióticos como: la Piperacilina/Tazobactan (27.2% en 2015 a 45.0 % en 2017); y las cefalosporinas, Ceftazidima (23.9% en 2015 a 41.2 % en 2017) y Cefepime (21.4 % en 2015 a 46.2 % en 2017).

Para el resto de los antimicrobianos estudiados la resistencia tuvo un comportamiento variable en el tiempo.

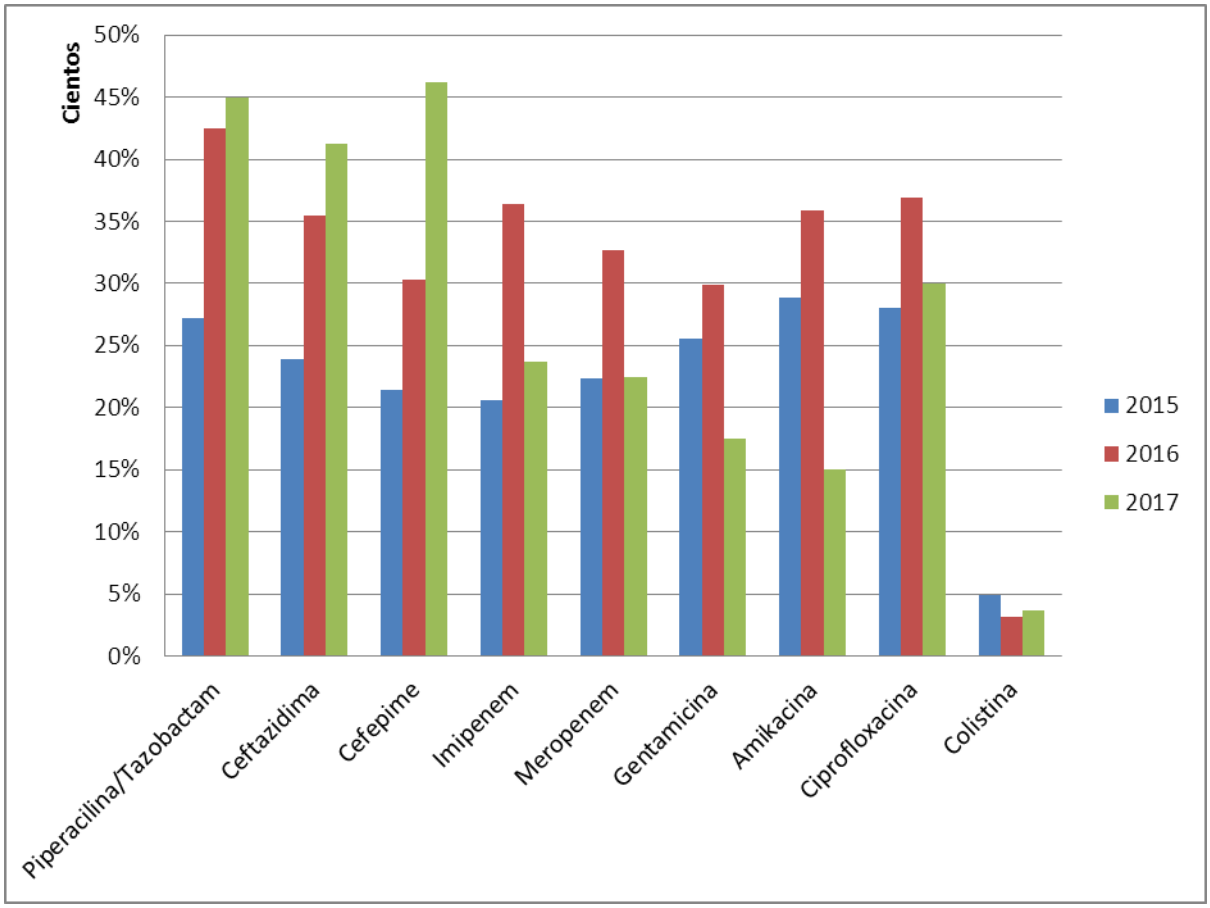

Figura 2. Porcentaje de resistencia a las principales drogas antimicrobianas utilizadas en infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* durante el período 2015-2017.

En este sentido, se ha observado en un trabajo realizado en dos etapas, con 6 años de diferencia, patrones de resistencia similares para antibióticos como: Ceftazidima (2006: 21.6% y 2012: 23%) y Cefepime (2006: 10.8% y 2012: 19.2%) (Coria Lorenzo *et al.*, 2016); coincidiendo nuestras cifras de resistencia de Ceftazidima en 2015 con la de estos autores.

En contraste, datos previos en Colombia presentaron un curso desfavorable de la resistencia de los β-lactámicos (Piperacilina/Tazobactam, Ceftazidima, Cefepime), pero con tasas de resistencia que pueden ser bajas (Villa *et al.*

2013). Mientras tanto, Juayang y col., 2017, señalaron que la Piperacilina/Tazobactam tuvo una tendencia irregular en el porcentaje de resistencia en los 5 años de su investigación, el cual osciló entre 5-11 %.

Estos cambios en el tiempo están asociados a la resistencia antibiótica de *Ps. aeruginosa*, la cual es considerada extraordinaria por su alta capacidad para adquirir estos mecanismos, aunque también los puede tener de manera natural. Conjuntamente, existe la posibilidad de transmitirse material genético entre cepas de *Ps. aeruginosa* y con otras gramnegativos como las enterobacterias e inducir mecanismos de resistencia durante el tratamiento con antibióticos.

En el caso particular de los antibióticos β-lactámicos, como los que aumentaron su resistencia en este estudio luego de tres años; se conoce que las betalactamasas es su principal causa de resistencia, aunque la sobrerregulación de sistemas de eflujos y disminución de la permeabilidad de la membrana externa también participan en este proceso. Adicionalmente, se encuentran los elementos genéticos que codifican para las betalactamasas de espectro extendido (serino β-lactamasas de clase A y D de Ambler y las metalobetalactamasas de clase B de Ambler (Bolaños e Iannacone, 2016).

Ya que los antibióticos β-lactámicos en especial las cefalosporinas de 4 generación se consideran terapéuticas de elección en pacientes hospitalizados queríamos mostrar los resultados de las CIM de algunos antimicrobianos que tienen un gran impacto en la clínica del pacientes graves, en la figura 3 mostramos las CIM del cefepime y su variabilidad según diluciones estudiadas y vemos que a pesar de ser mayor de 32, que es cuando se considera una cepa resistente, hay un grupo de cepas no depreciable, con categoría de

intermedia que sería importante evolucionar por la posibilidad de que las mismas aumenten su CMI y se vuelvan resistentes. Para los ATB tiempo dependientes, tales como los β-lactámicos, el porcentaje del intervalo del tiempo entre las dosis en que el ATB se encuentre de 2 a 4 veces por encima de la CIM ha ayudado a predecir la probabilidad de lograr un tratamiento más exitoso (Lloria, 2009).

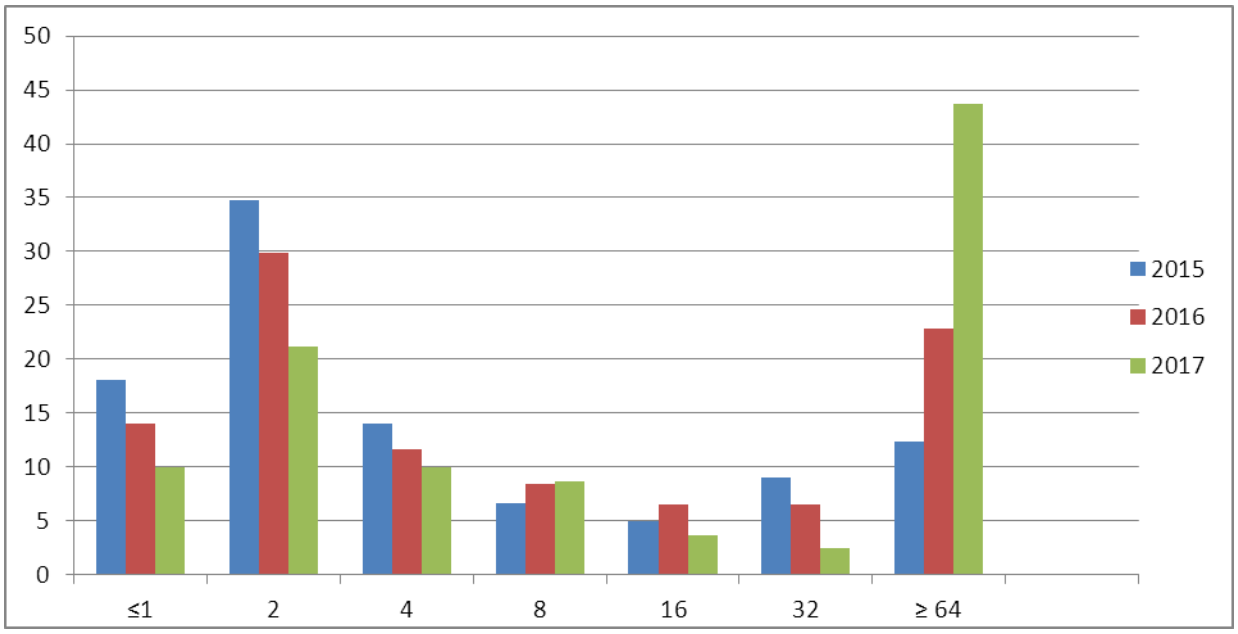

Figura 3. Evolución de la CMI del Cefepime en las 415 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* durante el período 2015-2017.

En cuanto a la evolución de resistencia de los carbapenémicos en este caso meropenem, que dentro del grupo es el único que está disponible en el cuadro básico de medicamentos en Cuba, el incremento de cepas con CMI en 2, es a tener en cuenta esta tendencia ya que cada vez más se involucran los valores de concentración inhibitoria mínima en la terapéutica individualizada sobre todo de pacientes graves portadores de cepas multirresistentes (Figura 4).

Cada vez más hay evidencias que sugieren que la infusión continua de antibióticos β-lactámicos tiene un potencial beneficio en pacientes con alteraciones fisiopatológicas y gravemente enfermos. Desde el punto de vista farmacocinético mucha información apoya las altas concentraciones de β-lactámicos cuando son administrados en infusión continua. Esta ventaja se traduce en una capacidad superior para alcanzar los objetivos farmacodinámicos particularmente cuando la CIM del patógeno es mayor o igual a 4mg/L. Esto es particularmente importante para antimicrobianos del grupo Carbapenémicos, por lo cual infusiones prolongadas (>3 horas) son usadas para mejorar el tiempo sobre la CIM comparado con las dosis convencionales en bolos intermitentes (Culay Perez et al.,2012).

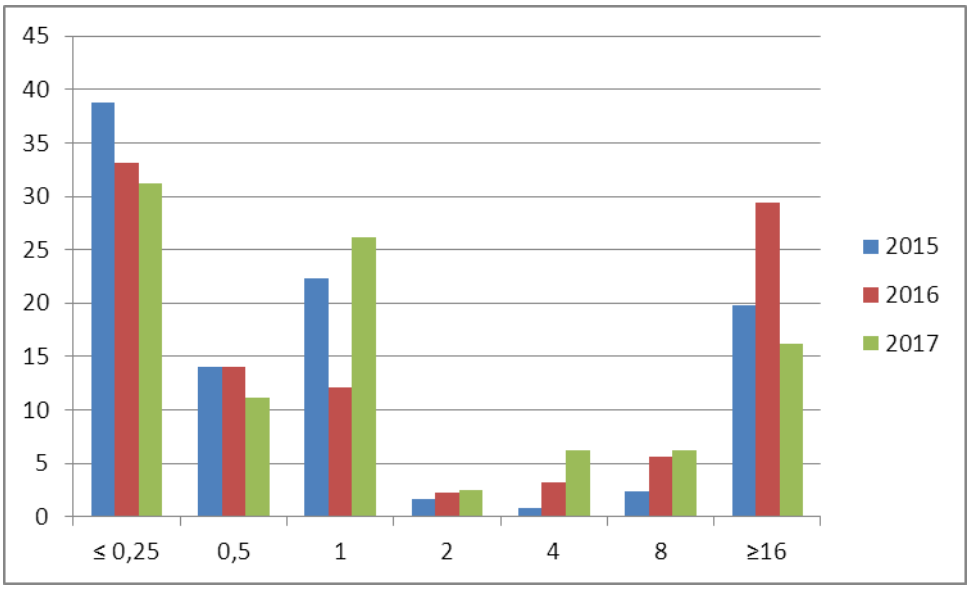

Figura 4. Evolución de la CMI del Meropenem en las 415 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* durante el período 2015-2017

De la totalidad de cepas de *Ps. aeruginosa* caracterizadas, 133 fueron MDR (resistentes a tres o más clases de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, Aminoglucósidos y Quinolonas), para un 32.0 %. Las restantes, 282 cepas, mostraron fenotipos variables de resistencia, lo que representa el 68.0 % (Figura 5).

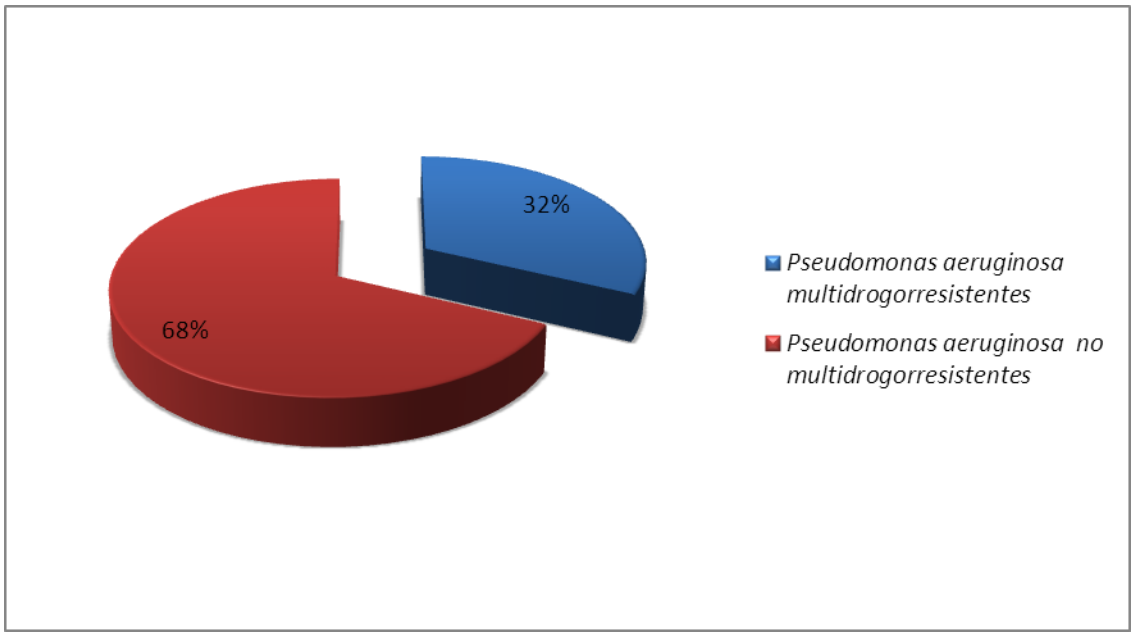

Figura 5. Distribución de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo a la MDR (Total de cepas, N=415).

La acumulación de mutaciones cromosómicas conduce a una MDR, que puede ser responsable de epidemia en los centros hospitalarios. Recientemente, se ha mencionado la existencia de clones MDR en varios hospitales del mundo, los cuales son considerados clones de alto riesgo (Oliver *et al.*, 2015; Moya *et al.*, 2017), los que parecen transmitirse de paciente a paciente (López-Causapé *et al.*, 2017)**.** Aunque, los porcentajes de cepas MDR (32%) hallados en este estudio no coinciden con los publicados por Sharma y col., 2016 y Sader y col., 2017, correspondientes con 24% y 15.4%; de manera general estos resultan bajos en relación con otros tipos de resistencias. Quizás debido al estricto

control sanitario de microorganismos multirresistentes, a través de la aplicación de medidas de prevención y control de infecciones.

En contraste en un estudio realizado en Pakistán en 2015 se detectó el 63.2 % de cepas MDR (Ali *et al.,* 2015)

La tabla 3 muestra los mecanismos fenotípicos de resistencia a carbapenémicos en cepas MDR que presentan carbapenemasa tipo A y B.

En el período de estudio de las 133 de cepas MDR solamente 96 mostraron resistencia a carbapenémicos y de ellas solo se aisló una cepa productora de carbapenemasa tipo KPC lo que representa el 1.04 % y las carbapenemasas tipo metalobetalactamasas se evidenció en 58 cepas para el 60.4 % de las cepas MDR con resistencia a carbapenémicos. En las 37 cepas restantes no se determinó mecanismo de resistencia por este método.

Tabla 3. Mecanismos fenotípicos de resistencia a carbapenémicos en el total de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistentes. (Total de cepas, N=96)

Mecanismos de resistencia	Cepas	
	No.	%
Carbapenemasa tipo KPC	1	1.0
Carbapenemasa tipo metalobetalactamasa (MBL)	58	60.4

En cuanto a los mecanismos fenotípicos de resistencia, en este trabajo se identificó en mayor frecuencia el de carbapenemasa tipo metalobetalactamasa (MBL) o clase B, los cuales son un grupo relevante de carbanepemasas tanto por diferentes variantes aminoacídicas como por su diseminación a nivel mundial. Estas se caracterizan por hidrolizar los carbapenémicos y los inhibidores β-lactámicos como el ácido clavulánico y tazobactam, pero son susceptibles a la inhibición de agentes quelantes como: el ácido

etilendiaminotetracético (EDTA), ácido mercaptoacético y el ácido mercaptopropiónico (Bolaños e Iannacone, 2016).

A diferencia de las carbapenemasa clase A, en la que está incluida la enzima tipo KPC, que son inhibidas de manera débil con el ácido borónico pero no por el EDTA y se encuentra con menor frecuencia en comparación con el tipo metalobetalactamasa (Bolaños e Iannacone, 2016); lo que también fue encontrado en nuestro estudio. Una revisión acerca de la frecuencia de estos mecanismos en varios países de América del Sur (Perú, Venezuela, Brasil, Chile y Argentina) se describió una cifra de 21.9% de cepas con mecanismo MBL, el cual fue el más frecuentes respecto a los mecanismos de betalactamasa de espectro extendido, carbapenemasa tipo KPC y betalactamasa AMPC (Martínez *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2005; Magalhães *et al.*, 2005; Pellegrino *et al.*, 2006; Gaspareto *et al.*, 2007; Díaz, 2008; Morales *et al.*, 2008; Tovar, 2008; Ferrero *et al.*, 2009; Núñez, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009; Bustamante y Brevis, 2010; Scheffer *et al.*, 2010; Perozo *et al.*, 2012; Vahdani *et al.*, 2012; Rehab *et al.*, 2013; Saavedra *et al.*, 2014). En otros continentes como África y Asia, se han reportado 31 y 38% respectivamente del mecanismo MBL (Vahdani *et al.*, 2012; Rehab *et al.*, 2013).

La mayor prevalencia de este fenotipo de resistencia se debe al incremento en el mundo de resistencia a los carbapenémicos (Imipenem, Meropenem, entre otros) (Rodríguez *et al.*, 2009). En nuestro estudio se obtuvo una alta frecuencia de cepas con mecanismos fenotípicos MBL. También, Ochoa y col. 2013, determinaron en un 43% de las cepas con mecanismo fenotípico MBL. Estos especialistas afirman que este comportamiento se explica porque las cepas MBL se encuentran codificadas en plásmidos, los cuales son fáciles de

propagar a nivel hospitalario entre bacterias del mismo género y con otros agentes patógenos (Pitout *et al.*, 2005). Fundamentalmente porque estas cepas producen una biopelícula que dificulta el tratamiento de las infecciones intrahospitalarias debido a la estructura organizada que actúa como una barrera ante los antimicrobianos. (Lopes *et al.*, 2012; Sommerfeld *et al.*, 2012; Subramanian *et al.*, 2012; Nasirmoghadas *et al.*, 2018).

En tal caso se ha observado que la combinación de levofloxanina y piperacilina/tazobactan es una buena opción para las cepas multidrogorresistentes de *Pseudomonas aeruginosa* (Rizvi *et al.*, 2015). Mientras tanto el uso a concentraciones subóptimas de dos desinfectantes como el hipoclorito de sodio y compuestos de amonio cuaternario (cloruro de didecildiamonio) pueden producir resistencia de varios antimicrobianos: colistina, ceftazidima, amikacina, meropenem, gentamicina, piperacilina-tazobactan y ciprofloxacina (Gupta *et al.*, 2018; Nasr *et al.*, 2018).

Por lo que podemos concluir que la infección nosocomial por *Ps. aeruginosa* representa un gran reto para el clínico y un grave problema de salud pública. Los mecanismos por los cuales *Ps. aeruginosa* es multirresistente son bastante complejos. Tienen la capacidad de ser inducidos por los mismos antibióticos y otras sustancias, se activan en cuestión de días y pueden confluir en un mismo aislamiento haciéndolo prácticamente resistente a todos los antibióticos disponibles. Conceptos como "la lectura interpretativa del antibiograma" y conocer el valor de la CIM pueden ser útiles en el momento de orientar la terapia antibiótica frente a este microorganismo de alto impacto en la infección nosocomial

CONCLUSIONES

1. Las UCI constituyen reservorios importantes de *Ps. aeruginosa*, siendo las muestras de sangre y secreciones endotraqueales una fuente importante de estos aislamientos, lo que demanda el empleo de estrictas medidas de prevención y control en dichos servicios a fin de evitar la diseminación de bacterias entre pacientes.
2. Los antibióticos con mayor resistencia de fueron: Piperacilina/Tazobactam, Ceftazidima, Cefepime y Ciprofloxacina; aunque sus valores de resistencia se comportaron moderadamente elevados. Se evidenció a la Colistina como la mejor opción terapéutica en casos de infecciones por *Ps. aeruginosa*.
3. La resistencia antimicrobiana a la mayoría de los antibióticos tuvo un comportamiento variable en el tiempo; a excepción de la Piperacilina/Tazobactan, Ceftazidima y Cefepime, que aumentaron su resistencia durante los 3 años del estudio.
4. El mecanismo fenotípico Carbapenemasa tipo metalobetalactamasa predominó entre las cepas de *Ps. aeruginosa* MDR aisladas con carbapenemasas

RECOMENDACIONES

1. Fortalecer la vigilancia microbiológica de *Ps. aeruginosa* y la profilaxis de la resistencia, incluyendo la actualización de la política antibiótica institucional, acorde a las recomendaciones de los datos aportados por el mapa microbiano del hospital.
2. Realizar estudios moleculares para conocer las bases genéticas de la resistencia de estas cepas y profundizar en los mecanismos de resistencia presentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ali Z, Mumtaz N, Naz SA, Jabeen N, Shafique M. Multi-Drug Resistant *Pseudomonas Aeruginosa*: A threat of nosocomial infections in tertiary care hospitals. JPMA 2015; 65(1):12 -16.
2. Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. Journal List Drugs Context 2018; 7:212.
3. Bolaños C, Iannacone J. Patrones fenotípicos de resistencia en pseudomonas aeruginosa de muestras clínicas a nivel de Sudamérica. 1.ª ed. Vol. 4. Lima, Perú; 2016. PP. 73-100.
4. Briceño DF, Quinn JP, Villegas MV. Treatment options for multidrug-resistant nonfermenters. Expert Review of Anti-infective therapy 2010;8(3):303-315.
5. Bustamante L, Brevis P. *Pesquisa de betalactamasas de espectro extendido en cepas de Pseudomonas aeruginosa y klebsiella pneumoniae.* 2010. Disponible en: http://dspace.utalca.cl/handle/1950/8343
6. Cabot G, López-Causapé C, Ocampo-Sosa AA, Sommer LM, Domínguez MÁ, Zamorano L, *et al.* Deciphering the resistome of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* Sequence Type 175 international high-risk clone through whole-genome sequencing. Antimicrob. Agents Chemother. 2016;60:7415–7423.
7. Cabrera Rodriguez LE, Diaz Rigau L, Gama León Y, Iglesias Camejo M. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y en *Acinetobacter spp*. aislados de muestras clínicas de origen comunitario y hospitalario. Rev Ciencias Médicas La Habana 2014; 20(2):189-197.
8. Cacci LC, Chuster SG, Martins N, Carmo PRd, Girão VBdC, Nouér SA, *et al*. Mechanisms of carbapenem resistance in endemic *Pseudomonas aeruginosa* isolates after an SPM-1 metallo-β-lactamase producing strain subsided in an intensive care unit of a teaching hospital in Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2016; 111(9): 551 -558.

9. Carrasco AM GJ. Empirical treatment of gram-negative bacilli infections. Enf inf y Microb Clinica. 2018;12(50):2977-81.
10. Castro R, Mejia GE, Castaño L, Samaca J, Villafañe LM. *Pseudomonas aeruginosa*: perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos clínicos en una institución hospitalaria de III nivel de cartagena, 2008-2009. Rev CSV 2015;7(1):13-21.
11. Cifuentes-D M, Silva F, García P, Bello H, Briceño I, Calvo-A M, Labarca J, Grupo Colaborativo de Resistencia Bacteriana de Chile. Susceptibilidad antimicrobiana en Chile 2012. Rev Chilena Infectol. 2014;31(2):123-130
12. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 26th ed. CLSI supplement M100-S. Table 2B-1 P*seudomonas aeruginosa* M02-M07. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
13. Conejo MC, Garcia I, Martinez L, Picabea L, Pascual A. Zinc Eluted from Siliconized Latex Urinary Catheters Decreases Opdr Expression, causing Carbapenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrobl Agents Chemother 2003;7: 2313-2315.
14. Coria Lorenzo JJ, Pérez Robles VM, Pérez Avendaño G, Torres García M, Mora Suárez R, Ojeda Sánchez A, *et al.* Patrones de susceptibilidad de gramnegativos en aislamientos nosocomiales en un hospital de tercer nivel de atención pediátrica: análisis de su frecuencia y prevalencia en 2 periodos de tiempo (2006 vs. 2012). Perinatol Reprod Hum. 2016;30(4):172-179.
15. Culay Perez A, Ferriol Torres R, Sarduy Ramos CM, Cervantes Nunez G. Ceftazidima en infusión continua en infecciones por Pseudomona aeruginosa. AMC [online]. 2012;16(4):408-418. ISSN 1025-0255.
16. Dantas RC, Ferreira ML, Gontijo-Filho PP, Ribas RM. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. J Med Microbiol. 2014; 63(12): 1679-87. doi: 10.1099/jmm.0.073262-0.
17. De Gante-Martínez E, De Gibes Nuñez JE. *Pseudomonas aeruginosa* y la Implicación de los Mecanismos de Resistencia. Arch Salud Sin 2011;5(3): 80-85.

18. Devrim F, Serdaroğlu E, Çağlar İ, Oruç Y, Demiray N, Bayram N, *et al.* The emerging resistance in nosocomial urinary tract infections: from the pediatrics perspective. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2018;10(1):e2018055. doi: http://dx.doi.org/10.4084/MJHID.2018.055
19. Díaz J. *Detección de metalobetalactamasas (MBLs) en Pseudomonas aeruginosa resistentes a los carbapenems en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008.* Tesis de maestría. [Internet]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/243/Diaz_tj.pdf?sequence=1
20. Doria FAB, Osorio MÁD, Delgado ÁBM, Acero CT. Aislamiento clínico de *Pseudomonas aeruginosa* productor de KPC-2 en la ciudad de Montería, Córdoba, Colombia Infect 2013; 17(1):35-38.
21. Ece G, Samlioglu P, Atalay S, Kose S. Evaluation of the in vitro colistin susceptibility of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii strains at a tertiary care centre in Western Turkey. Infez Med. 2014;22(1):36-40.
22. Espinosa Rivera F. Resistencia bacteriana de cepas aisladas en el Hospital Hermanos Ameijeiras. [Tesis para optar por el título de master en enfermedades infecciosas]. La Habana: Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Amejeirsa.2007.
23. Estepa Pérez V. Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos, integrones y tipificación molecular en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de diferentes orígenes [tesis doctoral]. Logroño; 2014.
24. Ferrero S, Gómez L, Reparaz M. *Resistencia a carbapenems por metalobetalactamasas en Pseudomonas aeruginosa.* 2009; Disponible en: http://www.unne.edu.ar/unnevieja/investigacion/com2009/CM-073.pdf.
25. Fragozo Mendoza LC, Villalobos Caballero CA. *Pseudomona aeruginosa*: ESTADO DEL ARTE[Tesis doctoral].Universidad Libre Barranquilla;2016.

26. García J. Resistencia antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados. [Tesis para optar por el título de Especialista de Primer Grado de Microbiología]. La Habana: IPK 2011.
27. García MM. Carbapenemasas, una amenaza actual. Rev Cub Med Int Emerg 2012;11(4):2613- 2618.
28. Gaspareto P, Martins A, Zavascki A, Barth A. Occurrence of *bla*spm-1 and *bla*imp-1 genes of metallo-β-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from three universitary hospitals in the city of Porto Alegre, Brazil. Braz J Microbiol. 2007; 38: 108-109.
29. Gastelo-Acosta RM, Díaz-Sipión RS, Maguiña Vargas C. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. Acta Med Perú. 2016; 33(3): 183-188.
30. Gómez CA, Leal AL, Pérez de Gonzales MJ, Navarrete ML. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* entendiendo a un peligroso enemigo. Rev Fac Med Univ Nacl Col. 2005; 53(1): 29-34.
31. Gonzales-Escalante E, Vicente-Taboada W, Champi-Merino R*, et al.* Metalo-ß-lactamasas en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en Lima, Perú. Rev Perú Med Exp. Salud publica 2013; 30(2):186-191.
32. González Bonet I, Travieso Ruiz F, González Mesa L, Álvarez Varela E, Tillán Ochoa G, Contreras Alarcón R. Sistema DIRAMIC: Primer reporte multicéntrico de los resultados de los ensayos de susceptibilidad a antibióticos. Revista CENIC. Ciencias Biológicas [Internet]. 2006;37(1):49-53. Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220542009.
33. Gupta P, Bhatia M, Gupta P, Omar BJ. Emerging Biocide Resistance among Multidrug-Resistant Bacteria: Myth or Reality? A Pilot Study. J Pharm Bioallied Sci. 2018;10(2):96-101. doi: 10.4103/JPBS.JPBS_24_18.
34. Guzek A, Rybicki Z, Korzeniewski K, Mackiewicz K, Saks E, Chciałowski A, Zwolińska E. Etiological factors causing lower

respiratory tract infections isolated from hospitalized patients. Adv Exp Med Biol. 2015;835:37-44. doi: 10.1007/5584_2014_23.

35. Jawestz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología Médica. 25 Ed. México; 2011:227-230.
36. Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Gutiérrez-Soto M, Del Pilar Aznarte-Padial M, *et al.* Urinary tract infection by Acinetobacter baumannii and *Pseudomonas aeruginosa*: evolution of antimicrobial resistance and therapeutic alternatives. J Med Microbiol. 2018; 25. doi: 10.1099/jmm.0.000742.
37. Juayang A, Lim JP, Bonifacio AF, Lambot AV, Millan SM, Sevilla VZJ, *et al.* Five-Year Antimicrobial Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* from a Local Tertiary Hospital in Bacolod City, Philippines. Trop Med Infect Dis. 2017;2(28). doi:10.3390/tropicalmed2030028
38. Liu L, Liu B, Li Y, Zhang W. Successful control of resistance in Pseudomonas aeruginosa using antibiotic stewardship and infection control programs at a Chinese university hospital: a 6-year prospective study. Infect Drug Resist. 2018;11:637-646. doi: 10.2147/IDR.S163853.
39. Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco NM, Zauzo Silva JL, editores. Microbiología y Parasitología médicas. Tomo1. La Habana: Ciencias Médicas; 2001: pp. 302-309.
40. Lloria M. Manejo de las infecciones por organismos multidrogorresistentes. Sociedad de Terapia Intensiva. Comité de Infectología Crítica. 2009. Disponible en: https://www.sati.org.ar/files/infectologia/2009-Infecciones-por-P-aeruginosa-en-UTI-%20Revision.pdf.
41. Lopes SP, Ceri H, Azevedo NF, Pereira MO. Antibiotic resistance of mixed biofilms in cystic fibrosis: impact of emerging microorganisms on treatment of infection. Int J Antimicrob Agents. 2012;40:260-263.
42. López-Causapé C, Sommer LM, Cabot G, Rubio R, Ocampo-Sosa AA, Johansen HK, *et al.* Evolution of the *Pseudomonas aeruginosa* mutational resistome in an international Cystic Fibrosis clone. Sci Rep. 2017;7:5555. doi: 10.1038/s41598-017-05621-5.
43. López-Martínez B, Alcázar-López V, Castellanos-Cruz M del C, Franco-Hernández MI, Jiménez-Tapia Y, De León-Ham A, *et al.* Vigilancia

institucional de la susceptibilidad antimicrobiana en patógenos de interés clínico. Boletín médico del Hospital Infantil de México. 2013; 70:222-9.

44. Luján Roca DA. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. Acta bioquím clín latinoam 2014; 48(4): 465-474.
45. Mac Faddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. La Habana: Ciencias Médicas; 2006.
46. Magalhães V, Lins A, Magalhães M. Metallo-β-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in hospital in Recife, Brazil. Braz J Microbiol. 2005;36:123-125.
47. Manual de Normas y procedimientos. Hospital Hermanos ameijeiras. 2017. Disponible en: http://www.hha.sld.cu.
48. Martínez P, Mercado M, Máttar S. Determinación de β-lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería, Colombia. Colombia Médica. 2003; 34: 196-205.
49. Matos EC, Matos HJ, Conceição ML, Rodrigues YC, Carneiro IC, Lima KV. Clinical and microbiological features of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* in patients hospitalized in intensive care units. Rev Soc Bras Med Trop. 2016;49(3):305-11. doi: 10.1590/0037-8682-0446-2015.
50. Medell Gago M, Hart Caceres M, Mora Diaz. *Acinetobacter baumannii versus Pseudomonas aeruginosa.* Comportamiento en pacientes críticos con ventilación mecánica. Rev cubana med 2012;51(3):15-22
51. Mena J *et al.* Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by Pseudomonas aeruginosa: Guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy. Rev Esp Quimioter 2018;31(1):78-100.
52. Mendes de Lacerda G, Brito Monteiro A, Relison Tintino S, *et al.* [*Atividade moduladora sobre antibióticos pelo extrato aquoso das folhas de Bauhinia ungulata* L]. Rev Cubana Plant Med 2016;21(3):
53. MIC Test Strip Technical Sheet KPC – MTS35-Rev.4/07.08.2015.
54. Micek ST, Wunderink RG, Kollef MH *et al.* An international multicenter retrospective study of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance. Crit Care 2015;19:219.

55. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). Resolución Nº 38. Lista Oficial de los Agentes Biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas. Gaceta Oficial República de Cuba. 2006; 56: 999-1001.
56. Molin C.Detección Fenotípica de Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* en Pacientes que acudieron al Hospital de Clínicas San Lorenzo de febrero a julio 2013. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2016;14(1): 25-31.
57. Montero MM. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos [Tesis Doctoral]: Universidad Autónoma de Barcelona; 2012.
58. Morales G, Baleta B, Camargo S, Correa M. Determinación de β-lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* en un Hospital público de la ciudad de Valledupar. Revista Colombiana de Medicina Tropical. 2008;2:49-55.
59. More SR, Raut SS, Gujar VM, Rathod VS, Rajhans VV, Kale CD. Antibiotic Susceptibility Pattern of Pseudomonas Aeruginosa Isolated From Various Clinical Samples at a Tertiary Care Centre. IJHSR. 2015;5(1):119-124.
60. Moreno J, Castillo Y,Delgado A, *et al.* *β*-lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en gérmenes gramnegativos aislados de muestras clínicas en los servicios de hospitalización. Unidad de infectología. Hospital Universitario "Dr. ÁngelLarralde". Estado Carabobo, enero - septiembre 2013. Bol Venez Infectol 2015; 26 (2):65-76.
61. Moya A, Berrios D, Almenares JF, Ibáñez LN, Hernández J, Joó L, *et al*. Serotipificación y susceptibilidad antibacteriana de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes quemados infectados. VacciMonitor. 2003;12(2):13-8.
62. Moya B, Barcelo IM, Bhagwat S, Patel M, Bou G, Papp-Wallace KM, *et al*. WCK 5107 (Zidebactam) and WCK 5153 Are Novel Inhibitors of PBP2 Showing Potent "β-Lactam Enhancer" Activity against *Pseudomonas aeruginosa*, Including Multidrug-Resistant Metallo-β-

Lactamase-Producing High-Risk Clones. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(6). pii: e02529-16. doi:10.1128/AAC.02529-16.

63. Murray PR, Rosental KS, Pfaüer MA. Microbiología Médica. 5ta. Ed. España: Gea consultoría editorial, S.LL; 2007:357-362.
64. Nasirmoghadas P, Yadegari S, Moghim S, Esfahani BN, Fazeli H, Poursina F, *et al*. Evaluation of Biofilm Formation and Frequency of Multidrug-resistant and Extended Drug-resistant Strain in Pseudomonas aeruginosa Isolated from Burn Patients in Isfahan. Adv Biomed Res. 2018; 24(7):61. doi: 10.4103/abr.abr_37_17.
65. Nasr AM, Mostafa MS, Arnaout HH, Elshimy AAA. The effect of exposure to sub-inhibitory concentrations of hypochlorite and quaternary ammonium compounds on antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. Am J Infect Control. 2018;46(7):e57-e63. doi: 10.1016/j.ajic.2018.04.201.
66. Núñez L. *Epidemiologia molecular de Pseudomonas aeruginosa productoras de metalobetalactamasas.* Tesis de maestría. [Internet]. [Venezuela]: Universidad del Zulia; 2009. Disponible en: http://tesis.luz.edu.ve/tde_busca/processaPesquisa.php?pesqExecutada=1&id=2219
67. Ochoa SA, Montiel FL, Escalona G, Córdoba AC, Dávila LB, Martínez BL, *et al*. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. Bol Med Hosp Infant Mex. 2013; 70(2): 138-150.
68. Oliver A, Mulet X, López-Causapé C, Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. Drug Resist Updat. 2015;2:41–59. doi:10.1016/j.drup.2015.08.002
69. Oliver A. Epidemiología y mecanismos de resistencia a carbapenemas en *Pseudomonas aeruginosa*: papel de los clones de alto riesgo en la multirresistencia. Enferm Infecc Microbiol Clin 2017;35:137-138. DOI: 10.1016/j.eimc.2016.11.006.
70. Paulsson M, Granrot A, Ahl J, *et al.* Antimicrobial combination treatment including ciprofloxacin decreased the mortality rate of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: a retrospective cohort study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017;36:1187-1196.

71. Pellegrino F, Netto-dos Santos K, Riley L, Moreira B. B*laGES* carrying *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a public hospital in Rio de Janeiro, Brazil. Braz J Infect Dis. 2006;10(4):251-253.
72. Pena C, Cabot G, Gomez-Zorrilla S, *et al.* Influence of virulence genotype and resistance profile in the mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. Clin Infect Dis 2015; 60(4):539-548.
73. Pérez Monrás MF, Batlle Almodóvar M del C, Verdera Hernández J, Llop Hernández A. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de pacientes con fibrosis quística. Rev Cub Med Trop. 2006;58:0-0.
74. Perozo AJ, Castellano MJ, Ling E, Arraiz N. Detección fenotípica de metalobetalactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. Revista Kasmera. 2012;40:113-121.
75. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. J Clin Microbiol. 2005;43:3129-3135.
76. Pollack M. Pseudomonas aeruginosa. En Mandell, Douglas, Bennet eds. Enfermedades Infecciosas: Principios y Prácticas. 5ta Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA 2002: 2802-2834.
77. Qin X, Zhou C, Zerr DM, Adler A, Addetia A, Yuan S, *et al*. Heterogeneous Antimicrobial Susceptibility Characteristics in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Cystic Fibrosis Patients. mSphere. 2018;3(2). pii: e00615-17. doi: 10.1128/mSphere.00615-17.
78. Rehab A, Nehal H, Gamal F. Prevalence of extended spectrum betalactamase, ampc betalactamase and metallo-β-lactamase among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. J Adv Biotech Bioeng. 2013;1:22-29.
79. Rizo AG, Rodríguez DS, Sierra OL, Martínez ZB, Izquierdo AM. Sensibilidad de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a beta-lactámicos Beta-lactams susceptibility in Pseudomonas aeruginosa Strains. Acta Bioquím Clín Latinoam 2007;41(1):63-6.

80. Rizvi M, Ahmad J, Khan F, Shukla I, Malik A, Sami H. Synergy of drug combinations in treating multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Australas Med J. 2015; 8(1):1-6. doi: 10.4066/AMJ.2015.2096.
81. Rodríguez MJM, Poirel L, Nordmann P. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemoth. 2009; 53: 4783-4788.
82. Saavedra S, Duarte C, González M, Realpe M. Caracterización de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas de siete departamentos de Colombia. Rev Bioméd. 2014; 34: 217-223.
83. Sader HS, Huband MD, Castanheira M, Flamm RK. *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial susceptibility results from four years (2012 to 2015) of the International Network for Optimal Resistance Monitoring program in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61:e02252-16. https:// doi.org/10.1128/AAC.02252-16.
84. Saeed M, Rasheed F, Afzal RK, Hussain S, Riaz S, Ahmad A. *Pseudomonas aeruginosa*: Evaluation of Pathogen Burden and Drug-Resistance Trends in a Tertiary Care Hospital. J Coll Physicians Surg Pak. 2018;28(4):279-283. doi: 10.29271/jcpsp.2018.04.279.
85. Scheffer M, Bazzo M, Steindel M, Darini A, Clímaco E, Dalla L. Intrahospital spread of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. Rev da Soc Bras Med Trop. 2010;43:367-371.
86. Sharma J, Singh S, Gill AK, Kaur A. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from pus samples in a tertiary care hospital, Bathinda. Int J Contemp Med Res. 2016;3(12):3481-3483.
87. Sommerfeld RS, Fiegel J. Nutrient dispersion enhances conventional antibiotic activity against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Int J Antimicrob Agents. 2012;40:177-181.
88. Subramanian P, Shanmugam N, Sivaraman U, Kumar S, Selvaraj S. Antiobiotic resistance pattern of biofilm-forming uropathogens isolated from catheterised patients in Pondicherry, India. Australas Med J. 2012; 5:344-348.

89. Thaden JT, Park LP, Maskarinec SA, Ruffin F, Fowler VG, Jr., van DD. Increased mortality associated with bloodstream infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* as compared to other bacteria: Results of a 13-year prospective cohort study. Antimicrob Agents Chemother 2017; 61(6). pii: e02671-16.
90. Tillotson GS, Zinner SH. Burden of antimicrobial resistance in an era of decreasing susceptibility. Expert Rev Anti Infect Ther. 2017;15(7):663-676. doi:10.1080/14787210.2017.1337508.
91. Tovar J. *Susceptibilidad antimicrobiana y detección de genes de resistencia para la producción de betalactamasas, en cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas de muestras clínicas.* Tesis de licenciatura. [Internet]. [Venezuela]: Universidad de Oriente Núcleo de Sucre; 2008. Disponible en: http://ri.bib.udo.edu.ve/handle/123456789/4035
92. Vahdani M, Azimi L, Asghari B, Bazmi F, Rastegar L. Phenotypic screening of extended spectrum ß-lactamase and metallo ß-lactamase in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns. Annals of Burns and Fire Disasters. 2012;25:78-81.
93. Veeraraghavan B, Jesudason MR, Prakasah JAJ, Anandan S, Sahni RD, Pragasam AK, *et al*. Antimicrobial susceptibility profiles of gram-negative bacteria causing infections collected across India during 2014-2016: Study for monitoring antimicrobial resistance trend report. Indian J Med Microbiol. 2018;36(1):32-36. doi: 10.4103/ijmm.IJMM_17_415.
94. Villa LM, Cortés JA, Leal AL, Meneses A, Meléndez MP, Grupo para el Control de la Resistencia de Bogotá. Pseudomonas aeruginosa resistente a antimicrobianos en hospitales colombianos. Rev Chilena Infectol. 2013;30(6):605-610.
95. VITEK-2 General information (Clinical Microbiology Product) bioMerieux Inc, 2004.
96. Walkty A, Lagace-Wiens P, Adam H, Baxter M, Karlowsky J, Mulvey MR, McCracken M, Zhanel GG. Antimicrobial susceptibility of 2906 *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates obtained from patients in Canadian hospitals over a period of 8 years: Results of the Canadian

Ward surveillance study (CANWARD), 2008-2015. Diagn Microbiol Infect Dis. 2017;87(1):60-63. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.003.

97. Wilson R, Dowling RB. *Pseudomonas aeruginosa* /and other related species. Thorax 1998;53(3):213-219.

98. Yamada T, Ishiguro N, Oku K, Higuchi I, Nakagawa I, Noguchi A, *et al*. Successful Colistin Treatment of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infection Using a Rapid Method for Determination of Colistin in Plasma: Usefulness of Therapeutic Drug Monitoring. Biol Pharm Bull. 2015;38(9):1430-3. doi: 10.1248/bpb.b15-00323.

ANEXOS

Ficha de recogida de datos

Número de entrada: _____ Fecha: _____

No. HC: _____

Servicio de ingreso: _____

Días de estadía hospitalaria: _____

Tipo de muestra: _____

Diagnóstico clínico del paciente: _____

Resultados microbiológicos:

Identificación de especie: _____

Susceptibilidad antimicrobiana: _____

Otros datos de interés:

_____
_____