



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICÓLAS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE QUIMICO-FARMACOBIOLOGÍA**

**TESIS:**

**ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA NOSOCOMIAL ASOCIADA A  
VENTILACIÓN MECÁNICA EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA.**

**HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA “EVA SAMANO DE LOPEZ MATEOS”**

**LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**PARA OBTENER EL TÍTULO EN:**

**QUIMICO-FARMACOBIOLOGÍA**

**AUTOR: P.QFB ANA LAURA TORRES SEGURA.**

**ASESOR: M.S.P MARÍA DE LOURDES SANCHEZ CRUZ  
MAESTRA EN SALUD PÚBLICA**

**MORELIA, MICHOACÁN, ENERO 2015**

## **DEDICATORIAS:**

**A mis padres:** Por ser los cimientos fuertes de apoyo, tanto para mi formación académica, como para ser una buena persona llena de valores y con ganas de crecer siempre en todos los aspectos de la vida.

Para ellos que a pesar de todo siempre han estado ahí para apoyarme, ayudarme, orientarme y hacerme sentir fuerte en momentos de debilidad, por aceptarme tal y como soy, por amarme y tener sus brazos abiertos siempre para mí incondicionalmente.

**A mi abuelita Sarita:** Ahora ya no está con nosotros, me dolió su partida, justo cuando apenas comenzaba éste sueño, sé que no puede estar aquí presente, pero a pesar de su ausencia su recuerdo lo llevo conmigo siempre, el cariño y cuidados que ella me brindo, son parte de la persona que soy ahora, sé que ella siempre estuvo orgullosa de mí, y ver que termine una etapa más de mi vida, la haría muy feliz.

## **AGRADECIMIENTOS:**

**A Dios:** Por darme salud para poder llevar a cabo este proyecto y todo lo que he realizado en torno a ello, por todas las bendiciones y alegrías recibidas, por los desafíos que me hacen más fuerte, por la esperanza de que todo va a estar mejor, por cuidarme y por darme la oportunidad de crecer, ser independiente y no perderme en el camino.

**A mis hermanos:** Chery, Diana y Sami, por ser parte de mi vida y darme siempre una sonrisa y un abrazo a pesar de mis largas ausencias, por escucharme, por sus consejos, por quererme y hacerme participe de sus planes y proyectos, por decirme eres fuerte y puedes lograrlo, por creer en mí y hacerme sentir su cariño.

**A Evelyn:** Esa niñita que llevo apenas hace un año a nuestras vidas, que sólo son su sonrisa y sus ojos me hacen ver la vida diferente, me hacen darme cuenta que hay tantas cosas que se demuestran sin siquiera saber hablar, ella ilumina mis días, los hace más felices, sus muestras de cariño espontaneas me llenan de alegría, sus carcajadas me contagian, casi es imposible creer como puedes llegar a querer tanto a una personita tan pequeña. Te quiero mi niña.

**A Edgar:** Por apoyarme en éste proyecto y tantas otras cosas, por cuidarme, por darme sus consejos, por ser mi compañero incondicional siempre en tantas situaciones, por quererme, por ser parte de mi vida, por respetar mis decisiones y opiniones, por compartir su tiempo conmigo, por escucharme, por ser mi mejor amigo, por regalarme abrazos y sonrisas sin límite, por hacer evidente lo mejor de mí y amarme como lo haces. Te amo Peke.

**A mis asesores Lulú y Kary:** Por transmitir sus conocimientos conmigo, por pensar en mí para este proyecto, por apoyarme y orientarme siempre que lo necesite, por regalarme sus sonrisas, abrazos y charlas largas, por confiar en mí, por brindarme su amistad, y por permitir que nuestra relación fuera más allá de trabajo. Sin la ayuda de ustedes no podría haber logrado éste trabajo. Mis infinitas gracias para ustedes.

**A mis revisores:** Por aceptar revisar y leer detenidamente mi trabajo, expresarme sus opiniones y puntos de vista para mejorarlo, de esta manera el proyecto resultó estar completo y bien estructurado para su lectura y entendimiento.

**A mis amigos, conocidos y otras personas:** que directa o indirectamente han colaborado para este proyecto, por facilitarme las cosas en diversas situaciones y por hacer que mi estadía en Morelia sea grata.

Mientras exista un motivo para seguir y esté rodeada de personas buenas como ustedes estaré agradecida con la vida.

## RESUMEN:

Los pacientes hospitalizados en la Unidad de Terapia Intensiva pueden ser predisponentes a adquirir una infección **nosocomial**.

La **neumonía** asociada a **ventilación mecánica** (NAV) se mantiene como una entidad de alta mortalidad que afecta a las poblaciones sometidas a este procedimiento. El soporte de ventilación artificial, favorece la entrada de **microorganismos patógenos** al sistema respiratorio, ya que rompe las barreras físicas fisiológicas del cuerpo.

Los microorganismos de mayor incidencia son *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, y *Candida sp.* Siendo la mayor parte de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes.

A pesar de que se han diseñado estrategias para iniciar un tratamiento oportuno y apropiado, mejorando el pronóstico de mortalidad de los enfermos, no es menos cierto que la mortalidad atribuible es aún elevada con una terapia adecuada. Por esto, el desarrollo y ejecución de medidas de prevención adecuadas parece ser uno de los esfuerzos más acertados para la disminución de la morbi-mortalidad asociada a este cuadro.

Esto junto a los cambios epidemiológicos en los microorganismos implicados y la elevada resistencia a los antimicrobianos obliga a plantear medidas preventivas eficaces, a hacer un uso racional de los **antibióticos** y a utilizar los medios sanitarios disponibles con rigor científico.

*Palabras clave: neumonía, nosocomial, microorganismos, patógenos, ventilación mecánica, antibióticos.*

## ABSTRAC:

Patients hospitalized in the ICU can be predisposing to acquire a **nosocomial** infection.

The **mechanical ventilation** associated **pneumonia** (VAP) remains a high mortality entity affecting populations subjected to this procedure. Support for artificial ventilation, facilitates the entry of **pathogenic microorganisms** respiratory system as it breaks physical barriers physiological body.

Higher incidence microorganisms are *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Candida sp.* Since most multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains.

Although strategies are designed to initiate a timely and appropriate treatment, improving the prognosis of mortality of patients, the fact remains that the attributable mortality is high even with appropriate therapy.

Therefore, the development and implementation of appropriate preventive measures seems to be one of the most successful efforts to decrease morbidity and mortality associated with this condition.

This, together with the epidemiological changes in the microorganisms involved and the high antimicrobial resistance forces to raise effective preventive measures, to make rational use of **antibiotics** and use health resources available to scientific rigor.

*Keywords: pneumonia, nosocomial, microorganisms, pathogens, mechanical ventilation, antibiotics.*

<b>1</b>	<b>MARCO TEORICO</b>	<b>1</b>
1.1	LA NEUMONIA	1
1.1.1	NEUMONIA POR VENTILACIÓN MECÁNICA	2
1.2	ANTECEDENTES Y EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA VENTILACIÓN ARTIFICIAL MECÁNICA	4
1.3	VENTILACIÓN MECÁNICA	7
1.3.1	Principales funciones de los ventiladores mecánicos	7
1.3.2	Funcionamiento de un ventilador	7
1.3.3	Principales riesgos de la ventilación mecánica	8
1.4	EPIDEMIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A LA VENTILACIÓN MECÁNICA	10
1.5	ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA	10
1.5.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	12
1.5.1.1	Generalidades	12
1.5.1.2	Características microscópicas	13
1.5.1.3	Fisiología	14
1.5.1.4	Identificación bacteriana	15
1.5.1.5	Mecanismos de resistencia	17
1.5.1.6	Alteraciones en la membrana externa	17
1.5.1.6.1	Sistemas de expulsión activa	17
1.5.1.6.2	Producción de betalactamasas	18
1.5.1.7	Tratamiento	18
1.5.2	<i>Escherichia coli</i>	20
1.5.2.1	Generalidades	20
1.5.2.2	Genoma	21
1.5.2.3	Hábitat	22
1.5.2.4	Características bioquímicas	23
1.5.2.5	PATOGENIA	24
1.5.2.6	Cuadro clínico	25
1.5.2.7	Tratamiento	26
1.5.3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27
1.5.3.1	Generalidades	27
1.5.3.2	Características	27
1.5.3.3	Factores de virulencia	28
1.5.3.3.1	Polisacáridos capsulares (CPSs)	29
1.5.3.3.2	Pilis (Fimbrias)	29
1.5.3.3.3	Sideroforos	31
1.5.3.3.4	Lipopolisacáridos (LPS)	32
1.5.3.4	Diagnóstico	34
1.5.3.5	Tratamiento	34
1.5.4	<i>Candida albicans</i>	34
1.5.4.1	Generalidades	34
1.5.4.2	Composición química	36
1.5.4.3	Metabolismo	38
1.5.4.4	Anatomía patológica y patogenia	39
1.5.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	40
1.5.5.1	Generalidades	40
1.5.5.2	Genoma	41
1.5.5.3	Características	42
1.5.5.4	Metabolismo	43
1.5.5.5	Patogenicidad	43
1.5.5.5.1	<b>Ácidos teicoicos</b>	44
1.5.5.5.2	<b>Catalasa</b>	45
1.5.5.5.3	<b>Proteína A</b>	45
1.5.5.5.4	<b>Coagulasa</b>	45

1.5.5.5.5	<b>Otras estructuras:</b> .....	45
1.5.5.5.6	Toxinas:.....	46
1.5.5.5.7	<i>Citotoxinas:</i> .....	46
1.5.5.5.8	Hemolisina- $\alpha$ :.....	46
1.5.5.5.9	Hemolisina- $\beta$ :.....	46
1.5.5.5.10	Hemolisina- $\delta$ :.....	47
1.5.5.5.11	<i>Enterotoxinas:</i> .....	48
1.5.5.5.12	Toxinas exfoliativas:.....	48
1.5.5.5.13	<i>Toxina-1 del síndrome de shock tóxico:</i> .....	49
1.5.5.5.14	Enzimas:.....	49
1.5.5.6	Regulación de los factores de virulencia:.....	49
1.5.6	<i>Enterococcus faecalis</i> .....	49
1.5.6.1	Generalidades:.....	49
1.5.6.2	Patogenicidad:.....	51
1.5.6.2.1	Sustancia de agregación.....	51
1.5.6.2.2	Adhesinas o proteínas de superficie.....	52
1.5.6.2.3	Feromonas sexuales:.....	53
1.5.6.2.4	Acido lipoteicoico:.....	54
1.5.6.2.5	Superóxido extracelular:.....	55
1.5.6.2.6	Gelatinasa:.....	55
1.5.6.2.7	Hialuronidasa:.....	55
1.5.6.2.8	Citolisina (Hemolisina):.....	56
1.5.7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	56
1.5.7.1	Generalidades:.....	56
1.5.7.2	Morfología e identificación:.....	58
1.5.7.3	Características del crecimiento.....	59
1.5.7.4	Estructura antigénica.....	60
1.5.7.5	Toxinas y enzimas (factores de virulencia):.....	61
1.5.7.6	Patogenia:.....	63
1.5.7.7	Datos clínicos:.....	64
1.5.8	<i>Enterobacter cloacae</i> .....	65
1.5.8.1	Generalidades:.....	65
1.5.8.2	Genoma:.....	67
1.5.8.3	Estructura celular y metabolismo:.....	67
1.5.8.4	Ecología:.....	68
1.5.8.5	Patología:.....	68
<b>2</b>	<b>DIAGNOSTICO CLINICO Y MICROBIOLOGICO DE LA NEUMONIA.....</b>	<b>69</b>
<b>3</b>	<b>TRATAMIENTO DE LA NEUMONIA ASOCIADA A VENTILACIÓN MECANICA.....</b>	<b>72</b>
<b>4</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:.....</b>	<b>76</b>
<b>5</b>	<b>JUSTIFICACIÓN:.....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>OJETIVO GENERAL:.....</b>	<b>78</b>
6.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	78
<b>7</b>	<b>METODOLOGIA:.....</b>	<b>79</b>
<b>8</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>87</b>
<b>9</b>	<b>RESULTADOS ESTADISTICOS: TABLA CUADRICELULAR.....</b>	<b>98</b>
<b>10</b>	<b>DISCUSIÓN:.....</b>	<b>99</b>
<b>11</b>	<b>CONCLUSIÓN:.....</b>	<b>101</b>
<b>12</b>	<b>BIBLIOGRAFIA:.....</b>	<b>102</b>

## 1 MARCO TEORICO

### 1.1 LA NEUMONIA

La neumonía se define como la inflamación del parénquima pulmonar, con compromiso variable de alveolos, intersticio y vía aérea pequeña, que puede afectar desde un segmento hasta un pulmón completo, se caracteriza por un infiltrado exudativo celular.<sup>1</sup>

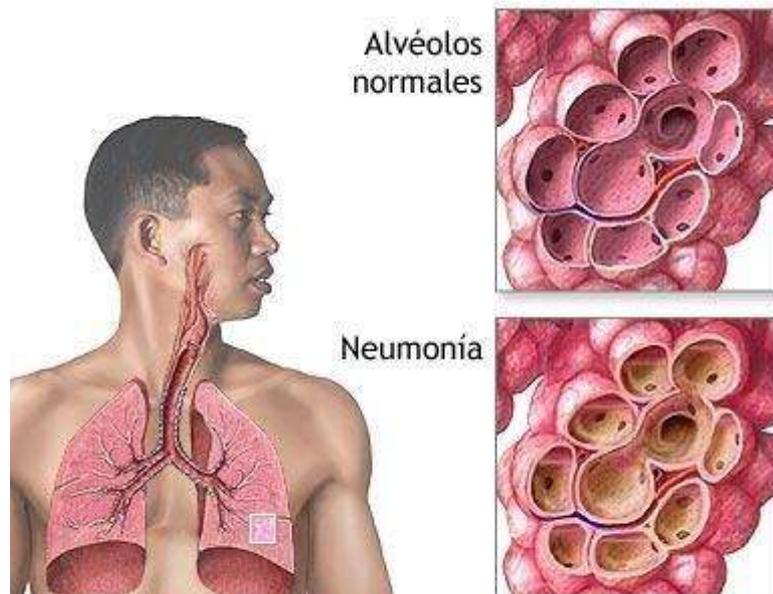


Figura 1.- Apariencia de los alvéolos de los pulmones normales y cuando hay presencia de neumonía<sup>1</sup>.

La neumonía puede estar causada por diferentes agentes infecciosos (virales, bacterianos, fúngicos, rickettsias, parásitos), por distintos procesos inflamatorios (LES, sarcoidosis, histiocitosis), así como por sustancias tóxicas (agentes químicos, polvos, mohos, hidrocarburos, sustancias lipoides, gases, contenido gástrico o alimenticio) que se aspiran o que se inhalan.<sup>2</sup>

En los últimos años, y debido a la utilización de antibióticos, la mortalidad por neumonía ha descendido<sup>3</sup>, aunque todavía en el mundo, cada año mueren alrededor de 4 millones de niños menores de 5 años por infecciones respiratorias agudas; y en más del 90 % de los casos, la causa principal de muerte es la neumonía.<sup>2</sup>

Las neumonías se presentan a cualquier edad, aunque son más frecuentes en niños y ancianos. Están especialmente predisuestas las personas que viven con bajo nivel socioeconómico y en condiciones de hacinamiento.<sup>3</sup>

### 1.1.1 NEUMONIA POR VENTILACIÓN MECANICA

Existe la neumonía nosocomial la cual se define como aquella neumonía que se desarrolla después de 48 horas de que un paciente ha sido intubado por vía endotraqueal y sometido a ventilación mecánica (VM) y que no estaba presente en el momento del ingreso, ni el periodo de intubación, o que es diagnosticada en las 72 horas siguientes a la extubación y retirada de la ventilación mecánica.<sup>4</sup>

La neumonía asociada a ventilador (NAV), es una entidad clínica con elevada prevalencia en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). De las infecciones nosocomiales es la que tiene mayor mortalidad; su incidencia aumenta de manera exponencial con cada día de ventilación mecánica (VM). Entre otros factores de riesgo además de la VM están la alcalinidad gástrica, mal manejo de material de inhala terapia, uso indiscriminado de antibióticos, y la multiplicidad de procedimientos invasivos.<sup>4</sup>

Existen dos grandes grupos de neumonía asociada a ventilación mecánica:

1. NAV de inicio temprano, la cual se instala en los primeros 4 días de intubación, causada por la flora normal orofaríngea y con una mortalidad asociada baja. Generalmente son infecciones por cocos grampositivos o *Haemophilus influenzae*. Se asocian a buen pronóstico.
2. NAV de inicio tardío, la cual aparece en enfermos que previamente han recibido tratamiento antibiótico, lo que facilita la colonización y sobreinfección por gérmenes como *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores, enterobacterias multirresistentes, *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (MRSA) y las levaduras las cuales aparecen después de los 5 días de ventilación y se asocia a mortalidad elevada por ser cepas multirresistentes.

Para sospechar de una NAV se deben considerar multiples factores importantes como: curso de fiebre o leucocitosis, secreciones purulentas y opacidad en la radiología de tórax.

La mortalidad adicional que provoca la NAVM, o mortalidad atribuible ha sido estudiada observándose un amplio rango que va desde 30 a 70% según diferentes estudios.<sup>5,6</sup>. Dichos reportes han demostrado que en los sobrevivientes se prolonga significativamente la estadía hospitalaria (4 a 13 días), aumenta el uso de antimicrobianos y se produce un incremento de los costos.<sup>6,7</sup> El papel de enfermería es fundamental en el cuidado de estos pacientes. Existen una serie de medidas preventivas básicas de obligado cumplimiento las cuales son: <sup>8</sup>

- a) Formación y entrenamiento apropiado en la manipulación de la vía aérea.
- b) Higiene estricta de las manos antes de manipular la vía aérea.
- c) Higiene bucal utilizando clorhexidina (0,12%- 0,2%).
- d) Control y mantenimiento de la presión del neumotaponamiento (> 20 cm H<sub>2</sub>O).
- e) Evitar, siempre que sea posible, la posición de decúbito supino a 0°.
- f) Favorecer los procedimientos que permitan disminuir de forma segura la intubación y/o su duración.
- g) Evitar los cambios programados de las tabuladoras, humidificadores y tubos traqueales.<sup>8</sup>

Así mismo, existen otra serie de medidas preventivas que son específicas y altamente recomendadas, es decir, no son de obligado cumplimiento:

- a) Aspiración continua de secreciones subglóticas.
- b) Descontaminación selectiva del tubo digestivo (completa u orofaríngea).
- c) Antibióticos sistémicos (dos días) durante la intubación en pacientes con disminución del nivel de consciencia.<sup>8</sup>

La neumonía asociada a la ventilación mecánica se considera desde hace mas de 20 años como un tema de actualidad debido a su frecuencia, gravedad y por sus implicaciones terapéuticas, por lo que se hace imprescindible el conocimiento de su etiopatogenia, el perfeccionamiento de las técnicas diagnósticas, la microbiología y la valoración de la eficacia terapéutica de los nuevos antimicrobianos.<sup>9</sup>

Las secreciones traqueales purulentas casi siempre están presentes en pacientes ventilados, pero pueden originarse tanto en el tracto respiratorio superior como inferior; en estos pacientes la porción de la tráquea superior entre el extremo distal del tubo endotraqueal y las cuerdas vocales actúa como reservorio de secreciones originadas en orofaringe, senos paranasales y estómago; mínimas manipulaciones de este tubo hacen que las secreciones se introduzcan en la tráquea, como consecuencia de esto, el cultivo de las

mismas, si bien posee una sensibilidad aceptable, presenta una especificidad muy baja ( 30%) .<sup>10</sup>

Esto se debe a la colonización orofaríngea con flora hospitalaria gram negativa que se produce tempranamente en los pacientes internados. A esto hay que sumarle el hecho de que no existe un verdadero estándar de oro y de que es muy difícil comparar distintos trabajos publicados puesto que varían considerablemente en su diseño (distintas poblaciones analizadas, diferentes estándares de oro, etc.)<sup>10</sup>

Todo lo anteriormente mencionado explica porque los criterios clínicos y radiológicos utilizados para definir neumonía en este grupo particular son poco precisos, constituyendo el lavado broncoalveolar y/o el cepillo protegido broncoscópico , sembrados en forma cuantitativa, las muestras de elección para ser analizadas junto con un score clínico/radiológico (CPIS) y de esta forma realizar un uso racional de antibióticos, evitando sobretratamientos, acortando la duración de la terapia empírica, minimizando la emergencia de cepas resistentes y disminuyendo la morbi-mortalidad asociada .<sup>10</sup>

Si bien el CPIS presenta algunos problemas para su aplicación en la práctica diaria y no es 100% sensible ni 100% específico, es una manera de objetivar los criterios clínicos y radiológicos. Fartoukh y cols demostraron que la incorporación del gram del lavado bronco alveolar (BAL) incrementaba la precisión en el diagnóstico de neumonía.<sup>10</sup>

## **1.2 ANTECEDENTES Y EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA VENTILACIÓN ARTIFICIAL MECÁNICA.**

La idea que el ser humano respirara a través de algo que no fuera su sistema respiratorio fue descrito por vez primera por el científico Galeno en un modelo animal , pero en 1530 el médico suizo Theophrastus Bombast von Hohenheim, mejor conocido como Paracelso, colocó un tubo en la boca de un paciente y le insufló aire con un fuelle pero, fue Andreas Vesalius, anatomista belga quien publica lo que pudiera considerarse el inicio de la ventilación artificial mecánica en 1543, al conectar la tráquea de un perro a un sistema de fuelles.<sup>11</sup>

En 1763, Smillie logró colocar un tubo de metal flexible en la tráquea a través de la boca de un paciente y utilizó su propio aliento para aplicar la presión

positiva necesaria para producir los movimientos respiratorios. En 1827, Leroy realiza este mismo procedimiento y el incremento de este proceder llevó a la muerte de algunos pacientes por la presencia de neumotórax. <sup>12</sup>

La traqueotomía no sería desarrollada hasta el siglo XIX, en respuesta a la obstrucción de la vía aérea producida precisamente por la difteria y fue Napoleón Bonaparte, quien ofreció una recompensa en metálico a quien descubriera una forma efectiva de combatir esta enfermedad que había matado a su sobrino. <sup>13</sup>

En 1775, John Hunter, un cirujano inglés investigador sobre trasplantes desarrolló para sus modelos animales, un sistema ventilatorio de doble vía que permitía la entrada de aire fresco por una de ellas y la salida del aire exhalado por otra. En 1782, este sistema fue adaptado para su uso en pacientes humanos. <sup>13</sup>

Cuatro años después, otro inglés, Charles Kite, le realizó dos mejoras importantes: colocó a los fuelles un sistema de válvulas de paso y los construyó de un volumen de aire aproximado de 500 ml, muy cercano al valor normal del volumen corriente respiratorio, que es la cantidad de aire que entra y sale del pulmón con cada respiración. <sup>13</sup>

El siguiente paso tecnológico importante lo dio Hans Courtois, quien en 1790 sustituyó los fuelles por un sistema de pistón-cilindro. <sup>14</sup>

Estos avances en la ventilación a presión positiva trajo consigo una serie de complicaciones asociadas como fueron: el inadecuado manejo de las secreciones y la infección.

John Dalziel fabricó el primer ventilador a presión negativa, que consistía en un tanque hermético donde el paciente dejaba sólo la cabeza y el cuello en el exterior, la presión negativa dentro del tanque era obtenida por medio de un fuelle accionado desde afuera por un pistón y una válvula unidireccional y Von Hauke, en Austria fue el primero en diseñar un respirador con presión negativa tipo "coraza". El respirador probablemente más usado en el mundo, en su forma original y con sus variaciones, fue diseñado por Drinker, McKann y Shaw en Boston en 1927; este aparato conocido como "pulmón de acero" o "pulmotor" fue usado esencialmente para el tratamiento de pacientes con poliomielitis. <sup>14</sup>

La superioridad de la ventilación a presión positiva quedó definitivamente confirmada durante la epidemia de polio de Copenhague, Dinamarca, en 1952, la cual llevó a un elevado número de pacientes a depender de la asistencia respiratoria mediante técnicas de presión negativa (pulmones de acero) y con las técnicas de respiración con presión positiva intermitente.<sup>12</sup>

En 1952, Ibsen crea las unidades de cuidados respiratorios y en esa misma fecha Lassen la ventilación asistida con presión positiva intermitente obteniendo una supervivencia más elevada que la ventilación con presión negativa.<sup>12</sup>

Con esta técnica los resultados fueron altamente reveladores: los primeros pacientes tratados con pulmón de acero, la mayoría sin traqueostomía, tuvieron una mortalidad en la fase aguda, del 87%,<sup>15</sup> los pacientes que fueron tratados mediante las técnicas de Ibsen y Lassen, con pacientes traqueostomizados y respiración controlada manual, registraron una mortalidad del 25%.<sup>4</sup> Dicha mortalidad estuvo relacionada con complicaciones tardías<sup>15</sup>.

El desarrollo en los ventiladores mecánicos de presión positiva con la aparición de nuevas modalidades o variantes en la forma de aplicar la ventilación, llevó a dividirlos en tres categorías: los que se controlan teniendo en cuenta el volumen de gas que dan al paciente, los que se regulan de acuerdo a una presión de gas máxima que el sistema debe aplicar a la vía aérea y los que combinan ambas técnicas. En cada etapa ha ido cambiando el rol del intensivista y del propio paciente buscando la garantía de una adecuada ventilación.<sup>15</sup>

En la etapa inicial, solo se buscaba asegurar que los pulmones fueran ventilados sin tener en cuenta la seguridad del proceder. En un segundo tiempo, el intensivista programaba los parámetros del ventilador y adaptaba el proceso a las necesidades del paciente, posteriormente una vez que el ventilador fue capaz de adaptarse automáticamente a las necesidades fisiológicas del paciente, se modificó de nuevo el rol del intensivista, pues disminuyó su papel de prefijar parámetros aunque continuó con el análisis de lograr los objetivos de la ventilación.<sup>15</sup>

La adaptación automática fue inicialmente limitada a los cambios mecánicos del pulmón, pero se le adicionó la posibilidad de adaptar la ventilación mecánica a la espontánea, permitiendo que esta última pudiera producirse aún en el curso del ciclo ventilatorio mecánico, de manera que se subordinara la ventilación mecánica a la espontánea facilitando de esa forma el destete.<sup>15</sup>

En Cuba, las unidades de terapia intensiva surgen en el año 1972, adjuntas al hospital Calixto García. Con la epidemia del dengue en 1981, se desarrollan las unidades de terapia intensiva pediátricas y con ello la ventilación mecánica.

### **1.3 VENTILACIÓN MECÁNICA.**

La ventilación mecánica es un tratamiento de soporte vital, el cual consta de una máquina que ayuda a respirar a las personas cuando no son capaces de hacerlo por sí mismas. El ventilador mecánico también se denomina ventilador, respirador o máquina de respirar. La mayoría de los pacientes que necesitan el apoyo de un ventilador debido a una enfermedad grave están ingresados en una unidad de cuidados intensivos (UCI).<sup>16</sup>

#### **1.3.1 Principales funciones de los ventiladores mecánicos.**

- Llevar oxígeno a los pulmones y el organismo.
- Ayudar a los pulmones a eliminar el dióxido de carbono.
- Facilitar el trabajo respiratorio.
- Lograr que respire un paciente que no lo hace debido a una lesión o traumatismo cerebral (como un coma) o una lesión de la médula espinal alta o una gran debilidad muscular.<sup>16</sup>

#### **1.3.2 Funcionamiento de un ventilador.**

El ventilador se conecta a la persona a través de un tubo (sonda endotraqueal o sonda ET) que se coloca en la boca o en la nariz y en dirección descendente hasta la tráquea. Cuando el médico coloca la sonda endotraqueal en la tráquea del paciente, se denomina intubación. Algunos pacientes presentan un orificio quirúrgico en su cuello y se conecta una cánula (traqueostomía o cánula "trac") a través de dicho orificio. La cánula trac puede permanecer tanto tiempo como sea necesario y es más segura que la sonda endotraqueal.<sup>16</sup>

El ventilador insufla aire (aire más el oxígeno según necesidades) en el interior de los pulmones de la persona. Puede ayudar al paciente haciendo todo el trabajo respiratorio o simplemente colaborando con la respiración del mismo. El ventilador puede proporcionar niveles de oxígeno más elevados que los proporcionados por una mascarilla de oxígeno u otros dispositivos.<sup>16</sup>

El ventilador puede proporcionar una presión (presión PEEP) que ayuda a mantener los pulmones abiertos de modo que los sacos aéreos no se colapsen. La sonda traqueal facilita la eliminación del moco si el paciente tiene una tos débil.<sup>16</sup>

Toda persona conectada a un ventilador en una unidad UCI estará conectada también a un monitor que mide frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, presión arterial y saturación de oxígeno ("sats"). Otras pruebas que pueden realizarse son radiografías de tórax y extracción de sangre para determinar oxígeno y dióxido de carbono ("gases sanguíneos"). Miembros del equipo médico (médicos, enfermeras, fisioterapeutas respiratorios) van a utilizar esta información para evaluar el estado del paciente y realizar ajustes en caso necesario.<sup>16</sup>

Un ventilador puede salvar la vida, pero su uso también tiene riesgos. Tampoco soluciona la enfermedad o lesión primaria; simplemente ayuda a mantener vivo al paciente hasta que otros tratamientos resulten eficaces. Los médicos siempre intentan ayudar a los pacientes a separarse del ventilador tan pronto como sea posible. El "destete" se refiere al proceso de liberar al paciente del ventilador. Algunos pacientes pueden estar conectados al ventilador durante sólo unas pocas horas o días mientras que otros pueden necesitar el ventilador durante más tiempo. Algunos pacientes nunca mejoran lo suficiente como para desconectarse del ventilador totalmente.<sup>16</sup>

### **1.3.3 Principales riesgos de la ventilación mecánica.**

Los problemas que pueden aparecer debido al uso de un ventilador son:

#### **Infecciones.**

La sonda endotraqueal o trac permite que los gérmenes (bacterias) penetren más fácilmente en los pulmones. Esto puede provocar una infección tipo neumonía. La neumonía puede ser un serio problema y puede significar que una persona tenga que permanecer conectada a la máquina por más tiempo. La neumonía puede lesionar los pulmones. Las personas muy enfermas pueden ser más propensas a la infección y pueden tratarse a menudo con antibióticos.<sup>16</sup>

## **Colapso pulmonar (neumotórax).**

A veces, una parte del pulmón que está débil puede llegar a estar demasiado llena de aire y empezarlo a perder. La fuga permite que el aire entre en el espacio situado entre el pulmón y la pared torácica. El aire en este espacio ocupa un sitio de modo que el pulmón empieza a colapsarse. Si se produce esta fuga de aire, hay que eliminarlo de dicho espacio. Los médicos pueden colocar un tipo diferente de sonda (sonda torácica) en el tórax entre las costillas para drenar el aire sobrante.

La sonda permite que el pulmón se vuelva a expandir y selle la fuga. La sonda torácica suele permanecer algún tiempo para asegurar que la fuga se ha detenido y se ha eliminado todo el aire sobrante. Raramente un colapso pulmonar puede causar la muerte.<sup>16</sup>

## **Lesión pulmonar:**

La presión de introducir aire dentro de los pulmones con un ventilador puede lesionar los pulmones. Los médicos intentan mantener este riesgo al mínimo utilizando la presión más baja necesaria. Niveles muy elevados de oxígeno también pueden ser nocivos para el pulmón. Los médicos sólo administran el oxígeno necesario para asegurarse de que el organismo recibe lo suficiente para mantener los órganos vitales.

En ocasiones es difícil reducir el riesgo cuando los pulmones están lesionados. Esta lesión puede a veces curar si la persona es capaz de recuperarse de la enfermedad grave.<sup>16</sup>

## **Efectos secundarios de las medicaciones.**

A veces los medicamentos sedantes pueden acumularse y el paciente puede permanecer en un sueño profundo durante horas o días incluso después de haber suprimido el medicamento. Los médicos y las enfermeras tratan de ajustar la correcta cantidad de medicación para cada paciente.

Los pacientes reaccionan de distinto modo a cada medicación. Si es necesaria la parálisis muscular, a veces los músculos están débiles durante un tiempo después de haberla suprimido. Esto mejorará con el tiempo.<sup>16</sup>

## 1.4 EPIDEMIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A LA VENTILACIÓN MECÁNICA

La Neumonía Nosocomial ocupa el segundo puesto dentro de las infecciones nosocomiales, así lo refleja el informe EPINE (2010), pero en las Unidades de Cuidados Intensivos, la Neumonía Asociada a Ventilación representa el 80% de todas las Neumonías Nosocomiales.

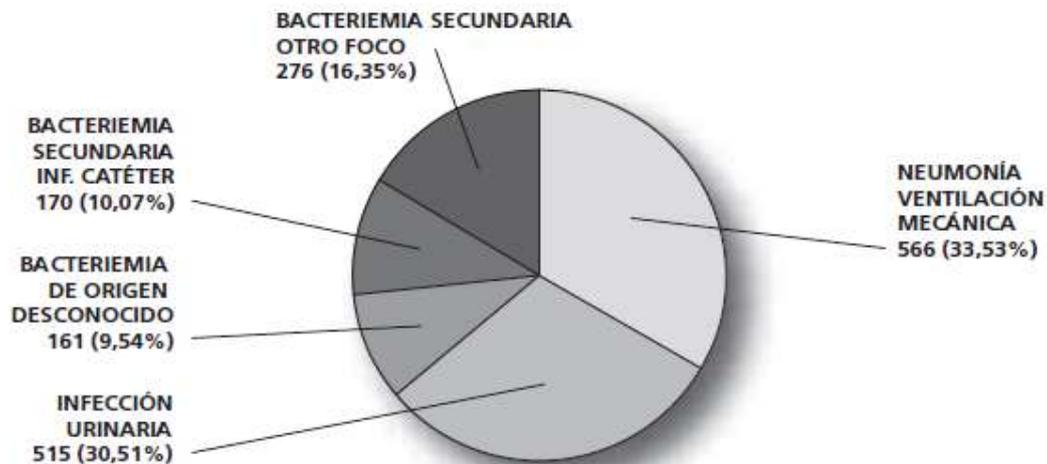


Figura 2: Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. Informe 2012

La Neumonía Asociada a Ventilación ocupa el primer puesto dentro de las Infecciones Nosocomiales de la Unidad de Cuidados Intensivos, alcanzando el 33.53% de las Infecciones Nosocomiales según los datos recogidos por el informe Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva (2012).<sup>16</sup>

## 1.5 ETIOLOGÍA DE LA NEUMONÍA.

La etiología varía acorde a cada hospital, a la población estudiada, antibióticos previos, enfermedad de base, al período de tiempo analizado y al momento de establecerse la infección.<sup>10</sup>

Dentro de los agentes etiológicos más frecuentes se encuentran los bacilos gram negativos, aproximadamente un 70% con respecto al total, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*,

*Enterobacter* spp, *Serratia marcescens*, con un orden de frecuencia que depende de cada hospital. *Staphylococcus aureus* es otro importante microorganismo que se aísla entre el 10-30% de los casos.<sup>10</sup>

En la neumonía temprana (< 5-7 días de intubación) pueden encontrarse *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, enterobacterias salvajes pero también microorganismos nosocomiales multirresistentes si el paciente tuvo internaciones previas a la derivación a terapia intensiva o recibió tratamiento antibiótico previo.<sup>10</sup>

Luego de los 7 días de internación predominan largamente los microorganismos multirresistentes. En pacientes con tratamiento antibiótico previo, principalmente cefalosporinas de 3<sup>o</sup> generación, carbapenems y fluorquinolonas, predominan microorganismos como *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes y cepas multiresistentes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* y enterobacterias.<sup>10</sup>

Las bacterias anaeróbicas, micobacterias y hongos, en tanto, se recuperan en un porcentaje muy bajo en pacientes con neumonía asociada a respirador. Los anaerobios deberían considerarse solo en pacientes con antecedentes de macroaspiración y/o empiema pleural.<sup>10</sup> Se han documentado también infecciones epidémicas por *Legionella* spp, virus sincicial respiratorio y parainfluenza A; los dos últimos pueden causar hasta un 20% de los casos en unidades pediátricas.

En pacientes inmunocomprometidos hospitalizados deben considerarse una serie de microorganismos adicionales como *Nocardia* spp, *Mycobacterium* spp, *Pneumocystis jiroveci*, *Toxoplasma gondii*, *Streptococcus viridans*, *Rhodococcus equi*, citomegalovirus, Herpes simple, etc.<sup>10</sup>

La etiología micótica (*Candida* y *Aspergillus*) es poco frecuente aunque debe contemplarse en pacientes neutropénicos y transplantados. En general el diagnóstico quedará limitado a la demostración de invasión de tejido en la biopsia de pulmón; el resto de las muestras carece de especificidad. La discusión central es como alcanzar un equilibrio en el balance entre evitar retraso en el inicio de la terapia antibiótica de aquellos pacientes que realmente la requieren y en reducir el uso innecesario de antibióticos. La falla en alcanzar el primer objetivo se traduce en una mayor mortalidad, en tanto que fallas en el segundo objetivo tiene como consecuencias un incremento considerable de costos así como de selección de cepas multiresistentes con el consiguiente incremento de la morbi-mortalidad.<sup>10</sup>

### 1.5.1 *Stenotrophomonas maltophilia*

Este microorganismo ha de considerarse como un patógeno de creciente importancia, especialmente en pacientes con factores de riesgo asociados, como inmunodepresión, enfermedades subyacentes, neoplasias o fibrosis quística.<sup>18</sup>

#### 1.5.1.1 Generalidades.

*Stenotrophomonas maltophilia*, previamente *Pseudomonas maltophilia* y *Xanthomonas maltophilia*, es un bacilo gram negativo no fermentador, pues se encuentra en el suelo, el agua, los vegetales y los animales, y cuya incidencia de aparición nosocomial se está viendo incrementada.

En el medio hospitalario se aísla en el agua procedente de respiraderos, grifos y sumideros, en desinfectantes, jabones, descontaminantes preoperatorios, tubos con EDTA, reservorios de humidificadores de oxigenoterapia, catéteres de succión traqueal y bombas auxiliares cardiopulmonares, y en ocasiones en las manos del personal sanitario.

La vía de entrada de *Stenotrophomonas maltophilia* frecuentemente se desconoce; se cree que la hospitalización prolongada y la antibioticoterapia de amplio espectro podrían seleccionar este microorganismo en las vías respiratorias o el tracto gastrointestinal de los pacientes o en fuentes ambientales, lo cual explicaría su alta diversidad genómica.<sup>19</sup>

Cultivado de cualquier localización en pacientes hospitalizados, se encuentra principalmente como microorganismo contaminante sin acompañarse de clínica. Puede estar implicado en numerosos procesos infecciosos, pero los más frecuentes son los de vías respiratorias.

Los pacientes con infección por este microorganismo presentan factores de riesgo intrínseco, como la inmunodepresión de diferente naturaleza y enfermedades previas subyacentes: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), cardiovasculares, hepatobiliar, trasplante, diálisis, VIH, diabetes mellitus, drogadicción, tabaquismo, alcoholismo.<sup>20</sup>

Un factor especialmente asociado a la adquisición de *Stenotrophomonas maltophilia* es la presencia de neoplasias, destacando entre ellas las leucemias agudas y el carcinoma de mama.

La adquisición de este microorganismo se asocia principalmente al ámbito hospitalario, pero sin embargo existen pocos estudios que demuestren su transmisión nosocomial.

Como factores de riesgo extrínsecos se encuentran la presencia de catéteres vasculares, ventilación asistida o traqueotomía, técnicas diagnósticas invasoras, hospitalización prolongada y estancia en unidad de cuidados intensivos, quimioterapia citotóxica, corticosteroides y muy especialmente la exposición previa a antibioticoterapia de amplio espectro.<sup>21</sup>

Otro grupo afectado por este microorganismo son los pacientes con fibrosis quística, una población sometida a antibioticoterapia de amplio espectro, con varios regímenes anuales de antibióticos y con hospitalizaciones frecuentes, y de forma añadida las infecciones pulmonares previas y la enfermedad crónica respiratoria.<sup>21</sup>

*Pseudomonas aeruginosa* ha sido históricamente el patógeno gramnegativo no fermentador mayoritariamente aislado en las infecciones nosocomiales, aunque los datos confirman el incremento en la aparición de microorganismos como *Stenotrophomonas maltophilia* y *Acinetobacter baumannii*, con cifras de incidencia del 14% y el 7,6%, respectivamente, del total de aislamientos, y con incrementos considerables desde principios de la década.<sup>22</sup>

La mortalidad asociada a *Stenotrophomonas maltophilia* oscila entre el 14% y el 69%, aunque es difícil atribuirla en todos los casos a la infección causada por el patógeno *per se*, ya que las enfermedades de base de los pacientes contribuyen claramente a esta elevada tasa.<sup>23</sup>

#### **1.5.1.2 Características microscópicas**

Bacilo gram negativo pequeño, fino, con flagelos polares multitríco y puede distinguirse con facilidad de otras pseudomonadales en virtud de ser lisina positivo y DNAsa positivo y oxidasa negativo.<sup>24</sup>

*Stenotrophomonas maltophilia* es sensible a colistina y polimixina B. Esta propiedad puede utilizarse para distinguir entre *Stenotrophomonas maltophilia* de *Burkholderia cepacia*, que también es lisina positivo pero resistente a colistina y polimixina B y DNAsa negativo.<sup>24</sup>

*Stenotrophomonas maltophilia* ataca energéticamente la OF maltosa pero suele ser negativo o sólo débilmente positivo en OF glucosa en 24 horas<sup>24</sup>

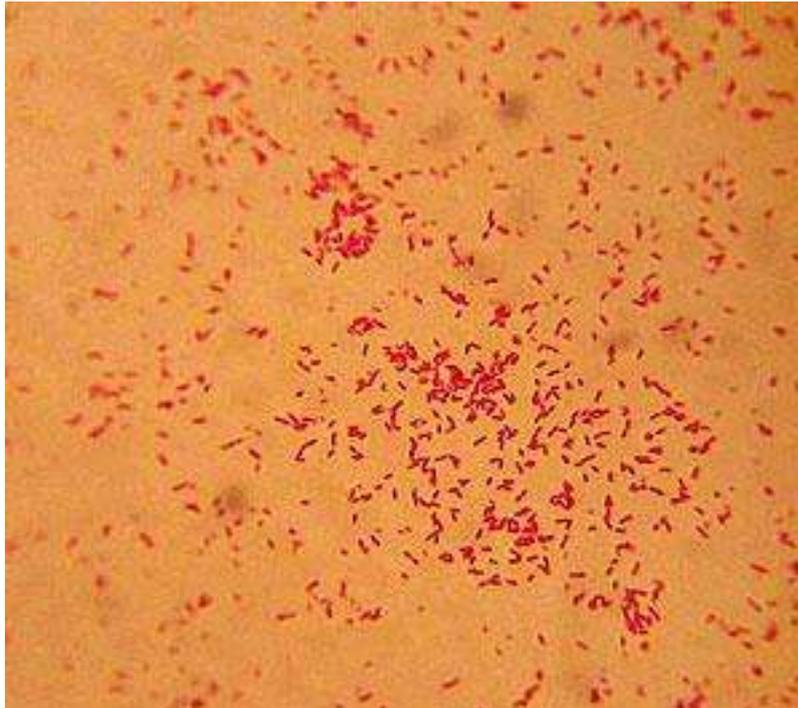


Figura 3.- *Stenotrophomonas maltophilia* en tinción gram<sup>28</sup>

### 1.5.1.3 Fisiología.

Bacteria aerobia, de metabolismo oxidativo, poco exigente, que se desarrolla en forma rápida en los medios de cultivo corrientes utilizados de rutina. Las colonias son rugosas de 3 a 5 mm de diámetro, color amarillo en MacConkey y café verdoso en agar sangre, generalmente no hemolítica y de olor característico a amoníaco.<sup>25</sup>



Figura 4.- Colonias amarillas de *Stenotrophomonas maltophilia* en agar Mac-conckey.<sup>28</sup>



Figura 5.- Colonias cafés de *Stenotrophomonas maltophilia* en agar sangre.<sup>28</sup>

#### 1.5.1.4 Identificación bacteriana:

El diagnóstico de laboratorio se determina en base a la tinción Gram, colonia descrita anteriormente, olor característico, movilidad, prueba de oxidasa negativa y ADNasa positiva. Esta última prueba, que se considera clave, debe incubarse hasta 72 horas para evitar los falsos negativos.<sup>25</sup>

Otras pruebas adicionales incluyen la oxidación de la glucosa y maltosa en medio OF, decarboxilación de la lisina, licuefacción de la gelatina y producción de H<sub>2</sub>S, evidenciada con papel de acetato de plomo. También se obtiene un buen diagnóstico con las galerías comerciales para bacilos gram negativos no fermentadores.<sup>25</sup>

Los estudios de tipificación de *Stenotrophomonas maltophilia* son de necesaria aplicación para la identificación de fuentes ambientales o endógenas y la transmisión de cepas entre pacientes, permitiendo distinguir la adquisición de nuevas cepas y la aparición de variantes más resistentes posteriores al tratamiento antibiótico.

Las técnicas fenotípicas utilizadas en los estudios epidemiológicos, perfil bioquímico y sensibilidad a los antimicrobianos han resultado ser pocos efectivos dados el metabolismo relativamente inerte y la homogeneidad en el patrón de resistencia presentado por *Stenotrophomonas maltophilia*. La detección mediante aglutinación de los antígenos somáticos no aporta mayores ventajas dada la alta frecuencia de aparición de tres serotipos de los 31 que se han definido.<sup>25</sup>

Cuadro. Características de <i>Stenotropomonas maltophilia</i> <sup>25</sup>	
PRUEBA	<i>S.maltophilia</i>
Oxidasa	-
Motilidad	+
Crecimiento en agar MacConkey	+
Glucosa OF	A o débil
Maltosa OF	A
Lactosa OF	V(86)
Manitol OF	-
Reducción de NO <sub>3</sub>	V(42)
NO <sub>3</sub> a gas	-
Arginina	-
Lisina	+
Hidrólisis de esculina	+
ONPG	+(93)
DNasa	+
Polimixina B	S
Pigmento	Gris, amarillo leve, lavanda
Datos de las referencias.  +:90% o más de cepas positivas; -:90% o más de cepas negativas; V:11-89% de cepas positivas; A: reacción ácida; débil; ácida débil; S: sensible; R: resistente; ND: no disponible; OF: oxidación-fermentación. Los números entre paréntesis son porcentajes de cepas que dan reacciones positivas.	

Otra técnica, la espectrofotometría de pirólisis de masas, presenta mayor variabilidad entre las diferentes cepas que los métodos anteriores, y ha sido utilizada en la investigación de brotes nosocomiales<sup>26</sup>, pero su alto coste y complejidad de realización la descartan para la investigación epidemiológica.

Las técnicas genotípicas de PCR constituyen un método complementario o alternativo, y aunque presentan menor reproducibilidad y discriminación, su rapidez y simplicidad de realización y su bajo coste suponen una gran ventaja. Las diferentes variedades, AP PCR (*Arbitrarily-Primed PCR*), RAPD (*Randomly-Amplified Polymorphic DNA PCR*), ERIC (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR*), han sido utilizadas con éxito con objetivos epidemiológicos y taxonómicos en aislamientos clínicos y ambientales. El tamaño, el contenido en G+C y el número de cebadores empleados, así como las condiciones de amplificación, permiten que el rendimiento de estas técnicas, especialmente de la RAPD PCR, se aproxime a una excelente identificación.<sup>27</sup>

### 1.5.1.5 Mecanismos de resistencia

El fenotipo de resistencia múltiple de *Stenotrophomonas maltophilia* es un proceso multifactorial en el cual participan una permeabilidad disminuida que impide la entrada del antibiótico, la falta de un sistema de transporte para ese antibiótico, en combinación con la producción de enzimas hidrolíticas o inactivantes, y sistemas de bombeo activo del antibiótico hacia el exterior de la bacteria. Analicemos de forma detallada estos mecanismos de resistencia.<sup>27</sup>

### 1.5.1.6 Alteraciones en la membrana externa:

Durante mucho tiempo se asignó a la baja permeabilidad de *Stenotrophomonas maltophilia* la causalidad de su fenotipo multirresistente, pero en la actualidad esta multirresistencia se justifica, además de por cambios en la composición de la membrana externa, por una mayor expresión de las proteínas de membrana externa implicadas en los mecanismos de expulsión activa. Posiblemente en poco tiempo podamos añadir el conocimiento de las mutaciones en los genes de regulación de estos sistemas de flujo. La resistencia a los aminoglucósidos en *Stenotrophomonas maltophilia* se atribuye principalmente a una baja permeabilidad, aunque las variaciones en la sensibilidad según la temperatura de incubación (30 °C y 37 °C) es evidente.<sup>28</sup> De este modo, la variabilidad en la sensibilidad a los distintos aminoglucósidos podría ser consecuencia de diferencias en la penetración en la célula.

#### 1.5.1.6.1 Sistemas de expulsión activa

Se ha evidenciado la actuación de sistemas de bombas de expulsión activa como un factor que contribuiría de forma importante al fenotipo de resistencia múltiple, sea intrínseca o adquirida, en *Stenotrophomonas maltophilia*.<sup>28</sup>

Estos sistemas de flujo se componen de tres proteínas localizadas en la membrana interna, en el espacio periplásmico, y en la membrana externa de microorganismos gram negativos, formando un canal capaz de eliminar hacia el exterior de la bacteria un gran número de sustancias mediante un mecanismo dependiente de protones.

Estos sistemas activos destoxicantes, que se denominan SmeM (*Stenotrophomonas multidrug efflux*), presentarían un comportamiento análogo a los descritos en *Pseudomonas aeruginosa*; en este último aumenta su expresión como consecuencia de mutaciones en los genes reguladores.<sup>29</sup>

#### 1.5.1.6.2 Producción de betalactamasas

El fenotipo de multirresistencia a betalactámicos, fundamentalmente de carácter intrínseco, se debe principalmente a la producción heterogénea de dos tipos de betalactamasas inducibles, L1 y L2.<sup>30</sup> Puesto que la expresión de betalactamasas es intrínseca e inducible, se pensó que, análogamente a lo que sucedía con otras especies bacterianas, la codificación de L1 y L2 era de tipo cromosómico. Un estudio reciente demuestra que la codificación de estas enzimas se localiza en un fragmento de tipo plasmídico de gran tamaño que puede considerarse como parte de un cromosoma fragmentado.<sup>31</sup>

La L1 es una metaloenzima de amplio espectro, de tercera clase, dependiente de  $Zn^{2+}$ , capaz de hidrolizar a todos los betalactámicos, incluidas penicilina, cefalosporinas y carbapenemas, excepto monobactamas. Es sensible a la acción de agentes quelantes como el EDTA, pero no a la de los inhibidores de betalactamasas. Presenta un contenido en G+C del 68,4% y tiene una masa molecular aproximada de 29 kD, con un **pI** de 6,5.<sup>31</sup>

La L2 es una cefalosporinasa que contiene serina en su centro activo, con una resistencia de alto grado a penicilinas y cefalosporinas, no hidrolizando apenas (0,004% respecto a la cefaloridina) a las carbapenemas, sensible a la acción de los inhibidores de betalactamasas, especialmente a la del ácido clavulánico y el BRL42715 (10  $\mu$ M), y resistente a la acción del EDTA (100  $\mu$ M).

#### 1.5.1.7 Tratamiento.

En general, *Stenotrophomonas maltophilia* demuestra una escasa sensibilidad a los aminoglicósidos y betalactámicos, aunque las asociaciones de estos últimos con inhibidores de betalactamasas aumentan su actividad. Las asociaciones con ácido clavulánico son las más activas *in vitro*, en especial ticarcilina-ácido clavulánico, que además de potente es sinérgica a concentraciones terapéuticas de ambos agentes.<sup>32</sup>

Son muchas las asociaciones con inhibidores de betalactamasas que se han ensayado frente a *Stenotrophomonas maltophilia*<sup>32</sup>, pero ninguna ha demostrado una actividad similar a la de ticarcilina-ácido clavulánico. Cefepima-ácido clavulánico recientemente ha demostrado ser una asociación sinérgica frente a un mayor número de aislamientos que ticarcilina-ácido clavulánico, con un porcentaje de cepas resistentes inferior al de esta ya clásica asociación.<sup>32</sup>

Al igual que en el caso de ticarcilina-ácido clavulánico, el incremento de la actividad ha de pasar por la menor capacidad de hidrólisis de la betalactamasa L1 sobre agentes como la ticarcilina o la cefepima.<sup>32</sup> De todos modos, es necesario llevar a cabo estudios farmacodinámicos que demuestren con mayor certeza su aplicación terapéutica.

Los macrólidos, a pesar de presentar una reducida actividad, no deben descartarse debido a su papel en la inhibición de la formación de biopelícula en *Stenotrophomonas maltophilia*.<sup>33</sup>

Las nuevas fluoroquinolonas, con una actividad incrementada sobre sus predecesoras ciprofloxacino y norfloxacino, mantienen las expectativas de utilización de este grupo de antimicrobianos en el tratamiento de las infecciones por *Stenotrophomonas maltophilia*. Howe y cols.<sup>33</sup>, en una revisión de la literatura (113 casos), revelaron que la eficacia clínica del cotrimoxazol (79%, 34/43 pacientes) fue comparable a la de las quinolonas (92%, 12/13 pacientes). La mayoría de los pacientes recibieron ciprofloxacino, y teniendo en cuenta estos hechos sugieren que las nuevas quinolonas, especialmente levofloxacino y moxifloxacino, podrían tener en el futuro una importancia determinante.

En algunos estudios ha quedado confirmada la potente actividad de estos agentes, mientras que en otros aparecen recrecimientos al utilizar monoterapia.<sup>33</sup> El cotrimoxazol es, por norma general, la asociación que presenta mayor actividad *in vitro* frente a *Stenotrophomonas maltophilia*, pero siempre demostrada mediante las pruebas clásicas, sin que existan evidencias que lo confirmen por otros métodos.

## 1.5.2 Escherichia coli

### 1.5.2.1 Generalidades.

El género *Escherichia* comprende cinco especies: *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* y *Escherichia vulneris*. La especie representativa es *Escherichia coli*. (Ver figura) De las cinco especies solamente *Escherichia coli* tiene significación clínica. No obstante, *Escherichia hermannii* y *Escherichia vulneris* se han aislado raramente de infecciones extraintestinales (especialmente de heridas).<sup>34</sup>

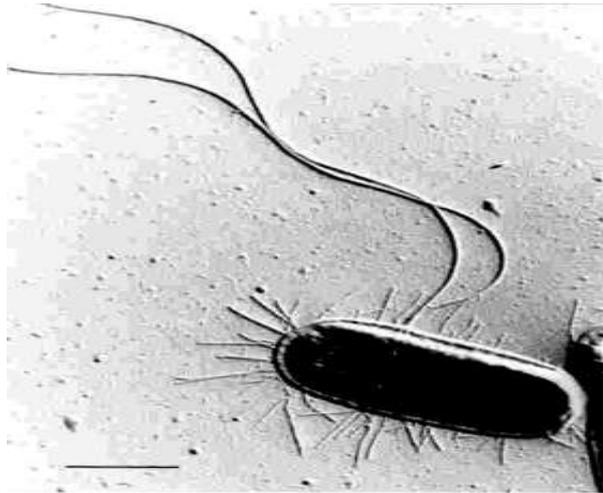


Figura 6.- *Escherichia coli*, Jorge Blanco y cols, 2006

*Escherichia coli* fue descubierta en 1885 por Theodor Escherich, quien lo denominó inicialmente *Bacterium coli*. En 1947, Kauffmann propone una forma de diferenciar las cepas de *Escherichia coli* en base a la determinación de los antígenos superficiales O (somáticos), K (capsulares) y H (flagelares).<sup>3</sup>

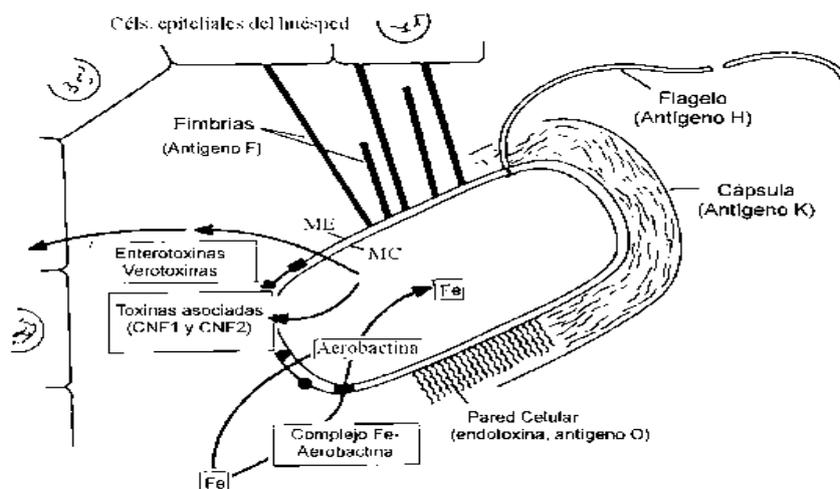


Figura 7.- *Escherichia coli* en donde se representa los principales antígenos de superficie (O, K, H y F) y algunos factores de virulencia basado en el original de Johnson (Clin. Microbiol. Rev, 1991, 4:80-138)

*Escherichia coli* es probablemente el organismo mejor conocido del mundo, ya que se ha utilizado como modelo para estudiar todo tipo de aspectos de genética y fisiología. Su genoma entero se conoce desde hace algunos años<sup>35</sup> y su biología general está bien estudiada, como demuestran claramente las diferentes ediciones del trabajo clásico coordinado por Neidhardt.<sup>36</sup> También ha sido utilizada como organismo modelo en estudios de evolución experimental y genética de poblaciones para entender la acción de las diferentes fuerzas evolutivas a corto y largo plazo<sup>37</sup>.

### 1.5.2.2 Genoma:

*Escherichia coli* contiene 4, 639,221 pares de bases de DNA circular de doble cadena. El 87.8% de este genoma codifica para proteínas, el 0.8% codifica para RNAs estables y 0.7% consiste en DNA repetido que no tiene función conocida<sup>39</sup>. Entre estos genes destacan las llamadas "islas de patogenicidad" (regiones donde se encuentran los genes que confieren capacidades patógenas a una bacteria)<sup>40</sup>.

Sin embargo, es posible que otras cepas de *Escherichia coli* tengan fuertes diferencias en su estructura genómica, ya que se sospecha que los mapas no siempre son colineales y hay gran variación en el tamaño del genoma entre cepas.<sup>41</sup>

El genoma de *Escherichia coli* es dinámico y sus elementos extracromosomales (plásmidos) son aún más. Esta bacteria puede sobrevivir sin ningún plásmido o tener un buen porcentaje de su genoma total en plásmidos<sup>42</sup>. El número y tipo de plásmidos dentro de una célula está regulado por dos fuerzas: el número de réplicas de un mismo plásmido dentro una bacteria - fenómeno controlado en parte por el mismo plásmido- y la entrada de nuevos plásmidos por conjugación o transformación<sup>43</sup>.

La información contenida en estos elementos extracromosomales es variable, ya que en ellos se puede encontrar información para asimilar azúcares raros, para producir sustancias alelopáticas que matan a posibles competidores de la misma especie- resistencias a antibióticos y a metales pesados, inmunidad contra fagos, genes que codifican para intercambio genético y fimbrias relacionadas con la patogenicidad y toxinas, entre otros<sup>44</sup>.

La gran plasticidad genómica de *Escherichia coli* le confiere una plasticidad ecológica notable, ya que gracias a ella pueden adaptarse rápidamente a vivir en diferentes ámbitos y pueden de esta forma pasar de ser organismos de vida libre a ser comensales mutualistas del colon en los animales de sangre caliente, hasta ser un patógeno mortal en humanos y animales.<sup>43</sup>

### 1.5.2.3 Hábitat.

Generalmente se considera que el hábitat "normal" de *Escherichia coli* es el colon de organismos de sangre caliente (aves y mamíferos)<sup>45</sup>, y que aunque se pueden localizar estas bacterias en el medio externo, tradicionalmente se consideraba que su presencia representaba contaminación fecal, ya que se sospechaba que no se podía reproducir en el medio exterior. Sin embargo, resultados recientes indican que esto es falso. Existen *Escherichia coli* que viven en otras partes del tracto digestivo, como las *Escherichia coli* patógenas que pueden habitar en la sangre y en el tracto urogenital.

Adicionalmente, es posible encontrar poblaciones de *Escherichia coli* en vertebrados de sangre fría. Por otro lado, también se han encontrado cepas particulares en ambientes acuáticos, especialmente los que son ricos en compuestos orgánicos como en el desagüe<sup>46</sup>. En estudios que utilizan marcadores genéticos, como aloenzimas y ribotipos, se ha descrito que la diversidad genética es mayor en estos cuerpos de agua y que las cepas encontradas en el ambiente exterior no siempre son las mismas que existen en el colon de los posibles hospederos<sup>47</sup>. También se ha demostrado que estas poblaciones ambientales pueden incrementar de densidad poblacional en el tiempo, indicando que crecen y sobreviven en estos ambientes externos. Además, tenemos datos que sugieren que existen cepas de *Escherichia coli* que sobreviven y se replican en el suelo.

La densidad de *Escherichia coli* en el intestino grueso es de uno a diez millones de células por gramo de colon. Esto hace de *Escherichia coli* un componente menor de la flora predominantemente anaerobia de esta parte del intestino, donde la densidad bacteriana total es de unas  $10^{11}$  células por gramo<sup>48</sup>. *Escherichia coli* es una de las primeras especies que coloniza al mamífero recién nacido, adquiriendo las primeras cepas del canal de parto y de las heces de su madre<sup>49</sup>. Las colonizaciones posteriores se deben por lo general a la ingestión de alimentos contaminados. Usualmente hay una cepa dominante de *Escherichia coli* por hospedero, sin embargo la aparición de nuevos genotipos, ya sea por mutación o por ingestión, hace que esta dominancia sea sólo temporal y que la dinámica este dictada por procesos tanto aleatorios (deriva génica) como adaptativos (selección periódica, como los veremos más adelante<sup>50</sup>). En el intestino se estima que hay una bipartición al día, mientras que en medio de cultivo rico en el laboratorio se tienen 6 biparticiones al día.<sup>51</sup> Muy bajo si se considera que se puede dividir cada 20 minutos. Se considera que en condiciones bajas de nutrientes como el agua y el lodo, el tiempo de bipartición de *Escherichia coli* es aún menor que en el intestino.

#### 1.5.2.4 Características bioquímicas:

Es un bacilo Gram (-) no esporulado, móvil con flagelos peritricos, o inmóvil aerobio-anaerobio facultativo, capaz de crecer en agar MacConckey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentador y oxidativo en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivo, oxidasa negativa, reductor de nitratos y nitrito, produce ácido y gas a partir de glucosa, la arabinosa, y habitualmente de la lactosa y otros azúcares. Produce reacción positiva de rojo de metilo, y negativa de de Vogues-Proskauer. Es inhibido por KCN e incapaz de crecer en medio de citrato como única fuente de carbono y energía, pero si en caldo acetato. Es H<sub>2</sub>S, ureasa y fenilalanina negativo, pero en general indol positivo y descarboxila la lisina.<sup>52</sup>(Ver tabla)

**Identificación bioquímica de Escherichia coli**

<b>PRUEBA BIOQUIMICA</b>	<b>% DE POSITIVIDAD</b>
Oxidasa	0
Producción de indol	98
Rojo de metilo	99
Voges-Proskauer	0
Citrato de Simmons	1
H <sub>2</sub> S (TSI)	1
Hidrólisis de urea	1
Utilización de malonato	0
Ácido de glucosa	100
Gas de glucosa	95
Fenilalamina desaminasa	0
Lisina descarboxilasa	90
Arginina dihidrolasa	17
Ornitina descarboxilasa	65
Movilidad a 36oC	95
Hidrólisis de gelatina a 22oC	0
KCN crecimiento en	3
Fermentación de lactosa	95
Fermentación de la sacarosa	50
Fermentación de D-manitol	98
Fermentación de D-sorbitol	94
Fermentación de mucato	95
Fermentación de dulcitol	60
Fermentación de salicina	40
Fermentación de adonitol	5
Ferementación de inositol	1
Fermentación de L-arabinosa	99

Fermentación de la rafinosa	50
Fermentación de L- ramnosa	80
Fermentación de maltosa	95
Fermentación de D-xilosa	95
Fermentación de trealosa	98
Fermentación de celobiosa	2
Fermentación a-metil-D glucósido	0
Fermentación de eritritol	0
Hidrólisis de la esculina	35
Fermentación de melobiosa	75
Fermentación de D-arabitol	5
Fermentación de D- manosa	98
Fermentación de glicerol	75
Nitrato a Nitrito	100
Tartrato de Jordán	95
Utilización de acetato	90
Lipasa(aceite de maíz)	0
DNasa a 25oC	0
ONPG	95

Tabla 1. Rodriguez- Angeles g.

### 1.5.2.5 PATOGENIA

La *Escherichia coli* es capaz de vivir en el medio ambiente, tanto en el suelo como en el agua y muchas veces pueden colonizar el intestino humano sin producir enfermedad. La colonización de la cavidad oral es poco frecuente en los individuos con inmunidad normal, pero aumenta en cualquier enfermedad que altere en forma significativa las condiciones generales de un paciente por lo que este fenómeno es especialmente notorio en los enfermos hospitalizados, en los que puede llegar a presentarse en el 80%.<sup>53</sup>

La colonización por *Escherichia coli* se observa también en pacientes con enfermedades graves que viven en su casa o en centros geriátricos, como también en alcohólicos y diabéticos. Estas observaciones demuestran que la mayor colonización por estos gérmenes no se debe sólo a fallas intrahospitalarias en el control de la transmisión de infecciones, sino que tiene estrecha relación con las condiciones intrínsecas del paciente.<sup>53</sup>

La *Escherichia coli* tienen fimbrias o *pilis* que le permiten unirse específicamente a receptores de la mucosa respiratoria. Estos receptores no están accesibles en condiciones normales, pero sí cuando existen alteraciones bioquímicas o estructurales de la mucosa que los ponen al descubierto, permitiendo así la colonización.<sup>53</sup>

Una de las características de la *Escherichia coli* es su capacidad para producir endotoxinas, que son lipopolisacáridos que forman parte de la pared celular de las bacterias y que son capaces de producir múltiples efectos biológicos cuando se inyectan experimentalmente en animales. Entre éstos cabe mencionar la producción de fiebre, activación del complemento, activación del factor de Hageman, vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, shock, etcétera.<sup>53</sup>

#### **1.5.2.6 Cuadro clínico:**

En general el cuadro clínico de una neumonía por *Escherichia coli* es de extrema gravedad con rápida progresión del compromiso sistémico, por lo que muchos de estos enfermos se encuentran en shock en el momento del diagnóstico.

Debido a la producción de endotoxinas y al shock, es posible que se observe un edema pulmonar no cardiogénico por trastorno de la permeabilidad alveolocapilar (síndrome de distrés respiratorio agudo) que compromete aun más la función pulmonar, con insuficiencia respiratoria aguda grave.<sup>53</sup>

No todas las neumonías por *Escherichia coli* tienen curso clínico grave, ya que en algunos casos de neumonía, el cuadro clínico es subagudo, con compromiso progresivo del estado general, tos productiva, expectoración purulenta o hemoptoica, lo que sumado al aspecto radiográfico, puede simular una tuberculosis pulmonar.<sup>53</sup>

Los hallazgos del examen físico son inespecíficos y variables, dependiendo de la gravedad y la magnitud de la condensación pulmonar y el compromiso pleural. Las alteraciones del hemograma son también inconstantes, ya que se puede observar desde leucocitosis marcada a recuentos normales o leucopenia, que es un índice de gravedad.<sup>53</sup>

La radiografía de tórax puede mostrar diferentes alteraciones, tales como una condensación homogénea no segmentaria, similar a la que se observa en una neumonía neumocócica, un patrón de bronconeumonía, como el de una infección estafilocócica, o un patrón de nódulos múltiples, por diseminación hematógena similar al observado en los abscesos piohémicos estafilocócicos.<sup>53</sup>

En casos muy graves se suele observar una condensación que compromete totalmente ambos pulmones, probablemente debido a edema pulmonar de permeabilidad agregado a la inflamación por la infección.

La mayoría de las infecciones por *Escherichia coli* que sobreviven el tiempo suficiente, tienden a producir excavación, con formación de abscesos pulmonares. El compromiso pleural se observa en aproximadamente la mitad de los casos y puede evolucionar hacia la producción de pus o empiema.<sup>53</sup>

*Escherichia coli* crece con facilidad, por lo que es fácilmente identificables en cultivo.

No obstante, la interpretación de un examen microbiológico de expectoración con abundantes bacilos gramnegativos debe ser cautelosa, ya que si la muestra no ha sido procesada rápidamente el gran número de gérmenes puede corresponder a la multiplicación *in vitro* del microorganismo en la muestra de expectoración, o si el paciente ha recibido antibióticos puede tratarse de colonización por eliminación de la flora normal sin que los gramnegativos tengan un rol patogénico.<sup>53</sup>

#### **1.5.2.7 Tratamiento:**

Idealmente, el tratamiento de las neumonías por *Escherichia coli* debe efectuarse conociendo su susceptibilidad, ya que suele ser resistente a múltiples antibióticos. Debido a diferencias locales en el uso de antibióticos, la resistencia de las cepas es variable en distintas instituciones, por lo que el diseño de tratamientos empíricos debería, también idealmente, efectuarse sobre la base de los resultados de exámenes microbiológicos de cada centro.

Considerando la extrema gravedad de estas neumonías, las drogas deben utilizarse por vía endovenosa y en dosis elevadas. El tratamiento debe prolongarse por lo menos por dos semanas, ya que lapsos menores se asocian a recaídas y algunas veces es recomendable el uso de combinaciones de antibióticos que actúan sinérgicamente.<sup>53</sup>

### 1.5.3 *Klebsiella pneumoniae*

#### 1.5.3.1 Generalidades:

El género *Klebsiella* recibió ese nombre en honor a Edwin Klebs, un microbiólogo alemán de fines del siglo XIX. El bacilo conocido ahora como *Klebsiella* también fue descrito por Carl Friedlander y durante muchos años “el bacilo de Friedlander” fue conocido como causa de una neumonía grave a menudo fatal.<sup>25</sup>

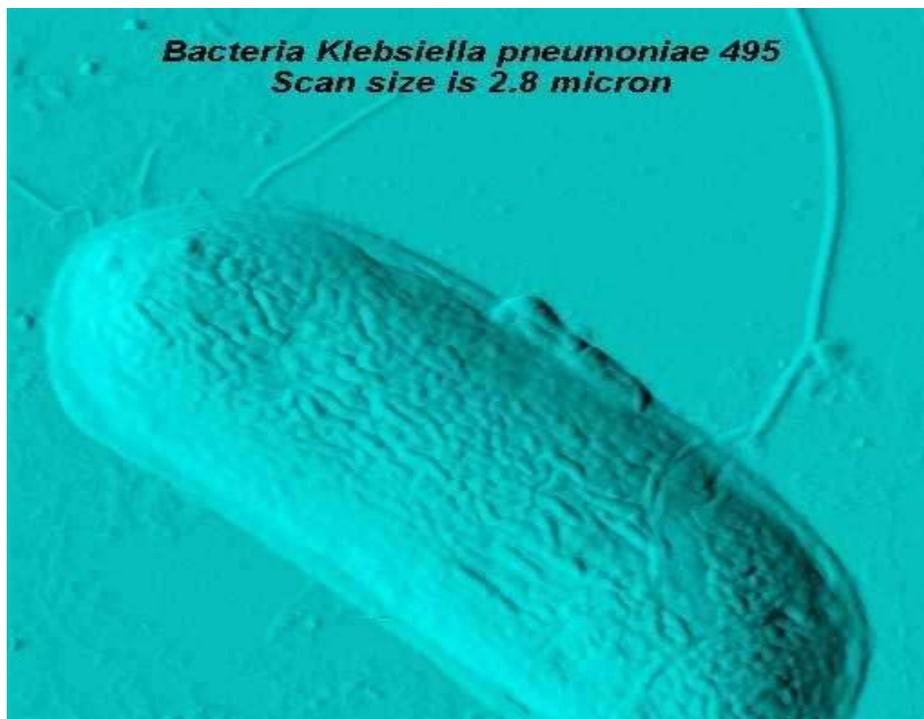


Figura 8.- Característica microscópicas de *Klebsiella pneumoniae*<sup>55</sup>

#### 1.5.3.2 Características

Son bacterias gram negativas, la asimilación y la fermentación de la lactosa se puede observar en el Agar MacConkey donde las colonias son de color rosado y en el medio Kligler o TSI donde son Ácido/Ácido, es decir fermentador de la lactosa más producción de gas; y en la fermentación acetónica o prueba de Voges Proskauer son positivos.

Por último, sus condiciones óptimas de cultivo son en agar nutritivo a 37 °C, pH de 7.0, presión osmótica de 1 atm.<sup>25</sup>

Esta bacteria tiene una cápsula de naturaleza polisacárida, lo que determina la formación de colonias mucoides.



Figura 9.- Características de la morfología colonial de *Klebsiella pneumoniae*<sup>55</sup>

Antigénicamente presenta cinco antígenos O y 77 capsulares. Los sueros tipo específicos son importantes para investigar las infecciones intrahospitalarias; existen 19 antisueros con este fin.

#### **1.5.3.3 Factores de virulencia:**

Los principales factores de virulencia asociados a *Klebsiella pneumoniae* son los polisacáridos capsulares, las fimbrias o adhesinas, los sideróforos y el lipopolisacárido (Williams y Tomás, 1990).<sup>54</sup>

Todos ellos tienen una gran importancia y la patogenicidad de la bacteria es resultado de la acción conjunta de varios de estos factores, que permitirán a la bacteria entrar y multiplicarse en el interior del hospedador, resistir su sistema inmune (o simplemente no estimularlo) y producirle un daño.<sup>54</sup>

#### 1.5.3.3.1 Polisacáridos capsulares (CPSs)

Una de las características principales de *Klebsiella* es que, generalmente, es capsulada. Esta cápsula es una estructura superficial formada por exopolisacáridos complejos que han permitido clasificar a *Klebsiella* en 77 serotipos, ampliamente utilizados en investigaciones epidemiológicas, según el antígeno capsular (K) que presentan.<sup>55</sup>

El material capsular forma envolturas gruesas que recubren la superficie bacteriana, protegiéndola de la opsonofagocitosis y de la actividad bactericida del suero. Desde el punto de vista de la opsonofagocitosis, el CPS provee a la bacteria de una barrera física antifagocítica que impide la interacción entre las opsoninas del complemento y los receptores del complemento de las células fagocíticas.<sup>56</sup>

En cuanto a la actividad bactericida del suero, el CPS actúa enmascarando las moléculas de la superficie bacteriana sobre las cuales se deposita el componente C3 de la cascada del complemento<sup>57</sup>. En ambos casos, la presencia de cadena lateral O en el lipopolisacárido de la bacteria también juega un papel importante, de forma que la resistencia al complemento depende, en gran medida, de ambos componentes.

Se han realizado diversos estudios que han permitido asociar una mayor virulencia de *Klebsiella* con ciertos tipos de antígeno capsular, como es el caso de los antígenos K1 y K2. En este sentido, la mayoría de los análisis concuerdan en que el antígeno K2 se encuentra entre los antígenos capsulares más comúnmente hallados en pacientes con infecciones del tracto urinario, neumonía y bacteremia.<sup>55</sup>

#### 1.5.3.3.2 Pilis (Fimbrias)

La habilidad de la bacteria para adherirse y colonizar las superficies mucosas del organismo hospedador es una etapa crítica en el desarrollo de la infección. Las propiedades adhesivas en *Klebsiella*, y en la mayoría de las *Enterobacteriaceae*, son generalmente mediadas por diversos tipos de pilis (también conocidos como fimbrias), que son proyecciones filamentosas no flagelares que se hallan sobre la superficie bacteriana y que están compuestos por subunidades proteicas globulares (pilinas).

Estas estructuras filamentosas se extienden desde la superficie bacteriana y permiten la unión a las células eucariotas a través de receptores específicos.<sup>58</sup>

De los diversos tipos de pilis descritos en las enterobacterias, *Klebsiella pneumoniae* produce principalmente:

- Pilis tipo 1: Permite la unión a trisacáridos de manosa de las glicoproteínas del hospedador. Son de especial relevancia para la virulencia de la bacteria, puesto que permiten la unión de ésta al mucus o a células epiteliales del tracto urogenital, respiratorio e intestinal. A nivel renal, estos pilis permiten la unión de la bacteria al túbulo proximal. Tras la colonización de la membrana mucosa, y una vez atravesada esta, los pilis de tipo 1 dejan de ser útiles para la bacteria, puesto que activan su fagocitosis por parte de los leucocitos. Normalmente, las bacterias superan esta forma de defensa del hospedador mediante un proceso de variación de fase, a través del cual inactivan la expresión de los pilis de tipo 1.<sup>55</sup>

- Pilis tipo 3: Fueron originalmente descritos como orgánulos de adhesión de especies de *Klebsiella* que habitaban en raíces de plantas, aunque posteriormente se demostró que permitían la unión a varios tipos celulares humanos. Las cepas de *Klebsiella pneumoniae* que expresan pilis de tipo 3 tienen capacidad para adherirse a células endoteliales, al epitelio del tracto respiratorio y a células uroepiteliales. En los riñones estos pilis median la adhesión bacteriana a las membranas basales tubulares, a las cápsulas de Bowman y a los vasos renales. La función exacta de este tipo de fimbrias en el proceso de patogénesis es todavía desconocida, aunque han sido relacionadas con la formación de 'biofilms' *in vitro*<sup>59</sup> y con la unión al colágeno de tipo IV y tipo V.<sup>60</sup>

Además de las fimbrias mencionadas, se han descrito en *Klebsiella pneumoniae* otras adhesinas, algunas de ellas codificadas en plásmidos R (plásmidos que permiten la transferencia horizontal entre bacterias de resistencias a antibióticos).

Asimismo, *Klebsiella pneumoniae* presenta en su superficie diversas macromoléculas que pueden contribuir considerablemente a la adhesión. Entre ellas destacaremos el polisacárido capsular, que participa en las últimas etapas de la colonización facilitando la formación de 'biofilms' sobre la superficie de las mucosas, y el antígeno O del lipopolisacárido, que confiere unas características físico-químicas específicas a la superficie celular con lo que juega un importante papel en todas sus interacciones.<sup>61</sup>

#### 1.5.3.3.3 Sideroforos

El crecimiento de las bacterias en los tejidos del hospedador no sólo está limitado por los mecanismos de defensa de éste, sino también por la capacidad de la bacteria para adquirir nutrientes esenciales para su crecimiento como el hierro. La cantidad de hierro libre disponible para la bacteria en el interior del hospedador es extremadamente baja para el crecimiento normal de la bacteria, dado que este elemento se encuentra unido intracelularmente a diversas proteínas, como la hemoglobina, la ferritina, la hemosiderina y la mioglobina, y extracelularmente a proteínas de unión de hierro de alta afinidad, como la lactoferrina y la transferrina.<sup>55</sup>

Muchas bacterias tratan de asegurar su suministro de hierro en el hospedador secretando quelantes de hierro de alta afinidad y bajo peso molecular, denominados sideróforos, que son capaces de obtener hierro unido a las proteínas del hospedador. Diversos estudios han permitido acumular una gran cantidad de evidencias que indican que la capacidad de las bacterias para capturar hierro *in vivo* contribuye de forma importante a su virulencia.<sup>55</sup>

En condiciones limitantes de hierro, las enterobacterias sintetizan sideróforos que pertenecen a dos grupos químicos diferentes, los de tipo fenolato y los de tipo hidroxiamato. En el género *Klebsiella* se ha demostrado la producción de enterobactina (de tipo fenolato), común a la mayoría de las cepas, y con mucha menor frecuencia de aerobactina (de tipo hidroxiamato). El papel que juega la síntesis enterobactina en la virulencia de *Klebsiella* es bastante incierto, mientras que la contribución de la aerobactina ha sido claramente demostrada. Además, existen cepas de *Klebsiella pneumoniae* que no sintetizan aerobactina, pero que son capaces de utilizarla como fuente de hierro, dado que expresan el receptor de este sideróforo. Según parece, la alta afinidad de la enterobactina permite a la bacteria obtener el hierro unido a la transferrina, mientras que la fuente de hierro de la aerobactina son las células del hospedador.<sup>55</sup>

Así, la bacteria que sintetiza enterobactina, obtiene con la producción de aerobactina acceso a dos fuentes de hierro, lo cual facilita su crecimiento en el organismo hospedador y aumenta su virulencia.<sup>61</sup>

En *Klebsiella pneumoniae* existen, además, otras proteínas de membrana externa reguladas por la presencia de hierro libre en el medio, cuya función es aún desconocida y que pueden funcionar como receptoras de sideróforos no sintetizados por la misma bacteria.

#### 1.5.3.3.4 Lipopolisacáridos (LPS)

El lipopolisacárido (LPS) es una molécula glucolipídica anclada en la cara externa de la membrana externa de la mayoría de las bacterias Gram negativas que consiste en una porción polisacarídica unida covalentemente al lípido A. La parte polisacarídica consta de dos regiones, el núcleo del lipopolisacárido y la cadena lateral O ó antígeno O.

En *Klebsiella pneumoniae* se han descrito once estructuras diferentes en su antígeno O que pueden ser diferenciadas por métodos inmunológicos, aunque algunas similitudes estructurales producen reactividad cruzada de forma que el número actual de serotipos diferentes es de nueve: O1, O2, O2ac, O3, O4, O5, O7, O8 y O12. El serotipo O1 es el antígeno O más comúnmente hallado en los aislados clínicos de *Klebsiella*.<sup>62</sup>

Su contribución a la virulencia se debe, por un lado, a la actividad endotóxica producida por la parte lipídica, el lípido A, que provoca la activación de los macrófagos, induce la respuesta inflamatoria y tiene un efecto pirógeno. Por otro lado, la presencia de las cadenas polisacarídicas del antígeno O facilitan el proceso inicial de adhesión y confieren resistencia a la bacteria contra la actividad bactericida del suero no inmune. Éste último aspecto del antígeno O es quizás el más importante.<sup>63</sup>

Las cadenas laterales O del LPS que no quedan cubiertas y protegidas por el polisacárido capsular son expuestas al medio exterior y en ellas se deposita el componente C3b del complemento, pero, dado que éste se une principalmente a las cadenas laterales O más largas, queda demasiado alejado de la membrana bacteriana, con lo que no se produce la formación del complejo de ataque a la membrana impidiendo, en última instancia, la formación del poro que provoca la muerte de la bacteria. Así pues, las cadenas de antígeno O, representan una barrera física que impide la correcta actuación de la cascada de reacciones de las proteínas del complemento.<sup>55</sup>

El lipopolisacárido es indispensable para la supervivencia de las bacterias Gram negativas, puesto que juega un papel fundamental en el mantenimiento y la organización de la membrana externa de estas bacterias. La membrana externa de las bacterias Gram negativas es una bicapa lipídica asimétrica, la cara interna de la cual está formada por los fosfolípidos que se hallan normalmente en las membranas bacterianas.<sup>64</sup>

La cara externa, sin embargo, está constituida principalmente por LPS, orientado de forma que el componente hidrófobo de éste forma la parte exterior de la bicapa lipídica y queda oculto por los componentes polisacarídicos de la molécula.

Esta situación hace que el LPS esté en contacto directo con el medio, de manera que constituye el antígeno superficial más importante de las bacterias Gram negativas y es uno de los principales blancos tanto de bacteriófagos como de los sistemas de defensa del organismo hospedador.

A pesar de esto juega un importante papel en la virulencia bacteriana ya que puede conferir resistencia a la actividad bactericida del complemento y prevenir la activación de las defensas celulares.

Por otro lado, el LPS liberado durante la división o muerte bacteriana puede interactuar con diversos receptores expresados por células diana del LPS, como granulocitos, linfocitos y, en particular, monocitos y macrófagos. En respuesta al LPS, estas células secretan mediadores endógenos con diversas actividades que, en última instancia, provocan los efectos típicos de las endotoxinas y que pueden dar lugar a un shock irreversible conocido como shock séptico o endotoxemia. El componente esencial que conduce a la generación de estos efectos es la parte lipídica del LPS, el lípido A, y es por este motivo por el cual el LPS es también conocido como endotoxina.<sup>54</sup>

La *Klebsiella pneumoniae*, dentro de este género bacteriano, está implicada principalmente en infecciones nosocomiales. Es el agente causal de infecciones del tracto urinario, neumonías, sepsis, infecciones de tejidos blandos, e infecciones de herida quirúrgica. Son especialmente susceptibles los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, neonatos, y pacientes con EPOC, diabetes mellitus o alcohólicos. A día de hoy también existe una fuerte teoría que la relaciona con la Espondilitis Anquilosante.<sup>54</sup>

Causa alrededor del 1% de las neumonías bacterianas y puede causar condensación hemorrágica extensa del pulmón. Además, en ocasiones provoca infección del aparato urinario y bacteriemia a partir de lesiones focales en pacientes debilitados que puede terminar con la vida del paciente. Algunas de las complicaciones más frecuentes son el absceso pulmonar y el empiema. También suele encontrarse en las infecciones de la toracotomía para realización de *by pass* o revascularización coronaria.<sup>54</sup>

#### 1.5.3.4 Diagnóstico:

En cuanto a las neumonías, mediante la técnica de Gram se observan gran cantidad de bacilos gram negativos y leucocitos polimorfonucleares. Pueden realizarse las pruebas de hinchazón de capsula de (Quellung) o bien una preparación con tinta china. La primera de éstas es muy específica y ambas son muy útiles en el diagnóstico <sup>54</sup>.

#### 1.5.3.5 Tratamiento:

En infecciones intrahospitalarias generalmente debe realizarse un antibiograma <sup>54</sup>.

### 1.5.4 *Candida albicans*

#### 1.5.4.1 Generalidades:

El Género *Candida* comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular<sup>66</sup>.

Solamente una docena de las especies pertenecientes al Género *Candida* poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C. y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr* (*pseudotropicalis*), *Candida krusei*, *Candida guilliermondi*, *Candida parakrusei*, *Candida zeylanoides*, *Candida stellatoidea* y *Candida brumptii*<sup>67</sup>.

Estudios taxonómicos tratan de diferenciar las diversas especies del Género *Candida* de acuerdo a sus propiedades. *Candida paratropicalis* no ha sido considerada distinta a *Candida tropicalis*<sup>68</sup>.

En el caso de *Candida claussenii* y *Candida stellatoidea* la similitud de su morfología y fisiología sobrepasan las diferencias que puedan haber entre estas especies<sup>69</sup>.

Diversos estudios sobre *Candida albicans* y *Candida stellatoidea* no consideran estas dos especies como distintas<sup>70</sup>.

Se ha demostrado por métodos electroforéticos que *Candida albicans* y *Candida stellatoidea* difieren en el número y patrón de

cromosomas<sup>71</sup>, pero también se han observado diferencias entre cepas de *Candida albicans* en cuanto a este aspecto se refiere<sup>72</sup>.

*Candida albicans* suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí<sup>67, 73,74</sup>.

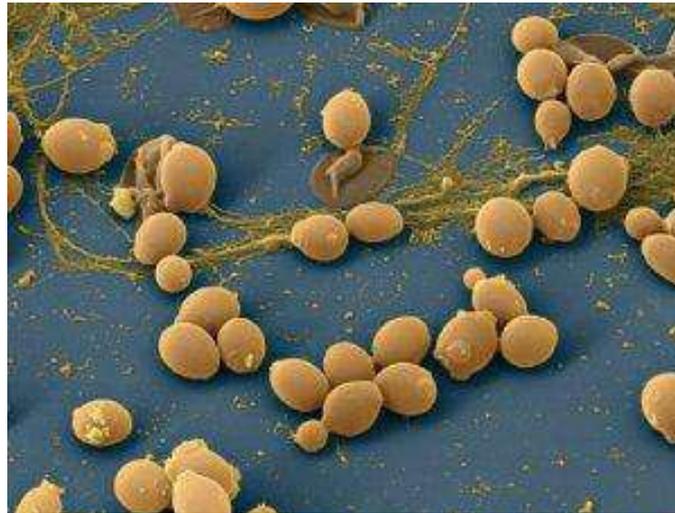


Figura 10.- Características microscópicas de *Candida albicans*<sup>76</sup>

Las levaduras o blastosporas son microorganismos eucarióticos, las cuales se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Éste proceso de división implica la producción de nuevo material celular proveniente de la superficie de la blastospora. Cuando el brote o yema ha crecido y se encuentra en su tamaño óptimo, se suscita la división celular y se forma un tabique o septo entre las dos células<sup>74</sup>.

La forma filamentososa del hongo (hifa), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes; ésta crece continuamente por extensión apical.<sup>74</sup>

La apariencia microscópica de todas las especies de *Candida* es similar; todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Microscópicamente, *Candida albicans* presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas<sup>74</sup>.

#### 1.5.4.2 Composición química:

La composición química de *Candida albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono<sup>75</sup>.

La pared celular de *Candida albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos Manán, Glucán y Quitina.

Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos, en la literatura existen bastantes datos acerca de la composición química de dicha pared.

El polisacárido manán representa aproximadamente entre 15,2% y 22,9% del peso seco y poco más de 40% de los polisacáridos de la pared celular del hongo.

El D-Glucán  $\beta$ -1-3 y el D-Glucán  $\beta$ -1-6 constituyen entre 47% y 60% del peso seco de la pared celular<sup>76</sup>. Otros componentes han sido reportados, tales como proteínas<sup>76,77,78,79,80</sup> en cantidades que oscilan entre 6% y 25%, lípidos entre 1% y 7% y Quitina entre 0,6% y 9% del peso de la pared celular<sup>76,81</sup>.

Las proporciones de los componentes que constituyen la pared celular de las levaduras y de los tubos germinales es relativamente similar, aunque la cantidad de Glucán Alkali-soluble y Alkali-insoluble y de Quitina de *Candida albicans* varía de acuerdo con la forma de crecimiento<sup>76,82</sup>. Estudios ultraestructurales de la pared celular de *Candida albicans* han demostrado una compleja microarquitectura.

La pared tiene un espesor variable y está compuesta por varias capas, las cuales se han puesto de manifiesto por diferencias en la densidad electrónica.

El número de capas y su morfología varían; esta variación está relacionada con varios factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio, el medio de cultivo empleado para el crecimiento celular y los procedimientos de fijación.

La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): Manoproteínas,  $\beta$ -Glucán-Quitina,  $\beta$ -Glucán, Manoproteínas y una capa de fibrillas<sup>76,83,84</sup>

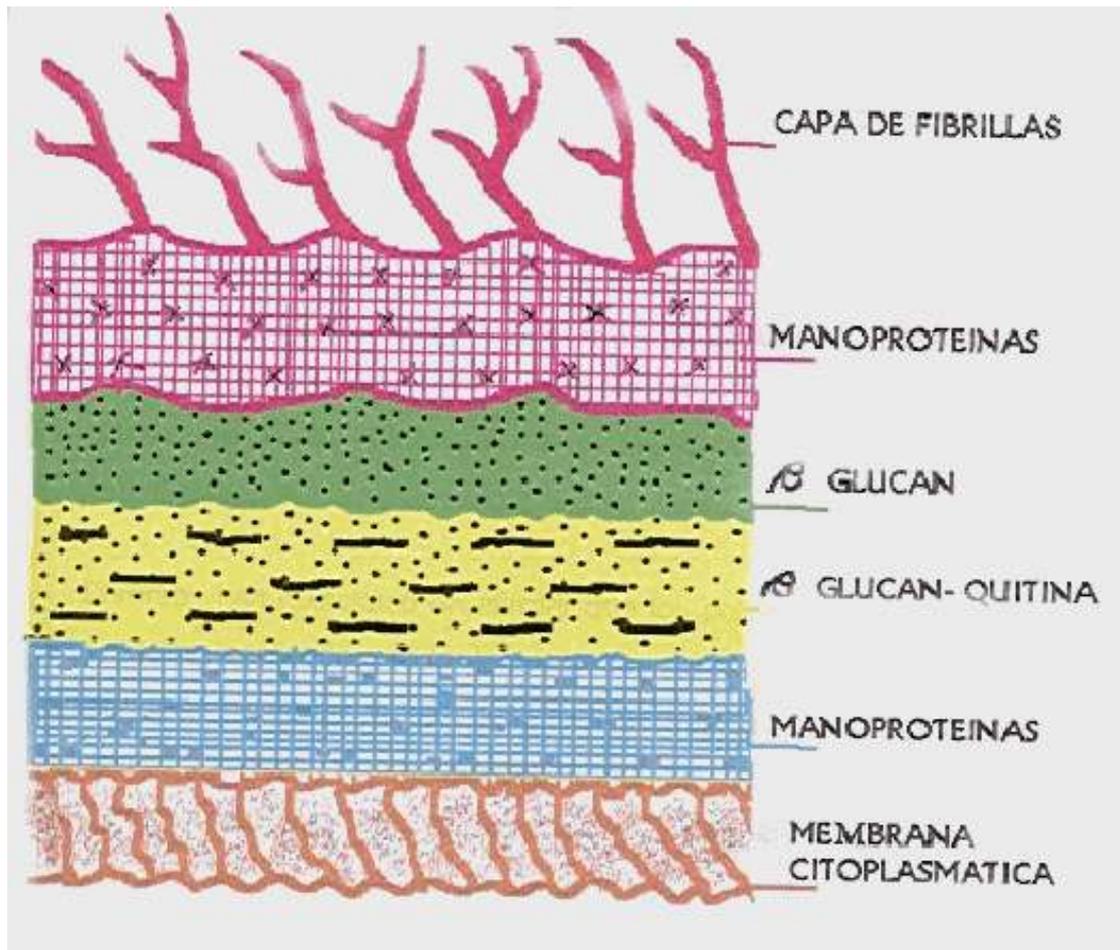


Figura 11.- Diagrama esquemático de la pared celular de *C. Albicans* Tomado de Calderone y Braun 1991

La membrana citoplasmática es una estructura que reviste gran importancia, ya que los antimicóticos actúan a nivel de la misma, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Esta presenta una doble capa compuesta por lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor<sup>85,86</sup>. Además de los lípidos, la membrana citoplasmática está compuesta por grandes cantidades de proteínas y carbohidratos en menor proporción<sup>87,88</sup>.

En el citoplasma, al igual que otras células eucarióticas, *Candida albicans* presenta: ribosomas, mitocondrias con doble capa, gránulos de glucógeno y vacuolas que, contienen en algunas ocasiones cuerpos lipídicos y gránulos de polifosfato. El núcleo es típico de una célula eucariótica, con membrana nuclear limitante, uno o varios nucleolos, ADN y ARN y varios cromosomas<sup>89</sup>.

### 1.5.4.3 Metabolismo:

El metabolismo de *Candida albicans* se ha relacionado de una forma directa o indirecta con la patogenicidad, la morfología o con los efectos de los antimicóticos. El metabolismo de los carbohidratos juega un papel importante en la morfogénesis, en tanto que el metabolismo de aminoácidos y lípidos tiene poca importancia para el crecimiento de este microorganismo<sup>90</sup>.

Las especies de *Candida* crecen bien en medios de cultivo con agar, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa. Las colonias muy pequeñas aparecen en un lapso de 24 a 36 horas en Agar Sabouraud y miden de 1,5 a 2 m.m. de diámetro después de 5 a 7 días. Las colonias son típicamente blancas por completo, pero adquieren un color crema o quemado al continuar envejeciendo. Para aislarlas de las muestras clínicas que siempre llevan bacterias se agregan antimicrobianos como el Cloranfenicol al medio simple<sup>91</sup>

En Agar Sabouraud o en otros medios de cultivo similares, las colonias que crecen son lisas, suaves, húmedas y de color y aspecto cremoso. Estas colonias tienen un tamaño que oscila entre 1,5 y 2 m.m. de diámetro, con aspecto de levadura, de consistencia blanda y rápidamente proyectan filamentos hasta la profundidad del agar. Después de 4-5 días se percibe un olor característico de levadura<sup>74,91</sup>.

Otros medios de cultivo en los cuales puede crecer *Candida albicans* son: Pagano- Levin, en el cual las colonias se observan de color crema, Albicans ID (Biomérieux), donde las colonias se observan de color azul y CHROMagar® *Candida* (CHROMagar), observándose las colonias de esta especie de color verde<sup>92</sup>.

Las colonias de *Candida* crecen "in vitro" en condiciones de aerobiosis en medios de cultivo a pH con rango entre 2,5 y 7,5 y temperatura que oscila entre 20°C y 38°C

La habilidad de las levaduras de crecer a 37°C es una característica importante a ser considerada en su identificación a partir de muestras clínicas. Las levaduras más virulentas crecen rápidamente a temperaturas que oscilan entre 25°C y 37°C, mientras que las poco virulentas dejan de crecer a 37°C<sup>77</sup>.

Los microorganismos del Género *Candida* son oportunistas que se encuentran como comensales en cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial y piel del hombre y de ciertos animales. En la cavidad bucal la colonización es significativamente distinta de sitio a sitio<sup>74,91</sup>.

#### 1.5.4.4 Anatomía patológica y patogenia:

*Candida albicans* presenta una serie de factores de virulencia que facilitan la colonización y la infección del hospedador. Entre ellos cabe mencionar el dimorfismo o capacidad del hongo para desarrollar un crecimiento levaduriforme y filamentoso, el cual favorece la evasión de los mecanismos defensivos del hospedador.<sup>93</sup>

También existen otros tipos de factores de virulencia, tales como:

- 1) Adhesinas: que permiten la unión de la célula fúngica a los receptores del hospedador o a materiales plásticos utilizados en medicina, como las prótesis y los catéteres.
- 2) Proteinerasas y fosfolipasas: Las cuales corresponden a enzimas que favorecen la diseminación por los tejidos del hospedador.
- 3) Tigmotropismo: que permite encontrar discontinuidades entre las células y penetrar en los tejidos.
- 4) Producción de toxinas y sustancias inmunosupresoras.<sup>93</sup>

MECANISMOS	FACTORES MOLECULARES
Adherencia	Enzimas extracelulares
Dimorfismo	Proteasas
Interferencia con:	Lipasas
Fagocitosis	Toxinas
Defensas inmunes	Nitrosaminas
Complemento	Metabolitos ácidos
Sinergismo con bacterias y otras levaduras	

Tabla 2. Principales factores de virulencia de *Candida albicans*.<sup>93</sup>

Cabe señalar que la pared celular de *Candida albicans* es esencial para su patogenicidad desde el momento en que esta, es requerida para su crecimiento. Además la pared celular le proporciona rigidez y protección a esta especie. La adherencia de este hongo es superior a la de otras especies de *Candida* y es aumentada por la existencia de una lesión epitelial por los carbohidratos y por la disminución de la flora bacteriana saprofita.<sup>93</sup>

Estos factores de virulencia están controlados por diferentes genes que se expresan en un número determinado y momento concreto y que determinan el

fenotipo y virulencia de cada aislamiento, entre los genes asociados a la virulencia se encuentra el gen de la hexosaminidasa (HEX1), también se encuentran genes de proteínas asparticas (SAP1,.SAP2,SAP3,SAP4) y un gen que confiere capacidad de producir tubos germinales y aumentar la adhesión.<sup>93</sup>

### 1.5.5 *Staphylococcus aureus*

#### 1.5.5.1 Generalidades:

Conocido comúnmente como estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella.<sup>94</sup>



Figura 12.- Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* en agar sangre.<sup>94</sup>

En la actualidad, este microorganismo se encuentra como el principal causante de las infecciones nosocomiales. Esta situación se ve favorecida por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado o incluso con otro paciente.<sup>94</sup>

Las cepas habituales de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la penicilina, dejando como los antibióticos más eficaces para combatirlos a los aminoglucósidos, las cefalosporinas, la oxacilina o la nafcilina.<sup>95</sup> Además de la administración del tratamiento antimicrobiano correspondiente, puede ser conveniente, en función del caso, la eliminación de puertas de entradas como catéteres venosos permanentes o drenajes quirúrgicos.

*Staphylococcus aureus* es un agente patogénico ubicuo que es considerado como parte de la microbiota normal, se encuentra en la piel del individuo sano pero en ocasiones en que las defensas de la piel caen puede causar enfermedad.<sup>96</sup> El principal grupo de riesgo son pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos.

Los seres humanos son un reservorio natural de *Staphylococcus aureus*. Entre el 30 y el 50% de los adultos sanos están colonizados, y entre el 10 y el 20% se mantienen colonizados persistentemente.<sup>94</sup> Esta bacteria forma parte de la microbiota normal del ser humano y tiene colonización selectiva de narinas (20-40%, en adultos), pliegues intertriginosos, perineo, axilas y vagina, no obstante, las personas colonizadas tienen un riesgo mayor de sufrir infecciones.<sup>94</sup>

Se ha visto un incremento en la incidencia de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* desde 1970.<sup>95</sup> Durante el periodo de 1990 a 1992, *Staphylococcus aureus* fue una de los agentes etiológicos de neumonía adquirida en hospitales.<sup>97</sup> Así mismo se ha notado un incremento considerable, probablemente debido a la presión antibiótica, de cepas con resistencia a diferentes fármacos antimicrobianos. Entre ellos el estafilococo resistente a meticilina y el estafilococo resistente a vancomicina.<sup>95</sup>

#### 1.5.5.2 Genoma

*Staphylococcus aureus* tiene un cromosoma circular de aproximadamente 2800 kilo pares de bases, sin contar el material genético de prófagos, plásmidos y transposones.<sup>95</sup> Los factores de virulencia de la bacteria están contenidos en todos estos vehículos. Estos genes pueden ser transferidos entre las diferentes cepas de estafilococos, entre especies diferentes y también entre bacterias gram positivas mediante vectores.<sup>94</sup>

La virulencia del estafilococo se regula genéticamente. Se han identificado varios genes reguladores, el más estudiado es el gen agr (accessory gene regulator). El knock-out de este gen causa una marcada disminución en la virulencia.<sup>98</sup>

### 1.5.5.3 Características:

*Staphylococcus aureus* es un coco inmóvil, de 0,5 a 1  $\mu\text{m}$  de diámetro,<sup>99</sup> que se divide en tres planos para formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. En extendidos de pus los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas.

Los racimos irregulares son característicos de extendidos tomados de cultivos que se desarrollan en medios sólidos, mientras que en otros cultivos son frecuentes las formas de diplococos y en cadenas cortas.

Unas pocas cepas producen una cápsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo. *Staphylococcus aureus* es un microorganismo grampositivo.

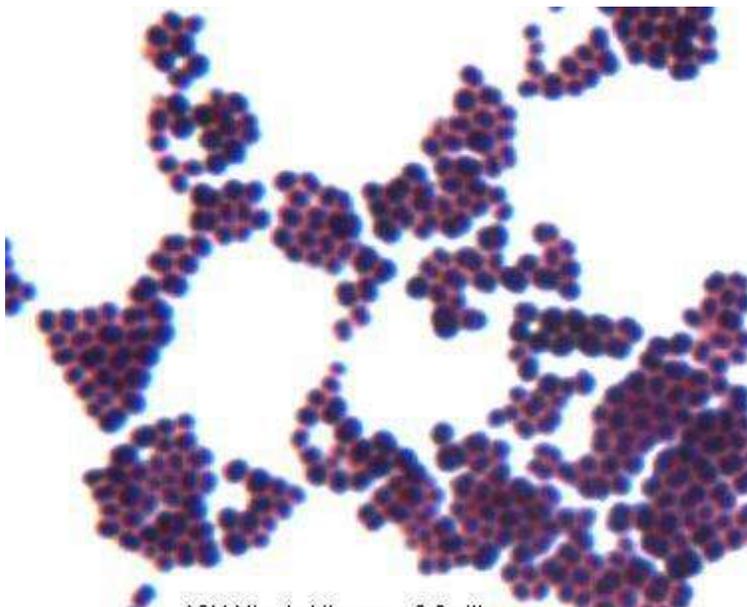


Figura 13.- *Staphylococcus aureus* visto en una tinción de gram<sup>99</sup>

#### 1.5.5.4 Metabolismo:

*Staphylococcus aureus* se desarrolla rápidamente en todos los medios, fermentan lentamente en carbohidratos, como el manitol, pero no produce gas. La actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra *Staphylococcus aureus* produce pigmentos que varían desde un color blanco hasta un amarillo intenso.<sup>99</sup>

*Staphylococcus aureus* tiene un metabolismo anaerobio facultativo, con excepción de las subespecies *Staphylococcus aureus anaerobius* y *Staphylococcus aureus saccharolyticus* que crecen de forma anaerobia y a menudo son catalasa-negativas.<sup>94</sup>

#### 1.5.5.5 Patogenicidad:

Se han reportado cepas de *Staphylococcus aureus* que se encuentran recubiertas por una capa de polisacáridos externos, la cual recibe el nombre de *slime* o cápsula mucoide, que incrementa su capacidad de adherencia, evita que sea reconocido, así como refuerza el efecto antifagocítico. Hasta ahora se han identificado 11 serotipos capsulares de *Staphylococcus aureus*. Los serotipos con las cápsulas más gruesas son el 1 y el 2, y forman colonias mucoides, no obstante, no se asocian con enfermedad. Los serotipos 5 y 7 son los responsables de la mayor parte de las infecciones humanas<sup>99</sup> y específicamente el serotipo 5 engloba a la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina 2.<sup>94</sup>

La capa polisacárida extracelular es producida por algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y les confiere la capacidad de adherirse a las células huésped diferentes objetos protésicos, como catéteres, injertos y prótesis plásticas. Esta adherencia poco común se debe a la capa de polisacárido extracelular, formada por monosacáridos, péptidos y proteínas, que es producida por la mayor parte de los estafilococos. La producción de estos dos materiales está influida por factores como la composición del medio y las condiciones de desarrollo.<sup>99</sup>

El peptidoglucano forma aproximadamente el 50% del peso de la pared celular en seco.<sup>95</sup>

Está compuesto por cadenas de 10 a 12 glucanos, entre los que destacan el ácido N-acetilmurámico y N-Acetilglucosamina unidos mediante enlaces  $\beta$  1,4.

Estos glucanos se encuentran entrecruzados por oligopéptidos y un puente de pentaglicina por la  $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa (específico para *Staphylococcus aureus*). En el caso de *Staphylococcus aureus* las cadenas de glucano se entrecruzan mediante puentes de pentaglicina unidos a L-Lisina y D-Alanina. El peptidoglucano funciona como estabilizador osmótico y evita la lisis de la bacteria por las diferencias en la concentración de sal. El peptidoglucano tiene una actividad tipo endotoxina y estimula la quimiotaxis de neutrófilos, lo que contribuye a la formación de abscesos. Las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) son enzimas que catalizan la construcción de peptidoglucano.<sup>95</sup>

Las diferencias en la estructura del peptidoglucano en cepas de *Staphylococcus aureus* constituyen diferencias en su capacidad de causar coagulación intravascular diseminada.<sup>100</sup>

#### **1.5.5.5.1 Ácidos teicoicos:**

Existen diferentes proteínas de adhesión llamadas MSCRAMM (Componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas adhesivas de la matriz), propias de los estafilococos. El ácido teicoico tiene una gran afinidad como fibronectina. Estos factores adhesivos permiten que *Staphylococcus aureus* pueda unirse a fibronectina, fibrinógeno, elastina y colágeno.

El ácido teicoico supone aproximadamente el 30% del peso de la pared celular en seco. Los ácidos teicoicos son polímeros de fosfato de ribitol unidos mediante enlaces fosfodiéster (diferentes para cada especie bacteriana). Se unen a residuos del ácido N-acetilmurámico de la capa de peptidoglucano o se anclan lipofílicamente a la membrana citoplasmática (ácidos lipoteicoicos). Son inmunógenos cuando se encuentran unidos al peptidoglucano y estimulan una respuesta de tipo humoral, activan el complemento, mejoran la quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares y activan la producción de interleucina 1.

Los ácidos teicoicos actúan en la adherencia específica de las bacterias grampositivas a las superficies mucosas y presenta afinidad por fibronectina.<sup>94,99</sup>

#### **1.5.5.5.2 Catalasa:**

La catalasa funciona para catalizar la destrucción de peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, y es de utilidad para evitar la formación de radicales tóxicos formados por el sistema de la mieloperoxidasa en las células fagocíticas.<sup>99</sup> La catalasa constituye un blanco para pruebas de identificación bioquímica.

#### **1.5.5.5.3 Proteína A:**

Las cepas de *Staphylococcus aureus* se caracterizan por estar recubiertas de proteína A (42 kDa/508 aa).<sup>100</sup> Esta proteína se acopla a la capa de peptidoglucano o a la membrana citoplasmática. Tiene afinidad por la fracción Fc de las inmunoglobulinas IgG (subtipos IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>4</sub>) lo que le permite fijarlas por el extremo cristalizable (como sostener una espada por el mango y evitar el extremo filoso), de esta manera evita ser opsonizado y fagocitado. Esta proteína es inmunógena y se encuentra (junto con anticuerpos contra ella) en el suero de individuos con infecciones severas por *Staphylococcus aureus*.<sup>94</sup> Se han desarrollado pruebas en busca de esta proteína en muestras de *Staphylococcus aureus*, no obstante no superan en efectividad a otras pruebas más sencillas.<sup>99</sup>

#### **1.5.5.5.4 Coagulasa:**

Coagulasa es un activador de protrombina<sup>95</sup> presente en la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus*, también conocida como factor de agregación y constituye una prueba muy sensible y específica para esta bacteria. Esta proteína representa un importante factor de virulencia. La coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble, la cual tiende a formar depósitos donde los estafilococos pueden agregarse (semejando a las plaquetas) y formar grupos.<sup>99</sup>

#### **1.5.5.5.5 Otras estructuras:**

La membrana citoplasmática de *Staphylococcus aureus* no presenta nada en especial. Las proteínas de superficie del estafilococo poseen características en común, tales como<sup>94</sup>

- Una secuencia de señal secretoria en el extremo amino terminal, con aminoácidos catiónicos, extendida hasta el citoplasma;
- Un extremo hidrofóbico que se extiende hasta la membrana;
- Una región de anclaje a la pared celular en el extremo carboxilo terminal;
- Un dominio de adherencia en el extremo amino terminal.

#### 1.5.5.5.6 Toxinas:

*S. aureus* produce muchas y muy variadas toxinas. Estas toxinas se dividen en 4 tipos: citotoxinas, enterotoxinas, toxinas exfoliativas y toxinas del choque tóxico.<sup>94,99</sup>

#### 1.5.5.5.7 Citotoxinas:

Una citotoxina es una toxina citolítica que causa daño directo a la membrana celular de las células del hospedero, se han identificado y aislado 5 toxinas: toxina- $\alpha$ , toxina- $\beta$ , toxina- $\gamma$ , toxina- $\delta$  y la leucocidina de Pantón-Valentine (P-V).

#### 1.5.5.5.8 Hemolisina- $\alpha$ :

La toxina alfa (hemolisina alfa) es un poli péptido de 33 kDa que se introduce en las regiones hidrofóbicas de la membrana citoplasmática de células como eritrocitos, hepatocitos, leucocitos, miocitos (también músculo liso vascular) y plaquetas; donde forma poros de 1 a 2 nm de diámetro.

Estos poros causan un desequilibrio osmótico importante debido a la salida rápida de  $K^+$  y la entrada de  $Na^+$  y  $Ca^{++}$  que termina en lisis celular. Se secreta en la fase de crecimiento logarítmico y es codificada por el cromosoma bacteriano aunque puede ser codificada por plásmidos adquiridos.

Es especialmente neurotóxica ya que causa la degeneración de la vaina de mielina.<sup>94,99</sup>

#### 1.5.5.5.9 Hemolisina- $\beta$ :

La toxina beta (hemolisina beta) es una esfingomielinasa, también conocida como esfingomielinasa C, es una proteína presente en la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus*. Esta enzima tiene una masa de 35 kDa y es termolábil (sensible al calor).

Tiene afinidad por la esfingomielina y lisofosfatidil colina (componentes de la membrana citoplasmática del hospedero) y cataliza su destrucción, con lo que trae toxicidad para distintas células como eritrocitos, fibroblastos, leucocitos y macrófagos. <sup>94,99</sup>

#### 1.5.5.5.10 Hemolisina- $\delta$ :

La toxina delta (hemolisina delta) es un pequeño poli péptido de 3 kDa producido por la gran mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* (y también por *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus haemolyticus*). Se produce en la fase de crecimiento tardío.

Se cree que esta toxina actúa como un surfactante que actúa como detergente en las membranas de las células blanco, afecta a todas las células en general, pero en especial a eritrocitos. <sup>99</sup>

<b>Toxinas gama-PV más frecuentes</b>		
<b>Subunidad S</b>	<b>Subunidad F</b>	<b>Características</b>
HlgA	HlgB	Alta actividad hemolítica
HlgC	HlgB	Alta actividad hemolítica
HlgA	LukF-PV	Alta actividad hemolítica
LukS-PV	Lukf-PV	Leucocidina de Pantón-Valentine Es leuco tóxica, pero no hemolítica

Tabla 3. Elaborado en base a: Lina, Piémont, Godail-Gamotl et al<sup>20</sup> y Murray<sup>15</sup>

#### 1.5.5.5.11 Enterotoxinas:

Las enterotoxinas estafilocócicas constituyen un grupo heterogéneo de proteínas solubles en agua, presentan un peso molecular bajo que oscila entre 26 kDa y 30 kDa. Estas toxinas provienen de cepas específicas aunque una cepa de *Staphylococcus aureus* puede sintetizar múltiples serotipos toxigénicos.

Las enterotoxinas están asociadas a intoxicaciones alimentarias, son producidas por el 30% de *Staphylococcus aureus*. Las enterotoxinas estafilocócicas son termo resistentes, algunas pueden mantenerse estables incluso al calentar los alimentos más de 100 °C durante 30 minutos,<sup>99</sup> y son resistentes a la hidrólisis por enzimas gástricas y pancreáticas. Se cree que su mecanismo de acción consiste en actuar como superantígenos, con la subsecuente liberación de citocinas responsables de los síntomas alimentarios. Se conocen 7 serotipos enterotoxigénicos diferentes: A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, D y E.<sup>101</sup>

La detección de enterotoxinas en las cepas de *Staphylococcus aureus* es sencilla y se realiza mediante pruebas con antisueros, que tienen un costo relativamente elevado y no modifican el umbral terapéutico. Por esta razón generalmente no se realiza y se asume que las cepas productoras de coagulasa y termonucleasa son enterotoxigénicas, no obstante, la *Food and Drug Administration* (FDA) establece que la sola presencia de grandes cantidades de *Staphylococcus aureus* en los alimentos no constituye evidencia suficiente para incriminar un alimento como causante de intoxicación.<sup>102</sup>

#### 1.5.5.5.12 Toxinas exfoliativas:

Las toxinas exfoliativas son proteasas de serina que catalizan la destrucción de la proteína desmogleína-1, una proteína que mantiene adheridos a los queratinocitos del estrato granuloso en la epidermis. Están presentes en menos del 10% de los estafilococos. Estas toxinas están relacionadas con el síndrome de piel escaldada por estafilococo, una enfermedad secundaria a la dermatitis exfoliativa mediada por estas toxinas. Existen dos formas distintas de toxinas exfoliativas en *S. aureus*, ETA [*Exfoliative toxin A*] y ETB [*Exfoliative toxin B*].<sup>99</sup>

ETA es codificada por un gen cromosómico y es termoestable, mientras que ETB es codificada por un plásmido y es termolábil.

#### 1.5.5.5.13 Toxina-1 del síndrome de shock tóxico:

La Toxina-1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1) es una toxina de 22 kDa termoestable y resistente a proteólisis que produce el síndrome de shock tóxico al actuar como un superantígeno. Esta patología está asociada con la infección de una herida por *Staphylococcus aureus*.

Esta toxina es estructuralmente parecida a las enterotoxinas B y C, y el gen que la codifica está presente en el 20% de las cepas de *S. aureus*.<sup>94</sup>

#### 1.5.5.5.14 Enzimas:

Los estafilococos producen varias enzimas, proteasas, lipasas e hialuronidasas que destruyen tejidos. Estas facilitan la diseminación de la infección a los tejidos adyacentes.

### 1.5.5.6 Regulación de los factores de virulencia:

La expresión de los factores de virulencia estafilocócicos está regulada por varios sistemas que detectan cambios en el ambiente. Estos sistemas constan de dos componentes, una cinasa sensora y un regulador de respuesta y funciona por medio de cascadas defosforilación que culminan en la activación de transcripción. Se han estudiado varios sistemas reguladores en *Staphylococcus aureus* que incluyen a los genes *agr*, *saeRS*, *srrAB*, *arlSR* y *lytRS*.<sup>99</sup>

El gen *agr* es el mejor estudiado y es esencial en el control de la percepción de *quorum* de la expresión genética, controla la expresión preferente de adhesinas de superficie (proteína A, coagulasa, proteína fijadora de fibronectina, entre otras)<sup>95</sup> así como la producción de toxinas, como TSST-1.<sup>103</sup>

## 1.5.6 *Enterococcus faecalis*

### 1.5.6.1 Generalidades:

*Enterococcus faecalis* es un coco Gram positivo que puede aparecer solo, en pares o en cadenas; éstas células pueden aparecer como coco-bacilos cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de placas de Agar o pueden aparecer ovales o en cadenas cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de caldo de tioglicolato.

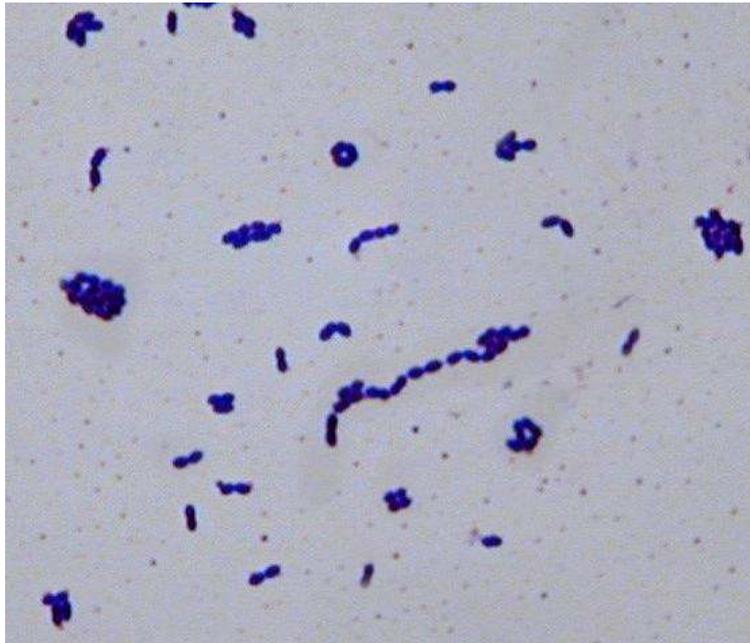


Figura 14.- *Enterococcus faecalis* visto en una tinción de Gram.<sup>116</sup>

Éste es un microorganismo anaerobio facultativo y su crecimiento óptimo ocurre a 35°C; sin embargo, también se ha observado crecimiento entre 10 y 45°C. Todas las cepas pueden crecer en caldos que contengan cloruro de sodio al 6,5% y esculina hidrolizada en presencia de sales biliares al 40% (medio de bilis-esculina). Casi todas las cepas de este microorganismo son homofermentativas, no producen gas, no contienen enzimas citocrómicas y el ácido láctico resulta el producto final de la fermentación de la glucosa.<sup>103,104</sup>

Por su parte, *Enterococcus faecalis* posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteicoico glicerol intracelular asociado con la membrana citoplasmática. La pared celular está constituida por una gran cantidad de peptidoglicanos y ácido teicoico.<sup>103</sup>

Una característica importante de *Enterococcus faecalis* es su habilidad de crecer en medios con pH ácido y alcalino, donde este último normalmente inhibe el crecimiento y supervivencia de muchos otros microorganismos.

Junto con la propiedad de sobrevivir a medios ambientes con pH ácidos o alcalinos, *Enterococcus faecalis* ha demostrado también ser capaz de formar comunidades microbianas adheridas a superficies o "biopelículas"

Las biopelículas pueden ser definidas como comunidades de microorganismos adheridas a una superficie y embebidas en una matriz de polisacáridos y proteínas formando una capa viscosa. La matriz representa generalmente el 85% del volumen de la biopelícula.<sup>103</sup>

*Enterococcus faecalis* posee un gran número de factores de virulencia que le permiten la colonización del hospedero y de la matriz extracelular, la competencia con otras bacterias, resistencia en contra de los mecanismos de defensa del hospedero, y la producción de cambios patológicos directamente a través de la producción de enzimas tóxicas o indirectamente a través de la inducción de inflamación.<sup>103,105</sup>

Entre los factores de virulencia más importantes presentes en *Enterococcus faecalis* se encuentran: la sustancia de agregación, las adhesinas o proteínas de superficie, las feromonas sexuales, el ácido lipoteicoico, el superóxido extracelular, la gelatinasa, la hialuronidasa y la citolisina, entre otros. Cada uno de estos factores de virulencia desempeña un papel específico dentro del crecimiento, desarrollo y supervivencia de *Enterococcus faecalis* en medios ambientes hostiles y con poca cantidad de nutrientes y oxígeno, por lo que a continuación se profundizará en cada uno de estos factores y se describirán sus funciones específicas.

### **1.5.6.2 Patogenicidad:**

#### **1.5.6.2.1 Sustancia de agregación.**

La sustancia de agregación es una adhesina bacteriana plásmido-codificada receptiva a las feromonas que media el contacto eficiente entre el donador y la bacteria receptora; ésta sustancia convierte la superficie de la bacteria donadora en una superficie adherente potencial para las células receptoras, causando agregación o agrupación y a su vez facilitando el intercambio de plásmidos.<sup>103,105,106</sup>

Mientras que la sustancia de agregación es expresada por la célula donadora, el proceso de conjugación bacteriana requiere que la "sustancia vinculante" sea expresada en la superficie de la célula receptora.

En este sentido, tanto el material genético como la resistencia antibiótica pueden ser transferidos de las cepas de *Enterococcus faecalis* a otras especies.<sup>103,105</sup>

La sustancia de agregación puede servir como determinante de virulencia a *Enterococcus faecalis* en, al menos, cuatro formas:

- 1.- Juega un papel importante en la diseminación de los factores de virulencia codificados por plásmidos, como la citolisina enterocócica y determinadas resistencias antibióticas, entre las especies.

2.- Esta sustancia de agregación facilita la adherencia de *Enterococcus faecalis* a las células epiteliales renales e intestinales, y a la colonización de estas superficies.

3.- Protege al microorganismo contra los leucocitos polimorfonucleares y de la lisis mediada por macrófagos. El mecanismo para esta protección puede deberse a una modificación de la maduración fagosomal.

4.- La sustancia de agregación y las citolisinas tienen acciones sinérgicas, lo cual aumenta la virulencia; esto resulta en daño tisular e invasión tisular profunda. <sup>103,107</sup>

Además de su función adhesiva durante el proceso de conjugación bacteriana, ésta media la adhesión de *Enterococcus faecalis* a numerosas células eucariotas como las células renales tubulares y las células epiteliales intestinales. Igualmente, se ha comprobado que promueve directamente la vinculación independiente a las opsoninas de *Enterococcus faecalis* a los neutrófilos humanos mediante el sistema del complemento mediado por el receptor.

Como consecuencia de este tipo especial de unión, la relación *Enterococcus faecalis* y sustancia de agregación ha mostrado ser resistente a la lisis por parte de los neutrófilos humanos, a pesar de la fagocitosis y la activación de los mismos. <sup>105,107</sup>

#### 1.5.6.2.2 Adhesinas o proteínas de superficie.

*Enterococcus faecalis* presenta en su pared celular numerosas proteínas de superficie, cada una cumpliendo una función específica. Las más importantes son la proteína de superficie Esp y la Ace, ambas relacionadas con la formación de biopelículas y con la adherencia del microorganismo a las proteínas de la matriz extracelular y al colágeno tipo I y IV.

La proteína de superficie Esp es una proteína superficial larga de 1,873 aminoácidos, sin ningún parecido estructural a las otras proteínas de superficie reconocidas. <sup>108,109</sup>

Fue en 1999 cuando Shankar et al<sup>110</sup> reportaron la identificación de esta proteína asociada a la pared celular de *Enterococcus faecalis*. Su nombre, Esp, se deriva de sus siglas en inglés Enterococcal surface protein.

Estos autores sugieren que la presencia de la Esp pudiera ser la responsable del aumento de la capacidad hidrofóbica y así facilitar las interacciones de este tipo entre moléculas.

Dos años más tarde, en el 2001, Toledo-Arana et al <sup>109</sup> realizan un estudio donde evaluaron la acción de la proteína de superficie Esp en diferentes cepas aisladas de *Enterococcus faecalis* y analizaron los efectos producidos en los diferentes pasos de formación de la biopelícula a niveles microscópicos y macroscópicos. A su vez, compararon la proteína de superficie Bap, cuyo nombre proviene de Biofilm associated protein, que se encuentra en la pared celular de *Staphylococcus aureus* con la Esp de *Enterococcus faecalis*, en cuanto a su influencia en la formación de biopelículas. Esta proteína Bap, en un estudio previo de los mismos investigadores, demostró ser una pieza fundamental en la formación de biopelículas por parte de este microorganismo.

Otra de las proteínas de superficie que se encuentra presente en la pared celular de *Enterococcus faecalis* es la proteína de Superficie Ace; ésta es una proteína vinculada al colágeno, es una molécula adherida a la matriz extracelular reconocida como un componente microbiano superficial, la cual media la adherencia a las proteínas de la matriz extracelular, al colágeno tipo I y IV y a la Laminina.<sup>111</sup>

Una investigación importante relacionada con la función de esta proteína es la realizada por Nallapareddy et al<sup>111</sup> quienes evaluaron la capacidad de mediar la adhesión de la proteína de superficie Ace de *Enterococcus faecalis* a las proteínas de la matriz extracelular como el colágeno tipo IV y la Laminina.

Ellos utilizaron cepas de *Enterococcus faecalis* mutadas y evidenciaron que la proteína de superficie Ace si interviene en la adhesión de la cepa OG1RF de *Enterococcus faecalis* al colágeno tipo IV y a la Laminina, así como también al colágeno tipo I. Además señalan que se pudiera pensar que esta proteína de superficie es la responsable de la adhesión a estas tres proteínas de la matriz extracelular, debido a la reducción importante en la adhesión.<sup>111</sup>

#### 1.5.6.2.3 Feromonas sexuales:

Las feromonas sexuales son péptidos hidrofóbicos pequeños codificados cromosomalmente, a lo largo de 7 u 8 aminoácidos, los cuales promueven la transferencia conjugativa de plásmidos de ADN entre las cepas. <sup>105,106</sup> Se describen como feromonas porque ellas obtienen una respuesta específica de unión de las células donadoras transportadoras de plásmidos.<sup>106</sup>

Normalmente, son secretadas simultáneamente múltiples feromonas por una cepa de *Enterococcus faecalis*. Adicionalmente a las feromonas, cada plásmido receptor de feromonas codifica un péptido secretado que actúa como inhibidor competitivo de su feromona correspondiente. <sup>106</sup>

Se ha señalado que algunas feromonas y sus péptidos inhibidores poseen el potencial de ofrecer funciones adicionales como quimiorreceptor a los neutrófilos, causando secreción enzimática granular e induciendo a una explosión respiratoria. A pesar de que *Enterococcus faecalis* secreta normalmente múltiples feromonas y los efectos quimiotácticos de las feromonas aparecen en bajas concentraciones, se desconoce por qué estos péptidos y sus inhibidores modulan significativamente la respuesta inflamatoria in vivo. <sup>106</sup>

#### 1.5.6.2.4 Acido lipoteicoico:

Los ácidos lipoteicoicos son un grupo de moléculas o polímeros anfipáticos íntimamente relacionados y asociados con la pared celular, que están constituidos por una columna central de poliglicerolfosfato unida covalentemente a una porción glicolípídica hidrofóbica. <sup>105,106</sup>

Se ha reportado que los ácidos lipoteicoicos aislados de cepas de *Enterococcus faecalis* o de otras bacterias Gram positivas pueden estimular a los leucocitos a liberar numerosos mediadores, los cuales juegan un papel importante en varias fases de la respuesta inflamatoria. Entre ellos se incluyen la liberación del factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 1 beta, la interleucina 6 (IL-6), la interleucina 8 (IL-8), la prostaglandina E2 (PGE2) y la liberación de enzimas lisosomales. <sup>105</sup>

Ehrenfeld<sup>116</sup> señalan que los ácidos lipoteicoicos han sido considerados como un componente de la sustancia vinculante de *Enterococcus faecalis*, los cuales actúan como un receptor en la célula receptora para la sustancia de agregación producida por la célula donadora. Esta conclusión proviene de experimentos donde ácidos lipoteicoicos libres aislados de *Enterococcus faecalis* inhiben grupos celulares inducidos por feromonas actuando como un inhibidor competitivo de la sustancia vinculante celular.

Por esto, los ácidos lipoteicoicos son considerados moléculas que ayudan a la virulencia de *Enterococcus faecalis* a través de la facilitación de formación agregada y la transferencia de plásmidos. <sup>113</sup>

#### 1.5.6.2.5 Superóxido extracelular:

Los aniones superóxidos son radicales de oxígeno altamente reactivos relacionados con el daño tisular y celular en una gran variedad de desórdenes, incluyendo las enfermedades inflamatorias.<sup>105</sup>

Huycke<sup>114</sup> señalan que *Enterococcus faecalis* produce superóxido extracelular sustancial y especies derivadas del oxígeno reactivo como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y radicales hidroxilos. Ellos evaluaron el daño producido por *Enterococcus faecalis* sobre el ADN de las células eucariotas, y observaron que las cepas de microorganismo donde hubo presencia de superóxido extracelular produjeron mayor daño sobre el ADN que aquellas cepas mutadas. Estos hallazgos sugieren que la producción de radicales libres extracelulares por parte de *Enterococcus faecalis* promueve la inestabilidad cromosomal y el daño causado en el ADN.

#### 1.5.6.2.6 Gelatinasa:

La gelatinasa es una metaloproteínasa extracelular que contiene zinc, presente en *Enterococcus faecalis*, y fue descrita por primera vez en 1964. Puede hidrolizar gelatina, colágeno, fibrinógeno, caseína, hemoglobina, inulina, algunos péptidos relacionados con las feromonas sexuales y otros péptidos bioactivos.<sup>105,106</sup>

Con relación a esto, Hubble<sup>112</sup> realizaron un estudio donde evaluaron la pérdida de adhesión de las cepas de *Enterococcus faecalis* a la dentina radicular cuando eran mutadas fracciones de las proteasas serinas y la gelatinasa. Sus resultados señalan que se desconoce la participación independiente de la gelatinasa en la adhesión a la dentina radicular, debido a que en este estudio las cepas que mutaron por la acción de la gelatinasa también mutaron por la acción de la proteasa serina. Sin embargo, los péptidos y aminoácidos producidos tanto por la gelatinasa, como por la proteasa serina, pudieran ser una fuente importante de nutrientes para el crecimiento bacteriano.

#### 1.5.6.2.7 Hialuronidasa:

La hialuronidasa es un término general usado para describir enzimas que son capaces de descomponer el sustrato hialuronidato (ácido hialurónico o hialuronano).<sup>115</sup>

La hialuronidasa actúa como un ácido hialurónico, y es principalmente, una enzima degradativa que está asociada con daño tisular como consecuencia de su función.<sup>105</sup>

Otra función importante de esta enzima podría ser abastecer de nutrientes a los microorganismos, debido a que los productos de degradación de los sustratos son los disacáridos, los cuales pueden ser transportados y metabolizados intracelularmente por las bacterias.<sup>115</sup> La hialuronidasa es considerada como facilitador de la proliferación bacteriana, así como de sus toxinas, a través de los tejidos del hospedero. Además de su propio efecto dañino, también es capaz de permitir los efectos deleatorios de otras toxinas bacterianas, incrementando así la magnitud del daño.<sup>105</sup>

#### 1.5.6.2.8 Citolisina (Hemolisina):

La hemolisina, una enzima tóxica codificada por plásmidos, es producida por las cepas-hemolíticas de *Enterococcus faecalis*. Es capaz de destruir eritrocitos, neutrófilos polimorfonucleares y macrófagos, y reducir el acto de la fagocitosis.<sup>103</sup>

Jett<sup>116</sup> señalan que si las cepas de *Enterococcus faecalis* producen citolisinas, el efecto beneficioso combinado de la terapia antimicrobiana y anti-inflamatoria se vería completamente contrarrestado debido a la actividad organotóxica de esta sustancia, la cual destruye completamente el órgano a pesar de que los otros aspectos importantes de la infección estén satisfactoriamente controlados. Estos autores demuestran que aún en un órgano con respuesta inmune limitada, la enfermedad enterocócica cuenta con un componente inflamatorio importante, así como con un componente organotóxico si el organismo agresor es productor de citolisina.

### 1.5.7 *Pseudomonas aeruginosa*

#### 1.5.7.1 Generalidades:

El género *Pseudomonas* pertenece a la familia *Pseudomonaceae*, la cual está integrada por una gran 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.<sup>117</sup>

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 esporulados, móviles; algunos poseen microcápsulas y pigmentos solubles en agua; son bacilos no fermentadores (BNF). Existen múltiples problemas taxonómicos; por ello, la diferenciación entre la familia *Pseudomonaceae* y otras afines, así como entre los cuatro géneros de esta familia y entre las especies del género, distinguiendo el *Manual Bergey's* 29 perfectamente individualizados y 206 no claramente difundidos. Esto nos da una idea de la complejidad del género.<sup>117</sup>

*Pseudomonas 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. A partir de la década del 60 se ha incrementado el interés médico por esta especie, al convertirse en uno de los principales agentes causantes de enfermedades adquiridas en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.<sup>117</sup>

Fue identificada en 1882 por Gessard. Es un organismo ambiental, con requerimientos nutricionales simples. Es un patógeno oportunista que se presenta cuando los mecanismos de defensa del hospedero están alterados, suprimidos o comprometidos, siendo necesaria la presencia de factores predisponentes para que ocurra la infección; entre ellos mencionamos las enfermedades malignas, las quemaduras, las diabetes, pacientes sometidos a la instrumentación o manipulación (cateterizaciones uretrales, traqueotomías, punciones lumbares, infusiones intravenosas de medicamentos y líquidos) y pacientes con fibrosis quística.

En este organismo es inherente la resistencia a la mayoría de los antibióticos, se considera un importante patógeno en la infección intrahospitalaria, reportándose por encima del 20 % de esas infecciones.<sup>117</sup>

Los pacientes hospitalizados se infectan con este microorganismo proveniente de fuentes exógenas y endógenas, pues alrededor de un 5 a un 10 % de las personas lo portan en el tracto respiratorio y gastrointestinal, lo cual aumenta en pacientes hospitalizados; la infección raramente ocurre en aquellos con defensas normales.

*Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con enfermedades crónicas puede mostrar una variante fenotípica mucoide, dada por la síntesis de alginato, el cual está determinado genéticamente y sólo se manifiesta cuando existen daños o deterioro de la estructura orgánica donde se manifieste.

En pacientes con fibrosis quística, el deterioro de la función y estructura del pulmón dada por la infección crónica de dicho germen, hace que se manifieste la variedad mucoide. Por encima del 80 al 90 % de estos pacientes desarrollan infecciones crónicas por *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>117</sup>

#### 1.5.7.2 Morfología e identificación:

Bacilos gramnegativos rectos o curvos (bastoncillos) que pueden aparecer aislados, en pares o en cadenas, con un diámetro de 0,6 a 2  $\mu\text{m}$ . Son aerobios, no esporulados, móviles. Poseen de 1 a 3 flagelos polares y muchas proyecciones en su pared denominadas fimbrias. Algunos poseen una microcápsula.<sup>117</sup>

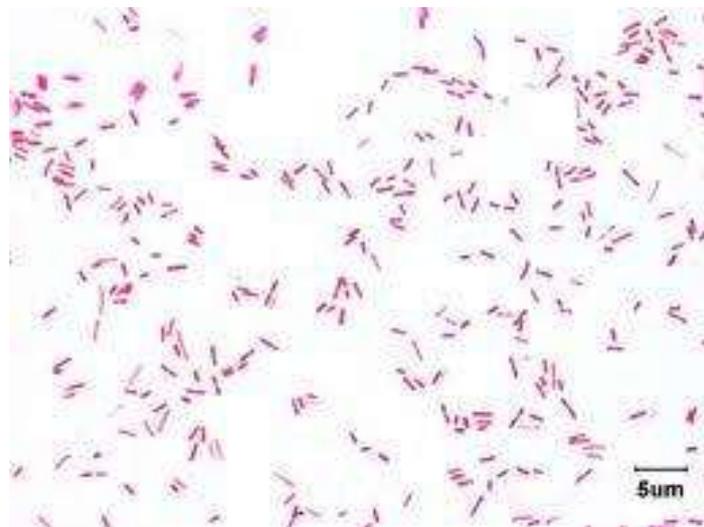


Figura 15.- Características de *Pseudomonas aeruginosa* vista en una tinción de gram.<sup>117</sup>

En un cultivo *Pseudomonas aeruginosa* es un aerobio obligado, que crece con facilidad en los medios de cultivos y produce, en ocasiones, un olor dulzón, o de uvas. Se desarrolla a temperatura entre 10 y 42  $^{\circ}\text{C}$ , aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 35 a 37  $^{\circ}\text{C}$ .

Algunas cepas producen hemólisis. Las mismas emiten pigmentos de fenazina en agar nutritivo, después de 24 horas de incubación a 37 °C y posteriormente a temperatura ambiente; los mismos pueden ser azul (piocianina), amarillo verdoso (pioverdina), rojo (piorrubina) y negro (piomelanina). Existe, aproximadamente, un 10 % de *Pseudomonas aeruginosa* que son apigmentadas.<sup>117</sup>



Figura 16.- Morfología colonial de *Pseudomonas aeruginosa* en agar sanare<sup>117</sup>

Los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* pueden mostrar varios tipos de colonias: lisas, rugosas, mucoides, redondas, alargadas, con pigmentos verde metálico y olor dulzón, que presentan, además, características bioquímicas enzimáticas y de susceptibilidad antimicrobiana diferentes *Pseudomonas*.

En pacientes fibroquísticos, las cepas pueden aparecer desde el punto de vista fenotípico con variante mucoide, como resultado de la producción excesiva de alginato (un exopolisacárido), lo cual indica que los cambios estructurales en la zona aislada (pulmón) son crónicos y con mal pronóstico.<sup>117</sup>

### **1.5.7.3 Características del crecimiento.**

*Pseudomonas aeruginosa* crece bien a temperaturas oscilantes entre 37 y 42 °C. El crecimiento a 42 °C con formación de velo en medio líquido, ayuda a distinguirla de otras especies. Produce ácidos de una serie de carbohidratos, pero no de disacáridos en medio OF de Hugh-Leifson, y pigmentos en agar nutriente, sobre todo en medio de King A y King B.

La mayoría crece en medios mínimos, sin factores orgánicos de crecimiento, usando los iones amonio como única fuente de nitrógeno y la glucosa como única fuente de carbono y energía. Su metabolismo es estrictamente aerobio.<sup>117</sup>

#### 1.5.7.4 Estructura antigénica.

Poseen antígenos O, H, M. El antígeno somático se denomina O (AgO), el antígeno flagelar se designa con la letra H y el antígeno mucoide, con la letra M. Tienen *pili* o fimbrias (tipo IV) que se extienden desde la pared celular y permiten la fijación a células epiteliales del hospedero.

Los anticuerpos contra antígenos O, H y los *pili* permiten tipificar las cepas con fines epidemiológicos. El antígeno O está dado por el LPS, el cual está formado por el lípido A (muy tóxico, que comprende la endotoxina), un centro constituido por polisacáridos y por las cadenas laterales largas de oligosacáridos O (específicos de grupo) que es la parte más externa del LPS y permite seroagruparlas.<sup>117</sup>

Las cepas muestran diferencias en el AgO específico (por pérdidas de las unidades iterativas de la cadena larga) durante la infección pulmonar crónica por dicho agente en pacientes con fibrosis quística, expresando entonces un LPS común. Estudios realizados muestran que el fago libre ocurre en el esputo de los pacientes con fibrosis quística y este ejerce un importante papel en el cambio de serogrupo de cepas monoaglutinables a poliaglutinables y viceversa.

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con diferencia en el AgO son productoras de alginato, el cual es un exopolisacárido, cuya biosíntesis está cromosómicamente regulada y enmarcada en tres locus distintos. Dichos genes están presentes en cepas no mucoides y se expresan desde el punto de vista fenotípico bajo determinadas condiciones como la deshidratación, cambios inflamatorios, limitantes en la temperatura, disminución del pH y cambios osmóticos como: disminución en la concentración de fosfatos, aumento en la concentración de NaCl, MgCl<sub>2</sub>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, glicerol o sacarosa), lo que equivale a la disminución de las cadenas largas o específicas del LPS, trayendo consigo que las cepas se transformen en poliaglutinables o no tipables. La síntesis de alginato constituye un importante factor inmunogénico y de virulencia.<sup>117</sup>

#### 1.5.7.5 Toxinas y enzimas (factores de virulencia):

1. *Pili*: de importancia en la adherencia.
2. *Flagelos*: permiten la motilidad y son inmunogénico.
3. *Alginato*: permite la adherencia de la bacteria a la célula epitelial, interfiriendo en la actividad fagocítica de los neutrófilos. Induce respuestas inmunes y cambios inflamatorios. Inhibe la quimiotaxis y activación del complemento. Interfiere en la opsonización y favorece la agregación de bacterias sobre las microcolonias mucoides (biofilm).
4. *Sideróforos*: adquisición de hierro.
5. *Proteínas de la membrana externa*: inmunogénicos.
6. *Piocianina y otros pigmentos fenazínicos*: inhiben la movilidad ciliar y la proliferación de linfocitos. Tienen actividad antibiótica. Realzan la liberación de interleuquina 1 y del factor de necrosis tumoral. Estimulan e inhiben la generación de superóxido.
7. *LPS*: actividad endotóxica. Es inmunogénico; modula la función de los neutrófilos; obstaculiza la inducción de anticuerpos. Produce necrosis focal en el sitio de colonización.
8. *Elastasa (enzima proteolítica)*: solubiliza la elastina del pulmón; degrada el colágeno I, II y III; activa el factor XII de la coagulación; adhiere e inactiva lisozimas; adhiere IgG, IgA e IgA secretora. Inactiva el complemento; inhibe la quimiotaxis de los polimorfonucleares (PMN); reduce la fagocitosis de los PMN; adhiere elastasa a los PMN; inhibe la proliferación de linfocitos humanos; se adhiere a la interleuquina 2; inhibe la acción de las células killer; se adhiere a los receptores CD4 de los linfocitos. Inactiva el interferón gamma y el factor de necrosis tumoral. Es inmunogénica.
9. *Proteasa alcalina (enzima proteolítica)*: inhibe la proliferación de los linfocitos humanos; se adhiere a la IgA; inactiva el complemento; se adhiere a la interleuquina 2; inhibe la activación de las células killer; se adhiere a los receptores CD4 de los linfocitos; inhibe la quimiotaxis de los polimorfonucleares; reduce la fagocitosis de los PMN; degrada e inhibe la activación del interferón gamma; inactiva el factor de necrosis tumoral. Es inmunogénica.

10. *Proteinasa*: estimula la activación de mucina de las células del tracto respiratorio. Inactiva la antitripsina 1.
11. *Leucocidina*: citotóxica para los PMN y linfocitos; daña los capilares pulmonares.
12. *Ramrólpidos (hemolisinas termoestables)*: inactivan o destruyen la estructura ciliar. Realzan la liberación de mucinas.
13. *Fosfolipasa C (hemolisina termolábil)*: degrada la lecitina (componente importante del surfactante del pulmón). Induce la liberación de histamina (importante mediador anafiláctico). Es inmunogénica.
14. *Lipasa*: inhibe la quimiotaxis de los monocitos.
15. *Exotoxina A*: producto de mayor toxicidad presente en *Pseudomonas aeruginosa*. Inhibe la síntesis de proteínas. Tóxica para los macrófagos. Es inmunogénica.<sup>117</sup>
16. *Slime*: inhibe la fagocitosis por los PMN. Es citotóxico para los leucocitos.
17. *β-lactamasa*: le confiere resistencia a los antibióticos.
18. *Creatinasa*.
19. *Catalasa*.
20. *Argininhidrolasa*.
21. *Nitrorreductasa*.
22. *Ureasa*.
23. *Fibrinolisisina*.
24. *Colagenasa*.
25. *Toxina eritrodérmica*.
26. *Bacteriocinas*.
27. *Exotoxina S*: inhibe la síntesis proteica; dicho mecanismo no está bien aclarado.<sup>11</sup>

#### 1.5.7.6 Patogenia:

La infección por *Pseudomonas aeruginosa* raramente ocurre en personas con defensas normales. Para que la infección se presente deben haber factores predisponentes, como: enfermedades malignas, hematológicas y metabólicas. La infección adquirida en el hospital se observa en pacientes sometidos a procedimiento instrumental o manipulación como en los casos de cateterismo uretral, traqueotomías, punción lumbar e infecciones intravenosas.

La susceptibilidad a la infección por *Pseudomonas aeruginosa* aumenta después de tratamiento prolongado con agentes inmunodepresores, corticosteroides, antimetabolitos, antibióticos y radiaciones. La infección puede ser de origen endógeno, pues de un 5 a un 10 % de las personas la portan en el tracto respiratorio y digestivo, por lo que se incrementa cuando las condiciones anteriores están presentes. *Pseudomonas aeruginosa* infecta a menudo las heridas quirúrgicas, úlceras de decúbito, abscesos, quemaduras, fístulas con drenajes, infecciones del oído y pulmones de pacientes tratados con antibióticos. Es un patógeno de importancia en el tracto respiratorio de pacientes con fibrosis quística.<sup>117</sup>

En todos estos casos es fundamental el papel de los *pili* o fimbrias, que le permiten adherirse a las células epiteliales y multiplicarse posteriormente, liberando los factores de patogenicidad antes mencionados. El LPS desempeña una función importante en la producción de *shock*, fiebre, oliguria, leucocitosis, leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos.

*Pseudomonas aeruginosa* causa el 70 % de las otitis externas; es frecuente observarlas en personas que practican natación, aunque también aparecen en personas saludables. Dicho microorganismo puede ser responsable de úlceras corneales previo a un trauma ocular, progresando el cuadro y dando lugar a una panofalmitis y ceguera. Se asocia, asimismo, con la infección crónica del pulmón en pacientes con fibrosis quística, enfermedad hereditaria caracterizada por una disfunción de las glándulas endocrinas, las cuales secretan un *mucus* muy viscoso que obstruye los conductos secretores y la evacuación de dichos órganos, especialmente los bronquios e intestinos, y los conductos pancreáticos y biliares.<sup>1</sup>

El mecanismo por el cual la *Pseudomonas aeruginosa* inicialmente coloniza el tracto respiratorio de los pacientes con fibrosis quística y luego es aspirado al pulmón, está dado por un tropismo especial de dicho agente, favorecido por las infecciones virales que disminuyen la ``defensa local, a los trastornos

electrolíticos, observándose en dichos pacientes que el transporte de hierro del epitelio respiratorio es anormal, con excesiva absorción de sodio y deficiente regulación de los canales de cloro por carencia de la proteína que regula la conductividad a través de la membrana citoplasmática. Por otra parte, las glicoproteínas del *mucus* de estos pacientes tienen un alto contenido de sulfatos y muy bajo contenido de agua; todas estas alteraciones de las secreciones de estos pacientes hacen que las mismas sean más viscosas e impidan el aclaramiento mucociliar, dañándose el epitelio respiratorio.<sup>117</sup>

Otro factor que favorece la infección respiratoria es la disminución en los niveles de complemento.

Todo lo anterior trae consigo una pérdida en la cantidad de fibronectina en las células de la mucosa oral, lo cual expone los receptores celulares para

*Pseudomonas aeruginosa* (gangliósidos GM1, azúcares y aminoácidos) y puede mostrar variantes fenotípicas mucoides y no mucoides, estando esto determinado por la síntesis de alginato, que permite la adherencia de la bacteria a la célula epitelial interfiriendo en la actividad fagocítica de los neutrófilos, induciendo respuesta inmune y cambios inflamatorios, inhibiendo la quimiotaxis y la activación del complemento, interfiriendo en la opsonización, favoreciendo la agregación y protección de la bacteria sobre las microcolonias mucoides (biofilm), esto permite a la bacteria ser mil veces más resistente a los aminoglucósidos y  $\beta$ -lactámicos. Todo ello muestra que las variantes fenotípicas mucoides indican infección crónica y mal pronóstico.<sup>117</sup>

Se plantea en la actualidad que *Pseudomonas aeruginosa* invade las células epiteliales de la siguiente manera: *Pseudomonas aeruginosa* induce la expresión en las células epiteliales del tracto respiratorio de CFTR (carencia de una proteína que regula la conductividad de la membrana citoplasmática), el cual tiene alrededor de 720 mutaciones en pacientes con fibrosis quística. CFTR se traslada a la superficie celular, *Pseudomonas aeruginosa* se une a CFTR y es transportada al interior de la célula epitelial favoreciendo su multiplicación a este nivel; el resto de los patógenos del tracto respiratorio de estos pacientes no utilizan esta vía. De esta forma *Pseudomonas aeruginosa* evade los mecanismos de defensa específicos del hospedero.<sup>117</sup>

#### **1.5.7.7 Datos clínicos:**

*Pseudomonas aeruginosa* produce infección de las heridas y quemaduras, en las cuales origina un pus de color azul verdoso.

Ocasiona meningitis cuando se infiltra por punción lumbar e infección de vías urinarias cuando se infiltra por catéter, instrumentos o en las soluciones de lavado de las vías urinarias. La infección de vías respiratorias, en especial a causa de respiradores contaminados, provoca neumonía necrosante: reportándose en el 24 % de pacientes hospitalizados con VIH y neumonía bacteriana.<sup>117</sup>

En el aparato digestivo se describe una enterocolitis pseudomembranosa. Produce, con gran frecuencia, otitis externa leve en los nadadores; puede originar otitis externa invasora (maligna) en pacientes diabéticos. La infección a nivel ocular produce úlceras corneales y ceguera; por lo general aparece después de la lesión traumática o de procedimientos quirúrgicos.

En lactantes, pacientes inmunodeprimidos y quemados, *Pseudomonas aeruginosa* tiende a invadir la sangre y a originar sepsis mortal. La endocarditis se reporta en sujetos drogadictos, sometidos a trasplantes o con válvulas insertadas.<sup>117</sup>

A nivel de la piel provoca necrosis hemorrágica; las lesiones que ocasiona se denominan ectima gangrenoso, caracterizado por lesiones redondas, induradas, de color púrpura, de aproximadamente 1 cm de diámetro con una úlcera central, rodeada de una zona de eritema. Las mismas se localizan con mayor frecuencia a nivel de las nalgas, el perineo y las extremidades.<sup>117</sup>

En pacientes con fibrosis quística provoca destrucción del parénquima pulmonar de forma progresiva, ocasionando la muerte.<sup>117</sup>

### 1.5.8 *Enterobacter cloacae*

#### 1.5.8.1 *Generalidades:*

*Enterobacter cloacae* es una forma de varilla, bacterias gram-negativas de la familia Enterobacteriaceae. El tamaño de esta bacteria oscila 0,3-0,6 x 0,8-2,0 micras.<sup>118</sup> *Enterobacter cloacae* vive en el medio ambiente mesófilos con su temperatura óptima a 37 ° C y usa sus flagelos peritricoso para el movimiento.

Este organismo es oxidasa negativa, pero la catalasa positivo y es anaerobio facultativo<sup>118</sup>.

En otras palabras, este organismo puede producir ATP por la respiración aeróbica cuando el oxígeno está presente, pero puede cambiar a la fermentación en ausencia de oxígeno.



Figura 17.- Características de la morfología colonial de *Enterobacter cloacae* en agar Mac-Conkey.<sup>118</sup>

*Enterobacter cloacae* tienen la mayor tasa de mortalidad en comparación con otros *Enterobacter*. Muchas de las muestras clínicas de los *Enterobacter* son difíciles de distinguir de otras infecciones bacterianas.<sup>119</sup>

*Enterobacter cloacae* es un patógeno nosocomial que pueden causar una serie de infecciones como la bacteriemia, infección del tracto respiratorio inferior, infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones del tracto urinario, endocarditis, infecciones intra-abdominales, artritis séptica, osteomielitis e infecciones oftálmicas.<sup>119</sup>

Este organismo afecta sobre todo a los grupos de edad más vulnerables, como los ancianos y los jóvenes y puede causar una prolongada hospitalización en la unidad de cuidados intensivos (UCI).<sup>120</sup>

Son patógenos de la UCI pueden causar morbilidad y mortalidad y el manejo de esta infección bacteriana se complica por la resistencia a múltiples antibióticos del organismo. Estas bacterias contienen beta-lactamasa, que es indetectable in vitro y es muy resistente a los antibióticos tales como las cefalosporinas de tercera generación.<sup>119</sup>

Este organismo se aísla principalmente en infecciones nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos para aquellos que se quedan en el hospital durante períodos prolongados. La infección se puede contraer a través de la piel, el tracto gastrointestinal, tracto urinario, o la contaminación cruzada.

Los brotes también pueden remontar de nuevo a manos del personal, endoscopios, los hemoderivados, soluciones integrales de nutrición parenteral, albúmina y equipos hospitalarios, tales como estetoscopios y diálisis.<sup>119</sup>

#### **1.5.8.2 Genoma:**

El genoma de *Enterobacter cloacae* ha sido secuenciado completamente. Este organismo produce beta-lactamasas codificadas cromosómicamente también llamado cefalosporinas. Muchos de los *Enterobacter* especies tienen resistencia a múltiples antibióticos que son indetectables in vitro, lo que hace que sea difícil de tratar en pacientes.<sup>121</sup> Algunos son resistentes a las fluoroquinolonas.<sup>122</sup>

Secuencias parciales para la AcrR y secuencia completa de los genes AcrA y AcrB de *Enterobacter cloacae* están disponibles. El gen AcrR actúa como un represor mientras que el gen AcrA es una proteína de fusión de membrana de la bomba de eflujo multifármaco. El gen AcrB es el transportador de la membrana interna de la bomba de flujo multifármaco.

#### **1.5.8.3 Estructura celular y metabolismo:**

*Enterobacter cloacae* son bacterias gram-negativas que significa que contienen dos membranas celulares. En la membrana externa, el lípido-A desde el lipopolisacárido (también conocido como endotoxinas), provoca la sepsis. Éste lípido causa la liberación de citoquinas, que puede causar las toxinas que se ejecuten en los tejidos y el torrente sanguíneo. Las bacterias contienen beta-lactamasa, que es una enzima que es responsable de la resistencia a los antibióticos durante el tratamiento y no se puede detectar in vitro. Este organismo es un fermentador de glucosa y es capaz de crecer en atmósferas aeróbicas y anaeróbicas. *Enterobacter cloacae* pruebas positivas para la beta-galactosidasa, arginina dihidrolasa, descarboxilación de la ornitina, la utilización de citrato, la reducción del nitrato, y la reacción de Voges-Proskauer.

Aunque el ácido se produce a partir de muchas fuentes de carbono, esta bacteria no produce la lisina descarboxilasa, sulfuro de hidrógeno, la ureasa, triptófano desaminasa, e indol.<sup>120</sup>

Bajo condiciones anaeróbicas, *Enterobacter cloacae* es capaz de reducir selenito a selenio elemental con el fin de mantener sus células.

Con el fin de hacer ello, se requiere de menaquinona, que actúa como un transportador de electrones. Mediante la reducción de selenito con menaquinona, se genera una fuerza motriz de protones, lo que permite que la célula crezca lentamente en condiciones anaerobias y mantener las células.

#### **1.5.8.4 Ecología:**

*Enterobacter cloacae* se puede encontrar en la piel humana y tejidos, así como las frutas, las verduras y los dispositivos tales como un tanque de tratamiento de agua caliente. Aunque este organismo es principalmente un patógeno para la enfermedad humana, *Enterobacter cloacae* se han utilizado como un control biológico de enfermedades de las plantas tales como la semilla de oomicetos-descomposición en *Pythium ultimum* y se utiliza para controlar las plagas de insectos en las hojas de morera y suprimir la enfermedad.<sup>125</sup>

#### **1.5.8.5 Patología:**

*Enterobacter cloacae* son patógenos nosocomiales que pueden ser adquiridos a través de la piel, el tracto gastrointestinal, el tracto urinario o de origen externo debido a la naturaleza ubicua. Este organismo es un patógeno oportunista, lo que significa que las dianas de enfermedades comprometidos los pacientes como los jóvenes, viejos, o los que tienen una enfermedad grave, como el virus de la inmunodeficiencia humana.<sup>120</sup> Las infecciones nosocomiales son más frecuentes de este organismo, lo que significa que puede ser contratado a partir del resultado de ser hospitalizados, como la UCI. *Enterobacter cloacae* se han aislado de manos de personal, endoscopios, productos de la sangre, dispositivos para la presión intra-arterial, estetoscopios, termómetros albumim, digitales y muchos más.<sup>119</sup>

Ha habido incidencias de la contaminación cruzada en la sala de cardiovascular a través de la sonda de ecocardiografía transesofágica en la UCI, así como el sistema de cultivo de sangre. Con muchas posibilidades de brotes causados por *Enterobacter cloacae*, es importante contar con la limpieza del ambiente de rutina, sobre todo cuando se introducen nuevos métodos, equipos, o personal.<sup>126</sup>

*Enterobacter cloacae* son responsables de diversas infecciones, como bacteriemia, infecciones del tracto respiratorio inferior, infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones del tracto urinario, endocarditis, infecciones intra-abdominales, artritis séptica, osteomielitis e infecciones oftálmicas.

Estas infecciones pueden causar morbilidad y mortalidad y la infección es difícil de manejar debido a su resistencia a múltiples antibióticos.

## 2 DIAGNOSTICO CLINICO Y MICROBIOLOGICO DE LA NEUMONIA

A través de los años se han propuesto múltiples criterios para el diagnóstico de la neumonía asociada a la ventilación. En 1987 *Johanson* y otros<sup>127</sup> plantean que la fiebre, leucocitosis, secreciones traqueobronquiales purulentas y la presencia de nuevos infiltrados pulmonares en la radiografía de tórax pudieran resultar útiles en la orientación del diagnóstico de la entidad. Posteriormente se demostró que estos criterios no eran ni muy específicos ni muy sensibles, pues no se identifica el origen infeccioso, y es difícil hacer una definición para una estrategia óptima en pacientes con solo la sospecha clínica de la infección.<sup>128,129</sup>

Debido a esto, en 1992 durante el Consenso de *Menphis*,<sup>130</sup> se llegó al acuerdo sobre el diagnóstico de esta entidad, y se dieron a conocer los criterios de seguridad y probabilidad de neumonía asociada a ventilación, los cuales también resultaron difíciles de aplicar al tratarse de una entidad que necesita diagnóstico rápido e inicio de tratamiento precoz, para evitar el desarrollo de las complicaciones que esta entidad provoca.

En 1999, la Sociedad americana del Tórax,<sup>131,132</sup> emitió los nuevos criterios para el diagnóstico de la neumonía asociada la ventilación, los cuales consisten en:

### a) Criterios clínicos:

- Rayos X de tórax con infiltrados nuevos o persistentes.
- Más de 2 de los siguientes: fiebre o hipotermia, leucocitosis o leucopenia, secreciones purulentas.

### b) Pruebas diagnósticas suplementarias:

- No microbiológicas:
  - Análisis de gases arteriales;
  - Hematología completa;
- Microbiológicos:
  - Hemocultivos;

- Aspirado endotraqueal para tinción de Gram y cultivos. El examen directo de las secreciones pulmonares es muy importante no sólo porque identifica a los pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica, sino que ayuda a seleccionar el tratamiento adecuado.

Esta técnica permite obtener de forma sencilla y bien tolerada por el paciente células y secreciones provenientes de una amplia zona del pulmón que pueden ser examinadas inmediatamente y detectar la presencia o ausencia de bacterias intra o extracelulares en el tracto respiratorio inferior.

- Cultivo de líquido pleural (si se encuentra disponible).

Esta última clasificación es la más completa pues agrupa los criterios clínicos y microbiológicos, y permite de esta forma identificar el germen causal e iniciar una terapéutica lo más rápida y certera posible. Además puede ser aplicada en nuestro medio.

También se utilizan para el diagnóstico de la neumonía asociada a ventilación mecánica, técnicas invasivas como cepillado protegido (CP), lavado broncoalveolar (LBA), lavado broncoalveolar protegido y técnicas no broncoscópicas a través del catéter de Metras, lavado broncoalveolar a ciegas con catéter de Swan-Ganz, mini lavado broncoalveolar protegido y catéter *telescopado* sin cepillo, las cuales están dirigidas al diagnóstico microbiológico.<sup>133,134</sup> A pesar de los numerosos estudios en este campo, la utilidad de estas técnicas es incierta, ya que son de una baja sensibilidad y existen numerosos aspectos que impiden establecer una distinción fiable entre la presencia o ausencia de neumonía.

Para comprender la estrategia de diagnóstico más adecuada para la neumonía asociada a ventilación mecánica, hay que tener en cuenta que muchas entidades imitan este proceso en pacientes gravemente enfermos. Existen criterios clínicos que hacen sospechar la existencia de la neumonía asociada a ventilación mecánica, como: aparición de secreciones traqueobronquiales purulentas, presencia de infiltrados pulmonares nuevos o cambiantes en la radiografía de tórax, y signos de inflamación sistémica: fiebre y leucocitosis, quedan confusas, pues no puede identificarse de forma precisa la causa infecciosa. De hecho la colonización de la vía aérea por organismos patógenos se produce en la mayoría de los pacientes sometidos a ventilación mecánica prolongada, por lo que las secreciones purulentas no es un indicador fiable de neumonía asociada a ventilación mecánica.<sup>135</sup>

Existen otras entidades ya sean infecciosas o no, que se presentan con un cuadro similar, porque se manifiestan con síntomas de inflamación sistémicas e infiltrados radiográficos, entre las que se encuentran: traqueobronquitis, neumonía eosinofílica aguda, infartos, hemorragias o trombosis pulmonar, broncoaspiración, distress respiratorio agudo o fibroproliferativo, atelectasia, aspiración, edema pulmonar atípico, derrame pleural y cáncer. Algunas de estas alteraciones son benignas y mejoran en menos de 48 horas y sin secuelas, aunque no se traten específicamente. Desafortunadamente muchos de los otros diagnósticos no son evidentes hasta que el paciente ya ha recibido varios días de tratamiento antibiótico empírico. Un conocimiento del diagnóstico diferencial y un análisis detenido de los datos disponibles favorecen al diagnóstico positivo y mejoran la morbilidad y mortalidad.<sup>135, 136</sup>

Además, debemos tener en cuenta que existen otros aspectos que impiden definir la presencia o ausencia de neumonía tales como:

1. Características inherentes a los pacientes en ventilación mecánica:
  - Las lesiones no infecciosas coexisten frecuentemente con la neumonía asociada a ventilación mecánica.
  - El área afectada por la neumonía puede ser difícil de identificar en la radiografía de tórax realizada en la cama.
  
2. Características inherentes a la neumonía asociada a ventilación mecánica:
  - Lesiones hísticas de neumonía se distribuyen irregularmente por el pulmón.
  - Lesiones neumónicas de diferentes grados de severidad, coexisten en un paciente e incluso en un segmento pulmonar.
  - No hay un nivel de corte bacteriológico que pueda diferenciar la presencia o ausencia hística de neumonía.
  - La carga bacteriana del parénquima puede estar distribuida desigualmente por el pulmón.
  
3. Características inherentes a la técnica broncoscópica:
  - Los problemas con el análisis de los cultivos cuantitativos de las muestras de CP y LBA, pueden conducir a resultados equivocados.
  - El área donde se obtiene la muestra con el broncoscopio puede ser difícil de identificar en la radiografía de tórax realizada en la cama.

### 3 TRATAMIENTO DE LA NEUMONIA ASOCIADA A VENTILACIÓN MECÁNICA

La mayoría de las veces los pacientes están recibiendo tratamiento antibiótico cuando se sospecha de neumonía asociada a ventilación mecánica, lo que puede influir en el cultivo cuantitativo de las muestras broncoscópicas y de pulmón.

A pesar de los avances en el tratamiento antimicrobiano, el manejo de los pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica es aún una tarea difícil y compleja. La rápida identificación del paciente infectado y una selección adecuada del fármaco para iniciar el tratamiento en esta entidad, son objetivos clínicos importantes, debido a que la selección del manejo adecuado produce un mayor impacto en la mortalidad y morbilidad.<sup>137</sup>

Antes de analizar en detalle el tratamiento antibiótico de los pacientes con neumonía nosocomial, deben comentarse 4 puntos primordiales:

1. Los criterios convencionales para el diagnóstico de neumonía bacteriana de los pacientes hospitalizados en unidad de cuidados intensivos como fiebre, leucocitos, secreciones traqueo-bronquiales purulentas y la presencia de nuevos infiltrados en la radiografía de tórax, no son ni muy sensibles ni específicos,<sup>138</sup> porque no siempre puede identificarse de forma precisa el origen infeccioso.
2. La supervivencia de los pacientes puede mejorar si la neumonía es correctamente diagnosticada y tratada. Los pacientes ventilados que desarrollan neumonía nosocomial tienen factores de riesgo de fallecer, como: edad, enfermedad de base, microorganismos de alto riesgo, infiltrados bilaterales en la radiografía de tórax, tratamiento antibiótico inapropiado y este último está altamente relacionado con una evolución fatal.<sup>7</sup> Debido a que la elección óptima del fármaco antimicrobiano es más fácil en el caso de que el germen haya sido identificado, en la gran mayoría de nuestros pacientes se inicia el tratamiento empírico al tener en cuenta los diferentes aspectos que se tendrán a consideración posteriormente.
3. Existen 2 factores en el paciente críticamente enfermo, que hacen difícil la elección del antibiótico. En primer lugar las neumonías nosocomiales son probablemente por patógenos muy resistentes especialmente en pacientes tratados previamente y en segundo lugar en los pacientes diagnosticados como neumonía asociada a ventilación mecánica, es frecuente el cultivo de múltiples organismos de las secreciones pulmonares.<sup>12</sup>

4. Si bien los antibióticos adecuados pueden mejorar la supervivencia de estos pacientes, el uso empírico de antibióticos de amplio espectro en pacientes sin un diagnóstico bien claro, es potencialmente nocivo, pues facilita la colonización y sobreinfección por organismos multirresistentes. Por tanto el uso indiscriminado de agentes antimicrobianos en pacientes ingresados en UCI, puede tener consecuencias inmediatas y a largo plazo, y contribuyen a la aparición de patógenos multirresistentes y aumento del riesgo de sobreinfecciones graves.<sup>11</sup>

Se deben considerar algunos factores importantes que pueden ayudar en la mejor selección del tratamiento antibiótico inicial óptimo,<sup>12,137</sup> los cuales son:

- Patógenos de supuesta causalidad y su patrón de susceptibilidad antibiótica: aunque la neumonía nosocomial puede ser causada virtualmente por cualquier microorganismo. La gran mayoría son producidas por las bacterias. Es rara la etiología de los hongos, virus o protozoos en ausencia de granulocitopenia o inmunosupresión. Independientemente que los bacilos gramnegativos representan un gran número de los patógenos identificados, comienza a llamar la atención el papel predominante que desempeña el *Staphylococcus aureus*. Aunque la prevalencia exacta de cada microorganismo infeccioso puede variar de acuerdo con el país, los hospitales y la sala concerniente; un conocimiento preciso de la distribución de los patógenos más frecuentes, facilita la selección del tratamiento adecuado.<sup>7</sup> Las tendencias microbiológicas en la neumonía nosocomial están evolucionando hacia patógenos más resistentes y más difíciles de tratar.
- Escenario clínico: enfermedades concretas pueden predisponer a los pacientes e infectarse con organismos específicos, tal es así que en los pacientes politraumatizados y neuroquirúrgicos tienen un riesgo aumentado de infección por *Staphylococcus aureus* y en estudios realizados se ha demostrado que enfermos que han recibido tratamiento previo con antibiótico se infectan más frecuentemente con el *Staphylococcus aureus* meticilín resistente.<sup>139</sup> Este hecho avala firmemente que la duración de la ventilación y el uso previo de antibióticos son los 2 factores claves en la selección de estos microorganismos. Teniendo en cuenta estas características

epidemiológicas debemos ser más racionales en la selección de la pauta del tratamiento inicial.<sup>7</sup>

- Información obtenida mediante el examen microscópico directo de las secreciones pulmonares, pues no sólo identifica los pacientes con neumonía nosocomial, sino que también permite seleccionar el tratamiento adecuado.<sup>137,139</sup>
- Actividad antibacteriana intrínseca de los fármacos antibacterianos: las interacciones entre bacterias y antibióticos son importantes para las decisiones terapéuticas. El modo de acción bactericida, el nivel bactericida depende de la concentración y el sinergismo con los betalactámicos son ventajas claras para el uso de estos fármacos antimicrobianos.<sup>7,11</sup>
- Otras consideraciones farmacocinéticas: el tratamiento antibiótico efectivo de la neumonía bacteriana depende del aporte adecuado de los agentes antibacterianos en el lugar de la infección, por lo que debe tenerse mucho cuidado en la dosificación óptima, vía de administración y las características farmacológicas de cada agente utilizado. Se considera que para que los niveles de antibióticos en los tejidos infectados sean terapéuticos, la concentración del fármaco libre debe ser mayor o por lo menos igual a la concentración inhibitoria mínima in vitro para los patógenos que causan la infección. En presencia de inflamación y/o lesión mecánica el reparto de los agentes antimicrobianos en los compartimentos hísticos puede estar alterado debido a una alteración de la permeabilidad de las membranas. Algunos informes publicados en la literatura médica,<sup>13</sup> han demostrado una relación entre concentración sérica de betalactámicos u otros antibióticos, la concentración mínima inhibitoria del organismo infectante y la proporción de erradicación bacteriana de las secreciones respiratorias en pacientes con infección pulmonar.

La duración del tratamiento antibiótico recomendada por muchos autores,<sup>11, 12,13</sup> queda imprecisa y recomiendan que la duración sea adaptada a la severidad de la enfermedad, al tiempo de la respuesta clínica y al microorganismo responsable.

Existen 3 desventajas para una duración larga del tratamiento:

1. Afecta la ecología bacteriana;
2. Aumenta la toxicidad antibiótica;
3. Aumenta el costo.

El riesgo de ciertos efectos adversos se incrementa con la duración de la administración de los antibióticos, especialmente los aminoglucósidos. Para los betalactámicos estos efectos están dados por reacciones inmunoalérgicas de hipersensibilidad retardada, colitis pseudomembranosa y trombopatía, las fluoroquinolonas provocan principalmente complicaciones neurológicas y tendinosas.<sup>11,12</sup>

Un tratamiento largo de un mínimo de 14 a 21 días, es preferible para situaciones como: afectación multilobular, malnutrición, cavitación, neumonía necrotizante por gramnegativos, cuando se aisló *Pseudomonas* o *Acinetobacter*, la cual se justifica con el riesgo teórico elevado de recaída. Un tratamiento corto que dura entre 7 y 10 días, se recomienda para neumonías producidas por *Staphylococcus aureus* o *Haemophilus influenzae*.<sup>11</sup>

Una pauta de duración insuficiente puede ser fuente de fallo terapéutico o recaída, definidos como la aparición de los signos de neumonía y el aislamiento del mismo patógeno que ha adquirido o falta de resistencia.

Es posible que este fallo o recaída sea aún mayor cuando la concentración de bacterias en el lugar de la infección sea muy elevada.

Disminuir la cantidad de antibióticos administrados a los pacientes hospitalizados en UCI es, en efecto, un objetivo primario de todas las estrategias orientadas a la reducción de la aparición y disminución de tales bacterias.<sup>6</sup>

#### 4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVVM) se mantiene como una entidad de alta mortalidad que afecta a las poblaciones sometidas a este procedimiento.

A pesar de que se han diseñado estrategias para iniciar un tratamiento oportuno y apropiado, mejorando el pronóstico de mortalidad de los enfermos, no es menos cierto que la mortalidad atribuible es aún elevada con una terapia adecuada.

Por esto, el desarrollo y ejecución de medidas de prevención adecuadas parece ser uno de los esfuerzos más acertados para la disminución de la morbi-mortalidad asociada a este cuadro.<sup>141</sup>

Los pacientes hospitalizados en la Unidad de Terapia Intensiva que tienen una respiración mecánica artificial pueden ser predisponentes a adquirir una infección nosocomial, en este caso la neumonía, dicha enfermedad es delicada, ya que compromete las funciones fisiológicas normales necesarias para la vida, razón por la cual se necesita investigar que microorganismos son colonizadores y patógenos, así como la mortalidad de dichos pacientes en nuestro hospital.

Un hecho de gran importancia en neumonía nosocomial es la obtención de cultivos, frecuentemente limitada e inadecuada, lo que influye en la identificación del agente causal y dificulta el ajuste correcto del esquema antibiótico.

La mayoría de hospitales tiene la posibilidad de realizar métodos de cultivo no invasivos, pero no es una constante en todos. Las muestras de esputo tienen una pobre sensibilidad y especificidad y no aportan datos concretos. El aspirado bronquial (BAS) es un método sencillo, rápido, de bajo costo, que puede realizarse las 24 horas del día con un mínimo de adiestramiento en pacientes conscientes, así como ventilados artificialmente; la sensibilidad es de 60–100%, y la especificidad del 14–100%. Son bastante aceptables siempre y cuando se cumplan los criterios establecidos de muestra válida, como es la presencia de < 10 células epiteliales por campo y > 25 leucocitos.<sup>142</sup>

La realización de cultivos es básica y la interpretación debe ser multidisciplinaria, sin corresponder exclusivamente al microbiólogo, infectólogo, neumólogo o al intensivista, ya que es fundamental la correlación clínico-microbiológica en cada caso.

Existe una gran diferencia en la incidencia de neumonía asociada a ventilación mecánica convencional (VMC) y la asociada a ventilación mecánica no invasiva (VMNI).

La causa parece ser evidente: la colocación y movimiento dinámico del tubo endotraqueal altera las barreras defensivas de la mucosa traqueal originando un proceso inflamatorio local, mayor producción de moco y contaminación de las secreciones por trascolonización o simplemente por colonización natural del tubo endotraqueal, lo que sucede en 48 a 72 horas; el siguiente paso es la aspiración, que sucede en forma pasiva.

En la VMNI, el uso de mascarillas parciales o totales limita el daño directo a las vías aéreas y disminuye sustancialmente el riesgo de neumonía, 30 vs <5%, respectivamente.<sup>143,144,145</sup>

Esto junto a los cambios epidemiológicos en los microorganismos implicados y la elevada resistencia a los antimicrobianos obliga a plantear medidas preventivas eficaces, a hacer un uso racional de los antibióticos y a utilizar los medios sanitarios disponibles con rigor científico. Todo ello justifica su revisión.

## 5 JUSTIFICACIÓN:

La neumonía asociada con la ventilación mecánica es la infección nosocomial más frecuente y una de las principales causas de muerte en las unidades de cuidados intensivos en el mundo.<sup>149</sup> Afecta de manera frecuente y significativa a los pacientes atendidos en los servicios de hospitalización.

Este problema conlleva una morbilidad y mortalidad altas, y a un aumento en los días de estancia hospitalaria de 4 a 6 días,<sup>150</sup> se calcula que cada incidencia de neumonía asociada a ventilación mecánica genera un aumento de costos de \$20,000 a \$40,000.<sup>150</sup>

La incidencia de la neumonía asociada con la ventilación mecánica, varía según la población que se considere, desde 5 casos por 1,000 días de ventilación en pacientes críticos pediátricos hasta 16 casos por 1,000 días de ventilación en pacientes quemados o traumáticos.<sup>152j</sup>

La neumonía asociada a ventilación mecánica es un asunto global. En Alemania, entre 2001 y 2005, 5.72% de los pacientes de la unidad de cuidados intensivos desarrollaron neumonía asociada a ventilación mecánica.<sup>153</sup> Según estadísticas recientes, 9.2% de los pacientes de la unidad de cuidados intensivos en Francia desarrollan neumonía que contraen en la unidad de cuidados intensivos.<sup>154</sup>

Y en el Reino Unido, la infección del tracto respiratorio inferior intrahospitalarias agrega un promedio de 12 días de estadía, con un costo promedio adicional de \$4,149 por paciente.<sup>155</sup>

En México la neumonía asociada a la ventilación mecánica constituye uno de los principales problemas de morbilidad, con una incidencia entre 16 y 29% y una tasa de letalidad de 20 a 70% en general y hasta un 11% en niños; se asocia a pacientes que padecen alteraciones inmunológicas y a enfermos que son sometidas a procedimientos invasivos, como la asistencia ventilatoria o la terapia respiratoria.<sup>156</sup>

## **6 OJETIVO GENERAL:**

Analizar la frecuencia de neumonía nosocomial de los niños del servicio de terapia intensiva, asociada al uso de dispositivos de soporte respiratorio, determinando los tipos de microorganismos patógenos, y conociendo la sensibilidad y resistencia a distintos antibióticos, durante el periodo junio 2012 a junio 2013.

### **6.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Estimar la incidencia de neumonía nosocomial asociada a ventilación mecánica, por grupo de edad y sexo.
- Identificar género y especie de bacterias y hongos causantes de Neumonía Nosocomial
- Determinar la sensibilidad y resistencia a distintos antibióticos de bacterias causantes de neumonía nosocomial

- Asociar el cultivo microbiológico positivo de aspirado bronquial con la presencia de fiebre y radiografía de tórax con alteraciones en los pacientes.

## 7 METODOLOGÍA:

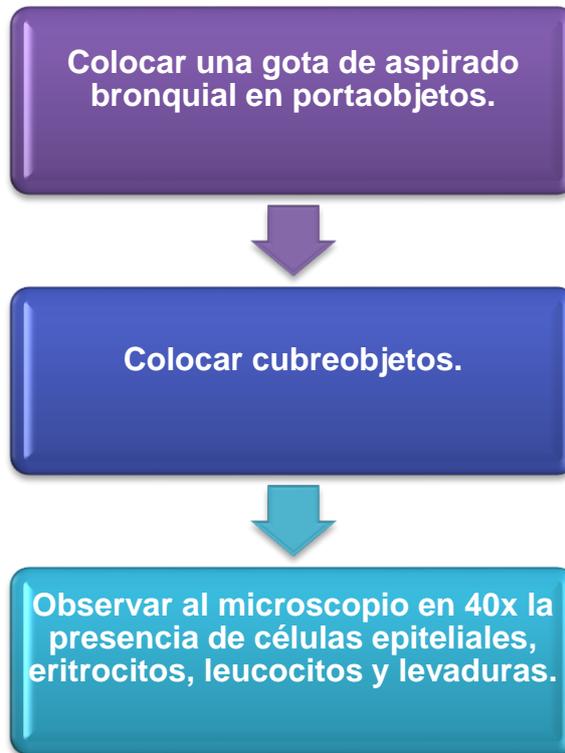
- **TIPO DE ESTUDIO:** Estudio retrospectivo, observacional, transversal, longitudinal y descriptivo.
- **UNIVERSO DE TRABAJO:** 141 muestras de aspirados bronquiales procedentes de pacientes con soporte de ventilación mecánica, del servicio de unidad de terapia intensiva, en el periodo de junio 2012 a junio 2013.
- **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:** Todas las muestras de aspirados bronquiales que provengan de pacientes con soporte ventilatorio, se encuentren en buen estado y sean suficientes para su estudio.
- **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:** Muestras que no sean obtenidas de vías respiratorias bajas, así como muestras que se encuentren contaminadas con vía aérea superior.
- **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:** Aquellas muestras de pacientes que no contengan la información completa requerida.
- **VARIABLES DE ESTUDIO:**

Definición de variable	Medición de variable
Edad: Periodo de vida del paciente desde su nacimiento hasta el momento de presentar neumonía nosocomial.	Neonato: niños de 0 a 27 días de vida Lactantes: 28 días a 23 meses Preescolar: 2 a 5 años Escolar: 6 a 11 años Adolescente: 12 a 18 años

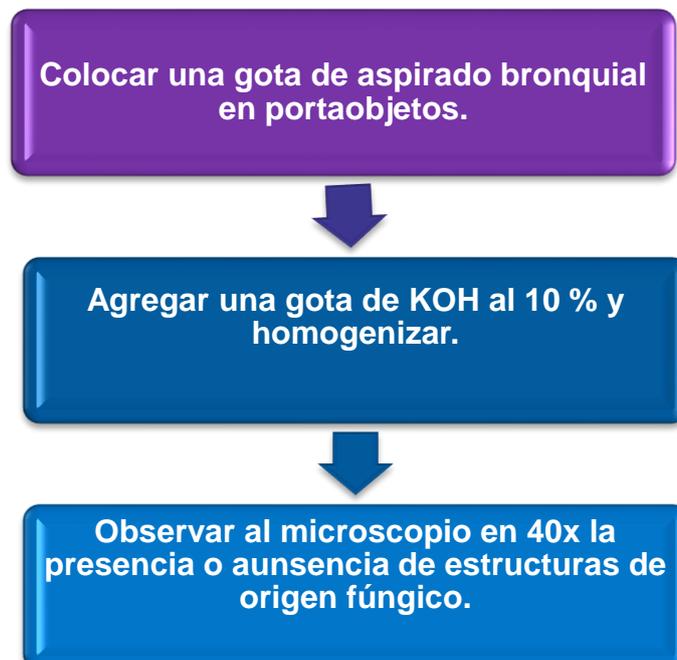
<p>Manifestaciones clínicas: signos y síntomas registrados en expedientes y bitácoras.</p>	<p>Registro de:</p> <p>Fiebre</p> <p>Radiografía de tórax con alteraciones</p> <p>Secreciones purulentas</p>
<p>Cultivos Microbiológicos</p>	<p>Positivos: Desarrollo de bacterias u hongos patógenos.</p> <p>Negativos: Sin desarrollo de agentes patógenos.</p>

- **FUENTES DE INFORMACIÓN:** La información se obtendrá a partir de bitácoras del laboratorio de investigación en microbiología y parasitología del hospital infantil de Morelia, así como también de artículos científicos.
- **ANÁLISIS DE RESULTADOS:** Se llevó a cabo mediante el programa Excel y tabla cuadrícula.
- **PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA:** Las muestras de aspirados bronquiales al llegar al laboratorio se les realizan 4 ensayos: examen directo en fresco, examen con KOH, tinción Gram y cultivo en medios habituales y selectivos.

## EXAMEN DIRECTO EN FRESCO:



## EXAMEN CON KOH:



## TÉCNICA:



Imagen 1. Colocación se la muestra de aspirado bronquial en portaobjetos.<sup>162</sup>



Imagen 2. Aclaramiento con KOH una gota al 10% .<sup>162</sup>



Imagen 3. Observación al microscopio 40x.<sup>162</sup>

Fuente: Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

## TINCIÓN GRAM:



## TÉCNICA:



Imagen 4. Fijación.<sup>162</sup>



Imagen 5. Aplicación del colorante primario.<sup>162</sup>

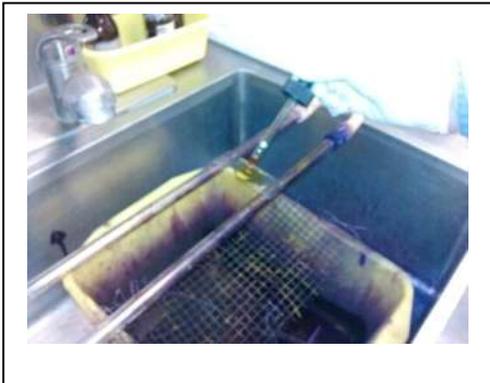


Imagen 6. Apliación de Mordiente.<sup>162</sup>



Imagen 7. Decoloración.<sup>162</sup>



Imagen 8. Observación al microscopio.<sup>162</sup>

**CULTIVO:**



## TÉCNICA:



Imagen 9. Cultivo de muestra en medios habituales.<sup>162</sup>



Imagen 10. Cultivo de muestra en medios selectivos: Sabouraud.<sup>162</sup>



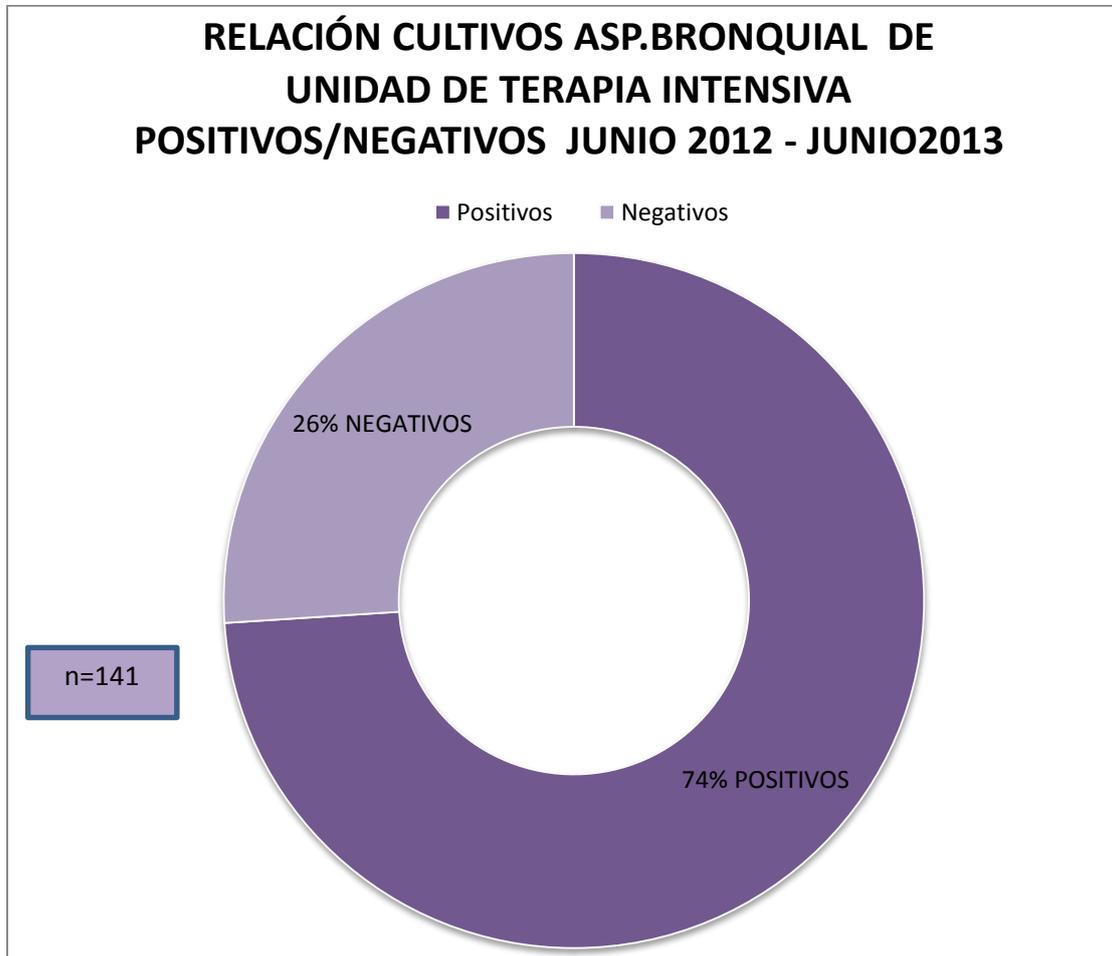
Imagen 11. Pruebas bioquímicas para identificar género y especie.<sup>162</sup>



Imagen 12. Realización de pruebas bioquímicas.<sup>162</sup>

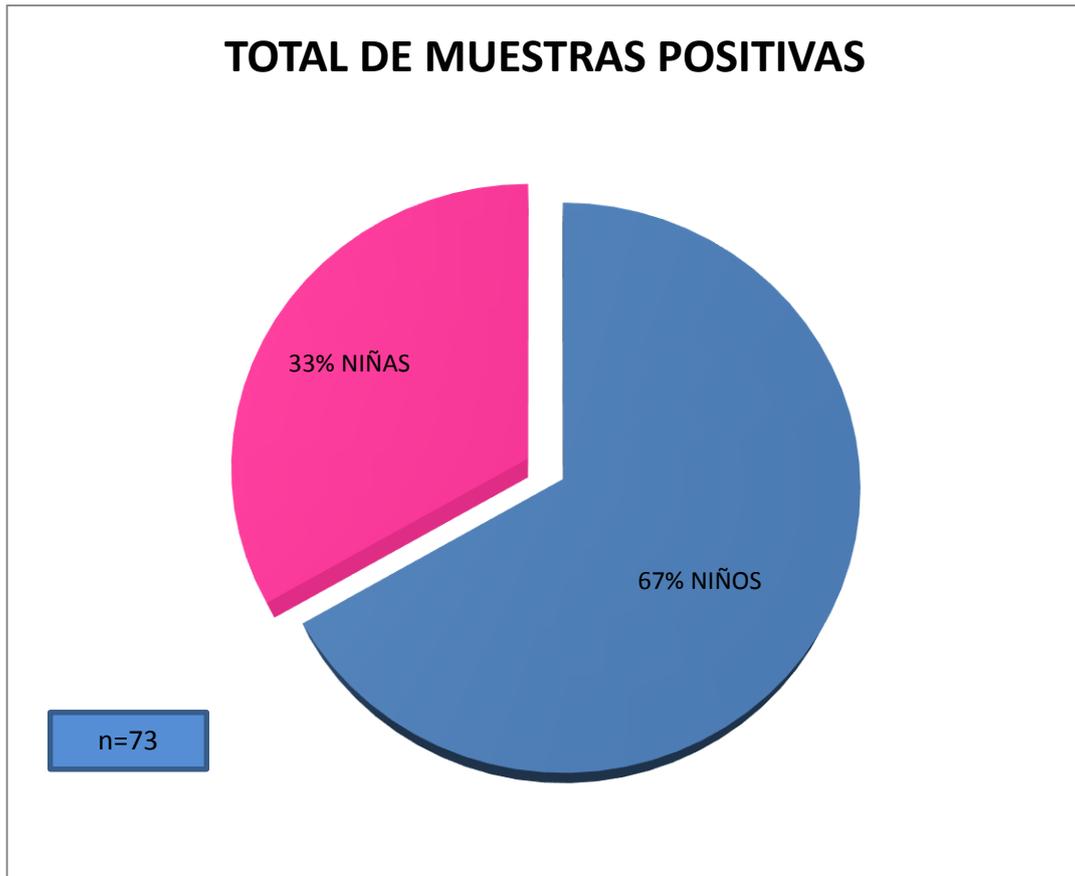
Fuente: Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia

## 8 RESULTADOS



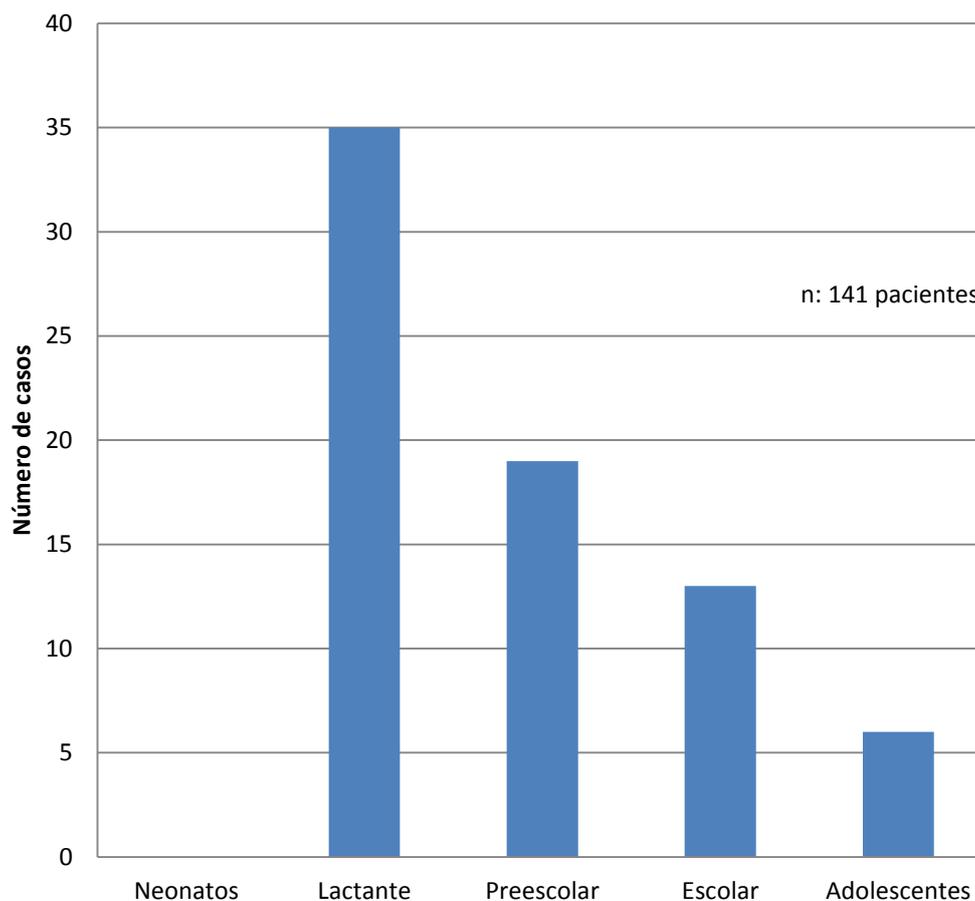
El total de muestras procesadas de aspirados bronquiales de la Unidad de Terapia Intensiva fueron 141, de las cuales resultaron con cultivo positivo un 74%, y negativos el 26% restante.

## TOTAL DE MUESTRAS POSITIVAS

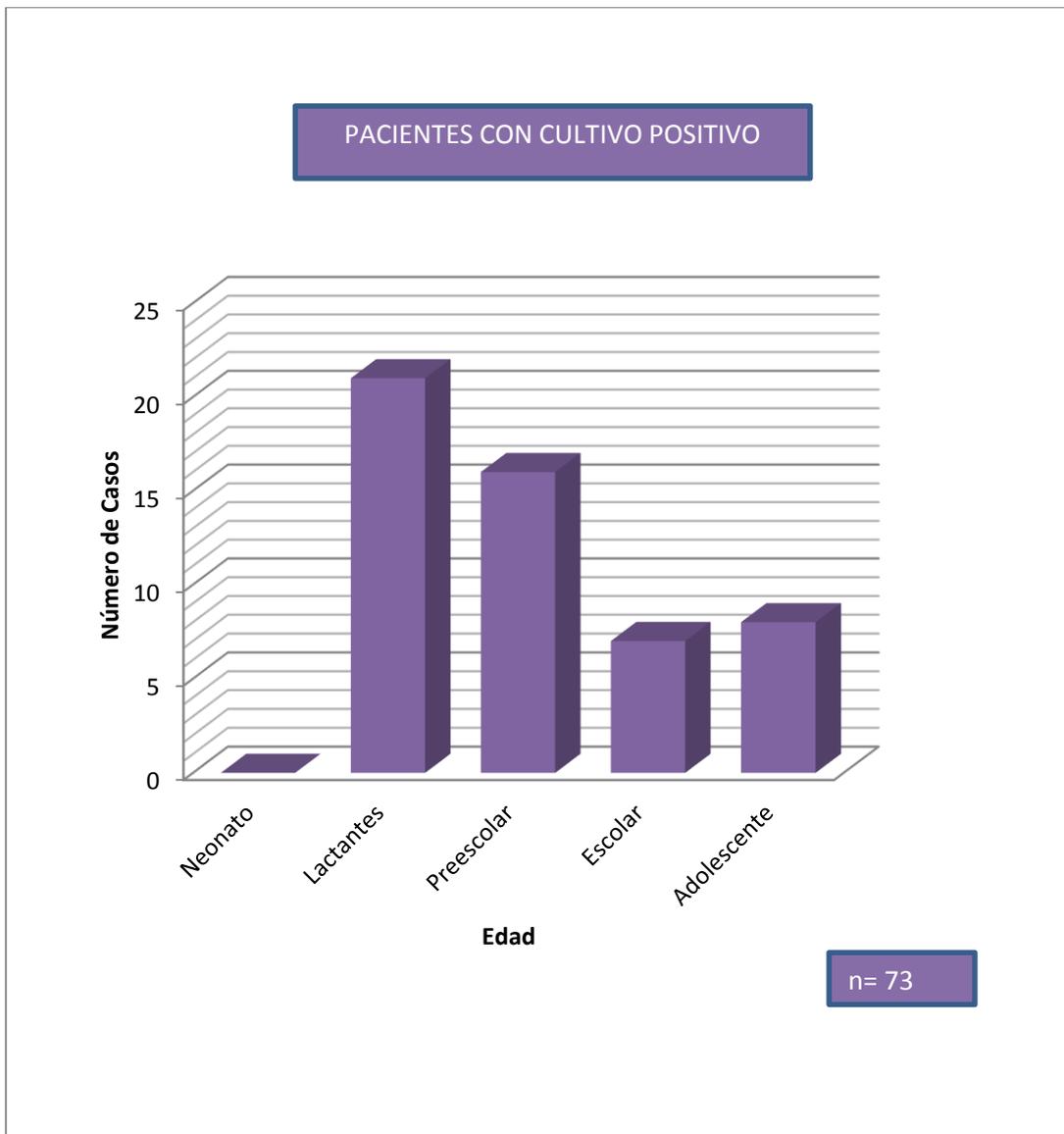


El 74% de positividad en cultivo de aspirados bronquiales corresponde a 73 muestras; de las cuales encontramos que el 33% corresponden al sexo femenino y el 67% al sexo masculino.

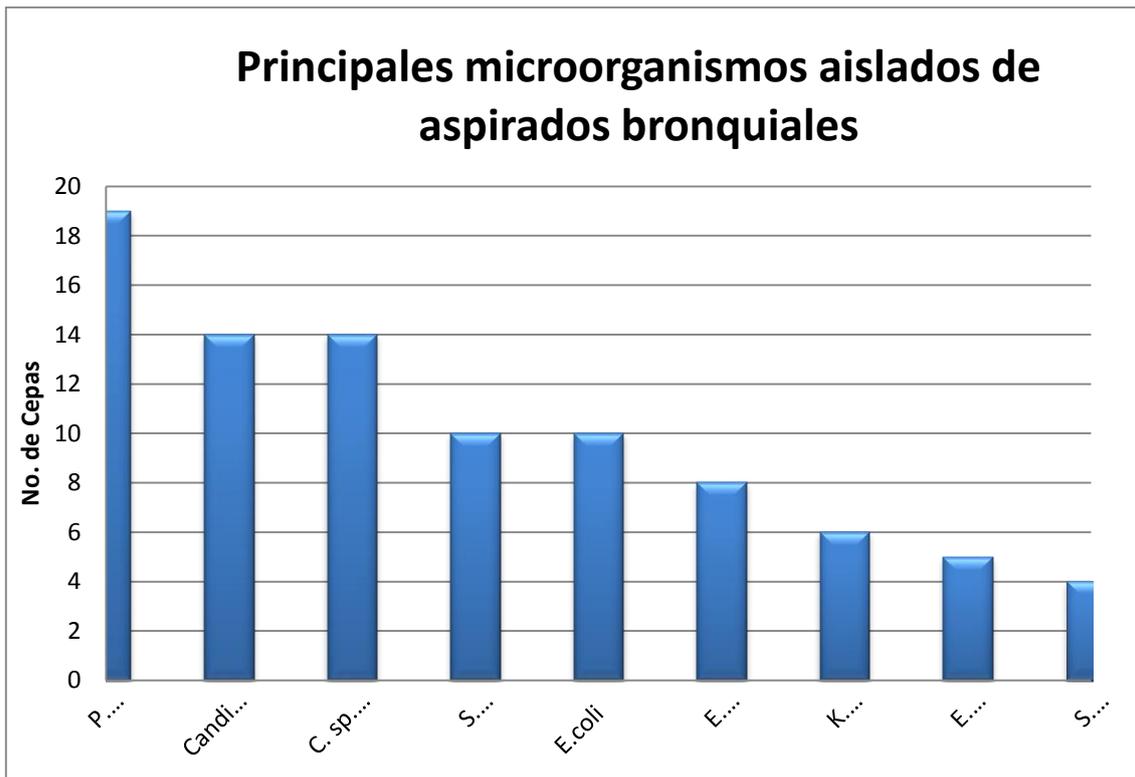
## Edad del Paciente



Los niños se agrupan de acuerdo a su edad en categorías, también llamadas edades pediátricas. De las muestras que se analizaron, la mayor parte de los pacientes están en el grupo de lactantes, seguidos de preescolar, escolares y adolescentes. En el grupo de neonatos no se registraron muestras.

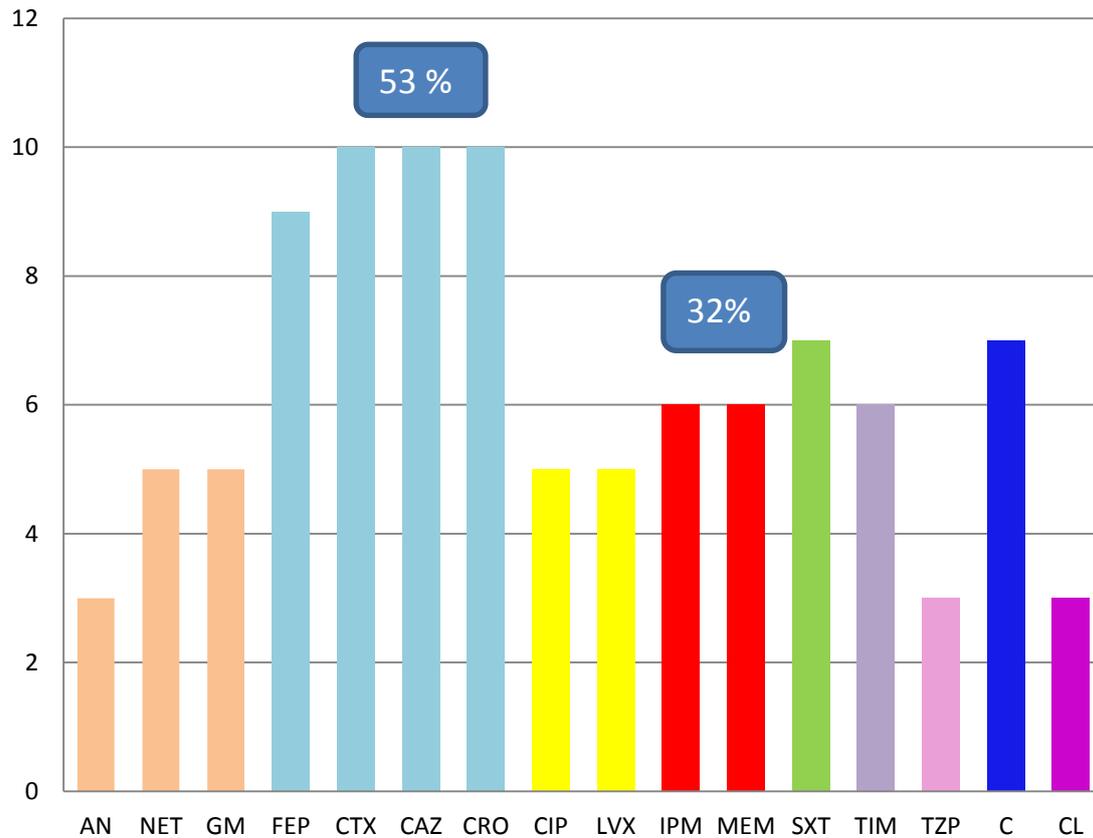


Del total de pacientes con muestras positivas, también se agrupan la mayor parte en la edad de lactantes, seguido de preescolar y adolescentes



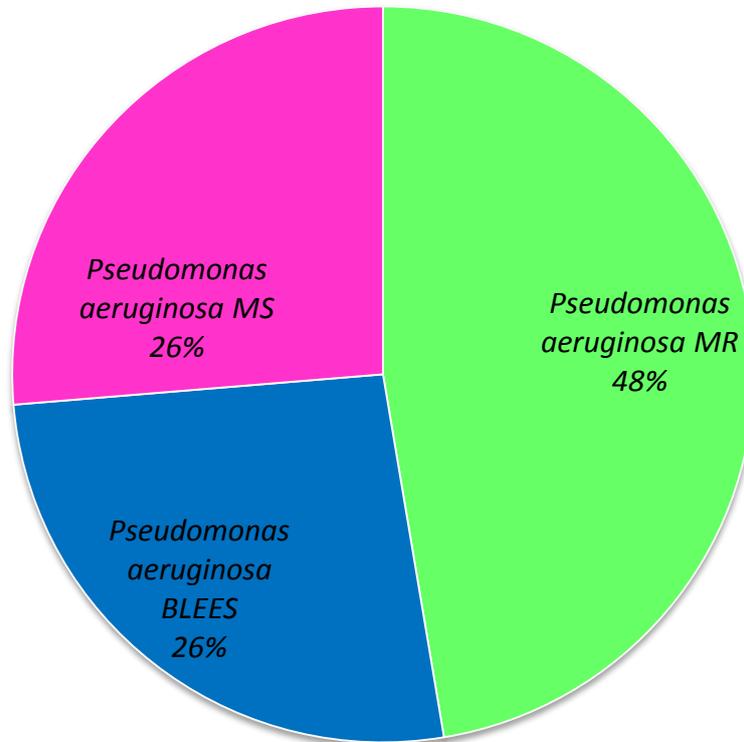
La grafica representa, la incidencia de los microorganismos aislados de aspirados bronquiales, siendo la de mayor aparición *Pseudomonas aeruginosa* con un 21.1% , seguida de *Candida albicans* con un 15.56% *Candida spp.* con 15.56% *Staphylococcus aureus* con 11.11%,*Escherichia coli* con el 11.11% , *Enterobacter cloacae* con 8.89%, *Klebsiella pneumoniae* con 6.67%, *Enterococcus faecalis* con 5.56% y *Stenotrophomonas maltophilia* con un 4.45%

## Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa*



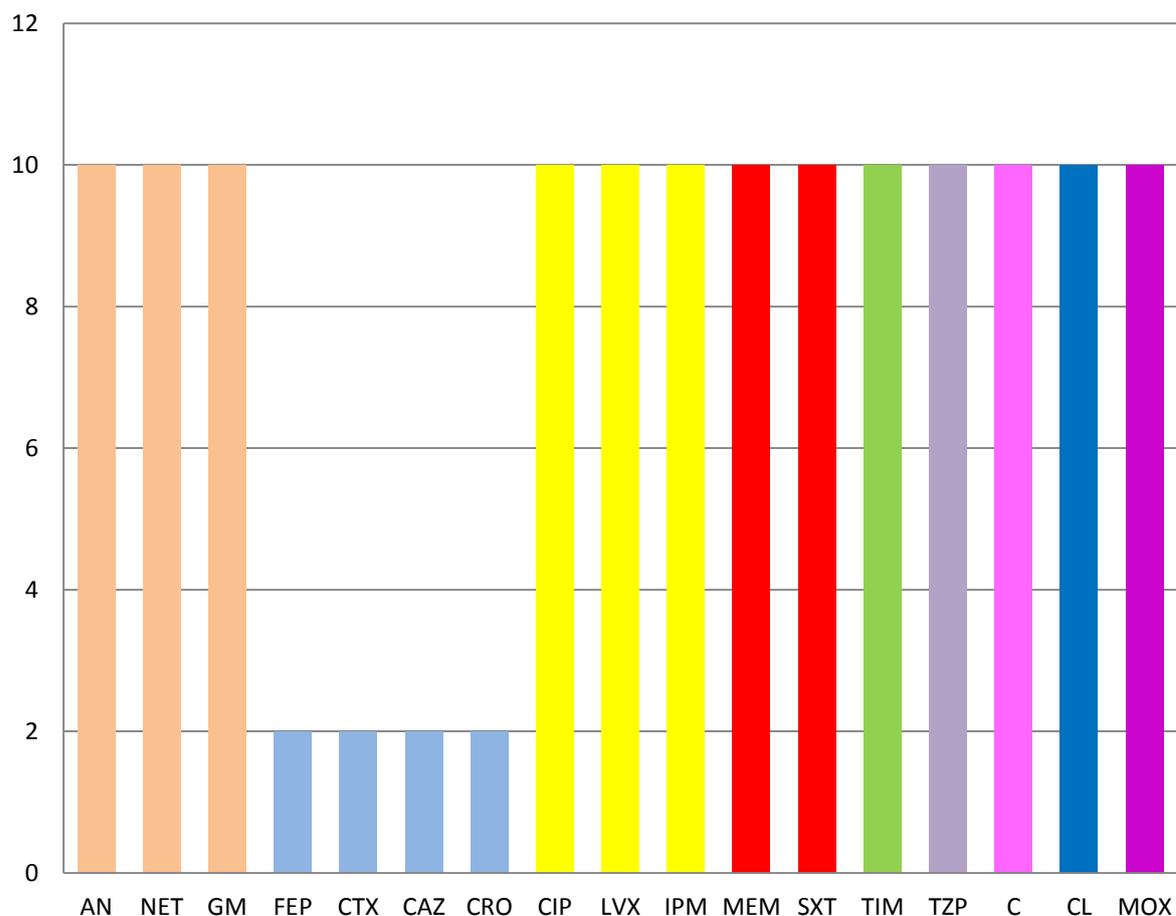
*Pseudomonas aeruginosa* presenta una resistencia a aminoglucósidos con un 16% para Amikacina, y 26% para Netilmicina y Gentamicina; en el grupo de las cefalosporinas se observa un porcentaje del 53% de resistencia; a las quinolonas; un 26%; a los carbapenems; se observó un 32% , en el caso de trimetoprim/sulfametoxazol un 37%, Ticarcilina/Ácido clavulánico un 32%, Piperacilina/Tazobactam 16%, Colestina 37% y Cloranfenicol 16%.

## ***Pseudomonas aeruginosa* en Aspirados Bronquiales**



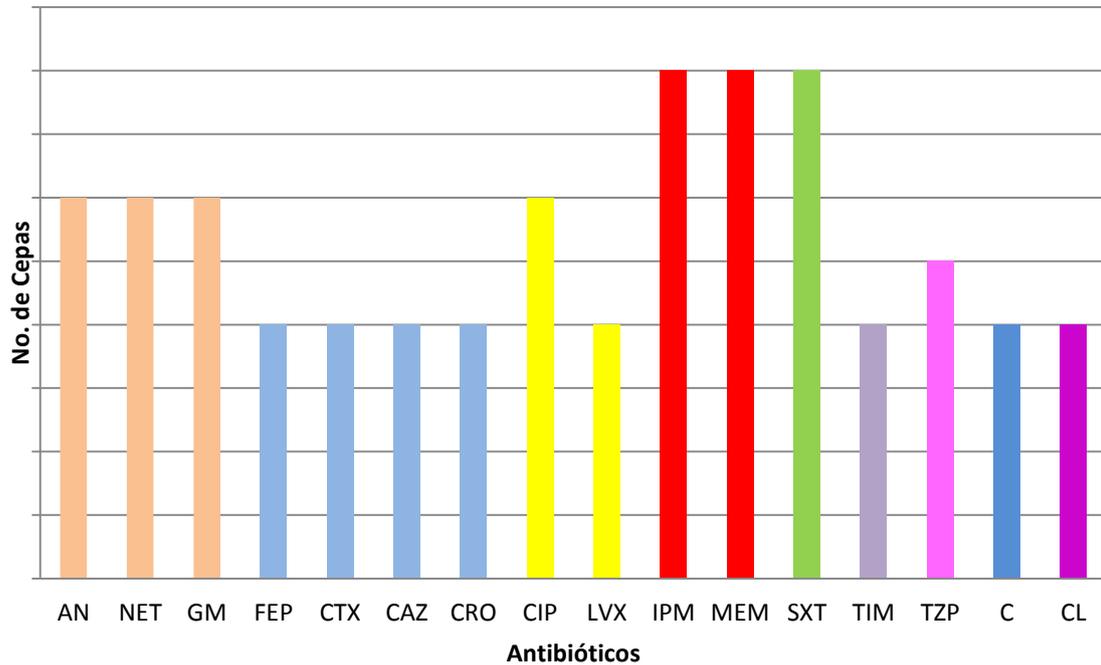
Dentro de los tipos de *Pseudomonas aeruginosa*, encontramos que el 26% son productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido; lo cual les confiere resistencia a diversos antibióticos, 48% corresponden a cepas multiresistentes, y el otro 26% son cepas multisensibles. Lo que nos indica un total de 72% de cepas multiresistentes.

## Sensibilidad de *Escherichia coli*



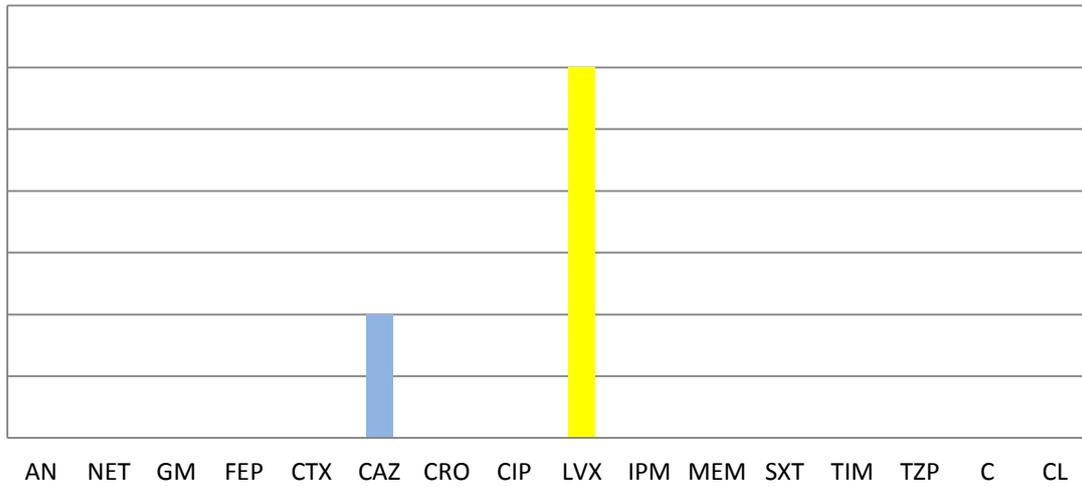
La grafica representa la sensibilidad de *Escherichia coli* donde se observa que el 80% de las cepas son sensibles a los aminoglucósidos, quinolonas, carbapenems, trimetoprim/sulfametoxazol, Ticarcilina/Ácido clavulánico, Piperacilina/Tazobactam , Colestina y Cloranfenicol, sin embargo se observa que solo el 20% son sensibles a cefalosporinas.

## Sensibilidad de *Enterobacter cloacae*

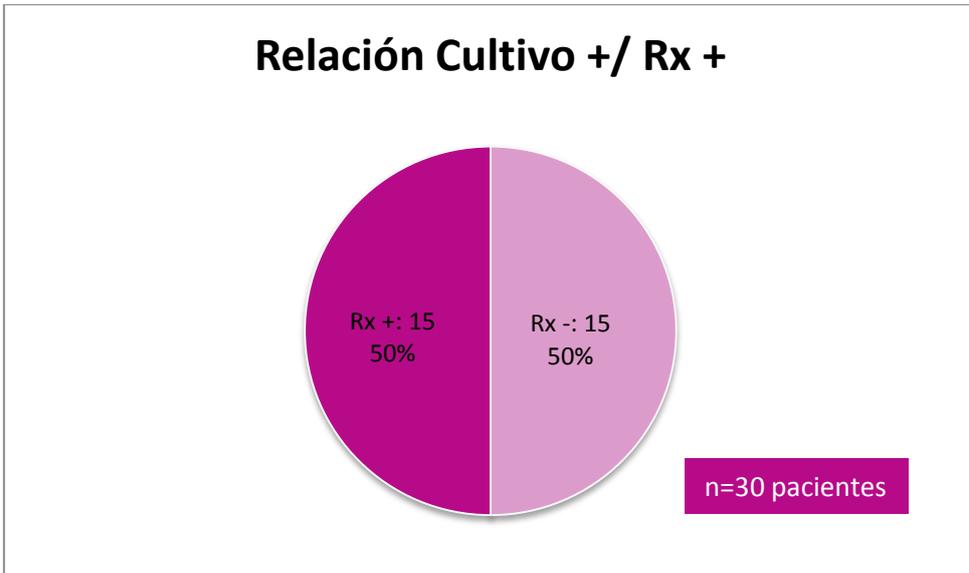


*Enterobacter cloacae* es sensible con un 75% a los aminoglucósidos, con un 50% a las cefalosporinas, a Ciprofloxacino presenta un 75%, Levofloxacino 50%, a Carbapenems y trimetoprim/sulfametoxazol, no presenta resistencia; Ticarcilina/Ácido clavulánico, Colestina y Cloranfenicol 50%, y Piperacilina/Tazobactam 62.5 %.

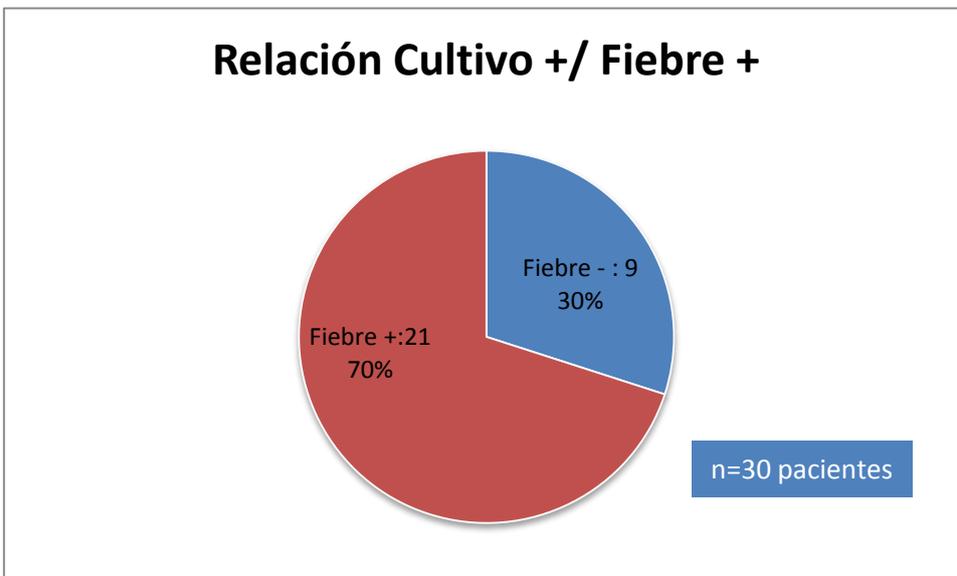
## Sensibilidad de *Stenotrophomonas maltophilia*



*Stenotrophomonas maltophilia* es un microorganismo multiresistente, aunque el número total de cepas que se encontró en este estudio es bajo; son solo sensibles a Ceftazidima con un 25% y a levofloxacino, con un 75%, presentando resistencia a aminoglucósidos, a las demás cefalosporinas y a los carbapenems.



Del universo de 141 pacientes. Tomamos una muestra de 30; hicimos una relación entre el hecho de presentar un cultivo positivo y al mismo tiempo una radiografía de tórax con alteraciones. Encontramos que sólo el 50% de los pacientes con cultivo positivo, presentaron también una radiografía.



De la misma manera comparamos con la presencia de fiebre y observamos que el 70% de pacientes con cultivo positivo, presentan al mismo tiempo fiebre.

## 9 RESULTADOS ESTADISTICOS: TABLA CUADRICELULAR

### RELACIÓN CULTIVO/RADIOGRAFIA

ESTANDAR DE ORO			
Radiografía.	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVA	15 (a)	2 (b)	17
NEGATIVA	12 (c)	1 (d)	13
TOTAL	27	3	30

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{(a+c)} = 55.55\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{d}{(b+d)} = 33.33\%$$

$$\text{Exactitud} = \frac{a+d}{a+b+c+d} = 53.33\%$$

### RELACION CULTIVO/ FIEBRE

ESTANDAR DE ORO			
FIEBRE POSITIVO	CULTIVO POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
	21 (a)	1 (b)	22
NEGATIVO	6 (c)	2 (d)	8
TOTAL	27	3	30

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{(a+c)} = 77.77\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{d}{(b+d)} = 16.66\%$$

$$\text{Exactitud} = \frac{a+d}{a+b+c+d} = 76.66\%$$

## 10 DISCUSIÓN:

En este estudio se tomo como universo 141 muestras de aspirados bronquiales, provenientes del Servicio de Unidad de Terapia Intensiva, las cuales representan el periodo de un año; de junio 2012 a junio 2013.

Del total de muestras analizadas resultó un 74% de positividad para cultivo microbiológico y el 26% restante son muestras negativas, datos similares a los resultados de Somogyi y colaboradores<sup>157</sup>, ya que ellos reportan un total de 68.9% de cultivos microbiológicos positivos y un 31.4% de cultivos negativos. El porcentaje de positividad es alto, razón por la cual es recomendable realizar la toma de muestras de aspirados bronquiales a los pacientes con ventilación mecánica y enviarlas al laboratorio de Microbiología, por lo menos una vez por semana.

En cuanto al género, el estudio demostró que en el sexo masculino representa el 67% de los casos, por lo que nos indica que la mayor parte de las muestras de aspirado bronquial con cultivo positivo se encuentran en este género, mientras que Contreras y colaboradores en Chile<sup>158</sup> reportan un porcentaje de 51% de los casos pero en sexo femenino. La edad pediátrica con mayor incidencia tanto en el total de muestras analizadas y el número de muestras con cultivo microbiológico positivo es en el área de lactantes.

Se identificó que de las muestras analizadas la principal bacteria aislada fue *Pseudomonas aeruginosa* con un gran porcentaje de cepas multiresistentes, seguida de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* y *Stenotrophomonas maltophilia*, lo cual es muy similar a lo descrito en un estudio realizado por la Sociedad Española Intensiva<sup>149</sup> donde ellos reportan de igual manera a *Pseudomonas aeruginosa* como el principal microorganismo aislado en aspirados bronquiales, seguido por las enterobacterias y *Stenotrophomonas maltophilia*. Datos que de igual manera concuerdan con el estudio realizado por Huizar y colaboradores<sup>150</sup> donde también se reporta a *Pseudomonas aeruginosa* en primer lugar, seguido de las enterobacterias, *Staphylococcus aureus* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

*Candida albicans* se considera como colonizante, sin embargo su permanencia a largo plazo puede dar lugar a una infección de tipo sistémico.

Un dato muy importante es que se aisló a *Stenotrophomonas maltophilia*, *multiresistente* lo que nos indica que esta bacteria era considerada como ambiental, se está convirtiendo en un patógeno emergente que amerita su vigilancia constante, ya que se ha observado su presencia en brotes intrahospitalarios.

Otros estudios relacionados realizados por Menéndez y colaboradores en Cuba<sup>151</sup>, demuestran también el aislamiento de *Stenotrophomonas maltophilia* resistente a los antibióticos.

Tomando como estándar de oro el cultivo positivo realizamos una comparación, con el hecho de presentar fiebre y radiografía de tórax con alteraciones.

Con esto demostramos que solo el 50% de cultivos positivos presentan al mismo tiempo radiografía de tórax con alteraciones. Esta relación posee una sensibilidad de 55.5% y una especificidad de 33.3%.

En cuanto a la relación de cultivo positivo y presencia de fiebre encontramos que el 70% de los pacientes presentan estas dos condiciones al mismo tiempo, tiene una sensibilidad del 77.7% y una especificidad del 16.6 %.

## 11 CONCLUSIÓN:

De acuerdo a los resultados obtenidos, el soporte de ventilación artificial, favorece la entrada de microorganismos patógenos al sistema respiratorio, ya que rompe las barreras físicas fisiológicas del cuerpo. El 74% de muestras analizadas resultaron positivas, lo que indica la importancia de monitorear al paciente mediante cultivo de aspirado bronquial sobre todo ante la presencia de fiebre y radiografías de tórax con alteraciones. Los microorganismos de mayor incidencia son *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, y *Candida sp.* Siendo la mayor parte de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes, razón por la cual la terapia empírica antibacteriana debe de ir dirigida hacia este patógeno.

En diversos estudios epidemiológicos se ha demostrado que la permanencia en una unidad de cuidados intensivos es el factor de riesgo más importante de padecer colonización por *Candida albicans* y posteriormente infección diseminada, por lo que deben destacarse las medidas preventivas que disminuyan la morbilidad y mortalidad que causa este patógeno.

Como ya se mencionó *Candida albicans* esta posicionada en 2do lugar de incidencia, y aunque es considerada como microorganismo colonizador, no se le puede ignorar, ya que su presencia a largo plazo puede causar una infección sistémica.

Debido al resultado de la baja sensi-especificidad de cultivo positivo con radiografía-fiebre se demuestra que el diagnóstico no puede basarse solo en el hecho de que se presenten estas características ni se debe tomar como un patrón de oro el cultivo de aspirado bronquial, se deben evaluar de manera conjunta los ensayos y análisis que se realicen en el laboratorio microbiológico, laboratorio clínico como leucocitosis u otros parámetros de infección sistémica como el hemocultivo y urocultivo en todos los pacientes con ventilación mecánica artificial y la observación en curso del médico.

## 12 BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- Solano. M., Soto. M. «Manejo práctico de las neumonías en niños.» *Revista Médica del Hospital Nacional Niños* 39, nº 1 (2004).
- 2.-Benguigui Y., López F. & Schuminis G. «Infecciones Respiratorias en niños. OPS.OMS.» 1997.
- 3.-*Organización Mundial de la Salud*. Noviembre de 2012. [www.who.int.costos\\_economicos](http://www.who.int.costos_economicos).
- 4.- Huíza, V Hernández, Alba de la Cruz, R; Rico, G; Mendez, I; Serna S. Neumonia Zero 2012.Modulo de información “Neumonía Zero”, Hospital Vall Hebrón, Barcelona, 2012.
- 5.-Torres. A., El-Ebiary. M. «Diagnostic approachcs and hospital-acquired pneumonia.» *Sem Respir Crit Care Med* 18 (1997): 149-161.
- 6.-Kollef, M.H. «What is ventilator-associated pneumonia and why it is important? *Respir Care*.» nº 50. 2005. 714-721.
- 7.-Fagon J Y, Chastre J, Hance A J, Montravers P, Novara A, Gibert C. «Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay.» nº 94 (1993): 281.
- 8.- Mendoza D. Protocolo de NAVM. Estrategias enfermeras para la seguridad año 2010. Hospital SAS de Jérez.
- 9.- Mariví-P; E,Martínez J.E, Izura J, Gutiérrez J, Tihista J.A. Vigilancia y control de la neumonía asociada a ventilación mecánica. *Anales del sistema sanitario de Navarra* 2000;23(1):143-70.
- 10.- Soluaga R. Diagnóstico microbiológico de neumonía nosocomial “El desafío”.
- 11.-Celis R, Torres A, Gatell JM, Almela M, Rodriguez–Roisin R, Agustí–Vidal A. « Nosocomial pneumonia. A multivariate analysis of risk and prognosis.» *A multivariate analysis of risk and prognosis*. nº 93. 1998. 318-324.
- 12.-Torres A, Aznar R, Gatell JM,. «Incidence, risk, and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. .» *Am Rev Respir Dis*, nº 142 (1990): 535-528.
- 13.-Rello J, Quintana E, Ausina V,. «Incidence, etiology, and outcome of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients.» nº 100. 1991. 439-444.

- 14.-Maciques R; Castro BL, Machado O; Manresa D. Neumonía asociada a ventilación mecánica. Rev Cub Pediatr 2002;74(3):222-32.
- 15.-Padron O. Neumonía asociada a ventilación mecánica, Hospital Universitario Dr Negrín . Citado el 12 de Marzo de 2012.
- 16.- American thoracic society. Patient information series. ATS
- 17.- Ramírez N, Arias G, Barrios A, Navarro Q, Revilla E, Aguello L et al. Prevención de la Neumonía asociada con la ventilación mecánica en niños y adultos en el segundo y tercer niveles de atención. México: Secretaría de Salud; 2008.
- 18.-Sevillano, S. Valdezate y M.L Gómez. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid; Centro Nacional de Microbiología. 2010.
- 19.- Denton, M; Kerr, K.G. Microbiology and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. Clin. Microbiol. Rev. 1998; 11:57-80.
- 20.- Julve R., Rovira, E., Belda, A. y cols. Espectro clínico de la infección por *Stenotrophomonas maltophilia*. Ann Med Int 1998;15:476-480.
- 21.- Villarino, M.E, Stevens, L.E. Schable, B. y cols. Risk factors for epidemic *Xantomonas maltophilia* infection/colonization in intensive care unit patients. Infect Control Hosp. Epidemiol 1992;13:201-206.
- 22.- Fass, R.J. Barnishan, J. Solomon, M.C., Ayers, L.W. In vitro activities of quinolones,  $\beta$ -lactams-tobramycin and trimethoprim-sulfamethoxazole against nonfermentative gram negative bacilli. Antimicrob. Agents Chemother 1996.49.1412-1418.
- 23.- Cystic Fibrosis Foundation. National CF patient registry 1999. Annual Data report. Bethesda, MD.
- 24.-Orr, K. Gould, F.K, Sisson, P.R, Lightfoot, N.F., Freeman, R., Burdess, D. Rapid inter-strain comparison by pyrolysis mass spectrometry in nosocomial infection with *S. maltophilia*. J Hosp Infect 1991,17:187-195.
- 25.- Winn, Allen, Janda, Koneman, Procop, Schreckenberger, Woods. Koneman Diagnóstico microbiológico sexta edición. 2008, Ed. Medica panamericana.
- 26.- Wust, J., Frei R., Gunthard, H., Altwegg, M. Analysis of restriction fragment length polymorphism and ribotyping of multidrug-resistant *S. maltophilia* isolated from persisting lung infection in a cystic fibrosis patient. Scand J Infect. Dis 1995; 27: 499-502.

- 27.- Hauben, L. Vauterin, L., Moore, E.R.B., Hoste, B. Swings, J. Genomic diversity of the genus *Stenotrophomonas*. *Int J Systematic Bacteriol* 1999;49:1749-1760.
- 28.-Alonso,A., Martínez, J.L. Multiple antibiotic resistance in *S.maltophilia*. *Antimicrob agents chemother* 1997;41:1140-1142.
- 29.-Alonso, A., Martínez,J.L. Cloning and characterization of *smeDEF*, a novel multidrug efflux pump, from *S.maltophilia* . *Antimicrob agents Chemother* 2000; 44:3079-3086
- 30.- Paton,R. Miles,R.S., Amyes, S.G.B. Biochemical properties of inducible  $\beta$ -lactamases from *Xanthomonas maltophilia*. *Antimicrob agents chemother* 1994.38:2143-2149.
- 31.- Walsh, T.R., Hall,L. Assinder,S.J y cols. Sequence analysis of the L1 metallo- $\beta$ -lactamase from *Xanthomonas maltophilia*.
- 32.- Muñoz-Bellido, J.L., Muñoz- Criado, S., García García, I., Alonso Manzanares, M.A., Gutiérrez Zufiaurre, M.N., García Rodríguez, J.A in vitro activities of  $\beta$ -lactamase inhibitor combinations against *S.maltophilia* correlation between methods for testing.
- 33.- Visalli, M.A., Jacobs, M.R., Appelbaum,P.C activities of three quinolones, alone and in combination with extended-spectrum cephalosporins of gentamicin, against *S. maltophilia* *antimicrob agents chemother* 1998;42:2002-2005.
- 34.-Jorge Blanco, Miguel Blanco, Jesús E.Blanco, Azucena Mora, Maria Pilar Alonso, Enrique A.González y Maria Isabel Bernárdez Hermida. *Escherichia coli* patógenos para seres humanos y animales. Laboratorio de referencia de *E. coli* Universidad de Santiago de Compostela, España 2002.
- 35.- Blattner et.al 1997.
- 36.- Neidhardt et. Al (1987,1996).
- 37.-Papadopoulos et.al., 1999; Souza et.al., 2000.
- 38.-Rodríguez Angeles G. principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*, *Salud Pública Mex*, 2002,44;464-475.
- 39.-Lawrence y Ochman, 1998.
- 40.-Ochman et al 1999.
- 41.-Shu-Lin et al. 199; Bergthorsson y Ochman, 1995.
- 42.- Hopwood y Ghater, 1989.

- 43.- Mandingan et. al, 2000.
- 44.- Lewin, 1998.
- 45.- Souza et. al 1999.
- 46.-Cerritos, 1999, Parveen et al, 1999; Cruz 2000 Puppoy Richarson, 1995, Cerritos.
- 47.-Puppoy Richarson, 1995, Cerritos 1999; Parveen et.at,19. Cruz en revisión.
- 48.- Salander et. al; 1997.
- 49.-Betteljeim, 1994.
- 50.-Levine, M.M; C. Ferreccio, V. Prado, M. Cayazzo, P.Abrego, J. Martinez, L. Maggi, M.M. Baldini, W. Martin, D. Maneval, B. Kay, L.Guers, H.Lior, S.S Wasserman, and J.P Nataro. 1993. Epidemiologic.
- 51.- Sepúlveda J, Willet W, Muñoz A. Mal nutrition and diarrhea. A logitudinal study amony urban Mexican children. Am J. Epidemiol 1988;127:365-376.
- 52.-Adachi JA, Jiang ZD, Mathewson JJ, Verenkar MP, Thompson S, Martínez Sandoval F, Steffen R, Ericsson CD, Dupont HL. Enteroaggregative Escherichia coli as major etiologic agent in travelers diarrhea in 3 rehions of the world clin.Infect Dis 32:1706-1709, 2001.
- 53.- Infections Diseases Society of American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of community- acquired pneumonia in adults clin infect dis 2007;44:527-72. Universidad de Chile.
- 54.- Gustavo Lugo de la Fuente y colaboradores. Bateriología médica tercer edición 2005. Ediciones Cuéllar. Pag 185-188.
- 55.-Izquierdo Lázaro Luis. Biosisntesis del lipopolisacárido de Klebsiella pneumoniae. Universidad de Barcelona, Facultad de biología. Departamento de Microbiología 2005.
- 56.-Alvarez, D., S.Merino, J.M. Tomás, V.J, Benedi, and Albeti. 2000. Capsular polysacaride is a major componet resistance factor in lipopolysacharideO side cjain-deficient Klebsiella pneumoniae clinical isolotes. Infect. Immun 68:953-955.
- 57.-Cortés, G., B de Astorza, V.J Benedi, and S.Albertí. 2002. Role of the htrA gene in Klebsiella pneumoniae vitulence. Infect. Immun 70:47772-4776.

- 58.-Podschun, R., and U. Ullmann.1998. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogens:epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol. Rev*: 589-603.
- 59.-Langstraat, J., M. Bohse, and S. Clegg. 2001. Type 3 fimbrial shaft (MrKA) of *Klebsiella pneumoniae*, but not the fimbrial adhesin (MrkD), facilitates biofilm formation. *Infect. Immun*.69:5805-5812.
- 60.-Sebghati, T.A. TK. Korhonen, D.B Hornick and S. Clegg 1998. Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. *Infect. Immun*.66:2887-2894.
- 61.- Williams, P., and J.M. Tomás. 1990 The pathogenicity of *Klebsiella pneumoniae*. *Rev. Med. Microbiol* 1:1996-204.
- 62.-Hansen, D.S., F. Mestre, S. Albertí. S. Hernández Allés, D. Álvarez, A. Domenech Sánchez, J. Gil, S. Merino, J.M. Thomas, and V.J. Benedí, 1999. *Klebsiella pneumoniae* lipopolysaccharide o typing:revision of prototype strains and O-group distribution among clinical isolates from different sources and countries. *J. Clin Microbiol* 37:56
- 63.- Merino, S.S. Camprubi, S. Albertí, V.J Benedí and J.M Tomás 1992. Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* resistance to complement- mediated killing. *Infect Immun* 60:2529-2535.
- 64.- Raetz, C.R.H, and C. Whitfield. 2002. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem* 71:635-700.
- 65.- Rietschel, E.T., H.Brade, O.Holst, L.Brade, S.Muller Loennies, U. mamt, U. Zahringer, F. Beckmann, U. Seydel, K. Branderburg. 1996. Baterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 216:39-81.
- 66.- Hay, R.J. (1986): Systemic candidiasis in heroin addicts. *Brit Med J.* 292: 1.096.
- 67.-Samson, J. (1990): Candidiosis buccales: Epidémiologie, diagnostic et traitement. *Rev Mens Suisse Odontostomatol.* 100: 548-559.
- 68.-Baker, J. G.; SALKIN, I. F.; PINCUS, D.H.; D'AMATO, R.H. (1981): *Candida paratropicalis*, a new species of *Candida*. *Mycotaxon.* 13: 115-119.
- 69.-Shecter, Y.; Landau, J.W.; Dabrowa, N. (1972): Comparative electrophoresis and numerical taxonomy of some *Candida* species. *Mycologia.* 64: 841-853

- 70.-Saez, H.; Andrieu, S. (1979): Étude mycologique comparée de *Candida stellatoidea* et *Candida albicans*. *Ann Parasitol.* 54: 555-565.
- 71.-Magge, B.B.; Magee, P.T. (1987): Electrophoretic karyotypes and chromosome numbers in *Candida* species. *J Gen Microbiol.* 133: 425-430.
- 72.-Snell, R.G.; Hermans, I.F.; Wilkins, R.J.; Corner, B.E. (1987): Chromosomal variations in *Candida albicans*. *Nucl Acid Res.* 15: 3.625.
- 73.-Volk, W.A.; Benjamin, D.C.; Kadner, R.J.; Parsons, J.T. (1989): *Microbiología Médica*. Interamericana Mc Graw-Hill. 3ra Edición, pp. 533-560.
- 74.-Webb, B.C.; Thomas, C.J.; Willcox, M.D.P.; Harry, D.W.S.; Knox, K.W. (1998): *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review. Part 1. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. *Aust Dent J.* 43: 45-50.
- 75.-Pierce, A.M.; Pierce, H.D.; Unrau, A.M.; Oehlschlager, A.C. (1978): Lipid composition and polyene antibiotic resistance of *Candida albicans*. *Can J Biochem.* 56: 135-142.
- 76.-Calderone, R.; Braun, P. (1991): Adherence and Receptor Relationships of *Candida albicans*. *Microbiol Rev.* 55(1): 1-20.
- 77.-Arnold, W.N. (1972): Localization of acid phosphatase and  $\alpha$ -fructofuranidase within yeast envelopes. *J Bacteriol.* 112: 1.346-1.352.
- 78.-Pugh, D.; Cawson, R.A. (1979): The surface layer of *Candida albicans*. *Microbios.* 23: 19-23.
- 79.-Ram, S.P.; Romana, L.K.; Shepherd, M.G.; Sullivan, P.A. (1984): Exo (1-3)-glucanase, autolysin and trehalase activities during yeast growth and germ-tube formation in *Candida albicans*. *J Gen Microbiol.* 130: 1.227-1.236.
- 80.-Molina, M.; Cenamor, R.; Nombela, C. (1987): Exo-1,3-glucanase activity in *Candida albicans*: effect of the yeast to mycelium transformation. *J Gen Microbiol.* 133: 609-617.
- 81.-Reiss, E.; Stone, S.H.; Hasenclever, H.F. (1974): Serological and cellular immune activity of peptidoglucomannan fractions on *Candida albicans* cells walls. *Infect Immun.* 9: 881-890.

- 82.-Hattaway, F.W.; Holmes, M.R.; Barlow, A.J. (1968): Cell wall composition of the mycelial and blastospore forms of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol.* 51: 367-376.
- 83.-Cassone, A.; Simonetti, N.; Strippoli, V. (1973): Ultrastructural changes in the cell wall during germ tube formation from blastospores of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol.* 77: 417-426.
- 84.-Hoelett, J.A.; Squier, C.A. (1980): *Candida albicans* ultrastructure: colonization and invasion of oral epithelium. *Infect Immun.* 29: 252-260.
- 85.-Preusser, H.; Roster, H. (1979): Freeze-fracture studies of the plasmalemma of *Candida albicans* after treatment with econazole-nitrate. *Sabouraudia.* 17: 389-398.
- 86.-Pesti, M.; Novak, E.K.; Ferenczy, L., Svoboda, A. (1981): Freeze fracture electron microscopical investigation of *Candida albicans* cells sensitive and resistant to nystatin. *Sabouraudia.* 19. 17-26.
- 87.-Marriott, M.S. (1975): Isolation and chemical characterization of plasma membranes from the yeast and mycelial forms of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol.* 86: 115-132
- 88.-Hubbard, M.J.; Surait, R.; Sullivan, P.A.; Shepherd, M.G. (1986): The isolation of plasma membrane and characterization of the plasma membrane ATPase from the yeast *Candida albicans*. *Eur J Biochem.* 154: 375-381.
- 89.-Rajasingham, K.C.; Cawson, R.A. (1978): Septal ultrastructure in *Candida albicans*. *Acta Microbiol Pol.* 27: 389-391.
- 90.-Odds, F.C.; Trujillo-Gonzalez, A. (1974): Acid phosphatase levels in the genus *Candida* and their application to the taxonomy and identification of pathogenic *Candida* species. *Sabouraudia.* 12: 287-294.
- 91.-Nolte, W. (1986): *Microbiología Odontológica*. México. Ed. Interamericana. 4 ed. pp. 549-590.
- 92- Williams, D.W; Lewis, M.A (2000): Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. *Oral Diseases.*6:3-1197.
- 93.- Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica, capítulo 60.

94.- Hurtado, MP; de la Parte, MA; Brito A (Julio 2002). «*Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica.» (HTML). *Rev Soc Ven Microbiol* (Venezuela: Scielo) 22 (2): pp. 112-118. ISSN 1315-2556. Archivado del original el Desconocido. Consultado el 22 de enero de 2012.

95.-Lowy, Franklin D. (20 -agosto-1998). «*Staphylococcus aureus* infections» (en inglés, PDF). *NEJM*(Estados Unidos: Massachusetts Medical Society) 339 (8):pp. 520-532. doi:10.1056/NEJM199808203390806. Versión impresa:ISSN 533-4406. ISSN 0028-4793. Consultado el 7 de febrero de 2012. «

96.-Gil de M, Mónica (2000). «*Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina» (PDF). *Revista chilena de infectología* (Chile:Scielo) 17 (2): pp. 145-152. ISSN 0716-1018. Consultado el 29 de enero de 2012.

97.- Emori TG; Gaynes RP. «An overview of nosocomial infecciones, including the role of the microbiology laboratory [Revisión de las infecciones nosocomiales, incluyendo el papel del laboratorio de microbiología]» (en inglés). *Clin microbiol review* 1993 (6): pp. 428-442. PMID 8269394. PMC 358296. Consultado el 7 de febrero de 2010

98.- Cheung AL; Eberhardt KJ; Chung E; et. al. (1994). «Diminished virulence of a sar-agr mutant of *Staphylococcus aureus* in the rabbit model of endocarditis. [Disminución de la virulencia de *Staphylococcus aureus* sat-agr mutado en el modelo de endocarditis en conejo.]» (en inglés). *J Clin Invest* 1994 (94): pp. 1815-22.

99.- Brooks, Geo. F.; Carroll, Karen C.; Butel, Janet S.; Morse, Stephen A.; Mietzner, Timothy A. (2011). «Capítulo 13: *Staphylococcus*». En Jawetz. *Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología médica*. José Rafael Blengio Pinto (traductor) (25a edición). Estados Unidos: McGraw-Hill-Lange. pp. 185-194. Edición inglesa: ISBN 978-0-07-162496-1. ISBN 978-607-15-0503-3. OCLC 757476276.

100.- Disseminated intravascular coagulation associated with *Staphylococcus aureus* septicemia is mediated by peptidoglycan-induced platelet aggregation [La coagulación intravascular diseminada asociada con septicemia por *Staphylococcus aureus* es mediada por la agregación plaquetaria inducida por peptidoglucano]» (en inglés, PDF). *J Infect Dis* 1991 (164): pp. 1017. doi:10.1093/infdis/164.1.101. PMID 2056198. Consultado el 7 de febrero de 2010.



- 111.- Nallapareddy S, Qin X, Weinstock G, Hook M, Murray B. Enterococcus faecalis Adhesin, Ace, Mediates Attachment to Extracellular Matrix Proteins Collagen Type IV and Laminin as well Collagen Type I. Infect Immun. 2000; 68: 5218-5224
- 112.- Hubble T, Hatton J, Nallapareddy S, Murray B, Gillespie M. Influence of Enterococcus faecalis proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. Oral Microbiol Immunol. 2003; 18: 121-126
- 113.- Ehrenfeld E, Kessler R, Clewell D. Identification of Pheromone-Induced Surface Proteins in Streptococcus faecalis and Evidence of a Role for Lipoteichoic Acid in Formation of Mating Aggregates. J Bacteriol. 1986; 168: 6-12
- 114.- Huycke M, Abrams V, Moore D. Enterococcus faecalis produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. Carcinogenesis. 2002; 23: 529-536
- 115.- Hynes W; Walton S; Hyaluronidases of Gram positive bacteria. FEMS Microbiol Lett 2000; 183, 201-207.
- 116.- Jett B, Jensen H, Nordquist R, Gilmore M. Contribution of the pAD1-Encoded Cytolysin to the Severity of Experimental Enterococcus faecalis Endophthalmitis. Infect Immun. 1992; 60: 2445-2452
- 117.- Martinez, I,A; Perez, A, J; Perez, M,M. Pseudomonas. Microbiología y Parasitología. Cap. 29. 2008
- 118.- Nishijima, KA "Enterobacter cloacae." Knowledge Master Recortar. 01 1999.[http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/e\\_cloac.htm](http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/e_cloac.htm)
- 119.-Fraser, Susan L. "Las infecciones por Enterobacter." EMedicine. 08 de enero 2007. <http://www.emedicine.com/med/topic678.htm>
- 120.-Hopley, Lara, Schalkwyk, Jo van. "Enterobacter." 29 de septiembre 2001.<http://www.anaesthetist.com/icu/infect/bacteria/gramneg/Findex.htm> # enterobacter.htm

121.-T. Conceicao, N. Faria, M. Pimentel, G. Soveral, A. Duarte, et al. "Nueva cromosómica AmpC  $\beta$ -lactamasas de *Enterobacter cloacae*." PubMed Central. Abril de 2004.  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=375280>

122.- Davin-Regli A, C Bosi, Charrel R, Ageron E, L Papazian, Grimont P, Crémieux A, Bollet C. "Un brote nosocomial Debido a *Enterobacter cloacae* Cepas con el E. hormaechei genotipo en los pacientes tratados con fluoroquinolonas. "Journal of Clinical Microbiology. Vol.. 35, N ° 4.04 1997: p. 1008-1010.

123.- Jincai M, Donald Y. Kobayashi, y Nathan Yee. "El papel de los genes en menaquinona Biosíntesis Selenato Reducción por *Enterobacter cloacae* SLD1a-1 y *Escherichia coli* K12." Environmental Microbiology, 2009. Vol. 11, N ° 1. p. 149-158.

124.- Dungan, RS, y WT Frankenberger. "Reducción de selenita de selenio elemental por *Enterobacter Cloacae* SLD1a-1." Journal of Environmental Quality, 1998. Volumen 27. p.1301-306.

125.- Dijk, Karin van, Nelson, Eric B. "La competencia de los ácidos grasos como un mecanismo por el cual *Enterobacter cloacae* Suprime *Pythium ultimum* Esporangio germinación y Damping-Off". Aplicada y Microbiología Ambiental. Vol.. 66, N ° 12. 12 2000. p. 5340-5347.  
<http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/66/12/5340>

126.- Kanemitsu K, Endo S, Oda K, Saito K, Kunishima H, Hatta M, Inden K, Kaku M. "una mayor incidencia de *Enterobacter cloacae* en una sala cardiovascular." 06 2007; 66(2):130  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=17394432&ordinalpos=40&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=17394432&ordinalpos=40&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)

127.- Hugh A, Cassiere M. Aspiration pneumonia: current concepts and approach to management. Resp Care 1998;2(1):1-11.

128.- Schwartz SN, Dowling JN, Bencovic C. Sources of gram-negative bacilli colonizing the trachea of intubated patients. J Infect Dis 1978;138:227-31.

- 129.- Abraham SN, Beachey EH, Simpson WA. Adherence of streptococcus pyogenes, Escherichia coli and Pseudomona aeruginosa to fibronectin-coated and uncoated. Epithelial cells. Infect Immun 1983;41:1261-8.
- 130.- Johanson WB. Bacteriologic diagnosis of nosocomial pneumonia following prolonged mechanical ventilation. Am Respir dis 1988;137:2590-64.
- 131.- Conferencia de Consenso 1992;123:86-94.
- 132.-American Thoracic Society. Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis, assessment, initial therapy and prevention: a consensus statement. Am J Respir Crit Care Med 1996;153:1711-25.
- 133.-Robert A, Westein M. Infection control strategies: the Busier You Are, the less You Wash. Infect Dis 2000;4(5):46-59.
- 134.-Gaussoregue P, Pierno D, Bachaman P. Comparison of non-broschocopic bronchoalveolar lavage to open lung biopsy for bacteriological diagnosis of pulmonary infections in mechanically ventilated. Intens Care Med 1989;15:94-8.
- 135.-Lambert RS, Vereen LE, George RB. Comparison of tracheal aspirates and protected brush catheter specimens for identifying pathogenic bacteria in mechanically ventilated patients. Am J Med Sci 1989; 297:377-82.
- 136.- Wenderic R, Leeper K. Diagnóstico diferencial de la neumonía asociada a la ventilación mecánica. En: Torres A, Mensa J, Neederman M. Editores. Infecciones respiratorias en UCI. Springer; Barcelona: 1999:180-7.
- 137.- Robert A, Westein M. Preventing infections in the UCI: ventilator-associated pneumonia and catheter-related infections. Infect Dis 1999;21(4):27-32.
- 138.- Sutherlan KR, Maunder JA, Milberg DL. Pulmonary infection during the acute respiratory syndrome. Am J Respir Crit Care med 1995;152:550-6.
- 139.- Acheld WM, Mandell GL. Nosocomial pneumonia: pathogenesis and recent advances in diagnosis and therapy. Rev Infect Dis 1991;13(Suppl 9):5743-51.
- 140.- Joshi N, Localio R, Hamory BH. A predictive risk index for nosocomial pneumonia in the intensive care unit. Am J Med 1992;93:135-42.

- 141.- Calvo M; Delpiano L; Chacón V; Jemenao I; Peña A; Zambrano A. Actualización Consejo Neumonía asociada a ventilación mecánica. Segunda parte. Prevención Rev Chil.infectol.vol 28 No4 Santiago, agosto 2011 28(4):316-332.
- 142.- Cook D, Mandell L. «Endotracheal aspiration in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia.» Vol. 117. nº (4 Suppl 2). 2000. 195-197.
- 143.- Hernandez G, Rello J. «Top ten list in ventilator-associated pneumonia. 2003:124:1580–1583.» nº 124. 2003. 1580–1583.
- 144.- Papazian L, Bregeon F, Thirion X,. «Effect of ventilator associated pneumonia on mortality and morbidity.» *Am J Respir Crit Care Med* 154 (1996): 91-97.
- 145.- Maldonado-Ortiz EA, Lopez M, Ramirez J, Moreno C, Herrera H. « Sequential histological and bacteriological change on lungs from 6 to 72 hours of mechanical ventilation in healthy pigs. .» Vol. 126. nº (4 Suppl). 2004. 846–847.
- 146.-Úbeda MI, Murcia J, Asensi MT. «El Pediatra de Atención Primaria y la Neumonía Actualización del Consenso "Neumonía asociada a ventilación mecánica" Primera parte. Aspectos diagnósticos.» *Neumonía adquirida en la comunidad.*, Febrero 2013.
- 147.-Garcés M, Díez J, Ballester A, Peidró C, García M, Antón V y col. «Epidemiología de la neumonía adquirida en la comunidad en menores de 5 años en la Comunidad Valenciana.» *An Pediatr (Barc)*, nº 63 (2005): 125-130.
- 148.-«Giménez Sánchez F, Sánchez Marengo A, Battles Garrido JM, López Soler JA, Sánchez- Solis Querol M. Características clínico-epidemiológicas de la neumonía adquirida en la comunidad en niños menores de 6 años.» *An Pediatr (Barc)*, nº 66 (2007): 578-584.
- 149.- Ibrahim EH, Tracy L, Hill C, Fraser VJ, Kollef MH. The occurrence of ventilator associated pneumonia in a community hospital: risk factors and clinical outcomes chest. 2001; 120: 555-56.
- 150.-CDC. Guidelines for preventing healthcare-associated pneumonia, 2003. Recommendations of the CDC and the healthcare infection control practices advisory committee. 2004; 53 (No. RR-3)
- 151.- Fein a, Grossman R, Ost Detal. Diagnosis and management of pneumoniae and other respiratory infections. En professor communications, inc. 2<sup>nd</sup> Ed. 2000, 125.

- 152.- Richards, MJ; Edwards JR, Culver DH y cols. Nosocomial infections in medical intensive care unit in the unit states. National nosocomial infections surveillance system. Crit care med 1999, 27:887-892.
- 153.- Kiss Krankenhaus-infections. Surveillance sytem. Modul ITS-KISS.
- 154.- HELICS Implementation phase 11, final report, March 2005.
- 155.- the socio economic Burden of Hospital Acquired infection. Executive summary public health laboratory service. 1999.
- 156.- Plascencia Rocha Ana, neumonia asociada a la ventilación mecanica en una unidad de cuidados intensivos pediátricos, 2006, México.
- 157.- Somogyi T; Alfaro W; Herrera M; Herrera J. Revista médica del Hospital de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" Rev. Med.Hospital Nacional de Niños (Costa Rica) vol.33 no.1-2 San José 1998.
- 158.- Contreras P; Milet B; Coria P. Uso de cultivo cuantitativo de aspirado endotraqueal para el diagnostico de neumonía asociada a ventilación mecánica en pediatría. Hospital Luis Calvo, Santiago de Chile 2010.
- 159.- Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Informe 2012. Sociedad Española intensiva.
- 160.- Huizar,H,V; Alba de la Cruz R; Rico,M,G; Serna, S,M. Neumonía asociada a ventilación mecánica . Sociedad Mexicana de Neumonía y Cirugía de Tórax A.C Vol.64 Numero 9-21. 2005
- 161.- Menéndez J; Fernández O; Menéndez E; Castro Daniel. Edficacia antimicrobiana in vitro en secreciones bronquiales de pacientes con ventilación mecánica. Cuba. 2005
- 162.- Hospital infantil de Morelia "Eva Sámano de López Mateos". Laboratorio de investigación en Microbiología y Parasitología. 2012-2014