



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: VIGILANCIA DEL ESTADO DE
PORTADOR DE BACTERIAS
MULTIRRESISTENTES**

Autor: Sonia Pulido Sánchez

Tutor: Ángela Gómez Alférez

Convocatoria: Febrero 2017

ÍNDICE

1. Resumen.....	3
2. Introducción y Antecedentes.....	3-9
3. Objetivos.....	9
4. Metodología.....	10
5. Resultados y Discusión.....	10-18
5.1 Consideraciones generales para las muestras de cultivos de vigilancia.....	10-11
5.2 <i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente.....	11-15
5.2.1 Trascendencia clínica y epidemiológica	
5.2.2 Métodos microbiológicos basados en el cultivo	
5.2.3 Perfiles de resistencia	
5.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente.....	15-18
5.3.1 Trascendencia clínica y epidemiológica	
5.3.2 Métodos microbiológicos basados en el cultivo	
5.3.3 Perfiles de resistencia	
6. Conclusiones.....	18
7. Bibliografía.....	18-20

1. RESUMEN

El escenario epidemiológico de la resistencia antimicrobiana tanto en *Acinetobacter baumannii* como en *Pseudomonas aeruginosa* es extremadamente complejo debido a los múltiples mecanismos de resistencia que pueden desarrollar las distintas cepas en los diferentes países, dando lugar a la aparición de cepas multirresistentes (MDR), de resistencia extensa (XDR) e incluso panresistentes (PDR). Esta situación ha derivado en un gran problema de salud pública a nivel mundial. Una de las medidas propuestas para controlar esta realidad es la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes, la cual se puede llevar a cabo mediante métodos de cultivo microbiológicos y moleculares, dependiendo de los recursos de cada centro.

A través de este trabajo, se pretende ofrecer una breve revisión de la trascendencia clínica actual de las cepas resistentes de *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, así como unificar las definiciones de cepas MDR, XDR y PDR en estas especies y describir algunas recomendaciones acerca de los métodos microbiológicos a llevar a cabo para vigilar el estado de portador de estas bacterias multirresistentes.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

DESCUBRIMIENTO DE ANTIBIÓTICOS

El descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming en 1928 constituyó uno de los mayores logros de la medicina moderna. Enfermedades infecciosas que hasta entonces suponían la muerte empezaron a poder tratarse muy eficazmente gracias a este antibiótico perteneciente a la familia de los β -lactámicos [1].

Posteriormente fueron apareciendo nuevas familias de moléculas durante la llamada “era de los antibióticos”: las sulfonamidas en 1935, los aminoglucósidos en 1944, las tetraciclinas en 1948, el cloramfenicol en 1949 y las quinolonas en 1962, entre otros [1]. Los antibióticos son producidos por bacterias y por hongos de forma natural desde hace millones de años: los usan para comunicarse entre sí y para competir con el resto de microorganismos [2].

APARICIÓN Y DESARROLLO DE RESISTENCIAS

Se empezaron a prescribir antibióticos para tratar infecciones severas en los años 40. Sin embargo, a lo largo de los años 50, comenzaron a detectarse cepas de microorganismos que presentaban resistencias frente a los antimicrobianos usados [3].

Aunque la existencia de bacterias resistentes de forma natural es independiente de que se empleen o no antimicrobianos, existe una clara relación entre el uso de estos y el incremento de las resistencias [2].

Las bacterias pueden desarrollar resistencias mediante dos tipos de mecanismos: genéticos o bioquímicos [1, 4].

Mecanismos genéticos

Las bacterias que producen antibióticos, cuentan a su vez con genes propios que les proporcionan mecanismos de resistencia contra los compuestos antimicrobianos producidos, puesto que de no ser así, inhibirían su propio crecimiento. Es la llamada **resistencia intrínseca**. Esto supone que los mecanismos de resistencia a los antibióticos han surgido en paralelo a los propios antibióticos [1, 4].

Por otra parte, las bacterias poseen una gran capacidad de adaptación debido a su plasticidad genética y a sus enormes poblaciones, lo que ha favorecido la aparición de nuevos mecanismos de resistencia a los antibióticos a lo largo de los años: es la denominada **resistencia adquirida** [1, 4].

Estos mecanismos de resistencia pueden producirse en una bacteria determinada mediante mutación genética o mediante el intercambio de material genético por transferencia horizontal (fundamentalmente por conjugación, en menor medida por transformación o transducción) entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes [2]. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extracromosómico (plásmidos) [4].

En cualquier población bacteriana hay ciertas células que son capaces de continuar su desarrollo a las concentraciones de antibiótico que inhiben el crecimiento de la mayoría de los individuos de esa población. Cuando se realiza un tratamiento antibiótico, estos mutantes resistentes continúan su desarrollo a la vez que desaparece el resto de las bacterias de su especie por presión selectiva. De este modo, en un proceso de selección natural, dan lugar a una nueva población de microorganismos resistentes al antibiótico utilizado [2].

Mecanismos bioquímicos

Las bacterias utilizan distintos mecanismos para hacerse resistentes a los antibióticos: dificultan el acceso del antibiótico a su diana, facilitan su transporte al exterior de la bacteria a través de bombas de expulsión activa, modifican la estructura molecular del antibiótico de forma que pierda su actividad antimicrobiana, modifican la diana para dificultar la unión del antibiótico o incrementan su producción de forma que las

cantidades de antibiótico sean insuficientes para unirse a toda ella e incluso desarrollan vías metabólicas alternativas a la que inhibe el antimicrobiano [2].

RESISTENCIAS BACTERIANAS: UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

La selección de cepas resistentes afecta de forma negativa al huésped en que estas se desarrollan, ya que puede suponer el fracaso del tratamiento. Sin embargo, también constituye un problema para el resto de la comunidad, porque esas cepas resistentes pueden transmitirse a otros individuos y dar lugar a infecciones para las que sea difícil o imposible encontrar un tratamiento alternativo. Las infecciones nosocomiales por bacterias resistentes a los antibióticos empeoran el pronóstico del paciente y aumentan los costos de su atención y la duración de la estancia hospitalaria [2].

A pesar de que el desarrollo de resistencias es un proceso que ocurre de forma natural, se está viendo acelerado por el uso abusivo e indiscriminado de los antibióticos tanto en la terapéutica humana como veterinaria. Se sabe con certeza que este tipo de fármacos se usa de manera generalizada como promotores del crecimiento de animales de consumo en granjas y piscifactorías desde el momento en que se descubrieron, lo que ha contribuido a la aparición de numerosas resistencias [3, 5].

ADQUISICIÓN DE MULTIRRESISTENCIA

En numerosas ocasiones, las cepas resistentes a una familia de antimicrobianos suelen ser resistentes también a otras familias de compuestos no relacionados estructuralmente. Varios estudios apoyan que una bacteria resistente tiene más probabilidades que otra sensible de adquirir nuevos genes de resistencia. Se trata de un círculo vicioso en el que el uso de antimicrobianos de amplio espectro o el uso de aquellos que acaban de introducirse en el mercado, acaba por seleccionar patógenos de igual o de distinta especie aún más resistentes. A pesar de que hoy en día se sabe que esta es una de las formas más eficaces de seleccionar mutantes resistentes en las bacterias, continúa siendo una práctica clínica muy habitual. Este fenómeno está originando tal desastre ecológico que dejará sin opciones terapéuticas a los futuros enfermos. No se trata de un problema menor, sino todo lo contrario: la resistencia bacteriana, se ha clasificado como un problema de salud pública reconocido como prioritario en todo el mundo por organizaciones tan importantes como la OMS, UE y CDC (Centro para el Control y Prevención de las enfermedades) [2, 6].

Este y otros factores han provocado que la resistencia combinada a varios antibióticos esté aumentando en los principales patógenos de origen bacteriano dando lugar a las **bacterias multirresistentes**. Actualmente no existe una definición universalmente aceptada, sin embargo, se puede aplicar de forma general el término de cepa multirresistente (**MDR**) a aquellos microorganismos resistentes a dos o más grupos de antimicrobianos que se empleen de forma habitual en el tratamiento de las infecciones producidas por ese mismo microorganismo, cuando esta resistencia tenga relevancia clínica [7, 8]. También se acepta aplicar el término a aquellos microorganismos que presentan de forma intrínseca resistencia a múltiples antimicrobianos que se usen habitualmente en la práctica clínica y que han sido capaces de adquirir resistencia a alguno de los restantes grupos de antimicrobianos con posible utilidad clínica [9].

La multirresistencia ha sido definida por otros autores como la ausencia de sensibilidad a al menos un antibiótico de tres o más familias consideradas de utilidad para el tratamiento de las infecciones producidas por cada una de las especies bacterianas consideradas [8, 10].

La multirresistencia puede afectar tanto a bacterias gram-positivas como a gram-negativas. Estas bacterias multirresistentes causantes de diversas infecciones son especialmente problemáticas en el ámbito nosocomial [9].

Algunos ejemplos de bacterias multirresistentes son: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, determinadas especies de enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* productor de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE), y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) [10].

Algunas cepas bacterianas presentan otro tipo de resistencia: **resistencia extensa (XDR)**. Este término se aplica a especies de bacterias clínicamente relevantes y ha sido definido recientemente por algunos expertos internacionales del Centro Europeo para la prevención y control de enfermedades (ECDC) como la ausencia de sensibilidad a al menos un antibiótico de todas las familias excepto una o dos [8, 11].

Además, existen **cepas panresistentes (PDR)**, término que, por su prefijo griego `pan´ (todo), significa resistente a todos los agentes antimicrobianos aprobados. Sin embargo, a pesar de que su significado etimológico es claro, algunos autores han usado este término para cepas resistentes casi todos los agentes antimicrobianos comercializados,

[8] o para cepas resistentes a todos los antibióticos de todas las familias habitualmente utilizadas en el tratamiento de la bacteria considerada [11].

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

El descubrimiento de nuevas clases de antibacterianos, con mecanismos de acción totalmente distintos a los ya existentes, se enlenteció a finales de los 60, disminuyendo de forma incesante en las tres últimas décadas, dejando pocas opciones para tratar bacterias resistentes. En el intervalo de tiempo desde 1980 hasta 1989 la FDA aprobó 30 nuevos antimicrobianos. De 1990 al 1999, 22 antibióticos fueron aprobados. De 2000 al 2009, se aprobaron 7. Desde el año 2010 al 2014, se han aprobado tan solo 6 [12].

Este descenso no es único de fármacos antibacterianos, y refleja una disminución en el número de fármacos aprobados por la FDA en el tiempo, a pesar del aumento de la inversión en investigación [12].

Concretamente en España, sólo se han comercializado, en la primera década del presente siglo, linezolid (2001), ertapenem (2002), tigeciclina (2006), daptomicina (2006) retapamulina (2007) y doripenem (2008). De ellos, sólo son realmente nuevos, desde un punto de vista estructural y de mecanismo de acción: linezolid, una oxazolidinona; daptomicina, un lipopéptido; y retapamulina, una pleuromutilina, aunque algunas pleuromutilinas ya se llevan usando en veterinaria algunos años. Solamente tigeciclina ha supuesto un avance frente a algunas especies de bacilos gram-negativos multirresistentes. Estos datos reflejan la necesidad actual de disponer de nuevos fármacos activos frente a enterobacterias y no fermentadores multirresistentes [13].

El motivo más importante por el que ha disminuido drásticamente la introducción de nuevos antibióticos es su baja rentabilidad económica frente a otros grupos de fármacos. Así, aunque el desarrollo de cualquier nuevo fármaco es un proceso largo, muy costoso y con mucha incertidumbre, en el campo de los antibióticos se suman además otros factores como: la escasa percepción social y política sobre la dimensión del problema, la dificultad para encontrar nuevas clases de antibióticos, el bajo volumen de ventas de los antibióticos en relación a otros grupos terapéuticos, la naturaleza de sus indicaciones y su propia eficacia (se usan en tratamientos cortos, lo que supone menos ingresos económicos por paciente tratado), la necesidad de prevenir las resistencias (para retrasar la aparición de resistencias y mantener su utilidad terapéutica, los pocos nuevos fármacos que se comercializan se reservan, como segundas y terceras líneas de

tratamiento, para cuando han fracasado los tratamientos tradicionales limitando así su rendimiento económico), y las limitaciones de la regulación legal sobre eficacia y seguridad de los nuevos medicamentos (las agencias reguladoras exigen que se demuestre su eficacia en dos ensayos clínicos por cada indicación concreta que se pretende registrar) [4].

SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

A día de hoy, son numerosos los microorganismos resistentes a varias familias de antibióticos, y muy pocas las alternativas terapéuticas disponibles.

Sin antimicrobianos efectivos para la prevención y el tratamiento de infecciones, procedimientos médicos rutinarios como el trasplante de órganos, la quimioterapia para cáncer, el manejo de la diabetes y las cirugías mayores, pasaran a ser procedimientos de riesgo [14, 15].

Una era “post-antibiótica” en la que las infecciones comunes y lesiones menores acaben con la vida de numerosas personas es una posibilidad muy real para el siglo XXI.

Algunos expertos opinan que se está acercando el momento en el cual el arsenal terapéutico se vea superado por la rápida capacidad adaptativa de las bacterias [13].

El ECDC estima que la resistencia a antibióticos supone al año en Europa 25.000 muertes y unos costes de más de 1.500 millones de euros en gasto sanitario y pérdidas de productividad. Un estudio realizado por el Gobierno de Gran Bretaña estima que si no se toman urgentemente las medidas adecuadas, en el año 2050, se producirán 10 millones de muertes al año debidas directa o indirectamente a la resistencia a antimicrobianos [16, 17].

IMPORTANCIA DE LA VIGILANCIA DEL ESTADO DE PORTADOR

Las bacterias multirresistentes más prevalentes suelen presentar gran capacidad de diseminación epidémica: intrahospitalaria y también inter- y extra-hospitalaria. Además, la posibilidad de transferencia horizontal de la multirresistencia a través de diferentes elementos genéticos móviles eleva la gravedad de este problema y favorece la aparición de brotes. Una de las principales vías de propagación es la presencia de pacientes colonizados por este tipo de bacterias. La contención de esta expansión es una prioridad asistencial en los centros sanitarios, así como una prioridad de salud pública reconocida por las principales instituciones nacionales e internacionales [10].

En este marco, cobra vital importancia la **vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes**, como herramienta para la detección precoz de los pacientes colonizados por este tipo de bacterias y para la obtención de datos epidemiológicos de gran valor [9, 10].

Se define como **portador** al individuo que sin presentar signos clínicos de la enfermedad, alberga agentes patógenos de diversas enfermedades infecciosas, con la capacidad de transmitirlos a otras personas, constituyendo una fuente potencial de contagio para otros y jugando un importante papel en la epidemiología de la enfermedad [18].

Numerosos estudios han demostrado la utilidad de hacer cultivos de vigilancia epidemiológica, que reside principalmente en el conocimiento de la dimensión real del problema de la multirresistencia en una unidad o centro concreto, ya que los cultivos de muestras clínicas realizados con objeto diagnóstico, no proporcionan tanta información. Además, los datos obtenidos podrán servir de ayuda en el diseño de programas de control de la transmisión nosocomial y orientación a los clínicos para el uso racional de los antibióticos [9].

En el presente trabajo se analizarán dos de los agentes etiológicos con mayor interés por su dificultad de tratamiento en España: *Acinetobacter baumannii* multirresistente y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente [9].

3. OBJETIVOS

- Analizar brevemente la trascendencia clínica y epidemiológica de dos de las especies bacterianas de mayor importancia en salud pública por su relevancia en las infecciones nosocomiales y su capacidad para adquirir resistencia a múltiples antibióticos: *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- Describir algunas recomendaciones sobre los métodos microbiológicos a implementar para vigilar el estado de portador de estas dos especies de bacterias multirresistentes.
- Definir los criterios de multirresistencia (MDR), resistencia extendida (XDR) y panresistencia (PDR) en cada una de estas especies.

4. METODOLOGÍA

Se realizó una revisión bibliográfica de distintos artículos científicos y otros estudios relevantes extraídos de la base de datos PubMed y de la revista de microbiología Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii* multirresistente, *Pseudomonas aeruginosa*, microorganismos multirresistentes, vigilancia epidemiológica, estado de portador, carriage state, surveillance, antibiotic resistance, multi-drug resistance, MDR, XDR, PDR.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. CONSIDERACIONES GENERALES PARA LAS MUESTRAS DE CULTIVOS DE VIGILANCIA

La obtención de la muestra clínica adecuada supone el punto de partida para el correcto diagnóstico microbiológico (Tabla 1) [19].

Organismo	Muestras clínicas				
	Heces/Rectal	Perineal	Espujo/Exudado de traqueostomía	Exudado de herida	Orina
<i>A. baumannii</i> multirresistente	++++	++	++++	+++	+++
<i>P. aeruginosa</i> multirresistente	+++	+++	++++	+++	+++

Tabla 1. Indicaciones orientativas sobre el interés cualitativo de distintas muestras clínicas para la investigación de patógenos multirresistentes con objetivos epidemiológicos [9,11].

Es necesario conocer los posibles agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas y los mecanismos patogénicos de los mismos para la obtención de la muestra. Esta debe ser representativa del proceso infeccioso a diagnosticar. Es importante recordar que, en algunas infecciones, muestras no relacionadas de forma directa con el foco de la infección pueden tener también un buen rendimiento microbiológico [9, 11].

Debe aparecer explícitamente en la solicitud de procesamiento de la muestra que se trata de un “cultivo de vigilancia epidemiológica”. También debe constar la bacteria y el

problema de resistencia a vigilar, porque según estas variantes, se evaluará la adecuación del tipo de muestra a la prueba solicitada [10].

La muestra debe cumplir una serie de medidas relacionadas con el procedimiento de obtención, la cantidad y el transporte, que aseguren su idoneidad y calidad. Las recomendaciones sobre estos aspectos están incluidas en el manual propio de cada laboratorio de microbiología [19].

Como con cualquier otra muestra microbiológica, se recomienda procesarla con la mayor rapidez posible: en menos de 24 horas. Si no se va a procesar en este tiempo, se recomienda conservarla a una temperatura de entre 2 y 4°C para facilitar la posterior recuperación de la bacteria pero evitando el sobrecrecimiento de la microbiota comensal [10].

Una vez que la muestra llega al laboratorio, los pasos a seguir son: recepción de la misma (verificar si cumple con los criterios de calidad establecidos), procesamiento (pretratamiento, tinciones, inoculación en medios de cultivo e incubación) y por último obtención de resultados [19].

5.2. *Acinetobacter baumannii* multirresistente

5.2.1. TRASCENDENCIA CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA

El género *Acinetobacter* incluye numerosas especies de las cuales la de mayor importancia clínica es *Acinetobacter baumannii* debido fundamentalmente a su capacidad para adquirir resistencia a diferentes grupos de antibacterianos y para diseminarse en el ambiente hospitalario.

Se trata de un patógeno oportunista que afecta principalmente a pacientes ingresados en las UCIs. Se relaciona con neumonía asociada a ventilación mecánica, endocarditis, meningitis, infecciones de la piel y partes blandas, del tracto urinario y asociados a dispositivos protésicos [9, 19].

La emergencia de especies de *Acinetobacter* multirresistente es debida a la presión selectiva ejercida por el empleo de antibióticos de amplio espectro y a la transmisión de cepas entre pacientes [20].

Las cepas epidémicas suelen ser introducidas en el hospital por un paciente colonizado, a partir del cual la cepa puede extenderse a otros pacientes y al ambiente, ya que *A. baumannii* puede sobrevivir en superficies secas. En el medio hospitalario se ha aislado en humidificadores, ventiladores, la piel del personal de salud, colchones, cojines y

otros equipamientos. Por ello, para su aislamiento se recomienda tomar muestras del paciente y muestras ambientales. En este marco, una vigilancia activa es necesaria para controlar su diseminación en las instalaciones, reducir el riesgo de contaminación cruzada e identificar a los portadores [11].

Para conocer algunos datos actuales sobre las tasas de resistencia a antimicrobianos de *A. baumannii* se han comparado dos estudios multicéntricos realizados en España por los grupos de estudio GEIH y GEMA-RA relacionados con la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) y la SEIMC. El primer proyecto se llevó a cabo en el año 2000 y el segundo en el 2010 [21].

En base a los datos obtenidos, se observa un considerable incremento en la resistencia a los distintos antibióticos en tan solo una década de forma que actualmente *A. baumannii* es resistente a casi todos los antibacterianos disponibles [21].

Concretamente, los datos muestran un aumento en la resistencia a los carbapenémicos, ceftazidima y sulbactam en 2010 con respecto al 2000. Por otra parte, las resistencias han disminuido para los aminoglucósidos, tetraciclina y rifampicina [21].

Es importante destacar la eficacia de la colistina frente a *A. baumannii*, siendo el agente antibiótico que menor tasa de resistencias presenta, si bien es verdad que han empezado a aparecer resistencias con respecto al año 2000, debido probablemente al incremento en su uso [21].

5.2.3 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS BASADOS EN EL CULTIVO

El aislamiento de la bacteria, se lleva a cabo a través de métodos microbiológicos y moleculares. Algunos de estos métodos microbiológicos se resumen a continuación.

Acinetobacter baumannii es un cocobacilo gram-negativo, aerobio estricto, no fermentador, oxidasa negativo y catalasa positivo, perteneciente a la familia Moraxellaceae [11].

Esta bacteria presenta gran facilidad de crecimiento en medios de cultivo convencionales. Por ello, para su aislamiento se propone usar un medio habitualmente empleado en el aislamiento de bacterias gram-negativas, como el **agar MacConkey**. Para seleccionar solo las cepas multirresistentes, se recomienda suplementar este medio con **gentamicina** a una concentración de 8 mg/L o incluso **cefotaxima** a una concentración de 2 mg/L; ya que se ha descrito la resistencia de AB a estos antimicrobianos. La inclusión de cefotaxima a esa concentración va a permitir el aislamiento de otras bacterias multirresistentes como *P. Aeruginosa* [10].

Para aislar selectivamente *Acinetobacter* en muestras clínicas y ambientales, el **medio LAM** (Leeds Acinetobactermedium) ha demostrado ser útil, ya que permite una adecuada diferenciación de especies entre *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Stenotrophomonas*, que también crecen en el mismo [22]. Se trata de un medio diferencial especialmente diseñado para permitir el crecimiento selectivo de especies de *Acinetobacter*. El medio LAM inhibe el crecimiento de los gram-negativos gracias a su contenido en cefsulodina a una concentración de 15 mg/L y cefradina a una concentración de 50 mg/L. Además, para evitar el crecimiento de gram-positivos, posee vancomicina (10 mg/L) [10].

El medio LAM contiene también algunos azúcares como fructosa y sacarosa, los cuales no son fermentados por las especies de *Acinetobacter*: por lo que las colonias crecen con un color rosado tras el periodo de incubación. Las colonias capaces de crecer en este medio con estas características se identifican posteriormente mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) [10].

También existen otros medios cromogénicos como el **CHROMagar™ Acinetobacter**, el cual inhibe el crecimiento de la mayoría de los cocos gram-positivos y levaduras. El cambio de color de las colonias de *Acinetobacter* a color rojo permite su identificación. Adicionando suplementos específicos a este medio, se logra la detección de aislados de *A. baumannii*-*A. calcoaceticus* resistentes a carbapenémicos con una buena sensibilidad y especificidad [10].

Las muestras ambientales pueden procesarse en infusión cerebro corazón (BHI), y el subcultivo puede realizarse en el mismo tipo de medio sólido empleado para las muestras clínicas descritas previamente [10].

Los medios de cultivo se incubarán en aerobiosis a 35-37 °C durante 24-48 h [9].

CRITERIOS PARA LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La primera lectura de los cultivos se hará a las 24 horas de incubación. Si es negativa, se realizará de nuevo a las 48 horas [10].

La presencia de *Acinetobacter spp* se verá confirmada tras la detección de colonias en el medio de agar MacConkey, en cuya tinción gram se observen cocobacilos gram-negativos, oxidasa negativo y catalasa positivo [10].

Sin embargo, debido al gran número de especies pertenecientes al género *Acinetobacter spp* y a la ausencia de pruebas bioquímicas con suficiente especificidad para distinguir unas de otras, la identificación fenotípica es complicada y la identificación a nivel de

especie mediante estos métodos resulta difícil de lograr. Por ello se aconseja hacer referencia al complejo *A. baumannii*-*A. calcoaceticus* en la identificación, en vez de a la especie concreta [10].

La identificación de *Acinetobacter spp* multirresistente se informará como "se aísla *Acinetobacter spp* multirresistente". Si no se aísla el microorganismo después de 48 h de incubación, se informará "No se aísla *Acinetobacter spp*". Si la cepa aislada no es multirresistente se informará "No se aísla *Acinetobacter spp* multirresistente" [9].

Tras la identificación, se llevará a cabo el antibiograma para conocer la sensibilidad a antimicrobianos, su fenotipo de resistencia y poder proceder a la clasificación en MDR, XDR o PDR siguiendo el criterio explicado en el siguiente apartado [10].

5.2.3 PERFILES DE RESISTENCIA

Para analizar los distintos perfiles de resistencia en *A. baumannii* se deben tener en cuenta determinados agentes antimicrobianos (Tabla 2).

Familia de antibióticos	Agente antimicrobiano
Aminoglucósidos	Gentamicina
	Tobramicina
	Amikacina
	Netilmicina
Carbapenemasas antipseudomónicas	Imipenem
	Meropenem
	Doripenem
Cefalosporinas antipseudomónicas	Ceftacidima
	Cefepima
Fluoroquinolonas antipseudomónicas	Ciprofloxacino
	Levofloxacino
Penicilinas antipseudomónicas + inhibidores de β -lactamasas	Ticarcilina + ácido clavulánico
	Piperacilina + tazobactam
Cefalosporinas 3 ^a y 4 ^a generación	Cefotaxima
	Ceftriaxona
	Ceftacidima
	Cefepima

Inhibidores de la síntesis de tetrahidrofolatos	Trimetoprim-sulfametoxazol
Penicilinas + inhibidores de β -lactamasas	Ampicilina-sulbactam
Polimixinas	Colistina
	Polimixina B
Tetraciclinas	Tetraciclina
	Doxiciclina
	Minociclina

Tabla 2. *Acinetobacter baumannii*: familias de antibióticos y agentes antimicrobianos usados para definir MDR, XDR y PDR. (Adaptado de Mag et al., 2012).

Los criterios para definir MDR, XDR y PDR en *Acinetobacter spp* son:

- MDR: resistente a 1 agente o más en 3 o más familias de antibióticos mencionados en la Tabla 2.
- XDR: resistente a 1 agente o más en todas las categorías expuestas en la Tabla 2 excepto en 2 o menos familias. Es decir, sólo es susceptible a 2 o menos categorías de antibióticos.
- PDR: resistente a todos los agentes antimicrobianos nombrados en la Tabla 2.

5.3. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente

5.3.1 TRASCENDENCIA CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA

P. aeruginosa es uno de los principales patógenos oportunistas del ámbito nosocomial que afecta especialmente a pacientes ingresados en las UCIs con neumonía asociada a ventilación mecánica o con infección de quemaduras extensas, ambos procesos asociados con una elevada mortalidad. Además, esta bacteria supone la principal causa de infección respiratoria crónica en pacientes con fibrosis quística (FQ), bronquiectasias o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) [10].

La prevalencia de infecciones nosocomiales por cepas de *P. aeruginosa* MDR y XDR está creciendo a gran velocidad situándose ya en cifras superiores al 30% a nivel mundial, incluyendo los hospitales españoles [10].

Por otra parte, la situación clínica del huésped guarda una estrecha relación con la patogenicidad de las infecciones por esta bacteria. Algunos factores como: el uso de dispositivos masivos, una hospitalización de larga duración, y la exposición previa a antimicrobianos, se asocian con multirresistencia [10].

5.3.2. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS BASADOS EN EL CULTIVO

P. aeruginosa es un microorganismo ubicuo en la naturaleza y de gran versatilidad. Se trata de un bacilo gram-negativo no fermentador que sobrevive fácilmente en prácticamente la totalidad de ambientes y temperaturas propias del entorno clínico y crece en los medios de cultivo habituales, como el agar MacConkey, medio diferencial para bacterias gram-negativas [10].

Cuando se parte de muestras clínicas con flora mixta o muestras ambientales, se recomienda el uso de medios con agentes selectivos (cetrimida y otros). El uso de medios que incluyan antimicrobianos como agentes selectivos estará guiado por los fines de los cultivos de vigilancia [9].

Algunos medios usados en el aislamiento de enterobacterias multirresistentes en estudios de vigilancia epidemiológica, como aquellos que incluyen **cefotaxima** a una concentración de 1-2 mg/L, también son útiles en la detección de cepas clínicas de *P. aeruginosa*, debido a que la inmensa mayoría de ellas presentan resistencia a este antimicrobiano [10].

Para lograr aislar *P. aeruginosa* MDR/XDR se propone el uso de medios selectivos adecuados, empleando como base el **agar MacConkey**. Se contemplan dos escenarios:

- La vigilancia genérica de *P. aeruginosa* MDR/XDR: se suele elegir el antipseudomónico **meropenem** (concentración 1-2 mg/L), debido a que la resistencia a este antibiótico se ha asociado habitualmente con perfiles de multirresistencia y a que las carbapenemas son uno de los antibióticos de mayor relevancia en el tratamiento de las infecciones provocadas por *P. aeruginosa* [10].
- El seguimiento de una cepa MDR/XDR concreta causante de un brote o situación de endemidad. Se eligen el o los antibióticos más apropiados de acuerdo al fenotipo como, por ejemplo, distintas combinaciones de **ceftazidima**, **meropenem**, **tobramicina** o **ciprofloxacino**. En cuanto a la detección de cepas productoras de carbapenemasas o BLEE puede llevarse a cabo incluyendo **cloxacilina** (500 mg/L) al medio selectivo [10].

Los medios de cultivo se incubarán en aerobiosis a 35°C durante 48 horas [9].

CRITERIOS PARA LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La lectura de los medios de cultivo se hará en primer lugar a las 24 horas. De obtenerse un resultado negativo, se realizará una segunda lectura a las 48 horas [10].

La identificación de *P. aeruginosa* se lleva a cabo por diferentes técnicas: espectrometría de masas MALDITOF, el aspecto de la colonia, la pigmentación y pruebas bioquímicas como la producción de oxidasa, oxidación de la glucosa, no fermentación de glucosa, y crecimiento a 42 °C [10].

A continuación, se realizará un antibiograma para esclarecer el perfil MDR, XDR o PDR de las cepas [10].

5.3.3. PERFILES DE RESISTENCIA

Actualmente *P. aeruginosa* se muestra resistente a una amplia variedad de agentes antipseudomónicos. Para establecer el perfil concreto de resistencia de cada cepa, se deben tener en cuenta unos antibióticos en concreto (Tabla 3).

Familia de antibióticos	Agente antimicrobiano
Aminoglucósidos	Gentamicina
	Tobramicina
	Amikacina
	Netilmicina
Carbapenemasas antipseudomónicas	Imipenem
	Meropenem
	Doripenem
Cefalosporinas antipseudomónicas	Ceftacidima
	Cefepima
Fluoroquinolonas antipseudomónicas	Ciprofloxacino
	Levofloxacino
Penicilinas antipseudomónicas + inhibidores de β -lactamasas	Ticarcilina + ácido clavulánico
	Piperacilina + tazobactam
Monobactams	Aztreonam
Ácidos fosfónicos	Fosfomicina
Polimixinas	Colistina
	Polimixina B

Tabla 3. *Pseudomonas aeruginosa* familias de antibióticos y agentes antimicrobianos usados para definir MDR, XDR y PDR. (Adaptado de Mag et al., 2012).

Los criterios para definir MDR, XDR y PDR en *Pseudomonas aeruginosa* son:

- MDR: resistente a 1 o más agentes en 3 o más familias de antibióticos de la Tabla 3.
- XDR: resistente a 1 agente o más en todas las categorías descritas en la Tabla 3 excepto en 2 o menos familias.
- PDR: resistentes a todos los agentes antimicrobianos recogidos en la Tabla 3.

6. CONCLUSIONES

- ❖ Las resistencias bacterianas a los antibióticos actualmente comercializados en patógenos oportunistas tales como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* están incrementándose a gran velocidad, lo que supone importantes implicaciones clínicas y terapéuticas.
- ❖ Existen diferentes métodos microbiológicos válidos para lograr la detección de cepas resistentes a antibióticos.
- ❖ Es necesario establecer una definición universal para los términos MDR, XDR y PDR, con el fin de poder comparar resultados epidemiológicos.
- ❖ Se debe fomentar la implementación de medidas encaminadas a la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes, ya que se trata de una de las herramientas principales para lograr el control en la diseminación de resistencias.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Gonzalez-Zorn B., Cordero R. & San Millan A. Resistencia a antibióticos en bacterias humanas y animales. Unidad de Información Científica y Divulgación de la Investigación. Universidad Complutense. 2010.
- [2] del Arco J. Antibióticos: situación actual. *Farmacia Profesional*. 2014; 28:29-33.
- [3] Ventola CL. The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*. 2015; 40(4):277-283.
- [4] Vignoli, R. & Seija, V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. *Rev Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2007; 352, 380-91.

- [5] McCaig LF. & Hughes JM. Trends in Antimicrobial Drug Prescribing Among Office-Based Physicians in the United States. *JAMA*. 1995; 273(3):214-219.
- [6] World Health Organization. Fact sheet No. 194. Antimicrobial resistance. 2016. Disponible en: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
- [7] Falagas, M. E., Koletsis, P. K., & Bliziotis, I. A. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of medical microbiology*. 2006; 55(12), 1619-1629.
- [8] Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... & Paterson, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*. 2012; 18(3), 268-281.
- [9] Cano, M. E., Ezpeleta, C., Padilla, B., de Arellano, E. R., & Martínez-Martínez, L. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2008; 26(4), 220-229.
- [10] Oteo, J., Bou, G., Chaves, F., & Oliver, A. Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2016
- [11] Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Protocolo de vigilancia y control de microorganismos multirresistentes o de especial relevancia clínico-epidemiológica (Protocolo MMR). 2016. Disponible en: URL: http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/pdf_2016/Protocolo-MMR.pdf
- [12] Powers, J. H. Antimicrobial drug development—the past, the present, and the future. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014; 10(s4), 23-31.
- [13] García-Sánchez, J. E., García-Merino, E., Martín-del-Rey, Á., & García-Sánchez, E. (2012). Antibioterapia para el siglo XXI, antibacterianos para la segunda década. ¿Posibilidades o realidades en un futuro? *Rev Esp Quimioter*. 2012; 25(2), 100-121.

- [14] Harbarth S, Samore MH. Antimicrobial Resistance Determinants and Future Control. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11(6):794-801.
- [15] World Health Organization. The Evolving Threat of Antimicrobial Resistance: Options for Action. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2012. 2014
- [16] Report of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy Initiative. The Urgent Need, 2011. Regenerating antibacterial drug discovery development. Disponible en <http://www.antibiotic-action.com/wp-content/uploads/2011/07/TUN-Report.pdf>
- [17] European Centre for Disease Prevention and Control. The bacterial challenge: time to react. *Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control*. 2009. Disponible en: URL: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf
- [18] Montoya Villafañe, H. Microbiología básica para el área de la salud y afines. 2ª edición. 2008; 247.
- [19] Hernández Torres, A., García Vázquez, E., Yagüe, G., & Gomez Gomez, J. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: situación clínica actual y nuevas perspectivas. *Rev Esp Quimioter*. 2010; 12-19.
- [20] Sánchez Carrillo, C., & Guerrero Gómez, C. Recogida, transporte y procesamiento general de muestras de laboratorio de Microbiología. Procedimientos de microbiología clínica. *Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. 2003. Disponible en. URL: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>.
- [21] Fernandez-Cuenca, F., Tomas-Carmona, M., Caballero-Moyano, F., Bou, G., Martinez-Martinez, L., Vila, J., ... & Pascual, A. In vitro activity of 18 antimicrobial agents against clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: multicenter national study GEIH-REIPI-Ab 2010. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2013; 31(1), 4-9.
- [22] López-Brea, M., Alarcón, T., & López, S. Consideraciones microbiológicas y terapéuticas de la infección por *Acinetobacter* spp. *Revista Española de Quimioterapia*. 1998; 11(2), 21-25.