

34
rej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores
" Cuautitlán "

REVISION BIBLIOGRAFICA SOBRE LA RESISTENCIA
A ANTIBIOTICOS DE
Pseudomonas aeruginosa

T E S I S

Que para obtener el Título de:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
Presenta

ADELA MUNGUA CASTILLO



Director de la Tesis:
QFI. ANDREA BECERRIL OSNAYA

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1988

TESIS CON
VALIA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE	Pág.
INTRODUCCION	1
I).- OBJETIVOS	2
II).- CARACTERISTICAS PARTICULARES	
a). Infecciones en el Hombre, Distribución y Patogenicidad	4
b). Aislamiento e Identificación	14
b.1). Medios y Condiciones de Crecimiento	14
b.2). Características Morfológicas	14
b.3). Características Bioquímicas	18
III).- ANTIMICROBIANOS	
a). Definición	22
b). Clasificación	23
c). Actividad Antimicrobiana	37
c.1). "in vitro"	37
c.2). "in vivo"	37
d). APLICACION CLINICA DE LOS ANTIBIOTICOS	39
d.1). Selección de los Antimicrobianos	39
d.2). Peligro del uso indiscriminado de los antimicrobianos	40
IV).- RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS	
a). Origen de la Resistencia	41
b). Mecanismos de Resistencia de <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	46
c). Prevención de la Resistencia	56
d). Antibióticos Usados en Combinación	56

d.1). Indicaciones	56
d.2). Desventajas	57
d.3). Combinaciones Usadas en Infecciones por <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	58
- CONCLUSIONES	61
- BIBLIOGRAFIA	63

I N T R O D U C C I O N

Actualmente los bácidos Gram (-) no fermentadores de glucosa ocupan un lugar importante en infecciones intrahospitalarias en sujetos comprometidos, desplazando a las bacterias Gram (+).(20)

La causa de éste fenómeno es múltiple y depende de la complejidad de la medicina moderna, como es: el uso de inmunosupresores, agentes antimicrobianos, procedimientos quirúrgicos prolongados e instrumentación mecánica.(20)

La alta mortalidad en infecciones causadas por Pseudomonas aeruginosa lleva a una serie de problemas clínicos debido al surgimiento de cepas resistentes a Carbenicilina, Gentamicina (62), Ticarcilina, Mezlocilina y a algunos aminoglucósidos como la Tobramicina y la Amikacina.(38)

La aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos es un problema siempre presente. A éste respecto cabe subrayar que los antibióticos no causan mutaciones, sino que seleccionan mutantes resistentes que desarrollan en forma espontánea sin contar las que presenta como propias el microorganismo. Tal eventualidad ocurre a menudo con los patógenos (como es el caso de Pseudomonas aeruginosa) y de otros microorganismos en general.(42)

I.- OBJETIVOS

- Recopilar la información acerca de los mecanismos de resistencia que presenta Pseudomonas aeruginosa a diferentes antibióticos.
- Revisar algunas de las formas de tratamiento en las infecciones ocasionadas por éste microorganismo, basándose en los estudios que se han realizado en los últimos siete años en cuanto a su susceptibilidad "in vitro" a los antibióticos.

II.- CARACTERISTICAS PARTICULARES

(Pseudomonas aeruginosa)

a). INFECCIONES EN EL HOMBRE, DISTRIBUCION Y PATOGENICIDAD

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram-negativo, móvil, no esporulado y en general no encapsulado y con un sólo flagelo polar. Las células no contienen inclusiones PHB (gránulos de poli- β -hidroxibutirato). Se conoció durante mucho tiempo como Bacillus pyocyaneus, es un microorganismo aeróbico que se le puede encontrar en los sistemas acuáticos naturales, incluyendo océanos, ríos y arroyos; es frecuente en el suelo, se le ha aislado a menudo de lesiones humanas; habita el tubo intestinal de sólo el 10 % de las personas sanas y, esporádicamente, en zonas húmedas de la piel humana (axila, ingle) y en saliva. Debido a sus simples requerimientos nutricionales puede sobrevivir y multiplicarse en soluciones antisépticas y materiales de uso común en un hospital tales como la procaína y cloruro de benzalconio; instrumentos ó endoscopios almacenados en tales soluciones favoreciendo una fuerte contaminación. Otras substancias que pueden contaminarse con Pseudomonas aeruginosa tenemos a las gotas oftálmicas, soluciones antisépticas débiles, jabones, equipos de anestesia y reanimación, fregaderos, carburantes, humidificantes e incluso agua destilada que esté almacenada. Debido a que contamina a la procaína la cual es usada para la anestesia local en el diagnóstico de la punción lumbal puede ser la causa de una epidemia brusca de meningitis en un hospital en pocos años, (7, 40, 64)

Pseudomonas aeruginosa es etiológicamente significativa en muchas enfermedades y se asocia particularmente a sepsis posquemaduras

y otras infecciones nosocomiales, fibrosis quística y septicemia en pacientes con inmunodeficiencia, incluyendo las comunes en la enfermedad neoplásica. Los neonatos son los especialmente propensos a la infección con Pseudomonas aeruginosa, aunque ésto puede deberse más a la gran humedad y a los equipos contaminados de la maternidad que a la susceptibilidad de éstos. La infección neonatal toma generalmente la forma de otitis media, meningitis, septicemia e infecciones umbilicales, (49)

El abuso de drogas parenterales incrementa el riesgo de desarrollar varias infecciones incluyendo endocarditis; la osteomielitis y la artritis son otras de las infecciones significativas causadas por Pseudomonas aeruginosa entre adictos. Si se supone el mecanismo de transmisión se puede decir que la cepa epidémica persiste en pacientes infectados asintomáticos ó que el microorganismo sobreviva en jeringas y en el medio ambiente inmediato. Se tiene reportado que el serotipo O11 fué el causante de un brote de endocarditis y de otras epidemias de infecciones causadas por Pseudomonas aeruginosa en jardines de niños, unidades de cuidado intensivo y en un hospital general. La preponderancia de éste serotipo puede ser debida a las ventajas de supervivencia en el medio ambiente ó a su extraordinaria patogenicidad. (54)

En general serias infecciones debidas a Pseudomonas aeruginosa confieren una significativa morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados, particularmente entre los pacientes leucopénicos y en la población inmunosuprimida, especialmente en pacientes con fibrosis quística, quemaduras y cáncer. (38,66)

La prevalencia de Pseudomonas aeruginosa en una unidad intensiva médico-quirúrgica puede estar relacionada más a la proporción de

pacientes enfermos agudamente colonizados que al alto rango de adquisición. Tal colonización en el tiempo de admisión a esas unidades intensivas, estuvo asociada con la edad, una hospitalización larga, presencia de enfermedades gastrointestinales y uso apropiado de antibióticos parenterales. Sin embargo, pacientes colonizados en múltiples sitios clínicos parecen ser una fuente importante de diseminación, especialmente cuando ellos requieren del cuidado de una enfermera. Por otra parte se ha descubierto que Pseudomonas aeruginosa está en las manos del personal después de lavarse las manos, y los guantes pueden estar expuestos al contacto con los pacientes. Así, el uso de barreras de precauciones puede ser efectiva, y una cuidadosa atención puede satisfacer a detalles pequeños, la consideración puede ser para muchos agentes eficaces mediados para la desinfección de las manos. Si las precauciones son efectivas, el impacto para la adquisición de Pseudomonas aeruginosa pueda ser pequeña. (41)

La sospecha es que Pseudomonas aeruginosa puede elaborar uno o más productos extracelulares o toxinas que están clínicamente relacionadas con las propiedades invasivas del microorganismo o con los cambios patológicos en las plantas o animales. Dentro de los productos celulares y extracelulares involucrados en la patogénesis de las infecciones causadas por este microorganismo tenemos: Enterotoxinas, Exoenzima S, Exotoxina A, Hemolisinas (Fosfolipasa C -Lecitinasa-, glicolípidos), Ácido Hidrociánico, Factor Inmunosupresivo, Leucocidina, Lipopolisacáridos, Pigmentos (Piocianinas, Piomelaninas), Polisacáridos, Proteasas (Colagenasa, Elastasa). (3, 13, 29, 65)

A continuación se hace mención de algunas de las características más importantes de los productos extracelulares más estudiados de esta bacteria.

EXOTOXINA A: Es secretada como una pro-enzima de 71500 Daltons, cuya actividad enzimática es expresada después de la división pro-teolítica ó después de la desnaturalización ó reducción de ésta pro-enzima. Estudios bioquímicos revelan que la tóxima de Pseudomonas aeruginosa inhibe la síntesis de proteínas de una manera análoga al fragmento "A" de la tóxima diftérica. Ambas tóxicas catalizan el desdoblamiento de la Adenin Nicotinamida Dinucleotido (NAD) dentro de la Nicotinamida y la Adenosina Difosforo-ribosa (ADPR), el segundo está covalentemente unido al factor de elongación 2 (EF2) de las células mamíferas y el resultado es una eventual suspensión de la síntesis de proteínas ya que el EF2 es depresionado. Otros aspectos del mecanismo de acción de la Exotóxina "A", se cree, que específicamente la parte de la Exotóxina "A" que comprende el sitio de acción es transportado aunque haya una barrera dentro del citoplasma celular. (13,17)

Un papel potencial de la tóxima "A" en la patogénesis de las enfermedades está indicado por:

- a) La letalidad de la Tóxima "A" purificada para varias especies de animales.
- b) La habilidad de la antitóxina para proteger a los animales contra el desafío subsecuente con las cepas de Pseudomonas aeruginosa toxigénicas.
- c) La habilidad para inhibir la síntesis de proteínas en los sistemas celulares libres e "in vivo" en ratones.
- d) El decremento funcional del factor de elongación 2 en el hígado de ratones infectados con cepas toxigénicas.
- e) El decremento de la virulencia en modelos de ratones infectados

y en los ojos de ratones, por mutantes congénitas carentes de toxina A, pero similar a sus cepas originales en todos los parámetros medidos. (15,36,43,49)

PROTEASAS: Las proteasas extracelulares de Pseudomonas aeruginosa (proteasa alcalina y elastasa) son factores importantes de virulencia en varias infecciones humanas. De esas dos proteasas, la elastasa purificada puede demostrarse que contribuye al daño tisular causado durante neumonías por Pseudomonas en estudios "in vivo" e "in vitro". Muchas de las enzimas extracelulares son exportadas del citoplasma al medio ambiente extracelular. Parece ser que hay al menos 2 mecanismos diferentes usados para la secreción de esas proteínas. La elastasa es sintetizada como un precursor inactivo el cual se acumula en el espacio periplásmico después de la activación y se libera en el medio de cultivo. La elastasa requiere que la proteína atraviese la membrana citoplásmica y la membrana externa. Sin embargo, la exotoxina no se acumula como un precursor en algunos compartimientos de la célula. El mecanismo por el cual la proteasa alcalina es exportada no se conoce. Estas enzimas tienen varias actividades tales como: (24,55,61)

- a) Efectos directos de destrucción de tejidos.
- b) Factores quimiotácticos y fagocíticos.
- c) Inactivación del complemento.
- d) Inhibición de la proteínasa del plasma
- e) Habilidad para disminuir el tiempo de generación de cepas deficientes de proteasas en extractos de piel quemada.

En 1981 Doring y colaboradores demostraron "in vitro", que la elastasa de Pseudomonas aeruginosa, pero no la proteasa alcalina, tie-

ne la capacidad de adherirse a la IgG y sugieren que las cepas elastasa (+) son más virulentas que las cepas las cuales son elastasa ó proteasa total(+). Con lo que se apoya que la producción de elastasa durante el proceso infeccioso está relacionado con la disminución en plasma de los niveles de IgG, lo cual se ha observado en infecciones de heridas de ratones quemados.

EXOENZIMA S: La exoenzima S es un producto extracelular producido por Pseudomonas aeruginosa que contribuye a la patogenicidad de éste microorganismo. Esta enzima parece ser similar aunque no idéntica que la exotóxina A, es poco frecuente en cepas de Pseudomonas aeruginosa. La exotóxina S también tiene actividad de ADP-ribosa transferasa, pero el substrato es diferente al de la tóxina A. (24,39,65)

EXOPOLISACARIDOS: Los exopolisacáridos de Pseudomonas aeruginosa confieren propiedades antifagocitarias sobre cepas mucoides de ésta bacteria, permitiendo que ellas persistan en el tracto respiratorio. También puede ser especulado que el exopolisacárido mucoides puede ayudar a la adhesión de las cepas mucoides. La propiedad antifagocítica se da por la inhibición de la opsonofagocitosis mediada por anticuerpos anti-lipopolisacáridos de la pared celular y por el aumento de la resistencia de las cepas mucoides cubiertas de anticuerpos.

Los exopolisacáridos de Pseudomonas aeruginosa están compuestos de ácidos urónicos, los cuales están altamente cargados. (13,39,48)

Por otro lado, las toxinas extracelulares que se han descubierto fueron destruidas por la producción concomitante de enzimas proteolíticas también elaboradas por ésta bacteria, llevando a una duda acerca del papel patogénico que juegan tales factores descritos. Los mejores avances subsecuentes en el Laboratorio y en trabajos de investigación sugieren que las exotóxicas juegan un papel fundamental-

mente técnico:

- 1º Descubriendo una buena producción de tóxima (designada exotóxima A) en cepas que fueron esencialmente no proteolíticas.
- 2º Con muchas técnicas sofisticadas para la purificación de la toxina no se pudo determinar la actividad de la tóxima los cuales permitieron precisar ensayos sobre la actividad de la tóxima y la antitóxina.
- 3º Estudios del mecanismo de acción y estructura relacionados a su actividad se difundieron claramente los trabajos sobre la exotóxina de Pseudomonas aeruginosa.(65)

Existen factores que pueden afectar la formación de proteasas extracelulares "in vitro", se tienen poco comprendidos pero la fuente de carbono, pH y tensión de oxígeno se reconocen son importantes.

Liu y Hsieh descubrieron que el sulfato de amonio inhibe la formación de proteasas por Pseudomonas aeruginosa. Kessler y Safran recientemente reportaron que los iones sodio tienen el mismo efecto. Byron y colaboradores demostraron que la concentración de hierro en el medio de cultivo afecta significativamente la producción de una serie de productos extracelulares de Pseudomonas aeruginosa. La producción de tóxima A, proteasa alcalina, elastasa y pigmentos no proteínicos como la fluoresceína y la piocianina son también reducidos cuando la concentración de hierro en el medio de cultivo se incrementa.(3,53,55,57)

La alterada sensibilidad a la concentración de hierro en la producción de tóxima ó elastasa por algunas mutantes se puede explicar de dos maneras:

- 1ª Que las mutantes estén alteradas en los genes involucrados en el transporte del hierro por lo que se podría esperar que tomaran

menos hierro que lo que podrían tomar las cepas progenitoras, por consiguiente, la producción de un producto extracelular puede tener baja sensibilidad a una concentración de hierro dada.

2ª Alternativamente una mutación puede ocurrir en un gen ó genes regulatorios causando que un producto ó productos extracelulares específicos puedan ser insensibles a la regulación por hierro. Ambos tipos de mutantes se tienen ya identificados. (57)

Pseudomonas aeruginosa puede sintetizar una serie de productos represores específicos, los cuales cuando se complejan con el hierro llegan a ser activos y a unirse al gen operador (s) específico, previniendo de ese modo la síntesis de esos productos extracelulares. (57)

En condiciones de inanición de hierro, los represores permanecen inactivos y esos genes son depresionados. La continua expresión de la elastasa ó tóxina puede ser debida a la baja actividad del represor ó a la alteración en el operador, resultando en la expresión constitutiva del producto involucrado. Otra posible explicación es que los eventos específicos regulados por hierro estén involucrados en la traducción de la tóxina, elastasa y proteasa específica en el RNAm. Una tercera posibilidad es que el hierro regula el proceso postranslacional de las proteínas extracelulares. (57)

Las proteínas de membrana están involucradas en el transporte de la tóxina, elastasa y proteasa, fuera de la célula puede que éstas estén específicamente reguladas por el hierro. (57)

Los exoproductos de Pseudomonas aeruginosa particularmente las proteasas inactivan al complemento. Se conoce también que la elastasa también inactiva al complemento permitiendo una emergencia eventual de las cepas mucoides de la bacteria en cuestión (se ha visto

que las cepas con ésta característica morfológica son las más patógenas de éste microorganismo). La medida final por la cual la actividad del complemento contra Pseudomonas aeruginosa mucóide puede ser inefectiva es vía un factor observado en el suero y esputo de pacientes con fibrosis quística en numerosos estudios realizados; el factor bloquea la muerte opsonica ó bactericida de ésta bacteria. La propiedad del factor hace pensar en un tipo de bloqueo a nivel de IgG, aunque el antígeno contra los cuales ésta proteína está dirigida aún no se tiene investigado. Implicándose un tipo de IgG no funcional que bloquea la inhibición de la muerte mediada por complemento de las cepas mucóides de Pseudomonas aeruginosa. (42)

La elastasa actúa como una proteasa para la IgG "in vivo" e "in vitro" disminuyendo los niveles en suero, de dicha proteína, por lo tanto disminuye los niveles de defensa críticos aumentando la mortalidad. Algún tratamiento como la suplementación de la IgG, los cuales mantienen los niveles de ésta proteína en suero por arriba de los niveles críticos, ó el tratamiento con α -Macroglobulina el cual previene la disminución de los niveles críticos aumentando la supervivencia. (24)

En un ensayo con anticuerpos purificados de la exoenzima "S" se vió que eran capaces de disminuir la diseminación de las cepas productoras de ésta enzima, pero no previnieron la colonización en piel. Estos datos sugieren que la exoenzima "S" no contribuye a la colonización inicial pero sí contribuye al establecimiento de las infecciones diseminadas cuando las defensas del huésped son desfavorables. Aunque la exoenzima "S" tiene una actividad similar a la exotóxina "A" hubo una escasa neutralización por los anticuerpos anti-tóxina "A". (40)

Debido a que la exctóxina "A" es un buen inmunógeno, los niveles de IgG se han determinado en pacientes con bacteremias debidas a ésta tóxina.(13)

La respuesta de la antitóxina aparece bruscamente después de comenzar las bacteremias secuenciales, disminuyendo gradualmente. La supervivencia de personas con bacteremias puede estar correlacionada con altos títulos de antitóxina.

Young demostró que anticuerpos fagocíticos anti-lipopolisacáridos es una importante defensa del hospedero contra Pseudomonas aeruginosa.(13)

Pollack y Young demostraron que altos títulos de anticuerpos anti-lipopolisacáridos y anti-tóxina A aparecian para conferir protección independientemente de la bacteremia.(13)

Estos puntos llegan a ser importantes para declarar al toxoide como una vacuna contra la tóxina A ó la administración pasiva de antitóxina, con el fin de prevenir las infecciones causadas por éste microorganismo. La protección pasiva con preparaciones de anticuerpo potentes puede ser una forma más realista de profilaxis en éstos problemas, debilitando la respuesta del anticuerpo después de una inmunización activa.(13)

En la inspección de su amplio espectro, anticuerpos protectivos anti-proteínas de membrana específicos parecen ser usados para la inmunización pasiva contra infecciones por Pseudomonas aeruginosa.

Borowski y Schiller sugieren que la actividad bactericida del suero humano (HHS) fué debida a la interacción combinada de la IgG ó IgM con el complemento, contra cepas mucoides de Pseudomonas aeruginosa; la vía alterna del complemento medía la muerte de las cepas rugosas.(42)

La inmunoterapia pasiva puede ayudar a limitar la morbilidad y mortalidad nosocomiales debidas a Pseudomonas aeruginosa 6 la selección de los pacientes puede aprovecharse para la inmunización activa en el curso de la enfermedad.(38,41,53)

b). AISLAMIENTO E IDENTIFICACION.

b.1). MEDIOS Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO.

Pseudomonas aeruginosa, como casi todas las pseudomonas, no es nutricionalmente exigente. Crece en un medio basal inorgánico suplementado con un sólo compuesto orgánico, como acetato ó glucosa. No es fermentativa. Otros aceptores de electrones además del oxígeno, como el nitrato, permiten el crecimiento por lo demás anaerobio. Crece fácilmente de 20 a 42° C. (6)

Las características que permiten identificar a Pseudomonas aeruginosa son: su crecimiento en agar citrato-desoxicolato en donde muestra colonias grisáceas, lactosa negativa, con pigmento verde que se difunde en el medio indicando la producción de piocianinas. (12)

Crece en gelosa MacConkey, en donde forma colonias grisáceas lactosa negativa. En agar pseudosel se recupera fácilmente a ésta bacteria y se recomienda como medio selectivo, éste contiene el detergente cetrimida (bromuro de hexadecil-trimetil-amonio) que actúa como inhibidor de otras bacterias Gram negativas y además, en su composición también se favorece la producción de piocianinas observándose la presencia de un color azul-verdoso. La prueba de fluorescencia desnitrificación en el medio NFL permite determinar la reducción de los nitratos hasta N₂ gaseoso, así como la producción de la fluorescencia cuando se emplea la lámpara de Wood. El agar Tech es un medio en el que se promueve la aparición de un color verde debido a la producción de piocianinas. (12, 63)

El medio selectivo basado con antibiótico y detergente pueden ser desarrollados para el aislamiento de pseudomonas fluorescentes. Por que éstos microorganismos generalmente poseen alta resistencia intrínseca a los antibióticos. El medio D₄ de Kado y Heskett contiene

dodecil sulfato de sodio para eliminar contaminantes que alteran los componentes de la superficie celular. Sólo que con éste medio existen varias dificultades como: Crecen muchas otras bacterias Gram (-), no se observa fluorescencia y el dodecil sulfato de sodio es reconocido como un agente curativo de plásmidos.(23)

El medio actualmente aceptado para la detección de la fluorescencia es el medio King B, aunque se considera inadecuado para dicho aislamiento por que es relativamente no selectivo.(23)

El medio de sarcocil lauril de sodio (SLS) fué elegido como uno de los agentes selectivos por que es un detergente más débil que el dodecil sulfato de sodio y potencialmente provee una alta recuperación y tiene probablemente baja interferencia con la fluorescencia.

b.2). CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS.

Esta bacteria presenta tres tipos de colonias. La más común en una placa de agar sangre de 24 horas, es baja y convexa a plana, de 1 a 5 mm de diámetro, con una superficie rugosa ó de apariencia vidrio opaco y una periferia ondulada ó erosionada. Puede ser β -hemolítica en una placa de 24 horas, y generalmente muestra β -hemólisis difusa en una placa de 48 horas.(7)

Un segundo tipo de colonia, mostrado comúnmente por las cepas aisladas del esputo de pacientes que sufren fibrosis quística, son relativamente grandes y marcadamente mucoides, en especial en medio de agar MacConkey. Esta cepa puede dar por cultivo repetido un tercer tipo de colonias pequeñas y lisas. Este tercer fenotipo, a su vez, puede dar la colonia rugosa grande más conocida por subcultivos repetidos.(7)

Otros investigadores observaron también tres tipos morfológicos, que predominaron en el pulmón de pacientes con fibrosis quística, lla-

mandoles:

El clásico (con forma irregular con una superficie lisa)

Rugosa (con forma irregular y superficie rugosa)

Mucoide (con forma circular y superficie lisa brillante)

Hay rasgos bioquímicos cualitativamente idénticos para las 3 variedades de colonias de Pseudomonas aeruginosa, aunque las reacciones de acidificación de azúcares y alcalinización de acetamida son frecuentemente débiles y demoradas en las cepas mucoides. (15,29)

Pseudomonas aeruginosa produce tres pigmentos solubles en agua: piocianina, el cual da la apariencia azul-verdosa al área que rodea a la colonia ó al crecimiento confluyente y la fluorescéina, de color amarillo, pero como su nombre lo indica, su principal característica es la fluorescencia a la luz ultravioleta. En tanto que la piocianina sólo es formada por ésta especie de Pseudomonas. Otras Pseudomonas pueden producir pigmento fluorescente. (6)

La piocianina es un pigmento de fenazina soluble en agua y cloroformo, que generalmente imparte un color verde ó verde azulado al medio que rodea a la colonia. Otros pigmentos de fenazina de color pardo a negro se forman también ocasionalmente. La fluorescéina (pioverdina), un pigmento hidrosoluble de color amarillo pálido a verde, es formado por casi todas las cepas de Pseudomonas aeruginosa y es un rasgo importante para la identificación de ésta especie. La fluorescéina no es visible en agar sangre; por lo que debe usarse un medio especial enriquecido con magnesio y fosfato. (10,12)

La pioruvina permanece rojo fuerte ó rojizo oscuro sobre un medio con ciertos aminoácidos y en el agar Pseudomonas P después de 7 ó más días a temperatura ambiente. (63)

Las cepas de Pseudomonas aeruginosa piomelanogénicas producen

rápido el pigmento oscuro, soluble en agua en todo el agar inclinado de glutamato-tirosina. Cuando el medio es densamente inoculado en un cultivo de agar infusión inclinado de 24 horas, un pigmento rosa ó rojo aparece dentro de 4 horas a 37°C, permanece un oscuro intenso durante 24 horas. Ninguna de las cepas que producen picrovina hacen al medio rosa ó rojo dentro de 24 ó 48 horas de incubación.

Las colonias características, rugosas ó mucoides, la β -hemólisis la pigmentación verde azulada y el olor a frutas representan la identificación tentativa de ésta especie en el laboratorio clínico. (14,25,63)

b.3). CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS

Dentro de las pruebas más utilizadas para saber que un proceso infeccioso es causado por el género Pseudomonas tenemos:

FORMA	de Bastón
MOVILIDAD	+
CRECIMIENTO AEROBICO	+
CRECIMIENTO ANAEROBICO	+
CATALASA	+
OXIDASA	+
GLUCOSA (ACIDO)	+
CARBOHIDRATOS (F/O/-)	O

La tabla 1 muestra las pruebas que se utilizan para diferenciar a las especies del género Pseudomonas

Tomado de Referencia.(12)

TABLA 1: PRUEBAS UTILIZADAS PARA DIFERENCIAR A LAS ESPECIES DE Pseudomonas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MOVILIDAD	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
OXIDASA	+	+	+	+	+	d	+	+	d	+
ACUMULACION DE PHB EN LAS CELULAS	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
PIGMENTO	+ ^a	+ ^b	.	+ ^c	d ^d	+ ^c	.	+ ^c	-	-
FLUORESCENCIA EN LUZ U.V.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	.
CRECIMIENTO A 5° C	-	+	d	-	-	-	d	-	-	.
CRECIMIENTO A 42° C	+	-	-	-	d	-	d	+	-	.
CRECIMIENTO EN MacCONKEY	+	+	+	+	+	+	+	+	-	.
CRECIMIENTO EN KCN	+	d	-	.	-	+	-	+	d	.
UTILIZACION DEL CITRATO COMO FUENTE DE C	+	+	+	-	+	- ^e	+	+	-	+
CARBOHIDRATOS ^f , ACIDO DE:										
GLUCOSA	+	+	+	-	+	(w) ^g	+	+	+	+
LACTOSA	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
MALTOSA	-	-	d	-	+	+	d	+	d	-
MANITOL	+	+	d	-	+	-	d	+	+	-
SALICIN	-	-	.	.	+	-	-	-	-	-
SACAROSA	-	d	-	-	+	-	-	+	d	-
XILOSA	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+

CONTINUACION DE LA TABLA 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
HIDROLISIS DEL ALMIDON	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-
REDUCCION DE NITRATOS A NITRITOS	+	d	d	-	d	+ ^h	+	+	+	+
REDUCCION DE NITRITOS A GAS N	d	-	-	-	-	-	+	d	-	+
HIDROLISIS DE LA GELATINA	+	+	-	+	+	+	-	+	d	-
HIDROLISIS DE LA CASEINA	+	+	-	+	+	+	-	+	.	.
UREASA	+	d	d	-	+	-	(d)	d	d	.
DEHIDROLASA DE LA ARGININA	+	+	+	-	-	-	d	+	+	-
DESCARBOXILASA DE LA LISINA	-	-	-	-	+	i	+	-	-	-
DESCARBOXILASA DE LA ORNITINA	-	-	-	-	d	-	-	-	-	.
REACCION DE YEMA DE HUEVO	-	d	-	-	+	-	+	+	d	-
HIDROLISIS DEL TWEEN 80	+	d	-	-	+	-	+	+	d	+

SIMBOLOS EMPLEADOS EN LA TABLA:

PHB= Poli- hidroxibutirato

e= Positivo en el medio de citrato de Chistensen y en las pruebas de SSA

a= Píocianina

f= Base de Hugh y Leifson + 1% de azúcar

b= Fluoresceína

g= Débil en el medio H y L; negativo en el ASS

c= Amarillo

d= Positivo en agar-hierro de Kligler

i= Positivo por el método de Richard; d por el método de Moller

y TAF

- 1.- Pseudomonas aeruginosa
- 2.- Pseudomonas fluorescens
- 3.- Pseudomonas putida
- 4.- Pseudomonas diminuta
- 5.- Pseudomonas cepacia
- 6.- Pseudomonas maltophilia
- 7.- Pseudomonas stutzeri
- 8.- Pseudomonas pseudomallei
- 9.- Pseudomonas mallei
- 10.- Pseudomonas pickettii

Otros símbolos usados en la tabla 1 son :

+ = del 85 - 100% de las cepas son positivas

d = del 16 - 84% de las cepas son positivas

- = del 0 - 15% de las cepas son positivas

(d) = Reacciones diferentes por cepas diferentes; las reacciones positivas son tardías

(W) = Reacción tardía y débil

Tomada de la Referencia (12)

III.- ANTIMICROBIANOS

Debido a los serios problemas que ocasiona P.aeruginosa en las infecciones intrahospitalarias y a su resistencia a una amplia gama de antimicrobianos, se describen a continuación algunas características de éstos.

a). DEFINICION

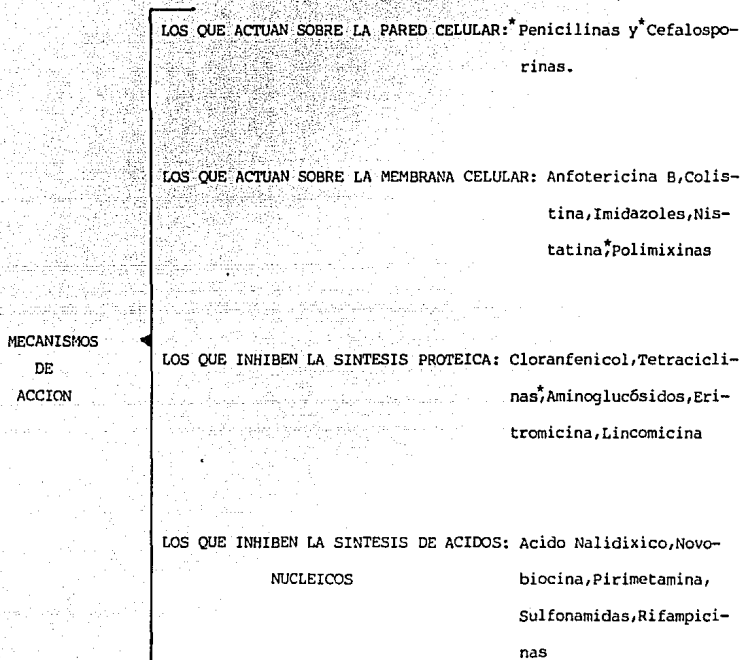
Etimológicamente, antibiótico es algo que produce la destrucción de la vida, de manera que cualquier agente mecánico, físico ó químico capaz de matar sería un antibiótico, pero no puede tomarse en cuenta dicho concepto. Tomando en cuenta los estudios de Waksman, un antibiótico se define como una sustancia química derivada ó producida por microorganismos que tienen la capacidad, a bajas concentraciones, de inhibir el desarrollo ó destruir bacterias y otros microorganismos. (27)

Vuillemin en 1889 definió por primera vez el término "antibiosis" como una situación en la cuál "una criatura destruye la vida de otra con objeto de conservar la propia". Tomando como base éstos principios se han aislado muchos agentes antimicrobianos útiles a partir de filtrados de cultivos de microorganismos del suelo, como por ejemplo: ciertos miembros de los géneros Bacillus, Penicillium y Streptomyces. Además se han modificado químicamente algunas sustancias de origen biológico para ampliar su espectro de actividad. (46)

b). CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS POR SU MECANISMO DE ACCION

Dicha clasificación se encuentra resumida en el siguiente cuadro sinóptico. Los antibióticos que son ó han sido empleados en el tratamiento de las infecciones causadas por P.aeruginosa están marcados con un asterisco.

CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS POR SU MECANISMO DE ACCION



A continuación se describirá brevemente cada uno de los mecanismos de acción.

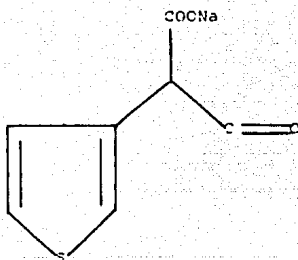
b). CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS POR SU MECANISMO DE ACCION

** Los que actúan sobre la pared celular de las bacterias: La pared celular es el lugar donde las penicilinas y las cefalosporinas ejercen su acción nociva. Se cree que éstos antibióticos previenen la unión peptídica final, entre la D-alanina y glicina. Sugiriendo que los antibióticos se combinan con la enzima responsable de ésta ligadura. Como la configuración estérica de la penicilina es como la de la D-alanil-D-alanina, la penicilina podría reaccionar con la enzima de ligadura e inactivarla, previniendo la reacción de transpeptidación requerida para el cierre de los puentes de glicina entre cadenas de péptidos. Impidiendo éste paso final de la síntesis de mureína, la penicilina parece tener por lo menos dos efectos deletéreos sobre las bacterias:

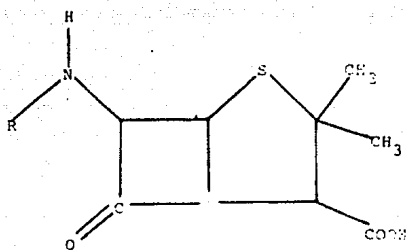
- 1) Inhibe su multiplicación
- 2) Crea puntos débiles en la pared celular, a través de los cuales puede pasar el citoplasma en crecimiento.

Un rasgo importante de la acción de la penicilina es su capacidad para matar células bacterianas en crecimiento, pero no microorganismos en fase estacionaria. Durante el crecimiento de ciertas bacterias las hidrolasas parecen producir brechas en el mucopéptido, que se llenan de nuevas unidades estructurales. Estas unidades se unen al mucopéptido por la reacción de traspeptidación (ligadura cruzada), y por ende pueden bloquearse con penicilinas quedando brechas abiertas en el mucopéptido. La membrana celular se extiende a través de éstas brechas y se rompe bajo "stress" osmótico, y la célula muere. Las células que no están en proceso de multiplicación, ó las que no tienen mureína hidrolasas, pueden sobrevivir en presencia de penicilina porque su mucopéptido está intacto y no hay actividad

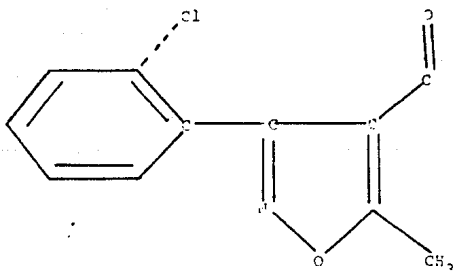
FIGURA 1 :



TICARCILINA



Ac S-AMINO PENICILANICO



CLOXACILINA

PENICILINAS UTILIZADAS EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES CAUSADAS POR P.aeruginosa

La tabla 2 y la figura 2 muestran las cefalosporinas utilizadas en el tratamiento de las infecciones causadas por P.aeruginosa

Tabla 2 : Cefalosporinas semisintéticas

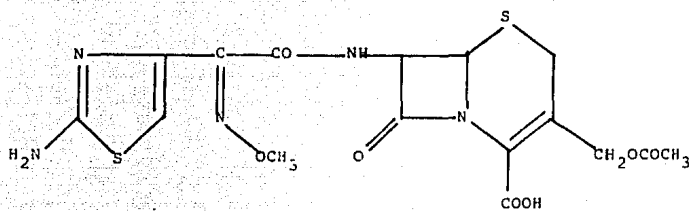
	GPC	4mGNB	otras GNB	
VIEJAS CEP	Grupo 1:Cefalotina,cefapirina,cefacetrile	+++	+	-
	Grupo 2:Cefaloridine,cefazolin,ceftezole	+++	++	
	Grupo 3:Cefalogicin,cefalerin,cefatrizire cefrozadine,cefadroxil,cefaclor	++	++	-
NUEVAS CEP	Grupo 4:Cefamandole,cefuroxima,cefotiam cefoxitin*,cefmetazolo*,cefototan* cefminox*,cefbuperazone*	+++	+++	+
	Grupo 5:Cefotaxime,ceftizixime,cefmenoxitae cefoperazona,ceftazidima,ceftriaxone (cef sulodin)** ,cefpiramide,cefpimizole moxalactam***,6315-S***,L-105,HR-810 cefoperazona con sulbactam	+++	+++	+++
	Grupo 6:T-2588,KY-109,SN-407,FK-027	+++	+++	++

Simbolos utilizados en la tabla:

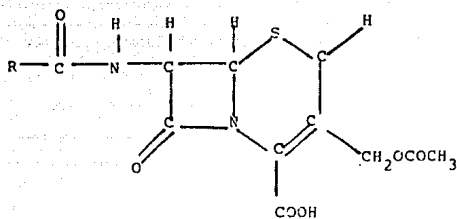
- * = grupo cefamicin
- ** = efectivos solamente contra Pseudomonas aeruginosa
- *** = nuevos grupos beta-lactámicos
- GPC = cocos Gram-positivos
- 4mGNB = 4 bacterias Gram-negativas
- CEP = Cefalosporinas

Tomada de la Referencia(18)

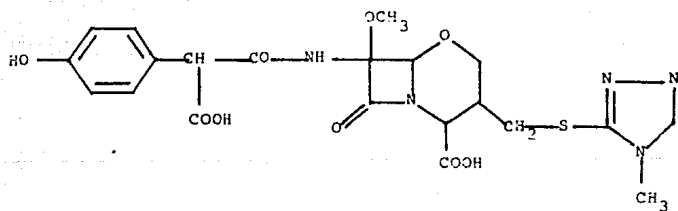
FIGURA 2 :



CEFOTAXIMA



Ac 7-AMINO CEFALOSPORANICO



MOXALACTAM

reparadora de ligaduras cruzadas que la penicilina pueda bloquear.

Aunque las penicilinas bloquean la reacción terminal de ligaduras cruzadas por la formación de mucopéptidos, también es teóricamente posible que los antibióticos impidan la síntesis ó la transferencia de precursores de mucopéptidos, aunque a éste fenómeno se le considera de poca importancia clínica.(7)

** Acción a nivel de la membrana celular: Los antibióticos que tienen éste efecto son: Anfotericina B, Colistina, Imidazoles, Nistatina, Polimixinas.(31)

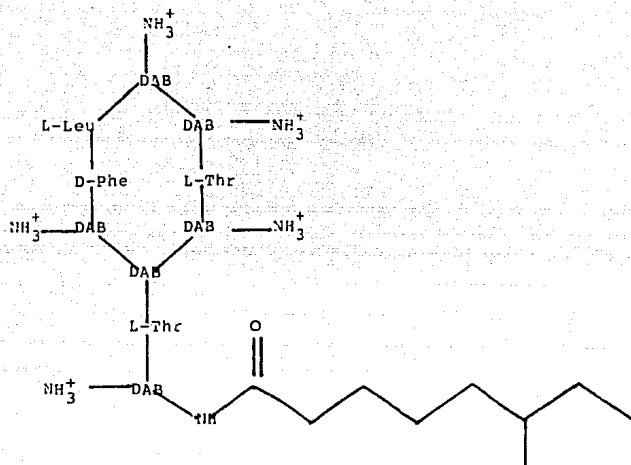
Las lipoproteínas de la membrana citoplásmica de todas las células explican la permeabilidad selectiva al agua, iones y nutrientes. Las polimixinas son detergentes catiónicos que reaccionan con los grupos fosfato de los fosfolípidos de la envoltura celular y desorganizan las lipoproteínas de la membrana citoplasmática insertando la porción lipofílica de su molécula en el lípido de la membrana. Esto causa filtración de aminoácidos, purinas, pirimidinas y otras moléculas pequeñas al interior de la célula de modo que los ácidos nucleicos y las proteínas se desnaturalizan y la célula muere.

Los ejemplos sobresalientes de éste mecanismo son las polimixinas cuando actúan sobre las bacterias Gram (-). Las polimixinas actúan selectivamente sobre las membranas ricas en fosfatidil etanolamina como detergentes catiónicos.

La polimixina B actúa sobre la membrana celular, alterando su permeabilidad; tiene dos sitios de acción:

- 1) Letal, conectado con los fosfolípidos en la membrana interna
- 2) No letal, conectado con los lipopolisacáridos y fosfolípidos de la membrana externa de la envoltura bacteriana.(55)

FIGURA 3 :



POLIMIXINA B

ANTIBIOTICO UTILIZADO EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES CAUSADAS
POR P.aeruginosa

** Antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis proteica: Es un hecho establecido que el cloranfenicol, las tetraciclinas, aminoglucósidos (tales como: la amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomycin, tobramicina, etc.), eritromicina y lincomicina pueden inhibir la síntesis de proteínas. (31,55)

Estos antibióticos se pueden fijar a la subunidad 30S ó a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos ocasionando que la célula bacteriana muera por acumulación de complejos de iniciación aberrantes e inactivos. (19,32)

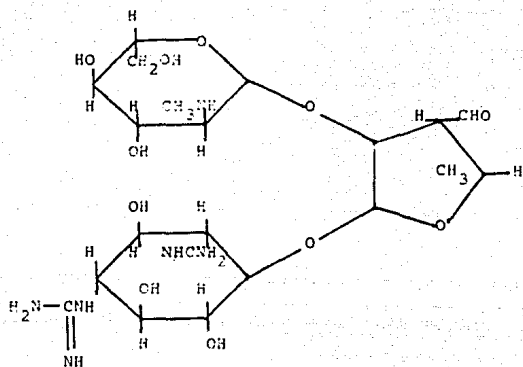
Las figuras 4,5 y 6 muestran la estructura de algunos aminoglucósidos usados en el tratamiento de infecciones causadas por Pseudomonas aeruginosa

** Antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos: Los antibióticos que tienen éste efecto son: ácido nalidixico, novobiocina, pirimetamina, sulfonamidas, trimetoprim, rifampicina.

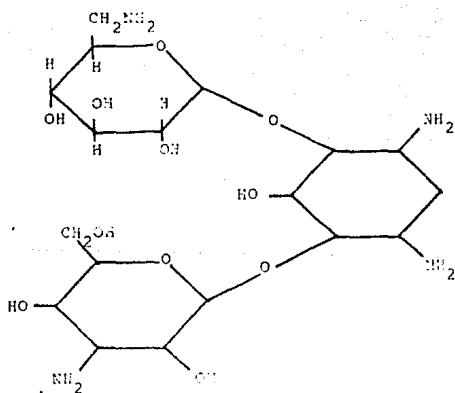
La rifampicina inhibe el desarrollo bacteriano enlazándose a la polimerasa del RNA dependiente del DNA de las bacterias; por lo tanto, inhibe la síntesis del RNA bacteriano. (7,25,46)

La figura 7 muestra la estructura de la sulfanilamida, un antibiótico también utilizado para el tratamiento de las infecciones causadas por éste microorganismo.

FIGURA 4 :

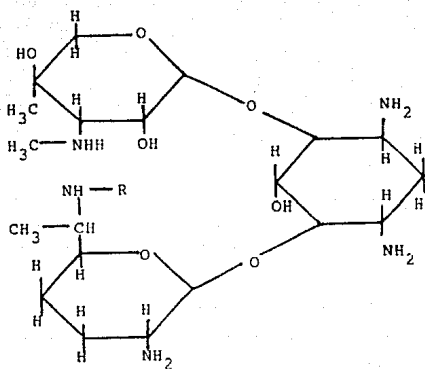


ESTREPTOMICINA



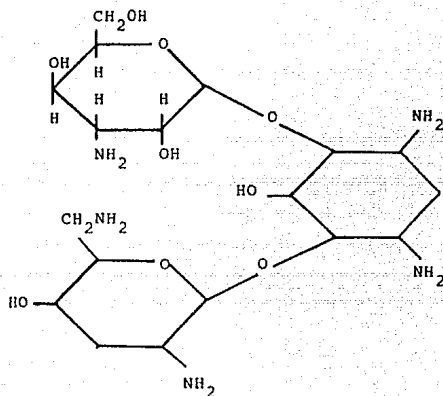
KANAMICINA

FIGURA 5 :



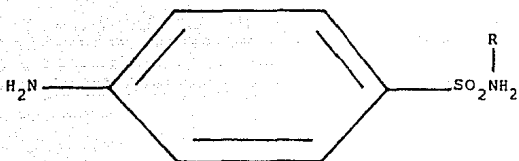
GENTAMICINA

FIGURA 6 :



TOBRAMICINA

FIGURA 7 :



SULFANILAMIDA

c). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La actividad antimicrobiana es el poder que presentan los diferentes antibióticos de atacar a microorganismos patógenos que se encuentran causando una infección en el hospedero, mediante los mecanismos anteriormente descritos.

Tal actividad se expresa generalmente como la concentración mínima inhibitoria (MIC) del antimicrobiano que destruirá al microorganismo sometido a prueba. La actividad antimicrobiana puede determinarse por métodos "in vitro" e "in vivo".

c.). METODOS "in vitro"

Estos métodos son útiles para determinar:

- 1.- La potencia de un agente antibacteriano en solución
- 2.- Su concentración en los líquidos corporales ó en los tejidos
- 3.- La sensibilidad de un microorganismo dado, a concentraciones conocidas de antibiótico.

La determinación de estas cantidades puede realizarse por alguno de los siguientes métodos:

** Método de Dilución

** Método de Difusión

La actividad antibacteriana en estos métodos puede verse influenciada por varias condiciones del cultivo, tales como: prueba del medio, cantidad de inóculo, pH del medio de prueba, presencia de sangre desfibrinada de conejo y de la glucosa 6-fosfato, estabilidad de los medicamentos, tiempo de incubación, actividad metabólica de los microorganismos, composición iónica del medio. (25, 33, 46)

c.2). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA "in vivo"

La actividad "in vivo" y la toxicidad de nuevos antibióticos es rutinariamente estudiada en modelos experimentales usando pe-

queños animales,tales como: ratones,ratas,cobayos ó conejos.Si bién los estudios realizados en éstos animales,no son directamente transferibles al hombre,ellos son menos vistos como un modelo para hacer investigaciones,debido a que saldría muy caro y además no toda la gente se prestaría para hacer un trabajo experimental.(25)

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana son un dato importante a considerar para la elección terapéutica,aunque por sí mismas se deben manejar cuidadosamente de acuerdo con su farmacocinética;tomando en cuenta que la concentración de un antibiótico puede verse afectada por los factores anteriormente descritos, se dificulta la interpretación clara al aplicar un antibiótico determinado por el laboratorio y analizar subsecuentemente la respuesta clínica observada.Recientemente se han agregado pruebas habituales de sensibilidad a los antimicrobianos que se realizan en los hospitales;otros ensayos para antibióticos como: los niveles de antibióticos en suero,sinergia de combinaciones de antibióticos y concentración letal mínima,no son rutinarios pero orientan mejor el manejo del paciente.(22)

d) APLICACION CLINICA DE LOS ANTIBIOTICOS

d.1) SELECCION DE LOS ANTIMICROBIANOS

La selección racional de los antimicrobianos depende de lo siguiente:

A.- Diagnóstico: se debe formular un diagnóstico causal específico; frecuentemente puede hacerse sobre la base de una impresión clínica; para permitir la elección del antibiótico adecuado, sin embargo, como una precaución frente al diagnóstico erróneo, es preferible obtener un espécimen representativo para el estudio bacteriológico antes de la administración de los antimicrobianos. (25)

En la mayoría de los casos, la relación entre el agente causal y el cuadro clínico es muy inconstante, por lo tanto, es de gran importancia obtener muestras adecuadas para la investigación bacteriológica del microorganismo. Tan pronto como se obtienen dichos especímenes, puede iniciarse el tratamiento quimioterapéutico sobre la base de la mejor conjetura. La mejor conjetura respecto al microorganismo establecido por pruebas bacteriológicas está basado en lo siguiente:

- a) El sitio de la infección
- b) Edad del paciente
- c) Donde se adquirió la enfermedad
- d) Factores mecánicos predisponentes
- e) Factores predisponentes del huésped

Cuando se conoce el agente causal de una infección clínica, a menudo se puede seleccionar el medicamento de elección, en otras ocasiones se hace necesaria la determinación de la sensibilidad a los antibióticos en el laboratorio para el mismo fin. (25)

d.2) PELIGRO DEL USO INDISCRIMINADO DE LOS ANTIMICROBIANOS

- a.- Sensibilización diseminada de la población con aparición de hipersensibilidad, anafilaxia, erupciones, fiebre, trastornos sanguíneos, hepatitis colestática y quizá enfermedades del tejido conjuntivo.
- b.- Cambios en la flora normal del cuerpo con enfermedad resultante por superinfección debida al crecimiento excesivo de organismos resistentes al medicamento.
- c.- Enmascaramiento de infecciones graves sin erradicarlas. Por ejemplo, las manifestaciones clínicas de un absceso pueden ser suprimidas mientras continúa el proceso infeccioso.
- d.- Toxicidad directa del medicamento, particularmente con el uso prolongado de algunos antibióticos. Ejemplos importantes los constituyen la anemia aplásica debida al uso indebido de cloranfenicol; el daño renal ó del octavo par craneal debida al uso de los aminoglucósidos.
- e.- Desarrollo de resistencia medicamentosa en poblaciones microbianas, primordialmente a través de la eliminación de microorganismos sensibles a los medicamentos por medios saturados de antibióticos (por ejemplo, Hospitales) y su substitución por microorganismos resistentes a los mismos.

Está bien demostrado que todos los aminoglucósidos, incluyendo la amikacina, condicionan la aparición de cepas bacterianas resistentes a ellos, en relación directa con la frecuencia con que se utilizan. Desgraciadamente se hace un uso indiscriminado de éstos en infecciones de vías respiratorias superiores y en diarreas no complicadas, sin estar indicados. (20,25,50,68)

IV.- RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

a). ORIGEN DE LA RESISTENCIA

A.- Origen no Genético

Habitualmente se requiere para la mayoría de las acciones de los antimicrobianos, la replicación activa de las bacterias. Consecuentemente los microorganismos que están inactivos en su metabolismo (es decir, que no se encuentran en la fase de multiplicación) pueden ser fenotípicamente resistentes al antibiótico, al cual la cepa fué previamente susceptible. La resistencia a más de un antibiótico es observado como resultado de una mutación en tal punto, el antibiótico puede tener un modo de acción, común al objetivo común y puede ser también de la misma clase química (ejemplo: aminoglucósidos, beta-lactámicos y macrólidos). Existen numerosos reportes sobre la múltiple resistencia y algunas veces del fracaso durante la terapia con muchos de los nuevos antibióticos beta-lactámicos, incluyendo cefamandole, cefotaxima, ceftriaxona, ceftizoxima y aztreonam. La inducción de beta lactamasas muestra ser responsable del antagonismo entre ciertos antibióticos beta-lactámicos. Así, cuando se usan concentraciones subinhibitorias, éstas drogas son capaces de antagonizar una segunda droga beta-lactámica, actuando como una enzima inductora. Claramente, combinaciones que contienen dos antibióticos beta-lactámicos es anulada para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos con beta-lactamasa inducibles. (51,59)

La inducción de beta-lactamasas puede ser prevenida, una posible propuesta para éste problema es el modelo de los antibióticos estables a la enzima que no actúan como inductores y para las cua-

les la enzima tiene poca afinidad. Otra propuesta es el modelo de la inducción de un inhibidor específico. (51)

B.- Origen Genético

La resistencia se adquiere después de un cambio en el DNA. Este cambio puede ocurrir por alteración en la estructura del DNA cromosómico ó por adquisición de un DNA extracromosómico. La alteración del DNA se llama mutación y la adquisición de DNA extracromosómico es el resultado del intercambio genético. Estos cambios llevan a la formación de enzimas ó otras proteínas que inactivan a los antibióticos ó hacen difícil el acceso a su sitio de acción.

(14,25,64)

** RESISTENCIA CROMOSOMICA

El criterio actual de cómo aparece la resistencia en una gran población de células bacterianas expuestas a un agente antimicrobiano es algo simple: Si ésta gran población es poco resistente genotípicamente (poseen resistencia constitutiva al antibiótico en cuestión) la habilidad de esas células para crecer en presencia del antibiótico conlleva a una nueva población de progenie que son más resistentes genotípicamente. La cuestión es que la resistencia genotípica está altamente relacionada al proceso de mutagenesis microbiana general. Con muchos agentes, tales como radiaciones y luz ultravioleta, se dan cambios genéticos más ó menos espontáneos en el DNA cromosomal ó un cambio químico espontáneo del DNA, puede ocurrir como resultado de la fuerza química ó física a la cuál la célula está sujeta. Estos cambios mutacionales pueden darse en presencia ó ausencia de un antimicrobiano, ocurriendo mutaciones en un sólo punto. Si el cambio es de resistencia a un agente antimicrobiano, la resistencia puede aparecer por cualquiera de las dos siguientes

vfas:(64)

- 1.- Si el cambio está específicamente relacionado al antibiótico (ejemplo: un aumento en la cantidad de una enzima, como la beta-lactamasa, la cual hidroliza a la penicilina) un alto nivel de resistencia puede inesperadamente ser observado.
- 2.- Si el cambio genético está relacionado indirectamente a una acción bioquímica del antibiótico, pequeños aumentos en la resistencia pueden ocurrir, pero si el pequeño aumento aparece varias veces en la misma población bacteriana un desarrollo gradual de la resistencia al antibiótico puede ser observado.

** RESISTENCIA EXTRACROMOSOMICA

En contraste a una relativa mutación en un sólo punto, parcialmente referido al cromosoma bacteriano (en el cual un sólo nucleótido es alterado) son varios cambios en los cuales grandes pedazos de DNA externo pueden ser introducidos a la célula bacteriana. Si éstos codifican a enzimas que afectan la sensibilidad a los antibióticos se puede llegar a presentar un cambio en la resistencia del microorganismo. Estos elementos extracromosómicos son llamados plásmidos.

Los plásmidos son moléculas de DNA circular cerrado y superhelicoidal que se reproducen independientemente del cromosoma bacteriano.

Los factores de resistencia extracromosómicos de las bacterias Gram (-) se llaman factores R. El factor R contiene dos unidades funcionales distintas:

- 1.- Una es llamada "Factor de Transferencia de Resistencia" y posee

la información necesaria para la replicación autónoma y la transferencia por conjugación.

2.- La otra unidad codifica para la resistencia al antibiótico y es denominada determinante-r, el cual puede contener a su vez varias unidades y codificar para multiresistencia, la cual puede ser adquirida por otras bacterias si los determinantes son transferidos en bloque. Los genes con información para la resistencia están contenidos frecuentemente en elementos genéticos conocidos como transposones (Tn). Reciben éste nombre por su capacidad de ser transferidos de una posición a otra dentro de un replicón o pueden ser transportados a un replicón diferente.

La transferencia del factor R durante el acoplamiento depende de apéndices externos de tipo piloso, los pelos sexuales, que facilitan la transferencia de plásmidos de las bacterias macho (dadoras) a las bacterias hembra (receptoras) las cuales no tienen pelos. El número de determinantes de resistencia unidos a los factores de transferencia de la resistencia determina el número de antibióticos a los que la bacteria se hace resistente. Un factor R puede tener muchos genes, cada uno de los cuales es responsable de la resistencia a un antibiótico diferente. Cuando una bacteria se infecta con un factor R, la célula desarrolla pelos sexuales y se convierte en una célula dadora. La competencia dadora, o sea, la capacidad para transferir resistencia por conjugación, es máxima en las bacterias que han adquirido recientemente un factor R. El número de células que son dadoras competentes, declinan después de algunas generaciones, cuando hay represión de la capacidad para producir pelos sexuales. (7, 14, 25, 64)

El material genético y los plásmidos pueden ser transferidos

mediante los siguientes mecanismos:

a.- TRANSFORMACION

La exposición de la célula bacteriana a un DNA aislado de diferente especie proporciona la posibilidad que algunos de esos DNAs entren a la célula viable y puede ser incorporado al cromosoma. El proceso opera con una eficiencia relativamente baja y muchos DNAs extraños provienen de cepas con las cuales tienen algo en común. Esto puede ocurrir espontáneamente ó a través de la manipulación en el laboratorio.

b.- TRANSDUCCION

Fagos de células Gram (-) y Gram (+) pueden entrar a células receptoras sensibles a fagos de cepas bacterianas relacionadas. El DNA de fagos infecciosos puede ser insertado al genoma bacteriano, y en seguida se replica con el DNA bacteriano. Si el DNA del fago codifica para proteínas que confieren resistencia a los antibióticos, esa acción puede ser un mecanismo por el cual la célula infectada adquiere inesperadamente resistencia a un antibiótico. Es un factor observado que el fago puede acarrear simultáneamente determinantes de resistencia a más de un antibiótico, y la explicación a la resistencia que de pronto aparece a dos ó más antibióticos, algunas veces no está relacionado con los otros en términos de estructura ó modo de acción.

c.- CONJUGACION

Ocurre una transferencia unilateral del material, entre bacterias del mismo género ó de diferentes géneros, durante el proceso de conjugación. Esta transferencia está mediada por un factor de fertilidad (F) que resulta en la extensión de los pelos sexuales de la célula donadora al receptor. El plásmido ó algún otro DNA es transferido a través de éstos tubulos de proteínas del donador al receptor. Una serie de genes estrechamente ligados, determina cada uno la resistencia a un anti-

bióticos entre los diferentes géneros de bacterias Gram (-). (14, 64)

b). MECANISMOS DE RESISTENCIA QUE PRESENTA Pseudomonas aeruginosa

Existen diferentes mecanismos mediante los cuales el microorganismo puede crear resistencia a los antibióticos, los siguientes ya están bien comprobados:

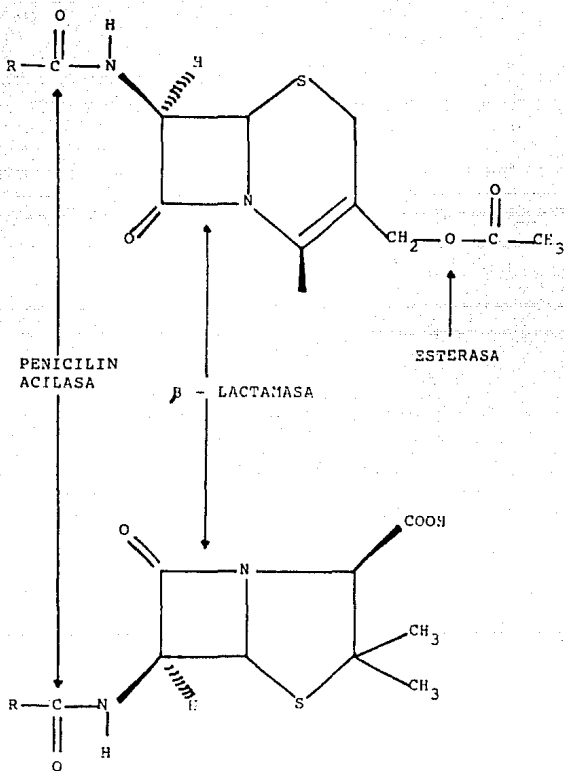
*** ENZIMAS QUE DESTRUYEN A LOS ANTIMICROBIANOS

Aunque los antibióticos beta-lactámicos proporcionan un sustrato para un número de enzimas hidrolíticas, las más importantes son las beta-lactamasas. Estas enzimas hidrolizan el vínculo del ciclo amido de los antibióticos beta-lactámicos susceptibles, para dar productos antibióticamente inactivos (figura 8). En el caso de las penicilinas, los productos de hidrólisis son peniciloatos, los cuales son estables y fácilmente detectables. Con las cefalosporinas, los correspondientes cefalosporoatos son usualmente inestables resultando una fragmentación de la muestra, dependiendo de la naturaleza del sustituyente del carbono tres. (2, 58)

Un segundo tipo de degradación enzimática de los antibióticos beta-lactámicos involucra la eliminación del acil del costado de la cadena, por el aminoácido acilasa (muchas veces referido a la penicilin acilasa ó amidasa). Las acilasas son de menor importancia en la resistencia a los antibióticos, pero ellas son comercialmente explotadas en la división enzimática de las penicilinas en la producción de derivados semisintéticos. (58)

Un tercer tipo de degradación enzimática involucra la eliminación por esterasas del grupo acetil de las cefalosporinas conteniendo la función acetoxi-metil en el carbono tres, por ejemplo: la cefalotina y la cefotaxima. Tales rompimientos producen compuestos

FIGURA 8 :



INTERACCION DE LAS CEFALOSPORINAS Y PENICILINAS
CON ENZIMAS HIDROLIZANTES.

Tomada de la Referencia (58)

de reducida actividad antimicrobiana. (58)

La presencia de esterasas en tejidos de mamíferos son explotados por la división de ésteres de penicilina microbiológicamente activos (pro-drogas), tales como la talampicilina, para liberar compuestos activos, en este caso ampicilina. (58)

Las enzimas que específicamente inactivan los compuestos de la clase de la tienamicina (carbapenems) pueden ser recientemente aislados de mamíferos e identificados como dehidropeptidasas. Esa peptidasa renal reconoce a la α, β -dehidropéptido como su sustrato natural. (58)

Desde el punto de vista clínico, las más importantes y extensas de esas enzimas degradativas son las beta-lactamasas. Descrietas primero por Abraham y Chain en 1940, destruyendo la actividad de la penicilina en extractos de E. coli, mostró tener actividad enzimática y lleva el nombre de penicilinasas. (58)

Posteriormente las penicilinasas llegaron a ser el término aceptado para este grupo de enzimas, en 1965, la Enzyme Commission describió a la enzima como "penicillin amino beta-lactam hidrolasa".

La introducción de penicilinas de amplio espectro y de las cefalosporinas en la mitad de los años sesenta, proveen sustratos adicionales para la caracterización de la enzima. Nuevas beta-lactamasas de bacterias Gram (-) fueron reportadas en abundancia y fué igualmente especulado que cada especie de bacterias Gram (-) individualmente pueden producir una beta-lactamasa diferente. (58)

Las bacterias Gram (-) producen abundantes enzimas beta-lactamasas, exhibiendo actividades hidrolíticas contra las penicilinas y cefalosporinas.

Los primeros intentos para clasificar a las enzimas fué por Sawai y colaboradores quienes dividieron a las enzimas en tres grupos, basándose en el perfil de substratos:

GRUPO 1: Comprende las típicas cefalosporinasas

GRUPO 2: Incluye a las cefalosporinasas que también tienen propiedades de penicilinasas (enzimas de amplio espectro)

GRUPO 3: Son las llamadas penicilinasas

Jack y Richmond realizan una clasificación similar, pero dividen a las enzimas cefalosporin hidrolizantes en dos categorías:

GRUPO 1: Incluye a las enzimas de amplio espectro

GRUPO 2: Comprende a las penicilinasas

GRUPO 3: Incluye a las cefalosporinas que tienen poca ó no tienen actividad hidrolítica contra las penicilinas

GRUPO 4: Comprende las cefalosporinas que tienen la misma actividad hidrolítica contra las penicilinas. (52,58)

Las enzimas involucradas en el mecanismo de resistencia transfieren al grupo fosforil ó adenil del ATP al grupo hidroxilo del aminoglucósido ó el grupo acetil de la acetil coenzima A a un grupo amino. Por consiguiente éstas enzimas tienen dos sitios de unión uno para la adenosina del ATP ó para la acetil coenzima A y otro para el aminoglucósido. (34,58)

Las enzimas beta-lactamasas pueden tener efectos hidrolíticos pero también pueden unirse a substratos no hidrolizables, bloqueando el acceso del antibiótico para unirse a las proteínas de la membrana citoplasmática. Sin embargo, el atrapamiento puede ser un mecanismo efectivo de resistencia, la entrada del antibiótico al espacio periplásmico puede estar limitado, éste es en realidad el caso; la penetración de pequeñas moléculas solubles en agua (inclu-

yendo beta-lactamas) a la membrana externa de los Gram (-), tomando el sitio por difusión llenan completamente el canal de las porinas de agua. Estas porinas pueden controlar la penetración y restringir la entrada a los beta-lactámicos al espacio periplásmico. Se ha observado que la barrera de la beta-lactamasa es en efecto una porina bloqueadora en la cual se acumula beta-lactamasa, actuando en coordinación con la barrera de penetración constituida por la membrana externa. La limitación de la entrada del antibiótico al espacio periplásmico es por la unión irreversible entre éste y la beta-lactamasa. (51,58)

Bryan y colaboradores observaron que la resistencia de P.aeruginosa a las cefalosporinas es debido a que poseen beta-lactamasa inducible. Uno de los antibióticos más utilizados y que induce a la beta-lactamasa es el imipenem. (8,9)

Este fenómeno puede ser un factor limitante en la terapia de endocarditis y otras infecciones pseudomonales invasivas ya que la resistencia a los antibióticos puede dar reacción cruzada por ejemplo: beta-lactámico-aminoglucósido. (1)

El mecanismo de resistencia cruzada no es conocido, pero puede involucrar una disminución de los antibióticos debido a una alteración en el transporte de electrones, tal resistencia múltiple también puede ser debida a la selección de mutantes estables, en cepas que son inducidas con cefalosporinasa cromosomal. Esas enzimas regulan la resistencia a una gran variedad de antibióticos hidrolizándolos, uniéndose a ellos y previniendo el acceso a la célula para llegar a su lugar de acción. (44)

*** CAMBIOS DE PERMEABILIDAD EN LA MEMBRANA EXTERNA

La envoltura de Pseudomonas aeruginosa es la estructura res-

ponsable de la insuceptibilidad intrínseca a un antibiótico. En el caso de la polimixina dirigido a la membrana, Champlin y colaboradores postulan que la resistencia es debida a la incapacidad del antibiótico para penetrar a la membrana externa para ejercer una acción letal sobre la membrana citoplasmática susceptible. (2,11)

Las posibles explicaciones de la incapacidad de la polimixina para penetrar la membrana externa de cepas resistentes incluye al menos una ó más porinas, las cuales reducen el número de canales de difusión hidrofílica y de la modificación de la composición de los lípidos de membrana. Conrad y Gilleland reportan alteraciones en la envoltura celular de cuatro cepas de Pseudomonas aeruginosa genéticamente no relacionadas, seleccionadas por su resistencia a la polimixina. Estas alteraciones incluyen una disminución en el contenido de fosfolípidos, con un cambio pequeño ó insignificante en la cantidad de fracción extractable y una disminución de calcio y magnesio. Esta disminución en los niveles de fosfolípidos es de particular interés ya que todas las cepas resistentes tienen una reducción significativa en el contenido de fosfatidiletanolamina y fosfatidilglicerol, con una concomitante aparición de una gran cantidad de un lípido neutro no identificado (llamado lípido "X") el cual carece de un grupo fosfato ó un grupo amino. Puede sugerirse que la sustitución de la porción de las moléculas de fosfolípidos acídicos por un lípido neutro puede hacer a la membrana externa menos susceptible para unirse a la polimixina, confiriendo de éste modo un grado de resistencia a la célula. (11)

Se cree que el lípido "X" es una mezcla de ácidos grasos libres, cuya composición cualitativa y cuantitativa están intimamen-

te relacionados a los ácidos grasos esterificados al fosfolípido de la membrana. Se ha sugerido que el lípido "X" se forma en respuesta a la degradación hidrolítica de los fosfolípidos. Champlin y colaboradores presentan la hipótesis de que la polimixina a bajas concentraciones interactúa con la membrana externa de Pseudomonas aeruginosa susceptibles y resistentes, desencadenando la degradación de los fosfolípidos vía alguna fosfolipasa unida a la envoltura. Tales alteraciones de los lípidos son probablemente parte de un fenómeno complejo en el que se involucran también cationes y lipopolisacáridos componentes de la envoltura de células Gram (-). Martin y colaboradores observaron que algunas cepas de P. aeruginosa son más resistentes a aminoglucósidos, polimixinas y colistina cuando las concentraciones de calcio y magnesio son altas. Este fenómeno es una propiedad particular de P. aeruginosa y no es debida a la modificación de los antibióticos por los cationes divalentes. La resistencia de éste microorganismo a los antibióticos en presencia de cationes se cree que es una propiedad de la membrana externa y puede ser descrito como una función de las proteínas, lipopolisacáridos ó complejos de proteínas-lipopolisacáridos. (11)

Se ha observado que los lipopolisacáridos de P. aeruginosa están constituidos aproximadamente por 12 fosfatos y de 2 a 3 residuos de ácido 2-keto-3-deoxioctulosónico (KDO), permitiendo numerosos arreglos de los sitios de unión del catión, algunos de los cuales pueden tener afinidad por ciertos cationes. (35)

Las proteínas de membrana externa de bacilos Gram (-) son conocidos por jugar un papel regulatorio en la difusión de azúcares dentro del espacio periplásmico. Las proteínas de membrana externa

conocidas como porinas son las responsables de formar un canal que acepta nutrientes dentro de la célula. Los antibióticos beta-lactámicos también penetran la membrana externa a través de las porinas por lo que las mutantes deficientes de porinas son resistentes a una gran variedad de antibióticos beta-lactámicos, incluyendo, moxalactamas y carbenicilinas. La principal porina de P.aeruginosa es una proteína de membrana externa con un peso molecular de 35000 Daltons. (35,47,59)

Extensos estudios realizados por Kojo Hitoshi y colaboradores sobre la permeabilidad de la membrana bacteriana a la fosfomicina llevaron a la conclusión de que éste antibiótico es incorporado a la célula por el sistema de transporte activo y la resistencia bacteriana a éste antibiótico resulta de la pérdida de este sistema. (26)

Martin y colaboradores proponen tres mecanismos por los cuales P.aeruginosa puede burlar la acción de los aminoglucósidos:

- 1.- El microorganismo puede alterar sus ribosomas
- 2.- De mayor importancia clínica, es la inactivación de los aminoglucósidos por enzimas codificadas por plásmidos
- 3.- Involucra la protección contra la penetración del antibiótico por una barrera de permeabilidad. (32)

*** PLASMIDOS QUE REGULAN LA RESISTENCIA EN Pseudomonas aeruginosa

Este microorganismo posee beta-lactamasas inducibles las cuales están mediadas cromosómicamente. En adición Pseudomonas puede hospedar una gran variedad de plásmidos, los cuales pueden codificar a otros tipos de beta-lactamasas, éstas últimas pueden causar resistencia a la penicilina y a la cefalosporina, la enzima más co-

munmente encontrada en éste microorganismo es es llamada PSE-4, la cual es invariablemente no transferible por conjugación entre las especies. (28)

La presencia de plásmidos R que codifican una resistencia múltiple a los antibióticos en bácilos Gram (-) da como resultado una difícil eliminación de las infecciones nosocomiales causadas por éstos microorganismos. (37)

Debra K. Mucha y colaboradores describieron un plásmido de 89 megadaltons, el PFMH1010, el cuál codifica la resistencia a beta-lactámicos, cinco aminoglucósidos y a las sulfonamidas. El plásmido fué descubierto por ser endémico entre los miembros de la familia Enterobacteriaceae aislado en el Hines Veterans Administration Hospital. Se demostró que éste plásmido es transferible conjugalmente de cepas de Serratia marcescens a las cepas del laboratorio de P.aeruginosa PA038. El resultado de la transconjugación aumenta la resistencia a la carbenicilina, gentamicina, tobramicina, kanamicina, estreptomina, sisimicina. Otro plásmido que descubrieron fué el R46. (37)

Sinclair y colaboradores examinaron algunas cepas de P.aeruginosa las cuales acarreaban una transposición a la que llamaron Tn2521, codificando la resistencia a la carbenicilina, estreptomina, espectinomina y sulfanilamidas, la transposición estuvo situada en el cromosoma de las cepas clínicas. Otro plásmido que éstos investigadores descubrieron fué el llamado FP, el cual acepta fácilmente transposiciones tales como: Tn5, Tn7, Tn501. (56)

P.aeruginosa posee beta-lactamasas inducibles las cuales, cuando son derepresionados son las responsables de la resistencia a u-

na gran variedad de antibióticos beta-lactámicos. Esta derepresión puede ocurrir vía dos mecanismos:

- 1.- Una mutación espontánea en la cual es difícil estabilizar el estado derepresivo.
- 2.- Una derepresión reversible por un inductor de la beta-lactamasa.

El primer mecanismo muestra ser responsable de la emergencia de la múltiple resistencia a los beta-lactámicos durante la terapia con nuevas cefalosporinas, sin embargo, el segundo mecanismo es el responsable del antagonismo de los beta-lactámicos y la cefoxitina. (52)

c). PREVENCIÓN DE LA RESISTENCIA

Debido a que no se dispone de método alguno para disminuir efectivamente las tasas de mutación espontáneas, no se puede prevenir la formación de mutantes resistentes, pero puede prevenirse su selección.

Cuando la resistencia se desarrolla a través de la acumulación de pequeños incrementos debido a mutaciones sucesivas, puede evitarse la aparición de una cepa que escape a la terapéutica, manteniendo concentraciones farmacológicas lo bastante elevadas en forma constante para inhibir el primer mutante.

Un método más general, aplicable incluso a las mutantes de elevada resistencia, es el uso de dos antimicrobianos sin resistencia cruzada.

La difusión de los plásmidos de resistencia puede ser disminuida evitando el uso indiscriminado de los antibióticos. (25)

d). ANTIBIÓTICOS USADOS EN COMBINACIÓN

d.1). INDICACIONES

Las posibles razones por las que se emplean dos o más antibióticos en forma simultánea en lugar de un sólo antibiótico son las siguientes:

** Tratamiento rápido en pacientes sumamente graves en quienes se sospecha que padecen una infección bacteriana grave. Antes de iniciar el tratamiento, es necesario obtener muestras adecuadas para identificar al agente etiológico en el laboratorio. La sospecha de septicemia por Gram (-) en pacientes inmunodeficientes y la meningitis bacteriana en niños, son en la actualidad las principales indicaciones en esta categoría.

- ** Para retardar la aparición de mutantes resistentes a un antibiótico en infecciones crónicas mediante el uso de un segundo ó tercer antibiótico que no dé reacción cruzada.
- ** En infecciones mixtas, particularmente en aquellas que se presentan después de un traumatismo masivo ó las que afectan a las estructuras vasculares.
- ** Para llevar a cabo el sinergismo bactericida. En algunas infecciones, es más probable que una combinación de antibióticos erradique la infección que si se usara un sólo antibiótico. Desafortunadamente, es impredecible dicho sinergismo y un par de antibióticos administrados puede ser sinérgico sólo para una cepa bacteriana. En ocasiones, el uso simultáneo de dos antibióticos permite una reducción importante en la dosis y por lo tanto evita la intoxicación, sin perder su satisfactoria actividad antibacteriana. (25)

d.2). DESVENTAJAS

Siempre deben considerarse las siguientes desventajas al usar las combinaciones de antibióticos:

- ** El médico puede sentir que una vez administrados varios antibióticos se ha hecho todo lo posible por el paciente, esa actitud puede generar el poco deseo de esforzarse por establecer un diagnóstico específico.
- ** Los distintos antibióticos que se administran, presentan mayores posibilidades de que se presenten reacciones adversas a tales antibióticos ó que el paciente se sensibilice a los mismos
- ** El costo es innecesariamente alto

** Por lo general, el efecto de las combinaciones de antimicrobianos no es mejor que el de un sólo antibiótico eficaz.

** En muy raras ocasiones, un antibiótico puede antagonizar un segundo antimicrobiano administrado simultáneamente. (25)

d.3). Combinaciones comunmente usadas en infecciones por *Pseudomonas*

La combinación de un antibiótico beta-lactámico con un aminoglucósido es considerado por ser un tratamiento estándar en las infecciones por *Pseudomonas* en pacientes neutropénicos. Algunas de estas combinaciones son: Gentamicina-Ticarcilina, Amikacina-Piperacilina, Netilmicina-Mezlocilina, Netilmicina-Ticarcilina, Moxalactama-Gentamicina, Ceftriaxone-Tobramicina. (4,16)

La ciprofloxacina (una nueva quinolona) puede ser sinérgica "in vitro" contra *P. aeruginosa* en combinación con la azlocilina, la ceftazidima puede mostrar sinergismo con la ciprofloxacina contra la misma bacteria, mientras que, los aminoglucósidos son raramente sinérgicos con la ciprofloxacina contra *P. aeruginosa*. (1)

Andreas U. Gerber y colaboradores pudieron observar que cuando el tratamiento con gentamicina en infecciones por *P. aeruginosa* era parado, emergían poblaciones resistentes a éste antibiótico lo cual era suprimido con éxito por un tratamiento con una combinación de Gentamicina-Ticarcilina, tal sinergia es debido, en parte a la supresión del crecimiento de las bacterias aminoglucósidos resistentes.

Estudios previos de M. Dee Lyon y colaboradores pretenden demostrar la muerte sinérgica por combinaciones de aminoglucósidos y beta-lactámicos para las cepas de *P. aeruginosa* las cuales fueron resistentes a uno u otro agente de combinación, ó en algunos casos a ambos agentes cuando se usan sólo. Algunos datos indican que la muerte sinérgica fué probablemente cuando el aislamiento fué su-

SECRET
FBI
APR 1 1964

ceptible a uno ó a ambos agentes y fué menos probable cuando fueron resistentes a ambos antibióticos. Sin embargo, puesto que éstos antimicrobianos son muchas veces usados como terapia empírica en pacientes quiénes son probablemente infectados con organismos potencialmente resistentes, adquiridos en un hospital, las combinaciones que exhiben sinergia cuando los aislamientos son resistentes a ambos antibióticos individualmente, parecen ser más importantes. (16,21)

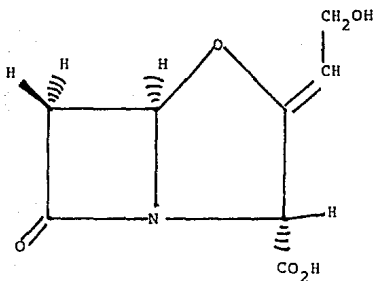
Fred A. Zar y colaboradores determinaron que la combinación de la Ticarcilina-Tobramicina es la recomendada como la terapia en pacientes con endocarditis por P. aeruginosa. (67)

El descubrimiento de que la sinergia "in vitro" contra P. aeruginosa puede ser frecuentemente observada, sin antagonismo, con la combinación de la Ciprofloxacina-Imipenem, la cual es atractiva para el futuro de estudios terapéuticos en pacientes neutropénicos con cáncer. Tales combinaciones pueden posiblemente prevenir la emergencia de la resistencia al imipenem evitando la toxicidad potencial de los aminoglucósidos. (9)

Chusid y colaboradores estudiaron la eficacia de la ticarcilina y tobramicina solas y en combinación, en un cobayo con bacteremia por P. aeruginosa; los cuales fueron capaces de inducir una mejora en la supervivencia con combinaciones, demostrando ser significativas "in vitro" contra cepas de Pseudomonas, comparada con la terapia con un sólo antibiótico. (69)

Los resultados de estudios "in vitro" examinando la interacción entre la carboxipenicilina y los aminoglucósidos contra P. aeruginosa no son fácilmente comparadas, esto es debido a varias razones: una de ellas es el contenido de catión divalente en el medio de cultivo el cual afecta la susceptibilidad de los aminoglucósidos. (69)

El ácido clavulánico, por virtud de la inhibición irreversible de las beta-lactamasas de Richmond tipo II, III, IV, V, puede ampliar el espectro de actividad de la ticarcilina para incluir muchas otras cepas resistentes. Es decir, que la actividad de la ticarcilina contra las cepas productoras de beta-lactamasas fué notablemente aumentada en presencia del ácido clavulánico como resultado de las propiedades inhibitorias de la beta-lactamasa del segundo compuesto. La eficacia de la Ticarcilina-Acido Clavulánico contra infecciones causadas por bacterias resistentes a la ticarcilina, ilustra el potencial de la combinación en la terapia clínica. (5,30)



ACIDO CLAVULANICO

CONCLUSIONES

- 1). Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista importante, es la causa de infecciones intrahospitalarias con alta morbilidad y mortalidad. Se ha observado que las infecciones nosocomiales ocurren con mayor frecuencia en pacientes inmunosuprimidos como son los que han sufrido quemaduras, los que presentan enfermedades neoplásicas malignas, así como los que presentan leucemia y linfomas.
- 2). Debido a sus simples requerimientos nutricionales, P. aeruginosa puede sobrevivir y multiplicarse en soluciones antisépticas y material de uso común en un hospital, por lo que se recomienda sanitizar constantemente las áreas de los hospitales que están en contacto con los pacientes y después de realizar ésto hacer pruebas microbiológicas para corroborar que las áreas están libres de patógenos con el fin de que las infecciones causadas por éstos microorganismos no se diseminen en la población intrahospitalaria.
- 3). De acuerdo con lo reportado en la bibliografía se observó que P. aeruginosa presenta una marcada resistencia a una gran variedad de antibióticos, debido a que produce enzimas que hidrolizan el anillo de las penicilinas y cefalosporinas, tales enzimas están mediadas cromosómicamente ó codificadas por plásmidos de resistencia; además la envoltura celular de éste microorganismo juega un papel importante en el mecanismo de resistencia intrínseca a los antibióticos.

4).Anteriormente los antibióticos comunmente utilizados para erradicar a Pseudomonas aeruginosa eran las penicilinas y las cefalosporinas,debido a que éste microorganismo se hizo resistente a los antibióticos antes mencionados,muchos investigadores se vieron en la necesidad de realizar estudios sobre tal problema;lo que se repota en la bibliograffa revisada de los años 80'S,es que la resistencia que éste microorganismo presenta se ve disminuida por algunas combinaciones de antibióticos que presentan sinergismo, las combinaciones actualmente empleadas son : Amikacina-Piperacilina,Netilmicina-Mezlocilina,Netilmicina-Ticarcilina,Gentamicina-Ticarcilina.Se ha observado que el ácido clavulánico es un potente inhibidor de un amplio rango de beta-lactamasas por lo que se le considera eficaz para proteger a los antibióticos beta-lactámicos de la inactivación de dichas enzimas,algunos investigadores proponen que la Ticarcilina (una penicilina de amplio espectro) es un candidato para que forme parte de la combinación ácido-clavulánico-penicilina.

5).Los avances en las investigaciones farmaceuticas en el área de los antimicrobianos y su empleo terapeutico,ha puesto de manifiesto la capacidad de adaptación de los microorganismos ante nuevos productos.Con ésto se concluye que el uso constante de antimicrobianos trae consigo,inevitablemente y en mayor ó menor grado,la resistencia bacteriana.La magnitud del problema se verá influenciada,por la racionalidad en la preescricción de los antimicrobianos .Para ello la prueba de sensibilidad resultará una guía importante.

6). Pseudomonas aeruginosa puede causar bacteremias de tipo transitorio, intermitente ó crónicas, en personas con alguna lesión traumática, no hospitalizados. La gravedad del problema dependerá de las condiciones de la persona afectada.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bayer Arnold, Patrick Lindsay (1986). "Efficacy of Ciprofloxacin in Experimental Aortic Valve Endocarditis Caused by a Multiply β -Lactam-Resistant Variant of *Pseudomonas aeruginosa* Stably De-repressed for β -Lactamase Production". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 30, No. 4: 528 - 531 .
- 2.- Bidwell Jeffrey and David S. Reeves (1981). "Resistance of *Pseudomonas* species to β -lactam antibiotics". *Scand J. Infect Dis. Suppl.* 29: 20 - 26 .
- 3.- Björklind Anders, Bengt Wretling (1985). "Genetic Mapping and Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Mutants that Hyperproduce Exoproteins". *Journal of Bacteriology*, vol. 162, No. 3: 1329 - 1331 .
- 4.- Blaser Jürg, Benjamin B. Stone (1985). "Impact of Netilmicin Regimens on the Activities of Ceftazidime-Netilmicin Combinations against *Pseudomonas aeruginosa* in an In Vitro Pharmacokinetic Model". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 28, No. 1: 64 - 68 .
- 5.- Boon Ronald, Angela S. Beale (1986). "Bactericidal Effects of Ticarcillin-Clavulanic Acid against β -Lactamase-Producing Bacteria In Vivo". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 29, No. 5: 838 - 844 .
- 6.- Braude Abraham, Charles E. Davis (1986). "Infectious Diseases and Medical Microbiology". W.B. Saunders Company Págs: 314 - 318 .
- 7.- Braude Abraham, E. Davis Charles (1984). "Microbiología Clínica". Ed. Médica Panamericana S.A, Págs: 3 - 40, 237 - 289 .
- 8.- Bryan L.E, S. Kwan (1984). "Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Mutants with Altered Control of Chromosomal β -Lactamase to Piperacillin, Ceftazidime, and Cefsulodin". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 25, No. 3: 382 - 384 .

- 9.- Bustamante Carlos, George L. Drusano (1987). "Synergism of the Combinations of Imipenem plus Ciprofloxacin and Imipenem plus Amikacin against Pseudomonas aeruginosa and other Bacterial Pathogens". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 31, No. 4: 632 - 634
- 10.-Byng Graham, David C. Eustice (1979). "Biosynthesis of Phenazine Pigments in Mutant and Wild-Type Cultures of Pseudomonas aeruginosa". Journal of Bacteriology, vol. 138, No. 3: 846 - 852
- 11.-Champlin F.R., H.E. Gilleland (1983). "Conversion of Phospholipids to Free Fatty Acids in Response to Acquisition of Polymyxin resistance in Pseudomonas aeruginosa". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 24, No. 1: 5 - 9
- 12.-Cowan S.T., Stell K.J. (1982). "Manual para la Identificación de Bacterias de Importancia Médica". Segunda Edición, Cía, Editorial Continental: 135 - 138
- 13.-Cross Alan, Jerald C. Sadoff (1980). "Evidence for the Role of Toxin A in the Pathogenesis of Infection with Pseudomonas aeruginosa in Humans". The Journal of Infectious Diseases, vol. 142, No. 4: 538 - 546
- 14.-Cruz González Ruben, Ernesto Calderón Jaimes (1981). "Análisis de la Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos". Infectología, vol. 1, No. 3: 261 - 266
- 15.-Davis Bernard, Dulbecco Renato (1985). "Tratado de Microbiología". Tercera Edición. Salvat Editores, Barcelona España: 1 - 106, 177 - 186, 455 - 554, 655 - 662

- 16.-Dee Lyon M., Kim R. Smith (1986). "In Vitro Activity of Piperacillin, Ticarcillin, and Mezlocillin Alone and in Combination with Aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 30, No. 1: 25 - 30
- 17.-Döring Gerd, Axel Dalhoff (1984). "In Vivo Activity of Proteases of *Pseudomonas aeruginosa*". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 149, No. 4: 532 - 537
- 18.-Fujii R. (1985). "Experience With Cefotaxime in Infections Caused by Gram-positive Pathogens. Especially *Staphylococcus aureus*". *Infection* 13, Suppl. 1: s9 - s11
- 19.-Games Juan (1981). "Aminoglucósidos". *Revista Médica, Instituto Mexicano del Seguro Social, (México)*, vol. 19, No. 5: 584 - 587
- 20.-García González Rafael, Mónica Díaz Osuna (1986). "Sensibilidad in vitro de *Pseudomonas aeruginosa*". *Infectología*, año 6, No. 4: 94 - 99
- 21.-Gerber Andreas, Peter Wiprächtiger (1982). "Constant Infusions vs. Intermittente Doses of Gentamicin Against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 145, No. 4: 554 - 560
- 22.-Giono Cerezo Silvia (1984). "Sensibilidad a los Antimicrobianos de Bacterias aisladas a partir de Hemocultivos". *Infectología*, año IV, No. 6: 158 - 163
- 23.-Gould W.D., C. Hagedorn (1985). "New Selective Media for Enumeration and Recovery of Fluorescent *Pseudomonads* from Various Habitats". *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 49, No. 1: 28 - 32

- 24.-Holder Ian Alan (1984). "Experimental Studies of the Pathogenesis of Infections owing to Pseudomonas aeruginosa: Elastase, an IgG Protease". *Can. J. Microbiol.* 30: 1118 - 1124
- 25.-Jawetz Ernest, L. Melnick Joseph (1985). "Microbiología Clínica". Undécima Edición, Editorial el Manual Moderno, Págs: 1-3, 81-97, 119-150, 237-255, 321-345
- 26.-Kojo Hitoshi, Yasutaka Shigi (1980). "FR-31564, A New Phosphonic Acid Antibiotic: Bacterial Resistance and Membrane Permeability". *The Journal of Antibiotics*, vol. XXXIII, No. 1: 44 - 48
- 27.-Manuel Litter (1978). "Compendio de Farmacología". Segunda Edición, Págs.: 510
- 28.-Livermore D.M., T.L. Pitt (1985). "PSE-4 Beta-Lactamase: A Serotype-Specific Enzyme in Pseudomonas aeruginosa". *J. Med. Microbiol.*, vol. 19: 45 - 53
- 29.-Luzar Mary Anne, Mary Jane Thomassen (1985). "Flagella and Motility Alterations in Pseudomonas aeruginosa Strains from Patients with Cystic Fibrosis: Relationship to Patient Clinical Condition". *Infection and Immunity*, vol. 50, No. 2: 577 - 582
- 30.-Manian Farrin and Robert H. Alford (1986). "Discrepancies between Disk Diffusion and Broth Susceptibility Studies of the Activity of Ticarcillin Plus Clavulanic Acid against Ticarcillin-Resistant Pseudomonas aeruginosa". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 30, No. 1: 35 - 38
- 31.-Manual de Antiinfecciosos, Médico Moderno (1980), Editada por EDICOM, Págs.: 27 - 92
- 32.-Martin N.L. and T.J. Beveridge (1986). "Gentamicin Interaction with Pseudomonas aeruginosa Cell Envelope". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 29, No. 6: 1079 - 1087

- 33.-Mine Yasuhiro, Toshiaki Kamimura (1980). "In Vitro and In Vivo Antibacterial Activities of FR-31564, A New Phosphonic Acid Antibiotic". The Journal of Antibiotics, vol. XXXIII, No. 1: 36 - 43
- 34.-Miyasaka Tsuyoshi, Daishiro Ikeda (1980). "Syntheses and Properties of the 6"-Deoxy or 4", 6"-Dideoxy Derivatives of the Kanamycin Antibiotics". The Journal of Antibiotics, vol. XXXIII, No. 5: 527 - 532
- 35.-Moore Richard, Nancy C. Bates (1986). "Interaction of Polycationic Antibiotics with Pseudomonas aeruginosa Lipopolysaccharide and Lipid A Studied by Using Dansyl-Polymyxin". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 29, No. 3: 496 - 500
- 36.-Mozola Mark, Russell B. Wilson (1984). "Cloning and Expression of a Gene Segment Encoding the Enzymatic Moiety of Pseudomonas aeruginosa Exotoxin A". Journal of Bacteriology, vol. 159, No. 2: 683 - 687
- 37.-Mucha Debra and Stephen K. Farrand (1986). "Diversity of Determinants Encoding Carbenicillin, Gentamicin, and Tobramycin Resistance in Nosocomial Pseudomonas aeruginosa". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 30, No. 2: 281 - 289
- 38.-Mutharia Lucy, Thalia I. Nicas (1982). "Outer Membrane Proteins of Pseudomonas aeruginosa Serotype Strains". The Journal of Infectious Diseases, vol. 146, No. 6: 770 - 779
- 39.-Nicas Thalia, John Bradley (1985). "The Role of Exoenzyme S in Infections with Pseudomonas aeruginosa". The Journal of Infectious Diseases, vol. 152, No. 4: 716 - 721
- 40.-Nickel J.C., I. Ruseska (1985). "Tobramycin Resistance of Pseudomonas aeruginosa Cells Growing as a Biofilm on Urinary Catheter Material". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 27, No. 4: 619 - 624

- 41.-Olson Bruce, Robert A. Weinstein (1984). "Epidemiology of Endemic *Pseudomonas aeruginosa*: Why Infection Control Efforts Have Failed". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 150, No. 6: 808 - 815
- 42.-Pier Gerald and Peter Ames (1984). "Mediation of the Killing of Rough, Mucoid Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Patients with Cystic Fibrosis by the Alternative Pathway of Complement". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 150, No. 2: 223 - 228
- 43.-Pollack Matthew and Richard K. Prescott (1982). "Toxoid from Exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa*: Preparation and Characterization". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 145, No. 5: 688 - 697
- 44.-Preheim Laurel, Robert G. Penn (1982). "Emergence of Resistance to β -Lactam and Aminoglycoside Antibiotics During Moxalactam Therapy of *Pseudomonas aeruginosa* Infections". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 22, No. 6: 1037 - 1041
- 45.-Propst C. and L. Lubin (1979). "Light-Mediated Changes in Pigmentation of *Pseudomonas aeruginosa* Cultures". *Journal of General Microbiology*, 113: 261 - 266
- 46.-Quentin N. Myrvik, Nancy N. Pearsall (1977). "Bacteriología y Micología Médica". Primera Edición en Español, Editorial Interamericana, Págs.: 65 - 80
- 47.-Quinn John, Edward J. Dudek (1986). "Emergence of Resistance to Imipenem During Therapy for *Pseudomonas aeruginosa* Infections". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 154, No. 2: 289 - 293
- 48.-Ramphal Reuben and Gerald B. Pier (1985). "Role of *Pseudomonas aeruginosa* Mucoid Exopolysaccharide in Adherence to Tracheal Cells". *Infection and Immunity*, vol. 47, No. 1: 1 - 4

- 49.-Saelinger Catherine, Kathleen Snell (1977). "Experimental Studies on the Pathogenesis of Infections Due to *Pseudomonas aeruginosa*: Direct Evidence for Toxin Production During *Pseudomonas* Infection of Burned Skin Tissues". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 136, No. 4: 555 - 561
- 50.-Saénz Aguirre Corando (1982). "Empleo de Amikacina en el Tratamiento de Infecciones Producida por Gérmenes Gramnegativos". *Investigación Médica Internacional*, 9: 207 - 210
- 51.-Sanders Christine (1984). "Leading Article: Inducible β -Lactamases and Non-Hydrolytic Resistance Mechanisms". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 13: 1 - 3
- 52.-Sanders Christine, W. Eugene Sanders (1983). "Influence of Clindamycin on Derepression of β -Lactamases in *Enterobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 24, No. 1: 48 - 53
- 53.-Sawada Shuzo, Masahiko Susuki (1984). "Protection Against Infection with *Pseudomonas aeruginosa* by Passive Transfer of Monoclonal Antibodies to Lipopolysaccharides and Outer Membrane Proteins". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 150, No. 4: 570 - 575
- 54.-Shekar R., Thomas W. Rice (1985). "Outbreak of Endocarditis Caused by *Pseudomonas aeruginosa* Serotype O11 Among Pentazocine and Tripelennamine Abusers in Chicago". *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 151, No. 2: 203 - 207
- 55.-Shibl A.M., and I.A. Al-Sowaygh (1980). "Antibiotic Inhibition of Protease Production by *Pseudomonas aeruginosa*". *J. Méd. Microbiology*, vo. 13: 345 - 349

- 56.-Sinclair M.I. and B.W. Holloway (1982). "A Chromosomally located Transposon in *Pseudomonas aeruginosa*". *Journal of Bacteriology*, vol.151, No.2:569 - 579
- 57.-Sokol Pamela, Charles D. Cox (1982). "Pseudomonas aeruginosa Mutants Altered in their Sensitivity to the Effect of Iron on Toxin A or Elastase Yields". *Journal of Bacteriology*, vol.151, No.2:783 - 787
- 58.-Sykes Richard (1982). "The Classification and Terminology of Enzymes that Hydrolyze β -Lactam Antibiotics". *The Journal of Infectious Diseases*, vol.145, No.5:762 - 765
- 59.-Tausk Francisca, Martin E. Evans (1985). "Imipenem-Induced Resistance to Antipseudomonal β -Lactams in *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol.28, No.1:41 - 45
- 60.-Venezio Frank, Walter Tatarowicz (1986). "Activity of Ciprofloxacin against Multiply Resistant Strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, and Group JK *Corynebacteria*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol.30, No.6:940 - 941
- 61.-Warren Richard, Neil R. Baker (1985). "Selective Inhibition of the Accumulation of Extracellular Proteases of *Pseudomonas aeruginosa* by Gentamicin and Tobramycin". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol.27, No.4:468 - 472
- 62.-Wilson W.S. NG, P.Y. Chau (1985). "In Vitro Activities of Ro 17-2301 and Aztreonam compared with Those of Other New β -Lactam Antibiotics against Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol.27, No.5:872 - 873
- 63.-Yabuuchi Eiko and A.Ohyama (1972). "Characterization of Pyomelanin-Producing Strains of *Pseudomonas aeruginosa*". *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol.22, No.2:53 - 64

- 64.-Youmans Guy, M.D., Ph.D. (1985). "The Biologic and Clinical Basic of Infectious Diseases". Third Edition, W.B. Saunders Company, págs.: 737 - 749, 756 - 780
- 65.-Young Lowell (1980). "Medical Perspective: The Role of Exotoxins in the Pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa Infections". The Journal of Infectious Diseases, vol. 142, No. 4: 626 - 630
- 66.-Yu Pauline, Randal S. Edson (1983). "Bactericidal and Synergistic Activity of Moxalactam Alone and Combination with Gentamicin against Pseudomonas aeruginosa". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 23, No. 1: 179 - 181
- 67.-Zar Fred and Robert J. Kany, JR. (1985). "In Vitro Studies of Investigational β -Lactams as Possible Therapy for Pseudomonas aeruginosa Endocarditis". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 27, No. 1: 1 - 3
- 68.-Zavala Trujillo Isidro (1982). "Evaluación Clínica de Amikacina en el tratamiento de infecciones causadas por bacilos Gramnegativos". Investigación Médica Internacional, 9: 303 - 307
- 69.-Zuravleff Jeffrey, Victor L. Yu (1982). "Effect of Calcium, Magnesium, and Zinc on Ticarcillin and Tobramycin Alone and in Combination Against Pseudomonas aeruginosa". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 22, No. 5: 839 - 843