



Universidad de Granada
Facultad de Farmacia
Departamento de Farmacología

Estudio microbiológico de los aislamientos bacterianos
obtenidos en hemocultivos procedentes del Servicio de
Urgencias de medicina, de un Hospital de tercer nivel, en
Santa Cruz de Tenerife:
Caracterización y sensibilidad antibiótica

TESIS DOCTORAL

Antonio Andrés Quesada Sanz

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Antonio Andrés Quesada Sanz
D.L.: GR 3098-2010
ISBN: 978-84-693-3301-3

Antonio Andrés Quesada Sanz.

Aspirante al Grado de Doctor en Farmacia.

D. Antonio Zarzuelo Zurita, catedrático titular del Departamento de Farmacología de la Facultad de Farmacia de Granada y D. Miguel Ángel Calleja Hernández, Director de la Unidad de Gestión Clínica de Farmacia del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

CERTIFICAN:

Que el estudio titulado “Estudio microbiológico de los aislamientos bacterianos obtenidos en hemocultivos procedentes del Servicio de Urgencias de medicina, de un Hospital de tercer nivel, en Santa Cruz de Tenerife: Caracterización y sensibilidad antibiótica” ha sido realizado por el Licenciado en Farmacia D. Antonio Andrés Quesada Sanz bajo dirección conjunta, para la obtención del Grado de Doctor, y considerando que se haya concluido y reúne los requisitos oportunos, autorizamos su presentación para que pueda ser juzgado por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, se expide en Granada, a 25 de marzo del 2010.

Dr. D. Antonio Zarzuelo Zurita.

Dr. D. Miguel Ángel Calleja Hernández.

AGRADECIMIENTOS.

Son muchas más las personas a las que debo que este proyecto sea una realidad, aunque cito especialmente: a Antonio y Miguel Ángel, mis directores de tesis, a ellos les debo agradecer su tiempo y su confianza; a mi Laboratorio de Microbiología en Santa Cruz de Tenerife, formando parte esencial en mi estudio, tanto los medios, como su personal. A Gerardo, Ángel, Diego, Bruno y Manolo, por su nobleza, brillantez y ayuda; y al resto de mis amigos que son un tesoro del que me siento privilegiado. A mi madre, que lo es todo, y a mis hermanas, a las que quiero tanto y a las que debo más, y por supuesto a ti, Wendy, por tu paciencia, ayuda y amor.

A mi hijo Pablo.

Índice general

1. Introducción	12
1.1. Concepto de bacteriemia y sepsis	12
1.2. Importancia del antibiograma	15
1.3. Principales microorganismos implicados en las bacteriemias . . .	19
1.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativa (SCN)	19
1.3.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Streptococcus</i> grupo <i>viridans</i>	27
1.3.3. <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Enterococcus faecium</i>	29
1.3.4. Bacterias gramnegativas anaerobias facultativas	33
1.3.5. Bacilos gramnegativos no fermentadores	39
2. Justificación de la investigación	44
3. Hipótesis de la investigación	45
4. Objetivos de la investigación	46
4.1. Objetivo principal	46
4.2. Objetivos secundarios	46
5. Material y métodos	48
5.1. Características del hospital	48
5.2. Descripción de las variables usadas	49

5.3. Características del estudio	51
5.4. Obtención de muestras, procesamiento y sensibilidad antibiótica	57
5.5. Análisis estadístico	71
6. Resultados	73
7. Gráficos de resultados	81
8. Discusión	95
9. Conclusiones	114
Bibliografía	115

Índice de tablas

1.1. Definiciones Consenso de Asociaciones Americanas de Medicina Interna – E. del Torax (Chicago, 1991)	13
1.2. Especies de <i>Staphylococcus</i> presentes en el ser humano	20
1.3. Clasificación de las betalactamasas según Bush-Jacoby-Medeiros	36
5.1. Resumen de las tarjetas de identificación Vitek®2	50
5.2. <i>S. aureus</i> productor de penicilinasa	64
5.3. <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina	64
5.4. Fenotipo y genotipo de resistencia a macrólidos en <i>Staphylococcus</i>	65
5.5. Valores de CMI (microdilución) de los antibióticos estudiados .	68
5.6. CMI (microdilución) y categorías clínicas del fenotipo de <i>E. coli</i> con alta resistencia a fluorquinolonas	70
6.1. Características de los hemocultivos realizados en el Servicio de Urgencias	73
6.2. Características demográficas de los pacientes con hemocultivos positivos	74
6.3. Datos clínicos de los pacientes al ingreso	74
6.4. Fórmula leucocitaria de los pacientes estudiados	75
6.5. Factores de riesgo intrínsecos o enfermedades de base asociadas	75
6.6. Factores extrínsecos o predisponentes	76
6.7. Origen de los 135 episodios de bacteriemia	76

6.8. Rango de edad y exitus	77
6.9. Etiología de los 135 episodios de bacteriemias	78

Índice de figuras

5.1. Detección de betalactamasas plasmídicas de espectro extendido por E-test	69
7.1. Antibiograma de <i>Escherichia coli</i>	82
7.2. Antibiograma de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	83
7.3. Antibiograma de <i>Proteus mirabilis</i>	84
7.4. Antibiograma de <i>Salmonella typhi</i>	85
7.5. Antibiograma de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	86
7.6. Antibiograma de <i>Acinetobacter baumannii</i>	87
7.7. Antibiograma de <i>Staphylococcus aureus</i>	88
7.8. Antibiograma de <i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	89
7.9. Antibiograma de <i>Streptococcus</i> grupo <i>viridans</i>	90
7.10. Antibiograma de <i>Enterococcus faecalis</i>	91
7.11. Antibiograma de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	92
7.12. Sensibilidad a la daptomicina	93
7.13. Sensibilidad al linezolid	93
7.14. Sensibilidad a la tigeciclina	94
8.1. Porcentaje de <i>S. aureus</i> resistentes a oxacilina (MRSA) en 2008	99
8.2. Porcentaje de <i>Streptococcus pneumoniae</i> no sensibles a la penicilina (PNSP) en 2008	105

1 Introducción

1.1. Concepto de bacteriemia y sepsis

El diagnóstico de las bacteriemias representa una práctica habitual en el día a día de cualquier microbiólogo clínico, que implica conocer los criterios de sepsis, para poder realizar así un juicio microbiológico completo y adecuado.

Al ser la sangre, en su recorrido por el organismo, el vehículo probable de gérmenes procedentes de procesos infecciosos o de instrumentación, se definirá la presencia de bacterias viables en sangre como bacteriemia, siendo el hemocultivo [44] la técnica adecuada para investigar la ausencia o presencia de las mismas.

El uso incorrecto o confuso del término sepsis, consecuencia de una falta de uniformidad en su definición, motivó que en el año 1991 las asociaciones americanas de enfermedades del torax y medicina intensiva llegaran a un consenso en cuanto a la unificación y definición de los criterios de sepsis [39] (tabla 1.1), siendo definida como una respuesta inflamatoria sistémica secundaria a una infección.

Sepsis, sepsis grave y shock séptico serán etapas sucesivas en la evolución de la gravedad de una misma enfermedad infecciosa.

<p>Infección</p> <p>Respuesta inflamatoria secundaria a la presencia de microorganismos o invasión de tejidos del huésped que habitualmente es estéril.</p>
<p>Bacteriemia</p> <p>Presencia de bacterias viables en sangre.</p>
<p>Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica</p> <p>Respuesta inflamatoria sistémica desencadenada por gran variedad de enfermedades. Se manifiesta por dos o más de las siguientes condiciones: una temperatura corporal superior a 38 °C o inferior a 36 °C; taquicardia superior a 90 latidos por minuto; taquipnea superior a 20 respiraciones por minuto; recuento de leucocitos superior a 12000/mm³ o inferior a 4000/mm³.</p>
<p>Sepsis</p> <p>Respuesta inflamatoria sistémica causada por una infección.</p>
<p>Sepsis grave</p> <p>Sepsis más disfunción multiorgánica, hipotensión o hipoperfusión. Los déficits de perfusión pueden manifestarse como acidosis láctica, oliguria o alteración del estado mental entre otros.</p>
<p>Shock séptico</p> <p>Sepsis grave donde a pesar de un adecuado aporte de fluidos persiste la hipotensión y los signos de hipoperfusión periférica requiriendo tratamiento con inotrópicos o vasopresores.</p>
<p>Hipotensión inducida por la sepsis</p> <p>Tensión arterial sistólica inferior a 90 mmHg o una reducción de más de 40 mmHg con respecto a la basal.</p>
<p>Síndrome de disfunción multiórgano</p> <p>Presencia de las alteraciones de la función de algún órgano de forma que su homeostasis no pueda ser mantenida sin intervención.</p>

Tabla 1.1: Definiciones Consenso de Asociaciones Americanas de Medicina Interna – E. del Torax (Chicago, 1991)

No obstante, las manifestaciones clínicas de una respuesta inflamatoria sistémica serán bastantes inespecíficas, presentándose también en otras causas no infecciosas como pancreatitis o intoxicaciones alimentarias [106].

Se debe precisar que cualquier proceso inflamatorio que curse con manifestaciones sistémicas graves, se englobará dentro del término de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS). La presencia de microorganismos ori-

ginará una respuesta inflamatoria generalizada, que determinará la bacteriemia si éstos consiguen invadir el torrente circulatorio a partir del foco infeccioso de origen.

Ante el aislamiento de bacterias en los hemocultivos, será necesario definir si se trata de una bacteriemia verdadera o de una falsa bacteriemia [23], se considerará verdadera cuando existan manifestaciones clínicas del proceso infeccioso y los agentes aislados no sean causa habitual de la flora del huésped, y, en caso de serlo, se hayan aislado en más de dos tandas de hemocultivos.

Por el contrario, se estimará como falsa bacteriemia, cuando los microorganismos aislados sean causa habitual de la flora del huésped y no se acompañe de significación clínica, consecuencia de una mala praxis en la toma de muestras o en el procesamiento.

Se caracterizará la bacteriemia polimicrobiana por el aislamiento de dos tipos de agentes infecciosos en un mismo hemocultivo.

En función de cómo las bacterias invaden el torrente circulatorio se establecerá si la bacteriemia es transitoria, continua o intermitente [26]:

- Será transitoria ante procesos autolimitados asociados a manipulaciones de tejidos infectados y odontológicos o al simple hecho de un cepillado enérgico de dientes.
- Será intermitente al asociarse a abscesos intraabdominales, pélvicos, hepáticos o prostáticos así como a brucelosis y fiebre tifoidea, que actuarán como focos de liberación discontinua de microorganismos.

- Será continua en endocarditis o catéteres por el paso permanente de las bacterias al torrente circulatorio.

Atendiendo a la posibilidad de detección del foco de origen se clasificarán en primaria y secundaria:

- Bacteriemia primaria: Se desconoce el foco de origen de la infección o se relaciona con la utilización de cánulas intravasculares [46].
- Bacteriemia secundaria: Los microorganismos pasarán a la sangre a través de una infección localizada en otra parte del organismo, con frecuencia el tracto urinario y las vías respiratorias bajas.

No se usará a lo largo de este estudio el término septicemia debido a su ambigüedad y a su equivalencia equivocada con la bacteriemia.

Tras la obtención del agente infeccioso mediante la extracción de hemocultivos, su identificación y el informe de sensibilidad completarán una de las funciones prioritarias de cualquier laboratorio de microbiología.

1.2. Importancia del antibiograma

La identificación del microorganismo que permitirá su clasificación dentro de un grupo taxonómico ya establecido, se hará sobre criterios morfológicos (mediante examen microscópico-macroscópico del aislamiento) y metabólicos (a través de procesos bioquímicos automatizados).

La determinación de la sensibilidad in vitro de las bacterias a los antibióticos se hará por métodos bioquímicos (por ejemplo la detección directa de la producción de betalactamasas) y métodos fenotípicos [88], obteniéndose el antibiograma, es decir, el estudio de susceptibilidad antibiótica del microorganismo productor de la infección, mediante técnicas estandarizadas que permitirán relacionar los resultados obtenidos con criterios clínicos de sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia.

Estas técnicas estandarizadas ofrecerán resultados cualitativos o cuantitativos en función de si son técnicas de difusión o de dilución.

Desde el punto de vista cuantitativo, la actividad de los antimicrobianos se establecerá midiendo los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI).

La CMI será la menor concentración de antimicrobiano, expresado en mg/l o µg/ml, capaz de inhibir el crecimiento bacteriano en 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC), esto es, bacterias viables en un mililitro de medio de cultivo. Estos resultados cuantitativos los proporcionarán las técnicas de dilución.

Desde el punto de vista cualitativo, la actividad de los antimicrobianos se establecerá midiendo el halo, expresado en milímetros, formado por la difusión del antibiótico desde un disco de papel de filtro al medio de cultivo previamente inoculado con el microorganismo a estudio. Estos resultados cualitativos los proporcionarán las técnicas de difusión.

La interpretación del antibiograma implicará la transformación de los valores de CMI o de los halos de inhibición en categorías clínicas cualitativas

(sensible, intermedio o resistente), debido a criterios microbiológicos, farmacológicos y clínicos que se establecerán basándose en los puntos críticos de resistencia microbiológica, definidos por distintos comités como el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) entre otros [26].

La lectura interpretada del antibiograma permitirá deducir los mecanismos de resistencia antibiótica mediante el análisis de los fenotipos de sensibilidad.

Se definirá el punto crítico de resistencia microbiológica (PCRM) como la concentración más baja de antibiótico que inhibirá a la población más sensible. Si la CMI de la cepa aislada es superior al PCRM se considerará como población no sensible.

Por tanto, un microorganismo se considerará sensible a un determinado antibiótico cuando éste alcance niveles plasmáticos al menos iguales a su CMI, en el lugar de la infección; en general se tomará como referencia el plasma sanguíneo.

Un microorganismo se considerará resistente cuando no alcance los valores de CMI y los efectos tóxicos desaconsejen el aumento de la dosis de dicho antibiótico.

Tendrá sensibilidad intermedia cuando no sea sensible a la dosis y a los intervalos de administración terapéuticos, aunque sí será sensible, cuando se aumenta la dosis (por debajo de la tóxica) o se produzca acumulación del antibiótico en el lugar de la infección.

Se hablará de multirresistencia [26], cuando se teste resistencia al menos en dos familias de antibióticos distintos para un mismo aislamiento bacteriano

o los aislamientos sean de forma natural resistentes a varias familias de antimicrobianos.

La adecuada identificación de las resistencias bacterianas a los distintos antibióticos en el laboratorio de microbiología dependerá del conocimiento de los perfiles de resistencia intrínseca (o natural) y adquirida.

Los perfiles de resistencia a los antibióticos se suelen clasificar en dos tipos [8]:

- Resistencia natural o intrínseca

- Resistencia adquirida

La resistencia natural o intrínseca será propia de cada familia, género o especie, siendo un claro ejemplo de esto, la resistencia de las bacterias gramnegativas a la vancomicina.

Se entenderá por resistencia adquirida, cuando en una especie habitualmente sensible a un antibiótico, se encuentren cepas de esa misma especie con resistencia a dicho antimicrobiano. La resistencia adquirida podrá transferirse mediante una difusión vertical por mutación, por errores del microorganismo en su proceso de replicación o mediante una difusión horizontal por adquisición de material genético, entre especies iguales o distintas, que contenga genes de resistencia mediante mecanismos de transformación, traducción y conjugación. A su vez, esta resistencia adquirida podrá ser inducible (por contacto con antibiótico) o no inducible (no necesita contacto con el antibiótico).

1.3. Principales microorganismos implicados en las bacteriemias

Los *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativa serán, en el contexto de las bacteriemias, los patógenos más comúnmente aislados entre las bacterias grampositivas, mientras que los *Escherichia coli* serán, entre los gramnegativos, los más frecuentes. En la última década se ha producido un cambio epidemiológico importante, mostrándose un incremento de las bacteriemias producidas por lo grampositivos, con una disminución de las causadas por gramnegativos [72].

A continuación se detallan los microorganismos responsables de bacteriemias aislados con mayor frecuencia.

1.3.1. *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN)

El género *Staphylococcus* agrupa a 33 especies, 16 de las cuales se encuentran en el ser humano (tabla 1.2), de entre las que sólo 3, son clínicamente significativas, por ser patógenos en ausencia de factores de inmunosupresión o instrumentación del huésped.

La prueba de la coagulasa permite diferenciar en el laboratorio entre *S. aureus* (coagulasa positiva) del resto de especies de *Staphylococcus* que podrán colonizar al huésped (coagulasa negativa).

Humanos y otros primates	
<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. cohnii</i>
<i>S. capitis</i>	<i>S. xylosus</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. simulans</i>
<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. schleiferi</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. hominis</i>
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. lugdunensis</i>
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. auricularis</i>

Tabla 1.2: Especies de *Staphylococcus* presentes en el ser humano

Este género estará presente de forma habitual en la piel y mucosas del ser humano.

S. aureus podrá estar como colonizante transitorio o permanente a nivel nasal, faríngeo, axilar y vaginal y será responsable de infecciones de piel y tejidos blandos, neumonías, sepsis, endocarditis, artritis séptica en niños o no gonocócica en adultos, así como de trastornos gastrointestinales, síndrome del shock tóxico o neumonía necrosante por la acción de sus toxinas [57].

S. aureus mostrará una gran variedad de recursos para no ser afectado por la gran mayoría de los antibióticos usados en la práctica clínica.

Antes de 1940, todos los *Staphylococcus* eran universalmente sensibles a la penicilina, sin embargo, desde 1942 se identificaron cepas resistentes a ésta, primero en hospitales y después a nivel comunitario [10].

La resistencia a la penicilina estará mediada por una betalactamasa [59], penicilinasas, de origen plasmídico que romperá el anillo betalactámico de la penicilina, convirtiéndola en ácido peniciloico, sin ninguna propiedad antibacteriana [1, 59, 98].

En este contexto surgirá la meticilina, la primera penicilina semisintética que será resistente a la betalactamasa del *Staphylococcus*.

A partir de la meticilina, se desarrollarán otras penicilinas que pertenecerán a este grupo, como la nafcilina (oral), cloxacilinas y oxacilinas, que serán usadas satisfactoriamente para tratar infecciones producidas por *S. aureus* productor de penicilinasas.

Pero una vez más, esta susceptibilidad universal será corta, ya que se aislarán pronto cepas resistentes a la meticilina (SARM).

El gen *mecA* será el responsable de la resistencia a la meticilina y se localizará en el cromosoma, en una isla genómica móvil conocida como casete cromosómico estafilocócico (SCCmec, por sus siglas en inglés, *Staphylococcus cassette chromosome mec*), de tamaño comparable a un transposón, y donde los genes *ccrA* y *ccrB* mediarán la integración y escisión al cromosoma de *S. aureus* [58]. El SCCmec podrá transportar de forma variable, genes de resistencia a otros antibióticos como aminoglucósidos, clindamicina, eritromicina, rifampicina, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol.

A diferencia de la gran variedad de cepas de *S. aureus* sensibles a la meticilina que causarán infección, sólo habrá un número limitado de clones de SARM, lo que reflejará la limitación genética de la transferencia horizontal del elemento mec desde especies relacionadas de *Staphylococcus* dentro de *S. aureus* [77].

El gen *mecA* conferirá resistencia frente a las penicilinas antiestafilocócicas, mediante la modificación de la diana del antibiótico, en este caso,

mediante la síntesis de proteínas fijadoras de penicilinas anómalas (PBP2a, también llamadas PBP2').

Las PBPs son enzimas que participarán en la síntesis de la pared celular, el cambio de las PBPs por PBP2a hará que estas enzimas tengan menos afinidad por los antibióticos betalactámicos, permitiendo a los *Staphylococcus* sobrevivir a altas concentraciones de los mismos [51, 63]. En consecuencia, la resistencia a la meticilina conferirá resistencia a todos los betalactámicos disponibles, incluyendo a penicilinas y cefalosporinas [28].

Hay estudios que demuestran que los SARM aislados en la comunidad son habitualmente más sensibles a la clindamicina y ciprofloxacino que los SARM asociados a cuidados médicos [75].

La multirresistencia se observará frecuentemente en los aislados nosocomiales, mientras que en los SARM asociados a la comunidad, la resistencia se limitará fundamentalmente a los antibióticos betalactámicos.

El pequeño tamaño de SCCmec asociado a los SARM comunitarios, podría excluir el transporte de material genético adicional y explicaría este hecho [33].

La resistencia a macrólidos en *Staphylococcus* [40] podrá ser debida a:

- Expulsión activa del antimicrobiano codificada por genes *msrA-B* o *erpA* y mediada por plásmidos, que expresarán el fenotipo M o fenotipo MS.
- Modificación de la diana (RNAr 23S) por la acción de una metilasa codificada por genes *erm* y que expresarán el fenotipo MLS_B.

La expulsión activa del antibiótico determinará fenotipos infrecuentes como el fenotipo M (afecta a macrólidos de 14 y 15 átomos) y MS (macrólidos de 14–15 átomos y a estreptograminas tipo B).

La presencia de genes *erm* conferirá un fenotipo de resistencia denominado MLS_B (resistencia a macrólidos de 14, 15 y 16 átomos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B) que podrá ser de expresión inducible o constitutiva.

El gen *erm*, del que se distinguen 21 clases, codificará enzimas que metilarán a la subunidad 23S del RNAr, alterando los sitios de unión al antibiótico. Este determinante de resistencia podrá estar localizado en plásmidos o en transposones [61].

En las cepas con fenotipo inducible MLS_B , la eritromicina inducirá la expresión del mecanismo de resistencia. Estas cepas demostrarán una resistencia in vitro a macrólidos de 14 (eritromicina) y 15 átomos (azitromicina), a la vez que se mostrarán sensibles a macrólidos de 16 átomos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B. Por otro lado, el fenotipo MLS_B constitutivo, mostrará resistencia a todos esos antibióticos.

La clindamicina será una alternativa frente a las infecciones debidas a *S. aureus* en caso de intolerancia a las penicilinas o cepas meticilín resistentes. Es un antibiótico que estará disponible tanto por vía oral como parenteral, además presentará una notable distribución en piel y tejidos blandos.

No obstante, etiquetar a todos las cepas de *Staphylococcus* resistentes a la eritromicina como resistentes a la clindamicina, prevendrá el uso de este

antibiótico en infecciones causadas por dichas cepas, donde la no identificación del fenotipo MLS_B inducible podría conllevar al fallo terapéutico.

La detección del fenotipo inducible MLS_B a nivel de laboratorio no se realizará de forma rutinaria o estandarizada, por lo que ante la sospecha de resistencia inducible a la clindamicina se usará el método D-test.

Clínicamente, las cepas que exhiben el fenotipo inducible MLS_B tienen una alta tasa de mutación espontánea a resistencia constitutiva, lo cual podría asociarse al uso de clindamicina [29, 81].

Respecto a los aminoglucósidos, el fenotipo sensible será el más frecuente entre los *Staphylococcus aureus*, las resistencias podrán aparecer cuando se usen sin asociarse a otros antibióticos.

La resistencia a quinolonas se explicará por mutaciones cromosómicas espontáneas en los genes que codificarán la producción de topoisomerasas IV y II (ADN-girasa), y que alterarán su afinidad por el fármaco, así como en genes que influirán en la expresión de canales de difusión y bombas de expulsión de resistencia multiantibiótica.

Esta resistencia a quinolonas emergerá primeramente en especies como *S. aureus* donde una única mutación será suficiente para derivar en un efecto clínico importante [52]. No obstante, la resistencia a quinolonas en estas cepas será baja hasta la fecha [55].

La capacidad del *S. aureus* para crecer en presencia de antimicrobianos a dosis terapéutica (resistencia microbiológica), también podrá presentarse

frente a glucopéptidos, bien mediante una resistencia intermedia a glucopeptidos (GISA), vancomicina (VISA) o mediante una resistencia a vancomicina (VRSA), mediada esta última por la transferencia del gen *VanA* desde *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina [19, 70, 99].

Todos los VRSA aislados hasta la fecha han sido resistentes a la oxacilina (MRSA) y contienen por tanto el gen *mecA*. De igual forma la mayor parte de los VISA aislados son oxacilin-resistentes.

El mecanismo de resistencia intermedia a vancomicina se explicará por el aumento de grosor de la pared celular a través del aumento en el número de capas del peptidoglicano que la componen, lo cual hará que se atrape más vancomicina en las capas superficiales y evitará que el fármaco llegue a la membrana citoplasmática.

A pesar de todo, las cepas de *S. aureus* han mantenido en general una elevada sensibilidad a los glucopéptidos, de manera que lo más frecuente es detectar cepas sensibles a la vancomicina y teicoplanina.

En la elección del tratamiento frente a *S. aureus* [69], con independencia de la sensibilidad de éstos a los betalactámicos, influyen ciertas características de la infección que serán necesarias considerar al elegir el antimicrobiano más adecuado.

Habrà que considerar:

- La colonización nasal de los pacientes infectados. Cuando la cepa es resistente a meticilina, el riesgo de infección es significativamente superior al observado en portadores de cepas sensibles a la meticilina. Solo el linezolid y la rifampicina disminuirán la tasa de colonización nasal.

- La producción de toxinas por parte de *S. aureus* agravarán algunas infecciones, por lo que se deberá tener en cuenta el potencial efecto del antibiótico sobre la producción de toxinas. El linezolid y la clindamicina suprimirán la producción de toxinas y/o superantígenos.
- La existencia de metástasis, frecuentes en bacteriemias, condicionará la duración del tratamiento.
- La buena tolerancia a las variaciones del pH permitirán la colonización con pH relativamente ácido como la piel, la vagina o la orina, sobrevivir en abscesos y multiplicarse en el interior de fagolisosomas.

Además, en el citoplasma celular se podrán producir cambios fenotípicos consistentes en la formación de las llamadas variantes de colonia pequeña. La persistencia intracelular es uno de los mecanismos por los que *S. aureus* podrá originar infecciones crónicas o recidivantes. La rifampicina parece ser el antibiótico con mayor efectividad frente a estas variantes pequeñas de *S. aureus* y se asociará con cotrimoxazol, betalactámicos o vancomicina para evitar el desarrollo de resistencias [83, 105].

Las variantes pequeñas de *S. aureus* se caracterizan por ser de crecimiento lento, no pigmentadas y no ser hemolíticas, aparte de ser de tamaño más pequeño que las cepas normales, pudiéndose confundir con *Staphylococcus* coagulasa negativa.

Los *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) se aislarán con frecuencia en el laboratorio de microbiología como contaminantes, aunque podrán causar infecciones por su capacidad de adherirse y formar *biofilms* en la superficie de dispositivos y catéteres.

La sensibilidad de los SCN a los antibióticos betalactámicos, macrólidos y aminoglucósidos suele ser baja, siendo el tratamiento empírico de elección en SCN resistentes a la cloxacilina, la vancomicina asociada o no a la rifampicina [71].

1.3.2. *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus* grupo *viridans*

Los *Streptococcus* representarán un grupo de microorganismos grampositivos de gran heterogeneidad, que se caracterizarán por sus exigencias nutricionales y su capacidad hemolítica.

Los *Streptococcus* serán aislados con normalidad tanto en el hombre como en los animales, y se comportarán como patógenos virulentos o como cepas saprófitas, al ser colonizantes permanentes o transitorios de piel y mucosas.

El tiempo durante el cual el *S. pneumoniae* podrá persistir como colonizante de la nasofaringe, tanto en adultos como en niños sanos, variará desde el mes hasta los seis meses, lo que permitirá, su propagación por contacto directo en situaciones de aglomeración o mala ventilación.

Producida la colonización de la nasofaringe, el neumococo podrá desplazarse a zonas adyacentes (oído, senos paranasales) o bien podrá ser aspirado para producir infecciones del parénquima pulmonar. El paso del neumococo al torrente sanguíneo determinará su localización en zonas estériles más alejadas, como las meninges, articulaciones o distintas membranas serosas. La colonización no implicará infección, pero sí podrá predecirla.

La extirpación del bazo, originará una importante desventaja inmunológica frente al neumococo, ya que la falta de anticuerpos anticapsulares podrá originar una enfermedad neumocócica fulminante.

Con respecto a la sensibilidad antibiótica, el fenotipo más frecuente en *S. pneumoniae* para los betalactámicos será [100]:

- Sensibilidad a todos los antibióticos betalactámicos.
- Sensibilidad disminuida a la penicilina (intermedia) y sensibilidad a cefotaxima.
- Resistencia a penicilina y sensibilidad disminuida o resistente a cefotaxima.
- Será extraño encontrar cepas que sean sensibles a la penicilina y resistentes a la cefotaxima.

La sensibilidad disminuida y resistente a los betalactámicos estará relacionada con la alteración de las diferentes PBP (1A, 2x y 2B). Hasta el momento no se ha descrito ninguna cepa productora de betalactamasa [103].

La cefotaxima y la ceftriaxona serán la alternativa a las penicilinas en el tratamiento de infecciones graves debido a su adecuado índice terapéutico y escasos efectos secundarios a dosis elevadas. No obstante la respuesta clínica dependerá de la localización de la infección y de los niveles que alcanzarán los antibióticos en dichas zonas, lo que explicará que la penicilina G siga siendo el tratamiento más adecuado para infecciones extrameningeas.

Las cepas de *S. pneumoniae* resistentes a las penicilinas presentarán con mayor frecuencia que las cepas sensibles, resistencia a otros grupos de antibióticos como la eritromicina, la tetraciclina, el cloranfenicol y el cotrimoxazol.

Los macrólidos, usados como alternativa terapéutica a la penicilina en los casos de alergia, presentarán como principal mecanismo de resistencia el fenotipo MLS_B, siendo el fenotipo M de muy baja prevalencia en nuestro entorno [4].

La resistencia a quinolonas en cepas clínicas de *S. pneumoniae* se relacionará con mutaciones en los genes que codificarán a la topoisomera IV y la ADN-girasa. Las mutaciones aisladas en un solo gen tendrán un impacto menor en la sensibilidad a estas.

Por el contrario, el fenotipo más frecuente con respecto a betalactámicos en los *Streptococcus* del grupo *viridans* es el de sensibilidad a todos ellos. Al ser bacterias saprofitas de las vías respiratorias altas, del tracto intestinal y del tracto genital femenino, será importante considerar el estado de resistencia a macrólidos, dado el intercambio de material genético existente [7].

Los dos mecanismos principales de resistencia a los macrolidos serán el fenotipo MLS_B y el fenotipo M.

1.3.3. *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*

Las especies que forman parte del género *Enterococcus*, se caracterizan por su gran resistencia y ubicuidad, ya que son capaces de sobrevivir a ambientes extremos.

La mayoría de las especies que se aislarán de este género se corresponderán con *E. faecalis* y *E. faecium*, especies saprofitas de la flora genital, íleon y colon del huésped.

Son microorganismos potencialmente patógenos que aprovechan situaciones de inmunosupresión como heridas, intervenciones quirúrgicas o consumo de antibióticos de amplio espectro, para producir infecciones urinarias, infecciones de heridas o bacteriemias polimicrobianas gracias a ese carácter oportunista.

El género enterococo presenta una resistencia natural o intrínseca a una serie de antibióticos como son cefalosporinas, penicilinas antiestafilocócicas, aminoglucósidos, clindamicina y (in vivo) al trimetoprim-sulfametoxazol [79].

El tratamiento de elección para endocarditis por enterococos será penicilina o ampicilina (sustituyéndose por vancomicina en caso de alergia a penicilina o cepas resistentes a la ampicilina) asociadas con aminoglucósidos [73].

Tanto los antibióticos betalactámicos como los glucopéptidos, presentan actividad bacteriostática frente a los enterococos (y no bactericida, como ocurrirá con la mayoría de los patógenos grampositivos), lo que hará necesario su asociación con aminoglucósidos para alcanzar el efecto bactericida necesario para el tratamiento de infecciones graves.

La monoterapia con penicilina, ampicilina o vancomicina será suficiente para muchas otras infecciones enterocócicas.

La resistencia a betalactámicos por producción de betalactamasas será muy rara, se explicará la resistencia intrínseca observada en *E. faecium* a ampicilina a una baja afinidad de las penicilinas a las PBP llamadas PBP5 [6].

No obstante, en aquellos aislamientos en los que se observará una disminución de la sensibilidad a la ampicilina o una cierta actividad de los inhibidores de betalactamasas, se deberá descartar la producción de ésta. Para los aislamientos procedentes de sangre y del LCR deberá realizarse la prueba de la nitrocefina para detectar la posible presencia de betalactamasa [49].

En enterococos será frecuente detectar cepas sensibles a eritromicina, pero también será frecuente detectar cepas resistentes con el fenotipo MLS_B. El mecanismo de resistencia de estas cepas será la modificación de la diana en el ribosoma por expresión del gen *erm* y menos frecuentemente asociadas al fenotipo M.

El género *Enterococcus* presentará una resistencia intrínseca de bajo nivel frente a los aminoglucósidos, debido a un transporte deficiente del antibiótico al interior de la bacteria. Sin embargo, también podrá presentar un mecanismo de resistencia adquirida a los aminoglucósidos que se asociará a la producción de enzimas modificantes del antibiótico (acetiltransferasas, fosfotransferasas), que producirán una resistencia de alto nivel y que provocará la pérdida del efecto sinérgico en asociación con inhibidores de la pared celular.

Los fenotipos más frecuentes de resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos serán:

- Resistencia a estreptomina.
- Resistencia a kanamicina y amikacina.
- Resistencia a gentamicina.

Será frecuente observar que la resistencia a la gentamicina se asociará a una resistencia de alto nivel al resto de aminoglucósidos (excepto a estreptomina) y a la falta de sinergia con betalactámicos.

Por otro lado, la adquisición de resistencia a glucopéptidos se describió por primera vez en enterococos en el año 1988 y desde entonces se ha observado un aumento importante de este tipo de cepas resistentes entre los aislados clínicos, sin embargo, este tipo de cepas también se aislarán con frecuencia en muestras intestinales de individuos sanos, así como en alimentos y aguas residuales [42, 84].

Los fenotipos de resistencia a glucopéptidos podrán ser [25]:

- Adquirida. Fenotipo VanA, VanB, VanD, VanE y VanG.
- Intrínseca. Ligada a las especies *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* y *E. flavescens*.

El fenotipo VanA mostrará una alta resistencia inducible a vancomicina y teicoplanina, mientras que el fenotipo VanB se caracterizará por conferir una resistencia inducible de moderado o alto nivel a la vancomicina pero no a la teicoplanina. Genéticamente este fenotipo se deberá a la presencia de transposones que en el caso del fenotipo VanA se localizará en plasmidos transferibles.

El fenotipo VanA es el único que hasta la fecha se localiza también en *S. aureus*.

El mecanismo de adquisición de resistencia a glucopéptidos se explicará por la modificación de la diana sobre la que actuará el antibiótico [48].

La resistencia a fluorquinolonas estará mediada por la modificación de enzimas implicadas en la replicación del ADN.

La DNA girasa será el blanco de las fluorquinolonas en bacterias gramnegativas tipo *E. coli*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Klebsiella pneumoniae*, mientras que la topoisomerasa IV será la diana principal en bacterias grampositivas como *S. aureus* y enterococos [56].

Además de su resistencia intrínseca, los enterococos presentarán resistencia a muchos otros antibióticos, tanto por mutaciones como por su capacidad de adquirir material genético por transferencia a partir de plásmidos o transposones.

1.3.4. Bacterias gramnegativas anaerobias facultativas

Dentro de este grupo destacaremos a la familia *Enterobacteriaceae*, cuya clasificación podrá obedecer a criterios taxonómicos, clínicos o bioquímicos.

La clasificación clínica diferenciará entre enterobacterias patógenas oportunistas, que aprovecharán situaciones de alta susceptibilidad del huésped para hacerse patentes, y enterobacterias patógenas verdaderas, que no requerirán de una disminución de las defensas para manifestarse.

Las enterobacterias oportunistas serán microorganismos que se encontrarán en la flora normal del tracto digestivo del hombre, y que por ser altamente resistentes se localizarán también en el ambiente contaminando las aguas y los alimentos.

Al ser componentes normales de la flora del colon, podrán colonizar tanto las superficies mucosas como cutáneas de los pacientes en cuidados intensivos. La gran mayoría de las infecciones serán producidas por *E. coli*, *Klebsiella* y *Proteus*. Cualquier órgano o superficie del cuerpo será susceptible a la infección por estos microorganismos oportunistas, por lo que el aislamiento de estas bacterias en cualquier localización estéril será debido a un proceso infeccioso, mientras que el aislamiento de estas mismas bacterias en lugares no estériles, requerirá de un contexto clínico para señalarlas como responsables de la infección.

Serán causa frecuente tanto de infecciones hospitalarias como comunitarias, aislándose como responsables de infecciones del tracto urinario (ITU) y de las infecciones de heridas, así como de las infecciones abdominales y de las bacteriemias.

Todas las enterobacterias de interés clínico presentarán resistencia in vitro a los siguientes antimicrobianos: penicilina, isoxazolil penicilina (oxacilina), meticilina, glucopéptidos, macrólidos, clindamicina y linezolid [56].

Habrá que tener presente, que para que las bacterias eviten la acción del antibiótico, no bastará con que el germen posea un gen que codifique un mecanismo de resistencia efectivo, sino que deberá existir el promotor adecuado a ese gen para que éste sea expresado en cantidad y calidad suficiente.

Esto será el punto de partida para entender la resistencia natural de las enterobacterias a los betalactámicos.

La resistencia natural de las enterobacterias a los betalactámicos podrá agruparse de acuerdo a la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros [15] o clase

C de Ambler (tabla 1.3) en productoras y no productoras de betalactamasa cromosómica inducible de clase 1 o AmpC.

Así, a modo de ejemplo se observará producción de betalactamasa cromosómica del tipo AmpC inducible en cepas de *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* y *Providencia* spp.

Estas enterobacterias presentarán resistencia a ampicilina y amoxicilina, con o sin ácido clavulánico, y a cefalosporinas de primera generación.

Asimismo *E. cloacae*, *E. aerogenes* y *C. freundii*, presentarán resistencia a cefoxitina; mientras que *S. marcescens*, *M. morganii* y *Providencia* spp. tendrán sensibilidad variable a este antibiótico [76].

Estas enzimas podrán expresarse habitualmente a niveles bajos (estado inducible) e incrementar su síntesis en presencia de determinados antibióticos betalactámicos (inducción).

La expresión permanente de niveles elevados de enzima (estado desreprimido), determinará resistencia a cefalosporinas de tercera generación, por mutación en los genes reguladores.

Estas mutantes podrán seleccionarse durante el tratamiento con determinados antibióticos betalactámicos.

El carácter inducible de estas enzimas será fácilmente detectable mediante la técnica de difusión, al aproximarse discos de cefoxitina o imipenem a ceftazidima o cefuroxima [17].

Grupo funcional	Clase molecular (Ambler)	Características	Inhibición ácido clavulánico	Inhibición EDTA	Enzimas representativas
1	C	Cefalosporinas, resistente a todos los betalactámicos, sensible sólo a carbapénicos	No	No	AmpC
2a	A	Penicilinasas	Sí	No	Penicilinasas
2b	A	Betalactamas de amplio espectro	Sí	No	TEM-1,2 SHV1
2be	A	Betalactamasas de espectro extendido	Sí	No	TEM328 SHV2-6
2br	A	Enzimas de amplio espectro resistente a inhibidores excepto tazobactam	Sí/No	No	TEM30-36 TRC-1
2c	A	Penicilinasas Carbenicilinasas	Sí	No	PSE-1 CARB3
2d	D	Cloxacilinasas	Sí/No	No	OXA1-11 PSE-2
2e	A	Cefaloporinasas	Sí	No	Inducible desde <i>P. vulgaris</i>
2f	A	Carbapenemasas	Sí	No	NMCA Smel
3a,3b,3c	B	Meta-betalactamasas, resistentes a carbapénicos	No	Sí	L1 CcrA
4	ND	-	No	¿?	Penicilinasas desde <i>B. cepacia</i>

Tabla 1.3: Clasificación de las betalactamasas según Bush-Jacoby-Medeiros

En general, será suficiente una correcta identificación (género y especie) para predecir el posible desarrollo de este tipo de resistencia durante el tratamiento, no siendo necesario este tipo de técnicas en la práctica diaria.

Por otro lado, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri* presentarán resistencia natural a las aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina), carboxipenicilinas (ticarcilina y carbenicilina) y ureidopenicilinas (piperacilina) debido a una betalactamasa cromosómica constitutiva que se expresará de forma moderada o baja y que será inhibida por ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam.

El patrón de sensibilidad natural deberá estar en concordancia con la cepa aislada. De este modo, *Providencia*, *Proteus* y *Morganella* presentarán

resistencia natural a colistina y nitrofurantoina; *Serratia* deberá ser siempre resistente a la colistina, y *P. mirabilis* a tetraciclinas. De manera que cualquier microorganismo que no muestre una resistencia esperada deberá ser replanteado.

Frente a este patrón de resistencia natural se le podrá sumar un patrón de resistencia adquirida, que determinará un modelo más difícil de interpretar.

Así pues, la resistencia adquirida cambiará el fenotipo natural de resistencia de una especie determinada, siendo el patrón de resistencia resultante la suma de la natural más la adquirida.

La presencia de nuevas enzimas, no propias de la especie, podrá deberse a mutaciones en cromosomas naturales o a la adquisición de material extracromosómico, que la bacteria asimilará y perpetuará bien en forma de plásmidos o bien por incorporación directa en su cromosoma.

Los fenotipos de resistencia adquirida podrán ser:

- Producción de penicilinasas.
- Producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
- Hiperproducción de betalactamasa cromosómica de clase A.
- Hiperproducción de betalactamasa cromosómica de clase C y cefamicinasas plasmídicas.
- Producción de betalactamasas activas frente a carbapenems.

Las betalactamasas serán en definitiva, enzimas producidas por las bacterias para inactivar a los betalactámicos, al hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico de las penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos para dar lugar a compuestos sin actividad antibacteriana [17].

La dificultad terapéutica derivará de la capacidad que tienen las enterobacterias de producir betalactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas de origen plasmídico que conferirán resistencia bacteriana frente a cefalosporinas de tercera generación, monobactámicos y, en menor medida, frente a cefalosporinas de cuarta generación, y que sin embargo conservarán la sensibilidad a las cefamicinas (cefoxitina, cefotetan, cefamandol), los carbapenems y los inhibidores de betalactamasas.

Las BLEE derivarán de betalactamasas clásicas como las del grupo TEM o SHV (presentes en muchas enterobacterias como *E. coli* y *K. pneumoniae*), por mutaciones aleatorias originadas por la presión selectiva ejercida por antibióticos de mayor espectro como las cefalosporinas de tercera generación [30].

A diferencia de las betalactamasas cromosómicas, la resistencia de las betalactamasas plasmídicas será transferible, lo que posibilitará la diseminación de este mecanismo de resistencia no sólo entre distintas cepas de la misma especie sino también entre distintas especies bacterianas.

No será raro que los plásmidos que codifican a las BLEE tengan determinantes de resistencia a otros antibióticos como a aminoglucósidos o al cotrimoxazol, e incluso por razones poco conocidas serán habitualmente más resistentes a las quinolonas que las cepas no productoras de BLEE.

Las betalactamasas de espectro extendido serán producidas con una alta frecuencia por *E. coli* y *K. pneumoniae* pudiéndose también observar este tipo de resistencia en microorganismos no fermentadores como *Pseudomonas*.

Los fenotipos de resistencia de las BLEE serán similares a los que se observarán en casos de hiperproducción de betalactamasas cromosómicas AmpC, mencionadas anteriormente.

La efectividad de las cefamicinas para el tratamiento de las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE será escasa, debido al frecuente desarrollo de resistencias por pérdida de la expresión de porinas necesarias para el paso del antibiótico.

El betalactámico de elección para las cepas productoras de BLEE será el imipenem, puesto que la asociación amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam fuera de las infecciones urinarias tendrá efecto variable. La incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas activas frente a las carbapenems será muy baja en España y producirá una resistencia de alto nivel, no solo al imipenem, sino también al resto de betalactámicos.

1.3.5. Bacilos gramnegativos no fermentadores

Bajo este término se concentrará un variado grupo de microorganismos no fermentadores de glucosa, aerobios estrictos y de distribución muy ubicua, localizados en reservorios naturales como el suelo y el agua.

Se caracterizan por ser responsables de infecciones oportunistas de cualquier localización.

Dentro de este grupo nos referiremos a los que tendrán más relevancia clínica como son *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.

P. aeruginosa vivirá como saprofito en cualquier ambiente húmedo incluido las soluciones desinfectantes. La entrada de esta bacteria en el ser humano se producirá por vía oral o respiratoria, puesto que la capacidad patogénica que tiene la *P. aeruginosa* en el tracto gastrointestinal va a ser escasa, hallándose solo de forma ocasional en la flora normal intestinal.

Entre los factores que predispondrán a la infección por *P. aeruginosa* se encontrarán la quiebra de barreras defensivas naturales (piel o mucosas), la inmunosupresión (aislamiento frecuente en niños con fibrosis quística) y la alteración de la flora bacteriana normal por el mal uso de antibióticos.

Acinetobacter diferirá de otros miembros de la familia *Neisseriaceae* por la simplicidad de sus requisitos de crecimiento.

Es un germen de vida libre que se podrá encontrar tanto en objetos animados como inanimados. En la totalidad de las muestras del suelo y del agua se identificará al *Acinetobacter*, por lo que no será de extrañar que se aísle en un gran repertorio de muestras humanas.

Podrá estar tanto como colonizante de piel y faringe de adultos y lactantes sanos, como colonizante frecuente en pacientes ingresados con traqueostomía.

Su significación clínica será difícil debido a su amplia distribución en la naturaleza y su capacidad para colonizar tejidos sanos. Sólo si existiera alteración de los mecanismos de defensa normales del huésped (EPOC, alcoholismo,

diabetes, cirugía, heridas, instrumentación o uso de antibióticos de amplio espectro) el papel del *Acinetobacter* en la infección podría ser claro.

P. aeruginosa posee una resistencia intrínseca a múltiples antibióticos, a lo que se le suma el hecho de ser un microorganismo con una gran capacidad para adquirir nuevos mecanismos de resistencia.

La presencia de bombas de expulsión así como la impermeabilidad de la membrana hará que la *P. aeruginosa* sea resistente frente a los betalactámicos, a la tetraciclina, a los macrólidos, a las fluorquinolonas, a las sulfonamidas y al trimetoprim.

La resistencia a los antibióticos betalactámicos podrá deberse, no sólo a la presencia de sistemas de expulsión activa o déficit de porinas, sino también a la producción de betalactamasas tipo AmpC o betalactamasas plasmídicas tipo PSE (*P. specific enzyme*) que conferirá resistencia a la ticarcilina, a la piperacilina o betalactamasas tipo OXA que confieren resistencia a la ticarcilina, a la piperacilina, a la ceftazidima, a la cefepima y al aztreonam, pero no a los carbapenems.

Se ha visto también la existencia de carbapenemasas tipo metalobetalactamas que hidrolizarán a la ticarcilina, a la piperacilina, a la ceftazidima, al cefepime, al imipenem y al meropenem pero no frente al aztreonam.

Frente a los aminoglucósidos, la *P. aeruginosa* podrá mostrar resistencia gracias a la inactivación del antibiótico por enzimas modificantes, por la alteración de la permeabilidad o mediante bombas de expulsión. La expresión de todos estos fenotipos de resistencia determinará la resistencia a todos los aminoglucósidos.

Al igual que ocurre con la enterobacterias, la resistencia a las quinolonas puede deberse a la modificación de la diana (mutaciones en la topoisomerasa o DNA girasa), o bien a alteraciones en la permeabilidad o sobreexpresión de las bombas de expulsión.

Dentro del género *Acinetobacter*, oxidasa negativo, la especie aislada con mayor frecuencia y mayor interés clínico es *A. baumannii*.

Esta especie es sin duda la que mayor resistencia antibiótica muestra dentro de su género. No obstante, los mecanismos de resistencia de *A. baumannii* no están del todo claros, lo que dificulta la interpretación del antibiograma.

A. baumannii es resistente a la mayoría de los betalactámicos, debido tanto a la presencia de betalactamasas tipo TEM u OXA como a la presencia de betalactamasas tipo AmpC o carbapenemasas tipo IMP.

La resistencia a aminoglucósidos y fluorquinolonas corresponde tanto a la modificación del antibiótico como a la alteración de la permeabilidad así como a la existencia de bombas de expulsión.

El tratamiento de elección frente a *P. aeruginosa* suele ser la asociación de imipenem más tobramicina o amikacina (en caso de ser resistente a tobramicina), fluorquinolonas o piperacilina más tazobactam.

Acinetobacter puede colonizar la piel, la faringe, el tracto gastrointestinal y la vagina. A la hora de considerar el tratamiento hay que tener presente si se trata de una colonización o de una posible contaminación ambiental. La colonización no requiere tratamiento específico.

En el caso de *A. baumannii* se emplea imipenem o tigeciclina más sulbactam. El sulbactam tiene una actividad intrínseca frente él, siendo de los escasos inhibidores de betalactamasas que tienen actividad antibacteriana.

2 Justificación de la investigación

Atendiendo a lo expuesto en la introducción, decimos que el empleo de fármacos antimicrobianos puede prescribirse de forma dirigida (mediante resultados microbiológicos), empírica o profiláctica. En cualquier caso para hacer una buena selección de los mismos, hará falta conocer el origen de la bacteriemia, la frecuencia de resistencia a los distintos patógenos aislados, así como los factores de riesgo, tanto intrínsecos como extrínsecos, que acompañarán al paciente a su ingreso.

Esta investigación se justifica debido a la carencia tanto de estudios previos sobre incidencia de bacteriemias en servicio de urgencias, como del perfil global de sensibilidad antibiótica de todos los agentes aislados a partir de los hemocultivos extraídos en esta área del hospital, lo que se asociará a una falta de conocimiento en cuanto a la frecuencia de resistencias y la efectividad de la tigeciclina, la daptomicina y el linezolid frente a los aislamientos obtenidos.

3 Hipótesis de la investigación

Es una propuesta que se hará basándose en un sistema de conocimientos, que establecerá una relación entre dos o más variables para explicar y predecir, en la medida de lo posible, aquellas circunstancias que determinarán una bacteriemia en esta área del hospital y así conocer la susceptibilidad antibiótica a los agentes infecciosos aislados y la existencia o ausencia de multirresistencia.

La hipótesis de trabajo de la presente propuesta establece: “Conociendo el perfil de susceptibilidad antibiótica a los distintos agentes aislados en las bacteriemias diagnosticadas en el servicio de urgencias, se podrá acotar la frecuencia de multirresistencia testada y establecer un uso empírico de los antibióticos de amplio espectro o de nueva generación”.

4 Objetivos de la investigación

4.1. Objetivo principal

El trabajo de tesis se encontrará dirigido a resolver los siguientes interrogantes, que serán producto del análisis realizado sobre la población que ingresa en el servicio de urgencias de medicina, de un hospital de tercer nivel, en Santa Cruz de Tenerife.

Evaluar la incidencia de bacterimias en el Servicio de Urgencias

4.2. Objetivos secundarios

Determinar la frecuencia de presentación de los distintos patógenos aislados y el perfil de sensibilidad antibiótica de éstos.

Conocer la incidencia de SARM y BLEE.

Evaluar el papel de la tigeciclina, daptomicina y linezolid frente a las cepas multirresistentes aisladas.

Analizar la población que se verá afectada por este proceso infeccioso, y los factores de riesgo subyacentes que se encontrarán en relación con los pacientes.

5 Material y métodos

5.1. Características del hospital

Centro hospitalario público perteneciente al Servicio Canario de Salud, orientado a la asistencia médica de la zona sur de Tenerife, siendo hospital de referencia para las islas de La Gomera y El Hierro. Además, por sus características estructurales y tecnológicas y en función de las necesidades que de él se demanden, está acreditado como hospital de referencia para todas las Áreas de Salud de Canarias.

Este hospital consta de:

- 960 camas de las que 24 son camas de hospital de día y de menos de 24 horas.
- 22 quirófanos
- 90 locales de consulta externa y áreas de procesamiento diagnóstico.

5.2. Descripción de las variables usadas

En este estudio se emplearon 11 tipos de variables diferentes, agrupadas dentro de una de las siguientes categorías:

- Variables cualitativas dicotómicas
- Variables cualitativas categóricas
- Variables cuantitativas continuas

Dentro de las variables cualitativas dicotómicas se incluyó el sexo (hombre o mujer), el exitus (sí o no) y los factores de riesgo asociados (presencia o ausencia).

La enfermedad de base, el origen de la bacteriemia, la fórmula leucocitaria al ingreso, el tipo de microorganismo identificado, así como las categorías clínicas de sensibilidad, resistencia y sensibilidad intermedia a los antibióticos testados, se estudiaron como variables categóricas cualitativas, considerándose finalmente como variables cuantitativas continuas a la edad, expresada en años, y a la concentración mínima inhibitoria ($\mu\text{g/ml}$).

La identificación de los microorganismos se hizo por las tarjetas colorimétricas Vitek®2, las cuales presentan una colección de pruebas estandarizadas y miniaturizadas en una tarjeta cerrada de 64 micropocillos.

Cada pocillo contiene un medio de reacción deshidratado que es rehidratado con 30 μl de suspensión bacteriana. Un pocillo corresponde a una prueba

y algunos pocillos se usan como controles de lectura. No es necesario el uso de reactivos adicionales.

Tabla 5.1: Resumen de las tarjetas de identificación Vitek®2

Gérmenes	Referencia	Taxones identifica- dos	Pruebas identifica- tivas	Tiempo hasta ob- tención de resultados	Inóculo ini- cial (McF)
Bacilos gramnega- tivos	GN-21341	147	47	2–10 h.	0,5
Cocos gramposi- tivos	GP-21342	115	43	2–8 h.	0,5
Levaduras	YST-21343	50	46	18 h.	1,8–2,2
<i>Neisseria</i> / <i>Haemophilus</i>	NH-21346	27	30	6 h.	2,7–3,3
Anaerobios	ANC-2134	63	36	6 h.	2,7–3,3

Las tarjetas de identificación Vitek®2, se emplearon en la identificación automática de las bacterias clínicamente significativas. Estas tarjetas están basadas en métodos bioquímicos establecidos y en sustratos que miden la utilización de la fuente de carbono, actividades enzimáticas, y resistencia. Hay de media 40 pruebas bioquímicas y un pocillo de control negativo.

En cuanto a la descripción de las tarjetas de sensibilidad Vitek 2, comentar que son tarjetas de plástico con 64 micropocillos. Cada pocillo contiene diluciones cambiantes de agentes antimicrobianos específicos, que varían en función de la tarjeta de identificación empleada.

5.3. Características del estudio

Estudio retrospectivo y descriptivo realizado durante el año 2008, cuyo interés fue describir las causas que originaron una bacteriemia desde el punto de vista demográfico, clínico y microbiológico.

La investigación tuvo un carácter descriptivo al estudiar tanto los factores pronósticos que determinaron la infección, como los agentes causales que la originaron, incluyéndose además el perfil de sensibilidad antibiótica de los agentes aislados.

La unidad de estudio fue la población que ingresó en el mencionado servicio, diagnosticada de una bacteriemia por el Laboratorio de Microbiología.

Se eligió el servicio de urgencias (con exclusión de los departamentos de cirugía, pediatría, ginecología y traumatología) debido a que se desconocía tanto la incidencia de la enfermedad en dicha área, como las características clínicas y microbiológicas de los pacientes que la padecían en el momento de su ingreso.

Conocer los factores de riesgo que predispusieron a las infecciones supuso un elemento esencial. En este estudio se dividió los factores de riesgo en dos tipos: intrínsecos, que son aquellos inherentes al propio enfermo como las enfermedades de base de los pacientes que ingresaron y que fueron merecedoras de un cultivo de sangre para su estudio microbiológico, y factores extrínsecos, que son aquellos factores exógenos que se asociaron al uso de catéter, sondas, prótesis o dispositivos intravasculares.

El determinar el foco de origen de la bacteriemia, su incidencia, la frecuencia de resistencia/sensibilidad de los distintos patógenos aislados, así como la caracterización de la población afectada por edad, sexo, mortalidad total, tiempo de hospitalización y factores de riesgo intrínsecos/extrínsecos asociados, permitió conocer los agentes que provocaron una bacteriemia, así como establecer una correcta selección de los antimicrobianos, incluyendo los de nueva generación como son la tigeciclina, daptomicina y linezolid, reduciéndose así la formación de multirresistencias futuras.

La determinación del foco de origen se obtuvo mediante la revisión de las historias clínicas de los pacientes estudiados, determinándose “de origen desconocido” cuando los datos resultaron confusos o no se halló ninguna localización. Asimismo, el foco de origen permitió diferenciar entre bacteriemias primarias y bacteriemias secundarias, ya comentadas anteriormente.

Además, las historias clínicas sirvieron para conocer la edad, el sexo, la fórmula leucocitaria al ingreso, el tiempo de hospitalización desde que se ingresó hasta que se le dio el alta, la enfermedad de base y la mortalidad en caso de que existiera, incluyéndose la mortalidad que se produjo tras el alta y hasta cuatro meses después del ingreso (mortalidad total).

La enfermedad de base fue clasificada en las siguientes categorías [93]:

- Neoplasia, como tumor establecido o en progresión.
- Diabetes tipo I y II que hubieran sido diagnosticadas durante o previamente a la hospitalización.
- Alcoholismo, ingesta de más de 80 g de alcohol/día

- EPOC, incluyendo bronquitis crónica y enfisema.
- Insuficiencia renal crónica, pacientes en diálisis o con un aclaramiento menor de 30 ml/minuto.
- VIH positivo y/o SIDA, de acuerdo a la clasificación de CDC (Atlanta, USA, año 1992).
- Demencias, pacientes postrados en cama o con alteraciones deglutorias.
- Trastornos neurológicos, pacientes con Alzheimer, epilepsia y esquizofrenia.
- Neumonía, pacientes con 2 o más radiografías de tórax sucesivas con infiltración, consolidación o cavitación, y al menos uno de los siguientes signos o síntomas: leucopenia (recuento igual o inferior a 4000 leucocitos por milímetro cúbico) o leucocitosis (recuento igual o superior a 12000 leucocitos por milímetro cúbico) y en el caso de adultos mayores de 70 años, estado mental alterado sin otra causa reconocida. Y al menos 2 de los siguientes: esputo purulento (que contengan más de 25 neutrófilos y un número igual o inferior de células epiteliales), tos, disnea o taquipnea (con más de 25 respiraciones por minuto), crepitaciones o empeoramiento del intercambio gaseoso.
- Infección del aparato digestivo, donde se incluyeron las gastroenteritis, las hepatitis agudas o crónicas, y las infecciones del tracto gastrointestinal.

Resultó muy difícil establecer todas aquellas situaciones en las que se debieron extraer hemocultivos pero, como en líneas generales la gran mayoría de

las enfermedades infecciosas cursan con alteraciones de la fórmula leucocitaria (superior a 12000/mm³ o inferior a 4000/mm³) asociada o no a fiebre (más de 38 °C), hipotermia (menos de 37 °C), aumento de la frecuencia respiratoria (más de 20 respiraciones por minuto) o cardíaca (más de 90 latidos por minuto), se pudo considerar algunos de estos factores como criterios adecuados para solicitar el estudio microbiológico del cultivo de sangre.

La bacteriemia confirmada por el laboratorio debió de cumplir como mínimo unos de los siguientes criterios:

- En al menos un hemocultivo se aisló un microorganismo que no fue un contaminante habitual de la piel.¹
- Tener uno de los siguientes síntomas, signos o hallazgos de laboratorio sin relación con otro foco infeccioso: fiebre, escalofríos o hipotensión, y en al menos dos hemocultivos que no se practicaron simultáneamente (pero con menos de 48 horas de diferencia entre sí), donde se aislaron el mismo contaminante habitual de la piel.² Si los microorganismos contaminantes habituales de la piel aislados en dos hemocultivos distintos tuvieron antibiogramas diferentes para uno o más antimicrobianos de las principales familias estudiadas, se asumió que los microorganismos fueron diferentes.

Para establecer el diagnóstico del foco de origen que motivó el hemocultivo positivo se usó los siguientes criterios:

- Infección urinaria: debió existir alguna de las siguientes condiciones; urocultivo positivo, con al menos 10⁵ colonias, con no más de 2 especies bac-

¹P. ej.: *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Candida*

²*Staphylococcus* coagulasa negativa (incluyendo *S. epidermidis*), *S. viridans*, *Micrococcus* spp.

terianas aisladas, piuria con 10 leucocitos por campo o un diagnóstico clínico.

- Infección respiratoria: en caso de neumonía se debió presentar una de las siguientes condiciones: expectoración purulenta o cambios en la habitual, radiografía con condensación o cavidades y hemocultivos positivos. En caso de bronquitis, debió de existir una radiografía de tórax normal, así como fiebre de $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$, tos y sibilancias.
- Origen abdominal: se incluyó aquí las peritonitis tanto primarias como secundarias así como las gastroenteritis que cursaron con diarrea aguda de 12 horas o más, con o sin vómitos, o fiebre, en ausencia de otro foco, también se consideró las náuseas, los vómitos y el dolor abdominal, acompañado de cultivo positivo de material fecal.
- Endocarditis (prótesis valvular): en presencia de fiebre ($T > 38\text{ }^{\circ}\text{C}$), soplo nuevo, embolia o alteraciones de piel, insuficiencia cardíaca, así como hemocultivos positivos y evidencia de vegetaciones en una ecografía.
- Infección de catéter venoso: en presencia de un cultivo de catéter con más de 15 colonias, así como, fiebre, dolor regional, eritema y calor, o drenaje purulento por venopunción o catéter.
- Infección de piel o de partes blandas (cutáneo, fístula y herida quirúrgica): debió de presentar un drenaje purulento, vesículas o ampollas, y dos de los siguientes signos: dolor local, edema, eritema, calor y un cultivo de secreción positivo o hemocultivo positivo.

En casos con más de un foco probable de infección o en los que no se lograron reunir criterios para determinar alguno de ellos, se utilizaron criterios clínicos, avalados por la propia historia del paciente.

En casos de focos de infección diferentes a los explicitados se utilizaron las definiciones del CDC. En caso de no poderse determinar un foco se consignó como foco de origen desconocido.

Como factores de riesgo extrínseco asociado se consideraron:

- Prótesis valvular; incluida la bioprótesis y homoinjerto.
- Marcapasos; tanto endocavitarios como epicárdicos.
- Diálisis.
- Prótesis articular; se incluye implantes, implantes-hueso y la del propio hueso que rodea al cuerpo extraño.
- Catéter; tanto central como periférico.

No se valoró la gravedad de la enfermedad de base, por lo que no se hizo referencia a las definiciones de McCabe-Jackson [67] ni se usó el índice de Pitt [89] como factor pronóstico de bacteriemias.

Al no tenerse en cuenta la procalcitonina [34, 54] como mediador secundario en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica se usó la leucocitosis y la fiebre como ayuda en la diferenciación de la sepsis de otras causas no infecciosas. La mortalidad que se obtuvo fue una mortalidad cruda, no pudiéndose relacionar con la enfermedad infecciosa a estudio.

Estudios previos han determinado que el incremento de la incidencia de sepsis se debe al envejecimiento de la población, a la mayor supervivencia de los casos de enfermedades crónicas, a los tratamientos médicos con inmunosupresores o antibióticos y al uso de técnicas invasivas como la colocación de catéteres [57].

5.4. Obtención de muestras, procesamiento y sensibilidad antibiótica

La extracción de sangre se realizó por venopunción en lugares distintos y en condiciones de asepsia.

El número habitual de extracciones fue de 2 a 3. De manera, que por cada individuo estudiado la media de hemocultivos obtenidos fue de 3 *sets* (cada *set* de dos frascos, uno aerobio y otro anaerobio).

El volumen de sangre se repartió en proporciones iguales en cada *set* de hemocultivos (aerobio/anaerobio), siendo de 10 ml por cada frasco.

Una vez extraído el hemocultivo, el Laboratorio de Microbiología realizó su procesamiento a través de un sistema automatizado (Bact alert 3D), que efectuó lecturas periódicas del crecimiento bacteriano midiendo la producción de CO₂. Si hay microorganismos en la muestra de análisis, se genera dióxido de carbono a medida que los microorganismos metabolizan los sustratos del medio de cultivo. Cuando el crecimiento de los microorganismos genera CO₂, el color del sensor presente en el fondo de cada frasco de cultivo cambia de color azul-verdoso a un color más claro.

Un diodo emisor de luz (LED) proyecta luz sobre el sensor. Un fotodetector mide la luz reflejada. Cuanto más CO₂ se genera, mayor es la cantidad de luz reflejada. Esta información se compara con el nivel inicial de CO₂ del frasco. Si existe una aceleración sostenida de la tasa de producción de CO₂, un contenido inicial de CO₂ elevado o una tasa de producción de CO₂ inusualmente alta, se determina que la muestra es positiva. El crecimiento microbiano también puede determinarse como positivo por un cambio lento sostenido en la producción de CO₂. Si el nivel de CO₂ no varía significativamente después de un número determinado de días en condiciones óptimas, se determina que la muestra es negativa.

En caso de muestras positivas, se procedió a iniciar un proceso para la identificación y conocimiento de la sensibilidad antimicrobiana del agente infeccioso aislado, y en caso negativo, los hemocultivos permanecieron en el sistema automatizado de incubación durante el tiempo programado.

Así pues, a todos los hemocultivos positivos se les hizo una tinción de Gram y subcultivos en medios sólidos (agar columbia, agar chocolate Polyvitex, agar MacConkey, agar Schaedler + 5 % de sangre de cordero y caldo de corazón-cerebro) para incubarse de 35–37 °C en atmosfera aerobia/anaerobia.

El agar Columbia es un medio de aislamiento destinado al desarrollo de todos los microorganismos encontrados habitualmente en muestras de diversos orígenes [41]. El agar contiene una mezcla de peptonas particularmente adaptada al cultivo de microorganismos exigentes. La presencia de sangre permite la expresión de la hemólisis, que es uno de los criterios base en la orientación para la identificación bacteriana [32, 35, 37]. De manera que la presencia de hemólisis puede ser:

- Hemólisis α : coloración verdosa alrededor de la colonia.
- Hemólisis β : zona de color más claro alrededor de la colonia o bajo la colonia.

Con respecto al agar Chocolate PolyVitex (PVX) es un medio de aislamiento destinado específicamente al cultivo de las cepas exigentes pertenecientes a los gérmenes de *Neisseria*, *Haemophilus* y *Streptococcus pneumoniae* [65].

Este medio se compone de una base nutritiva enriquecida con factores X (hemina) y V (NAD) aportados por la hemoglobina y el PolyVitex [18, 96].

En cuanto al agar MacConkey (MCK) es un medio selectivo para el aislamiento y diferenciación en la detección de enterobacterias [11, 36]. El agar MacConkey con cristal violeta detecta la fermentación de la lactosa mediante el cambio de color del rojo neutro. Los microorganismos que fermentan la lactosa producen colonias de color rosa a rojo, a veces rodeadas de un halo de sales biliares [64].

Los microorganismos que no fermentan la lactosa producen colonias incoloras o de un color ligeramente beige.

La selectividad de las bacterias gramnegativas se produce por la presencia de sales biliares y cristal violeta [9] que son inhibidores de la flora grampositiva.

El uso de agar Schaedler + 5% de sangre de cordero (SCS) fue para el aislamiento de bacterias anaerobias estrictas y facultativas [85]. La presencia de factores de crecimiento tales como el extracto de levadura, la hemina y la

vitamina K₃, así como la adición de sangre de cordero, permite el crecimiento de las especies más exigentes [107].

La presencia de un reductor (L-cistina) y de glucosa a gran concentración favorece el desarrollo de las especies anaerobias [90, 94, 95].

Tanto la caracterización del agente infeccioso como la sensibilidad antibiótica se realizó por el sistema Vitek, basado en un proceso de microdilución automatizada y en el empleo de tarjetas de identificación de microorganismos fundamentadas en 43 ensayos bioquímicos que midieron la utilización de la fuente de carbono y la actividad enzimática. Obteniéndose los resultados en un espacio de tiempo que varió de 8 a 24 horas.

La preparación del inóculo se hizo a partir de cultivos puros:

1. En primer lugar se eligió colonias aisladas de una placa primaria
2. Se transfirió asépticamente 3 ml de solución salina estéril (NaCl acuoso al 0,45-0,5 %, con un pH de 4,5 a 7) en un tubo de ensayo de plástico transparente (poliestireno) de 12 x 75 mm.
3. Se usó un bastoncillo o una torunda estéril para transferir un número suficiente de colonias morfológicamente similares al tubo con solución salina preparado en el paso anterior. Se preparó la suspensión homogénea de microorganismo con una densidad equivalente a un patrón McFarland de 0,5 a 0,6, usando el DENSICHEK de Vitek 2 calibrado.
4. El tiempo de suspensión no debió de superar los 30 minutos antes de inocular la tarjeta.

El test de sensibilidad antimicrobiana (AST) Vitek®2 está diseñado para ser utilizado con el sistema de identificación Vitek 2 para el análisis de sensibilidad cuantitativo y cualitativo automatizado de colonias aisladas de los bacilos gramnegativos más significativos desde el punto de vista clínico, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp. y levaduras. En definitiva, está indicado para cualquier microorganismo que esté implicado en un proceso infeccioso.

Los test de sensibilidad requerirán entre 16 y 24 horas de incubación. Al final del ciclo de incubación, se determina los valores de la CMI para cada antibiótico contenido en la tarjeta.

Los puntos de corte que utilizó este sistema están en concordancia con los propuestos por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* y vigentes durante el periodo de estudio.

Las cepas correspondientes a una categoría intermedia de sensibilidad fueron informadas como resistentes y el porcentaje de sensibilidad se calculó como el número de aislados sensibles dividido por el número total de aislados y multiplicado por 100.

No obstante, la confirmación de la resistencia a antibióticos tipo linezolid, glucopeptidos, betalactámicos de amplio espectro o penicilinas antiestafilocócicas, se hizo mediante el método de difusión en agar Mueller-Hinton 2 (MH2) [24]. La composición de este medio permite el crecimiento de las bacterias no exigentes (enterobacterias, bacilos gramnegativos no fermentadores, estafilococos y enterococos) presentes en patología.

Dispone de una concentración de iones bivalentes ajustada que permite garantizar una mejor precisión para determinar la sensibilidad de las *Pseudomonas* a las tetraciclinas.

Su débil contenido en timina-timidina (elementos inhibidores de la actividad de las sulfamidas) disminuye los fenómenos del recrecimiento alrededor de los discos y permite una mejor determinación de los diámetros de inhibición [27, 50, 74]. El agar Mueller-Hinton es un medio poco nutritivo que permite estandarizar las zonas de inhibición obtenidas alrededor de discos de antibióticos. De esta forma, ciertas cepas exigentes no se desarrollan en este medio.

Este medio no está destinado al cultivo directo de muestras biológicas, de forma que el inóculo se obtuvo a partir de cepas puras aisladas mediante distintos tipos de medios sólidos.

El inóculo se obtuvo mediante suspensión bacteriana con una turbidez equivalente a una escala de 0,5 McFarland (10^5 – 10^6 ufc/ml), a partir de un cultivo puro de 24 horas. La siembra en Mueller-Hinton no se demoró más de 15 minutos después de la preparación del inóculo. Para lo cual, se introdujo un escobillón estéril en la suspensión bacteriana previamente preparada, a continuación, se sembró la superficie del agar tres veces, rotando la placa, para lograr una distribución homogénea del inóculo.

Pasado un periodo de tiempo mínimo de 10 a 15 minutos, se colocaron en la superficie del medio de cultivo unos discos de papel con cantidades conocidas y estandarizadas de antibióticos. Los discos se dispusieron de forma que quedase una distancia de separación mínima de 1,5 cm del extremo de la placa de Petri; no colocándose nunca más de 5 discos por placa.

El antibiograma disco-placa consistió en colocar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con diferentes tipos de antibióticos.

De esta forma, el antibiótico difundió a través del agar a partir del disco. Pasadas 18–24 horas de incubación a 37 ± 2 °C en atmósfera aerobia, los discos aparecieron rodeados de una zona de inhibición. Dichos halos de inhibición se correlacionan con categorías clínicas de sensible, resistente o intermedio.

Después de la incubación del MH2, se midió el diámetro de inhibición del crecimiento alrededor del disco de antibiótico. Los valores obtenidos permitieron definir la sensibilidad de la cepa a cada uno de los antibióticos ensayados, interpretándose según las normas del CLSI.

El principio de este método se aplicó en el E-test. En el método E-test (AB Biodisk, Suecia), se puede, mediante lectura directa, determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI).

Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo y 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. El procesamiento para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco.

El fenotipo de *Staphylococcus aureus* productor de penicilinas se describió como una cepa con resistencia a penicilina y a ampicilina pero sensible a oxacilina y a cefoxitina.

El *S. aureus* resistente a la meticilina se caracterizó por su resistencia a penicilina, ampicilina, oxacilina y cefoxitina.

Tabla 5.2: *S. aureus* productor de penicilinas

	CMI (mg/l)	
Penicilina	$\geq 0,25$	(R)
Ampicilina	$\geq 0,5$	(R)
Oxacilina	≤ 2	(S)
Cefoxitina	≤ 4	(S)

Tabla 5.3: *S. aureus* resistentes a meticilina

	CMI (mg/l)	
Penicilina	$\geq 0,25$	(R)
Ampicilina	$\geq 0,5$	(R)
Oxacilina	≥ 4	(R)
Cefoxitina	≥ 8	(R)

No se asumió que la sensibilidad de *S. aureus* a la gentamicina implicara también sensibilidad al resto de los aminoglucósidos, ya que la presencia del enzima nucleotidiltransferasa o adeniltransferasa denominada ANT(4') es actualmente bastante frecuente entre las cepas de SARM de los hospitales españoles y europeos.

El fenotipo de resistencia a macrólidos (eritromicina) en *S. aureus* se pudo asociar a distintos fenotipos de resistencia o sensibilidad a lincosamidas (clindamicina):

- Resistencia a eritromicina y clindamicina.

- Resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina.

Se consideró a los *S. aureus* con CMI igual o inferior a 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sensibles a la mupirocina.

Como métodos de confirmación de sensibilidad del *S. aureus* se emplearon discos de cefoxitina de 30 µg o de oxacilina de 1 µg en medio de cultivo de Mueller-Hinton agar, con una incubación de 16–18 horas a 35 ± 2 °C en aerobiosis para el estudio de SARM.

Tabla 5.4: Fenotipo y genotipo de resistencia a macrólidos en *Staphylococcus*

Mecanismo de resistencia	Gen implicado	Fenotipo	Macrólidos 14-15 ^a	Macrólidos 16 ^b	Clindamicina
Metilación ribosomal	<i>ermA,B,C</i>	MLS _B inducible	R	<i>s</i>	<i>s</i>
		MLS _B constitutivo	R	R	R
Expulsión activa	<i>msrA</i>	MS _B	R	S	S

^aMacrólidos de 14 átomos: claritromicina, eritromicina y roxitromicina. Macrólidos de 15 átomos: azitromicina

^bMacrólidos de 16 átomos: espiramicina

s: sensible in vitro pero con riesgo de seleccionar mutantes de expresión constitutiva de la resistencia in vivo

S: sensible

Las cepas resistentes a la oxacilina (con un halo de inhibición igual o inferior a 21 mm) o cefoxitina (con un halo de inhibición igual o inferior a 20 mm) indicaron la presencia del gen *mecA*, y por tanto, la resistencia a todos los betalactámicos.

Para estudiar la sensibilidad disminuida a la vancomicina y la teicoplanina en dichas cepas se empleó E-test en el mismo medio de cultivo y mismas condiciones anteriores. Las cepas resistentes mostraron una CMI para vancomicina igual o superior a 16 mg/l y para teicoplanina igual o superior a 32 mg/l, siendo de sensibilidad disminuida (intermedia) cuando la CMI fue entre 4–8 mg/l para la vancomicina y de 16 mg/l para la teicoplanina.

Los E-test de linezolid se emplearon en aislamientos de grampositivos sospechosos, usándose medio de cultivo Mueller-Hinton agar e incubándose de 16–18 horas a 35 ± 2 °C en aerobiosis, validándose como sensible en aquellos gérmenes con una CMI igual o inferior a 4mg/l.

El fenotipo no meníngeo de *Streptococcus pneumoniae* con respecto a la penicilina y a la cefotaxima se pudo presentar como:

- Sensible a penicilina (CMI ≤ 2 µg/ml) y sensible a cefotaxima (CMI ≤ 1 µg/ml)
- Resistencia intermedia a la penicilina (CMI = 4 µg/ml).
- Resistencia a penicilina (CMI ≥ 8 µg/ml).
- Resistencia penicilina (CMI ≥ 8 µg/ml), y resistencia intermedia a cefotaxima (CMI = 2 µg/ml).
- Resistencia intermedia a penicilina (CMI = 4 µg/ml) y resistencia a cefotaxima (CMI ≥ 4 µg/ml).

En los neumococos aislados en sangre se usarán los criterios no meníngeos para el tratamiento.

Con respecto a la resistencia a macrólidos por *S. pneumoniae* pudieron ser:

- Fenotipo MLS_B constitutivo: resistencia a eritromicina y clindamicina.

- Fenotipo MLS_B inducible resistencia a eritromicina y amputación del halo de inhibición a clindamicina.
- Fenotipo M: resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina.

Con respecto al fenotipo de *S. pneumoniae* frente a las fluorquinolonas se pudieron describir tres tipos:

- Sensible a quinolonas CMI ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$.
- Resistencia de bajo nivel a quinolonas CMI 2–4 $\mu\text{g/ml}$
- Resistencia de alto nivel a quinolonas CMI ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$.

Se consideró como productor de betalactamasas a los *Enterococcus faecalis* con resistencia a penicilina, aminopenicilinas (ampicilina) y ureidopenicilinas (piperacilina) y sensibilidad al imipenem. La actividad de esta betalactamasa es inhibida por los inhibidores clásicos de betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam).

Se estableció como alto nivel de resistencia a la gentamicina a las cepas de *Enterococcus faecalis* con una CMI superior a 500 mg/l.

La confirmación de la sensibilidad de enterococos resistentes a glucopeptidos se hizo con discos de vancomicina y teicoplanina (30 μg) en medio de cultivo de agar Mueller-Hinton, con una incubación de 16–18 horas a 35 ± 2 °C en aerobiosis, cuando se usó E-test se empleó el medio BHI con 2 de Mcfarland. Se validó como resistentes cuando los halos de inhibición fueron menores de 14 mm para vancomicina y menores de 10 mm para teicoplanina.

Se estableció como cepas productoras de TEM-1 a los aislamientos de *E. coli* resistentes a la ampicilina y en menor medida a las ureido y acil-ureido penicilinas, sin afectación del resto de antibióticos betalactámicos.

Las cepas de *E. coli* con resistencia a amino- y acilureido-penicilinas, amoxicilina-clavulánico, cefalosporinas de primera (cefazolina) y segunda generación (cefuroxima), incluyendo las metoxi-cefalosporinas (cefotaxima), así como resistencia a ceftazidima, aztreonam, sensibilidad disminuida a cefotaxima y sensibilidad al resto de los antibióticos betalactámicos estudiados, incluyendo las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima) y carbapenems fueron informadas como hiperproductoras de AmpC.

Los aislados de *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido se presentaron como capaces de hidrolizar a las cefalosporinas de amplio espectro y a las monobactamas, pero no a las cefamicinas o a los carbapenems, pudiendo ser inhibidas por inhibidores de betalactamasas tipo ácido clavulánico.

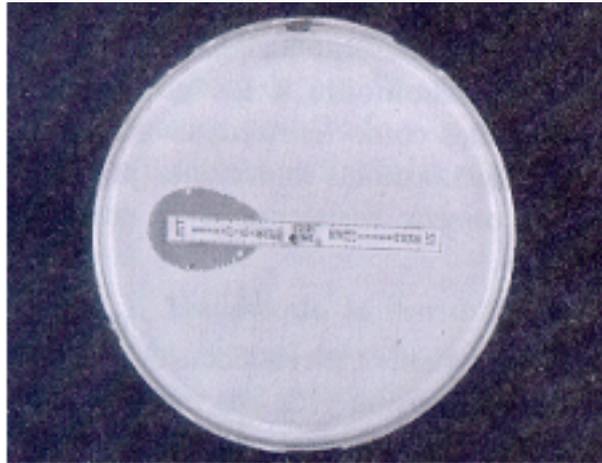
Tabla 5.5: Valores de CMI (microdilución) de los antibióticos estudiados. Los puntos de corte aplicados corresponden a *Enterobacteriaceae* dados por CLSI

Antimicrobiano	CMI	Antimicrobiano	CMI
Ampicilina	> 32 (R)	Cefotaxima	≤ 8 (S)
Amoxi-clavulánico	≤ 2 (S)	Ceftazidima	≥ 32 (R)
Ticarcilina	> 128 (R)	Aztreonam	≥ 32 (R)
Piperacilina	> 128 (R)	Imipenem	≤ 4 (S)
Piperacilina-tazobactam	≤ 4 (S)		

Para la detección de BLEE en cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* se usaron discos de ceftazidima (30 µg), ceftazidima/ácido clavulánico (30/10 µg) y cefotaxima (30 µg), cefotaxima/ácido clavulánico (30/10 µg) en Muller-Hinton, incubándose en iguales condiciones que anteriormente. Estableciéndose positivo a BLEE cuando el incremento del halo con el clavulánico es 5 mm superior al del betalactámico sin él.

También se usaron tiras comerciales de E-test impregnadas con una concentración decreciente de ceftazidima o cefotaxima desde 32 µg/ml hasta 0,5 µg/ml; la otra mitad de la tira contiene ceftazidima (cefotaxima)/ácido clavulánico (2:1) en concentraciones decrecientes desde 8 µg/ml hasta 0,12 µg/ml (figura 5.1).

Figura 5.1: Detección de betalactamasas plasmídicas de espectro extendido por E-test



Se consideró un resultado positivo una reducción de la CMI de la cefalosporina en presencia de clavulánico igual o superior a 8 veces.

Las *E. coli* con alto nivel de resistencia a quinolonas se definió en aquellos aislamientos con resistencia a ácido nalidíxico y a ciprofloxacino, y sensible a amoxicilina, cefalosporinas, gentamicina, tetraciclinas y cotrimoxazol.

El aislamiento de cepas de *E. coli* con resistencia a gentamicina y sensibilidad a amikacina no se usó para deducir la categorización clínica a la tobramicina.

La resistencia de las *Pseudomonas aeruginosa* a la tobramicina es extrapolable a la gentamicina pero no a la amikacina, que puede mantenerse sensible.

Tabla 5.6: CMI (microdilución) y categorías clínicas del fenotipo de *E. coli* con alta resistencia a fluorquinolonas

Antimicrobiano	CMI	
Ácido nalidixico	> 32	(R)
Ciprofloxacino	≥ 4	(R)
Amoxicilina	≤ 2	(S)
Gentamicina	≤ 2	(R)
Cotrimoxazol	≤ 2/38	(S)
Tetraciclina	≤ 4	(S)

Se sospechó de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenems por producción de carbapenemasa de clase B (metalo-beta-lactamasa), en aquellos aislamientos con resistencia a la práctica totalidad de los betalactámicos (incluyendo todas las cefalosporinas y carbapenems) con la excepción de los monobactamas (aztreonam).

Para la detección de metalo-betalactamasas se emplearon E-test de imipenem/imepenem-EDTA, incubándose a 35 ± 2 °C durante 16–18 horas en agar Mueller-Hinton. Se consideró positiva cuando se observó una disminución de tres diluciones o más en la CMI de imipenem en presencia de EDTA.

La resistencia a imipenem y sensibilidad a meropenem, así como sensibilidad a otros betalactámicos fue indicativo de pérdida de porina, ya que la producción de carbapenemasas produce resistencia a ambos carbapenems.

La resistencia a ciprofloxacino en *Pseudomonas aeruginosa* se consideró resistente a todas las fluorquinolanas.

En total, se estudiaron 40 antibióticos pertenecientes a los siguientes grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactamas, aminoglucósidos, macrólidos, lincosamidas, quinolonas, gliciliciclina, tigeciclina y daptomicina.

Una vez identificado y conocido el perfil de sensibilidad antibiótica del agente infeccioso, se volcó la información al sistema informático del laboratorio de microbiología (openlab), a partir del cual se obtuvo la sensibilidad de 29 microorganismos. Sólo se incluyeron las cepas provenientes del servicio de urgencias de medicina (con exclusión de los departamentos de cirugía, pediatría, ginecología y traumatología), correspondientes a muestras de hemocultivos.

Los datos de sensibilidad de los aislados se recogieron durante todo el año 2008.

Para evitar duplicaciones se excluyó a los aislados obtenidos del mismo paciente con sensibilidad similar al aislado inicial.

Se definió el tiempo de ingreso como el tiempo de permanencia medido en días de un paciente en régimen de hospitalización que ocupó una cama; este tiempo se calculó como la diferencia entre la fecha de alta y la fecha de ingreso.

5.5. Análisis estadístico

A partir del programa estadístico SPSS V15 para Windows se desarrolló el siguiente análisis; en un primer momento se describió a los pacientes y microorganismos calculando medias y desviaciones típicas para las variables numéricas normales, y medianas y percentiles para las no normales.

Las variables cualitativas se describieron calculando frecuencias absolutas y relativas.

Posteriormente se estudiaron las posibles relaciones entre las variables de interés (cualitativas), aplicando el test de la distribución χ^2 y, corrigiendo por continuidad en tablas 2x2, con variables dicotómicas.

Se asumió valores significativos de $p < 0,05$.

6 Resultados

Durante el período de estudio, se realizaron un total de 1927 hemocultivos en 729 pacientes adultos. En 135 de ellos, se aislaron 165 microorganismos clínicamente significativos, lo que supuso una incidencia del 18 % (tabla 6.1).

Tabla 6.1: Características de los hemocultivos realizados en el Servicio de Urgencias

Cultivos realizados	1927
Positivos	456 (23,7 %)
Negativos	1439 (74,7 %)
Contaminaciones	32 (1,8 %)
Pacientes estudiados	729
Microorganismos aislados clínicamente significativos	165
Pacientes con bacteriemias verdaderas	135

De los 135 pacientes estudiados, treinta tuvieron más de un aislamiento bacteriano.

Se trataba de 75 hombres y 60 mujeres con edades comprendidas entre los 14 y 93 años ($62,73 \pm 18,59$ años). El 75,5 % era mayor de 50 años. No influyó ni el sexo ni la edad en el mayor tiempo de hospitalización (tabla 6.2). Del total de los afectados, 95 (70,4 %) presentaron fiebre al ingreso, 37 (27,4 %) no tuvieron registro de temperatura y sólo 3 (2,2 %) mostraron hipotermia (tabla 6.3).

Tabla 6.2: Características demográficas de los pacientes con hemocultivos positivos

Sexo	Edad	T. hospitalización	Servicio de alta
Mujeres: 60	Mínima: 14	Mínimo 0	Med. interna 34 (25,2%)
Hombres: 75	Máxima: 93	Máximo 56	Digestivo 22 (16,3%)
	Media: 62,73	Media: 9,39	UVI 12 (8,9%)
			Oncología 10 (7,4%)
			Nefrología 9 (6,7%)
			No consta 9 (6,7%)
			Cardiología 8 (5,9%)
			Hematología 7 (5,2%)
			HOMI(OFRA) 6 (4,4%)
			Urgencias 3 (2,2%)
			Traslado 3 (2,2%)
			Paliativos 2 (1,5%)
			Neumología 2 (1,5%)
			Resto 8 (5,7%)

Del total de los pacientes estudiados, el 75,5% fue mayor de 50 años. No influyó ni el sexo ni la edad en el tiempo de hospitalización

Tabla 6.3: Datos clínicos de los pacientes al ingreso

	Frecuencia	%	Presencia	Ausencia
Afebril	3	2,20	F. Intrínsecos 83%	17%
No consta	37	27,40	F. Extrínsecos 28,2%	71,8%
Fiebre	95	70,40	Tratamiento empírico -	-

Nótese que el 70,40% de los pacientes al ingreso presentaron fiebre y un 83% de ellos padecían enfermedades de base o factores de riesgo intrínseco asociado

Un 57% de los mismos reflejaron en su hemograma inicial valores de leucocitos fuera del rango normal, presentando la leucocitosis con neutrofilia diferencias estadísticamente significativas (tabla 6.4).

El 83% de los pacientes presentaron comorbilidad asociada, y las principales enfermedades fueron las siguientes: diabetes complicada (21,5%), hipertensión (6,7%) y neoplasia (7,4%) (tabla 6.5). El 71,8% no presentaron factores de riesgo extrínsecos asociados (tabla 6.6).

Tabla 6.4: Fórmula leucocitaria de los pacientes estudiados

	Neutrofilia ^a	Neutropenia ^b	Rango normal ^c	Total
Leucocitosis ^d	59 (85,5 %)	2 (2,9 %)	8 (11,6 %)	69 (100 %)
Leucopenia ^e	2 (16,7 %)	6 (50 %)	4 (33,3 %)	12 (100 %)
Rango normal ^f	37 (68,5 %)	0 (0 %)	17 (31,5 %)	54 (100 %)
Total	98 (72,6 %)	8 (5,9 %)	29 (21,5 %)	135 (100 %)

^amás del 70 % de neutrófilos

^bmenos del 30 % de neutrófilos

^c30–70 % de neutrófilos

^dmás de 14000/ μ l

^emenos de 4500/ μ l

^f4500–11000/ μ l

Tabla 6.5: Factores de riesgo intrínsecos o enfermedades de base asociadas

Enfermedad	Frecuencia	%
Diabetes mellitus I/II	33	24,4
Neoplasia	21	15,5
IRC ^a	10	7,4
HTA ^b	9	6,6
Alteraciones cardíacas	8	5,9
Neumonía	6	4,4
Transtornos neurológicos	6	4,4
Alcoholismo	4	2,9
Infección de aparato digestivo ^c	4	2,9
Demencias	2	1,5
EPOC	1	0,7
VIH	1	0,7
No conocida	30	22,2

^aInsuficiencia renal crónica

^bHipertensión arterial

^cSe incluye gastroenteritis, hepatitis agudas ó crónicas

En el 38 % de los casos fue posible identificar el mecanismo desencadenante de la bacteriemia. Las localizaciones de la infección fueron las siguientes: urinaria, 14 %; respiratoria, 8 %; prótesis valvular, 6,7 %; abdominal, 5 %; piel y partes blandas, 2,2 % (tabla 6.7).

Tabla 6.6: Factores extrínsecos o predisponentes

Factor	Frecuencia	%
Prótesis valvular	12	8,8
Catéter	12	8,8
Diálisis	7	5,2
Prótesis articular	4	2,96
Marcapasos	3	2,2
No indicado	97	71,8

Tabla 6.7: Origen de los 135 episodios de bacteriemia

Origen	Frecuencia	%
Urinario	19	14,1
Respiratorio	11	8,1
Prótesis valvular	9	6,7
Abdominal	7	5,2
Catéter	4	3
Infección de piel o partes blandas ^a	3	2,2
No indicado	82	60,7

^aIncluye infecciones cutáneas, de fístulas y de heridas quirúrgicas

Las bacteriemias polimicrobianas supusieron un 18% de los casos.

De los 135 pacientes estudiados, 22 (16%) fallecieron a lo largo de ese año. Se analizaron los factores intrínsecos de mortalidad global y las únicas variables de un peor pronóstico vital fueron la diabetes y las neoplasias con más de una afectación, pero con diferencias estadísticamente no significativas. Con respecto a la edad, la frecuencia de mortalidad más alta se registró a partir de los 60 años (63,6%), pero el análisis estadístico tampoco mostró diferencias significativas (tabla 6.8).

Tabla 6.8: Rango de edad y exitus

	Edad (años)	Exitus		
		No	Sí	Total
Recuento (% de Exitus)	<30	10 (8,8%)	0 (0%)	10 (7,4%)
	30–39	7 (6,2%)	2 (9,1%)	9 (6,7%)
	40–49	13 (11,5%)	1 (4,5%)	14 (10,4%)
	50–59	15 (13,3%)	1 (4,5%)	16 (11,9%)
	60–69	22 (19,5%)	6 (27,3%)	28 (20,7%)
	70–80	25 (22,1%)	8 (36,4%)	33 (24,4%)
	81–96	21 (18,6%)	4 (18,2%)	25 (18,5%)
	Total	113 (100%)	22 (100%)	135 (100%)

Los aislamientos microbiológicos obtenidos en los hemocultivos se recogen en la tabla 6.9; destaca el predominio de los bacilos gramnegativos con 89 casos (53,9% de los aislamientos) sobre los grampositivos con 72 (43,6%).

Los microorganismos anaerobios constituyeron el 1,2% de los aislamientos y las levaduras un 1,2% de los casos.

El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *Escherichia coli* (29,7% de los aislamientos), lo que refleja el predominio del foco urinario. *Staphylococcus coagulasa negativa*, con un 18,8% de los aislamientos, ocupa la segunda posición en orden de frecuencia.

En cuanto a las cifras de sensibilidad de los aislados de *E. coli* se observó una efectividad del 100% en carbapenems, tigeciclina y amikacina. El fenotipo BLEE resultó en un 12% de los casos. Las cepas mostraron además multirresistencia a dos o más antibióticos no betalactámicos, principalmente a ácido nalidíxico (43%), quinolonas (24%), levofloxacino(23%) y cotrimoxazol (15%) (figura 7.1).

Tabla 6.9: Etiología de los 135 episodios de bacteriemias

Microorganismos	Frecuencia ^a	Porcentaje
Gram Positivos	72	43,6
Estafilococo coagulasa negativa	31	18,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	10,9
Estreptococo grupo <i>viridans</i>	7	4,2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7	4,2
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	2,4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3	1,8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0,6
<i>Streptococcus bovis</i>	1	0,6
Gram Negativos	91	55,2
<i>Escherichia coli</i>	49	29,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	4,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	4,2
<i>Proteus mirabilis</i>	5	3,0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	1,8
<i>Salmonella typhi</i>	3	1,8
<i>Bacteroides capillosus</i>	2	1,2
<i>Citrobacter koseri</i>	2	1,2
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1,2
<i>Serratia marcescens</i>	2	1,2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0,6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,6
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	0,6
<i>Morganella morganii</i>	1	0,6
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,6
<i>Providencia stuartii</i>	1	0,6
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	0,6
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	0,6
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	0,6
Levaduras	2	1,2
<i>Candida albicans</i>	1	0,6
<i>Candida parasilopsis</i>	1	0,6
Total	165	100

^aEn total se realizaron 165 aislamientos porque treinta episodios fueron polimicrobianos

El perfil de sensibilidad de *K. pneumoniae* (n=7) reflejó únicamente su resistencia natural a aminopenicilinas (ampicilina), carboxipenicilinas (ticarcilina) y ureidopenicilinas (piperacilina) (figura 7.2).

Proteus mirabilis (n=5) cumplió con su patrón de sensibilidad antibiótica al mostrar una alta susceptibilidad a la mayoría de los betalactámicos, así como a aminoglucósidos, presentando sólo frente a la tigeciclina una baja efectividad (33 % de sensibilidad) debido a su fenotipo natural cromosómico (figura 7.3).

De los 3 aislamientos de *S. typhi* no se describieron resistencias ni a las fluorquinolonas, ni a las cefalosporinas de 3.^a generación ni al aztreonam, ni tampoco al cotrimoxazol ni a la ampicilina (figura 7.4).

El fenotipo de sensibilidad frente a las *P. aeruginosa* (n=7) permitió observar su resistencia intrínseca a múltiples antibióticos, destacando el cotrimoxazol y la tigeciclina. La existencia de más de un mecanismo de resistencia explica su perfil de sensibilidad frente a los betalactámicos. Se notó una eficacia *in vitro* del imipenem en sólo un 71 % de las cepas aisladas (figura 7.5).

El *A. baumannii* (n=3) presentó resistencia a la mayoría de los betalactámicos (67 %), así como a las fluorquinolonas (67 %), pero un 100 % de susceptibilidad a aminoglucósidos y tigeciclina (figura 7.6).

En cuanto a las bacterias grampositivas, los *S. aureus* (n=18) identificados resultaron ser productores de penicilinasas en un 78 % y meticilin-resistentes en un 17 % de los casos. La sensibilidad a cotrimoxazol fue de un 96 %; a la clindamicina de un 78 %; a la eritromicina de un 89 %; al ciprofloxacino de un 11 % y de un 100 % para daptomicina y linezolid (figura 7.7).

Por el contrario, los *Staphylococcus coagulasa negativa* (n=31) presentaron una baja sensibilidad a la eritromicina (35 %), al ciprofloxacino (42 %), a la penicilina (10 %) y a la oxacilina (43 %), mostrando sensibilidad máxima a

vancomicina y rifampicina. El linezolid fue efectivo frente a un 100 % de las cepas (figura 7.8).

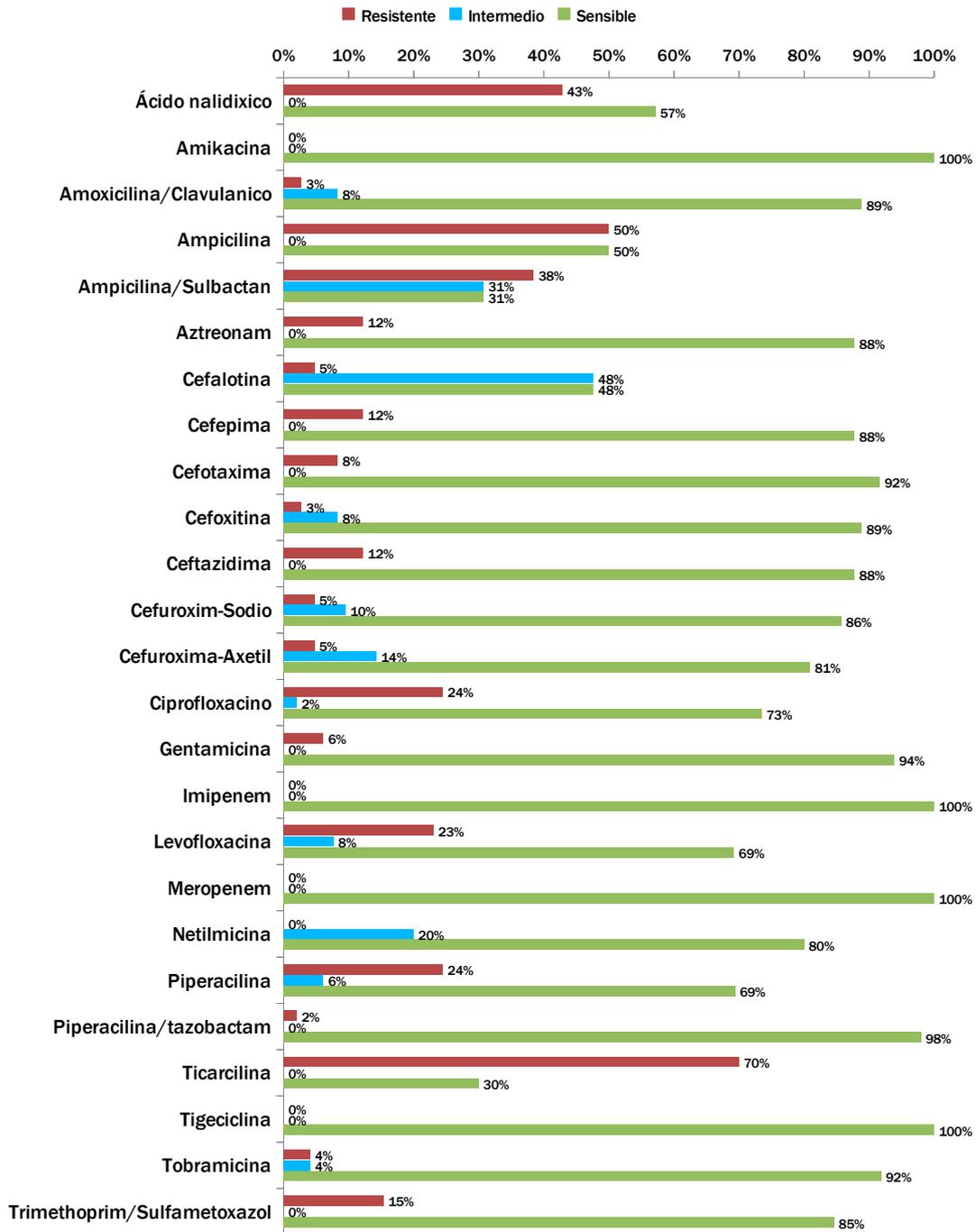
Con respecto a la sensibilidad antibiótica de *Streptococcus pneumoniae* (n=7) frente a los betalactámicos testados, fue de un 100 % de susceptibilidad frente a la cefotaxima y a la penicilina. El mecanismo de resistencia MLS_B se presentó en un 42,9 % de los casos. La sensibilidad a levofloxacino y vancomicina fue de un 100 %, mientras que para el cotrimoxazol resultó ser de un 71,4 % (figura 7.11).

El fenotipo de sensibilidad respecto a los *Streptococcus* del grupo *viridans* (n=7) fue del 100 % de sensibilidad frente a los betalactámicos, a los macrólidos, a las lincosamidas y glucopéptidos (figura 7.10).

La especie *Enterococcus faecalis* (n=4) cumplió con su fenotipo de resistencia natural frente a cefalosporinas, cotrimoxazol, oxacilinas, aminoglucósidos y clindamicina (figura 7.10). Presentando una sensibilidad del 100 % frente a penicilina, ampicilina, vancomicina, teicoplanina, daptomicina y linezolid.

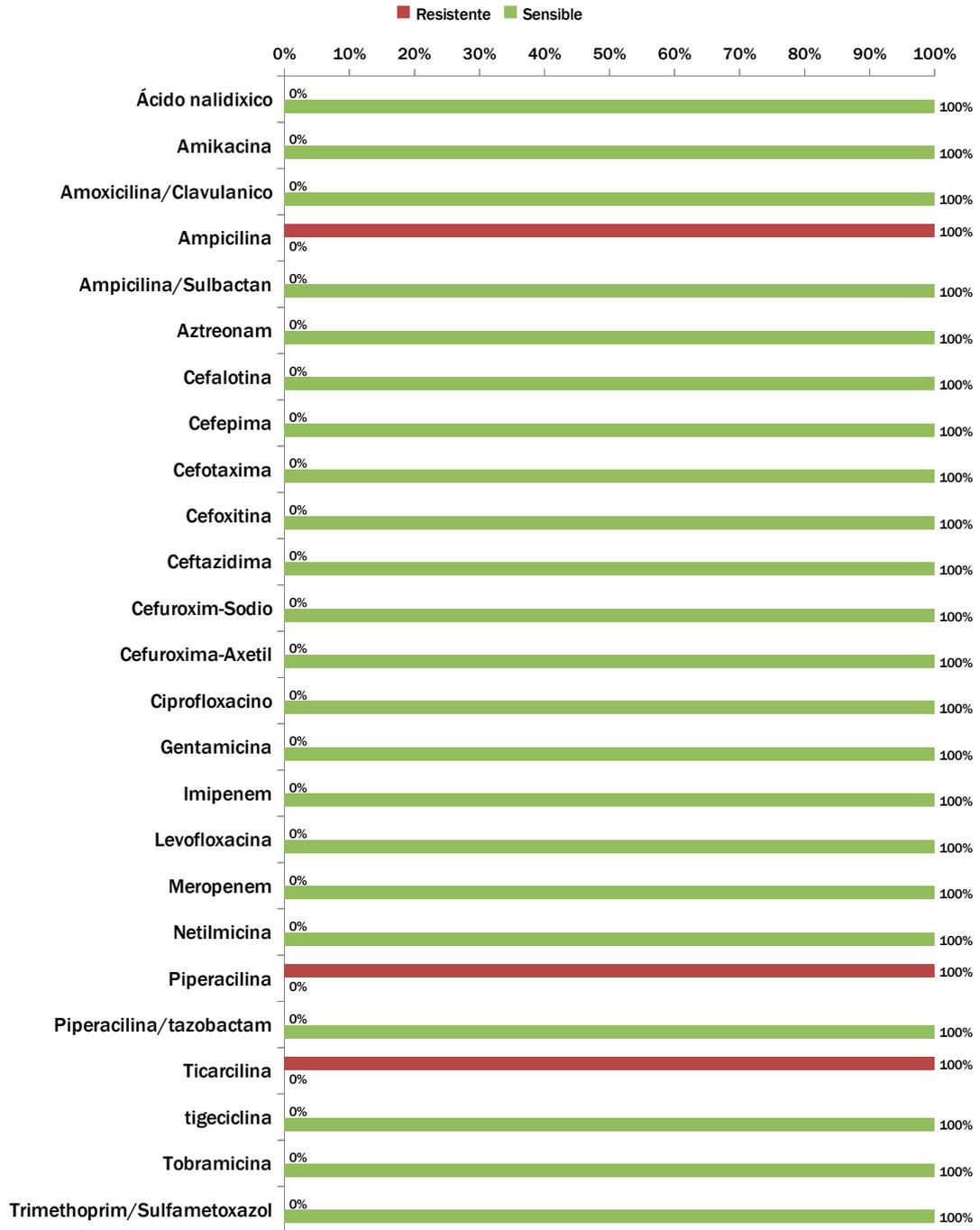
7 Gráficos de resultados

Figura 7.1: Antibiograma de *Escherichia coli*



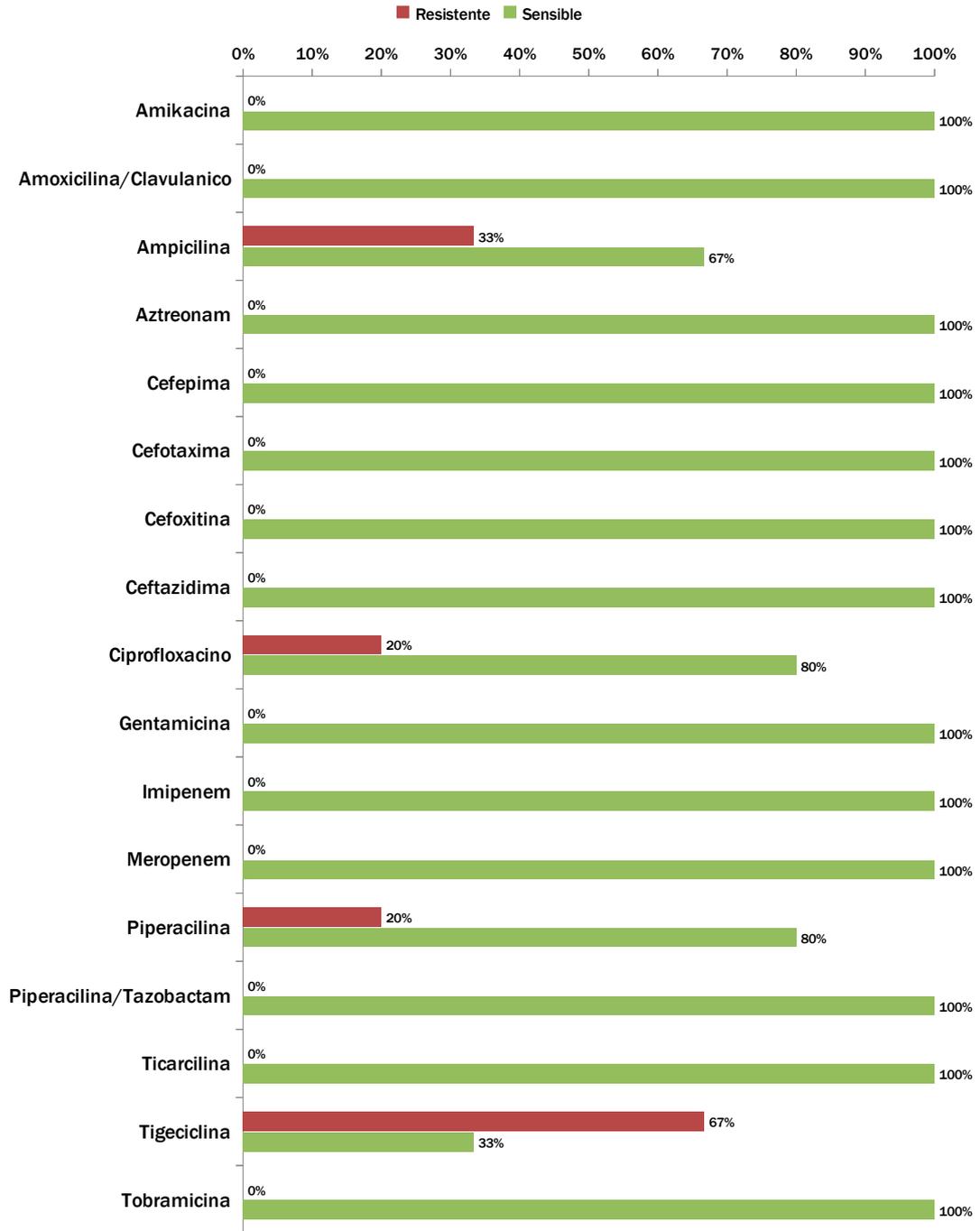
Resultados en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica frente a las cepas totales de *E. coli* (49). Nótese que la sensibilidad a carbapenemes, tigeciclina y amikacina es de un 100%, siendo la sensibilidad a cefotaxima del 92%.

Figura 7.2: Antibiograma de *Klebsiella pneumoniae*



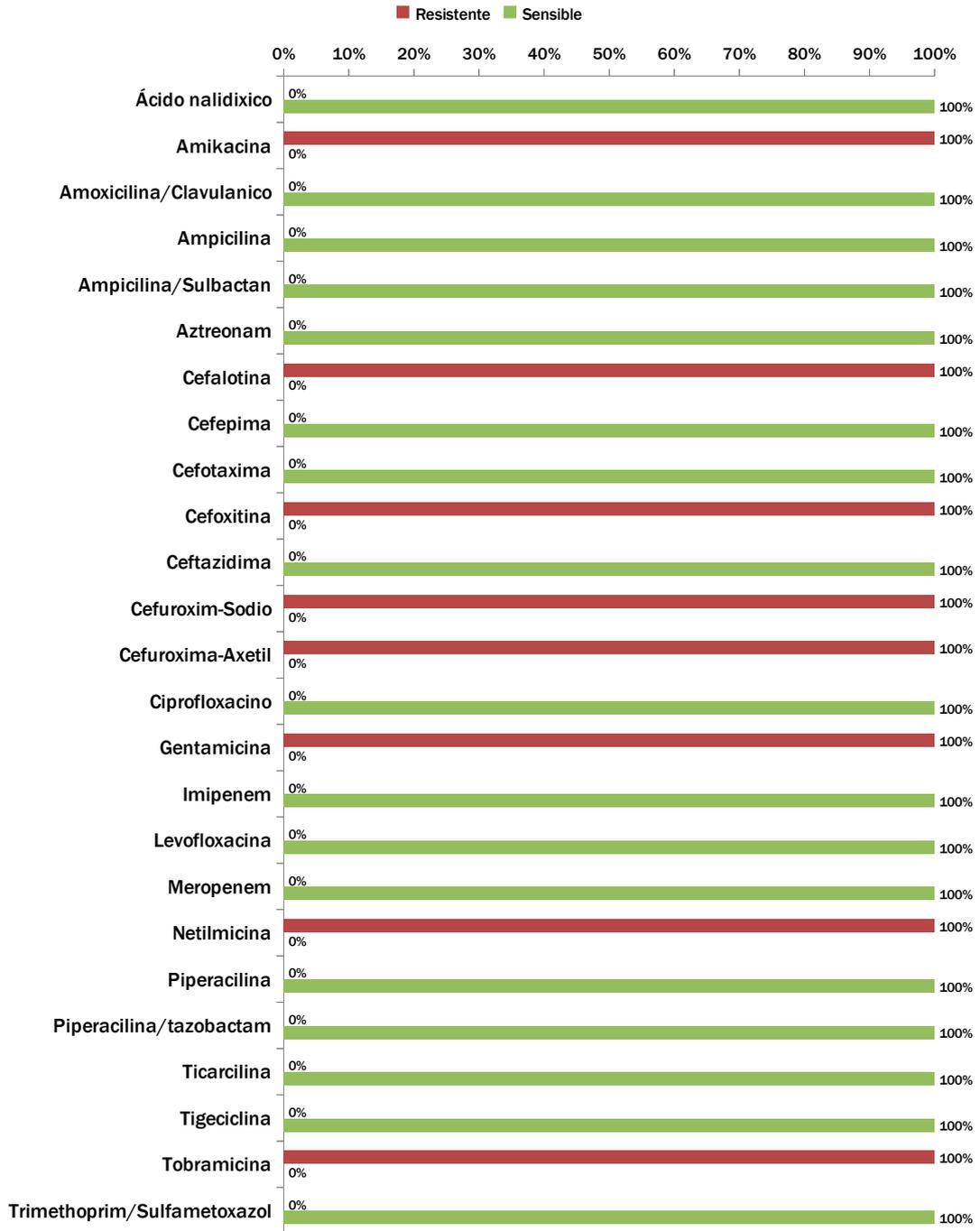
Resultados en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica frente a los aislamientos totales de *K. pneumoniae* (7). Nótese la resistencia intrínseca a ampicilina, piperacilina y ticarcilina así como la sensibilidad del 100% al resto de antibióticos.

Figura 7.3: Antibiograma de *Proteus mirabilis*



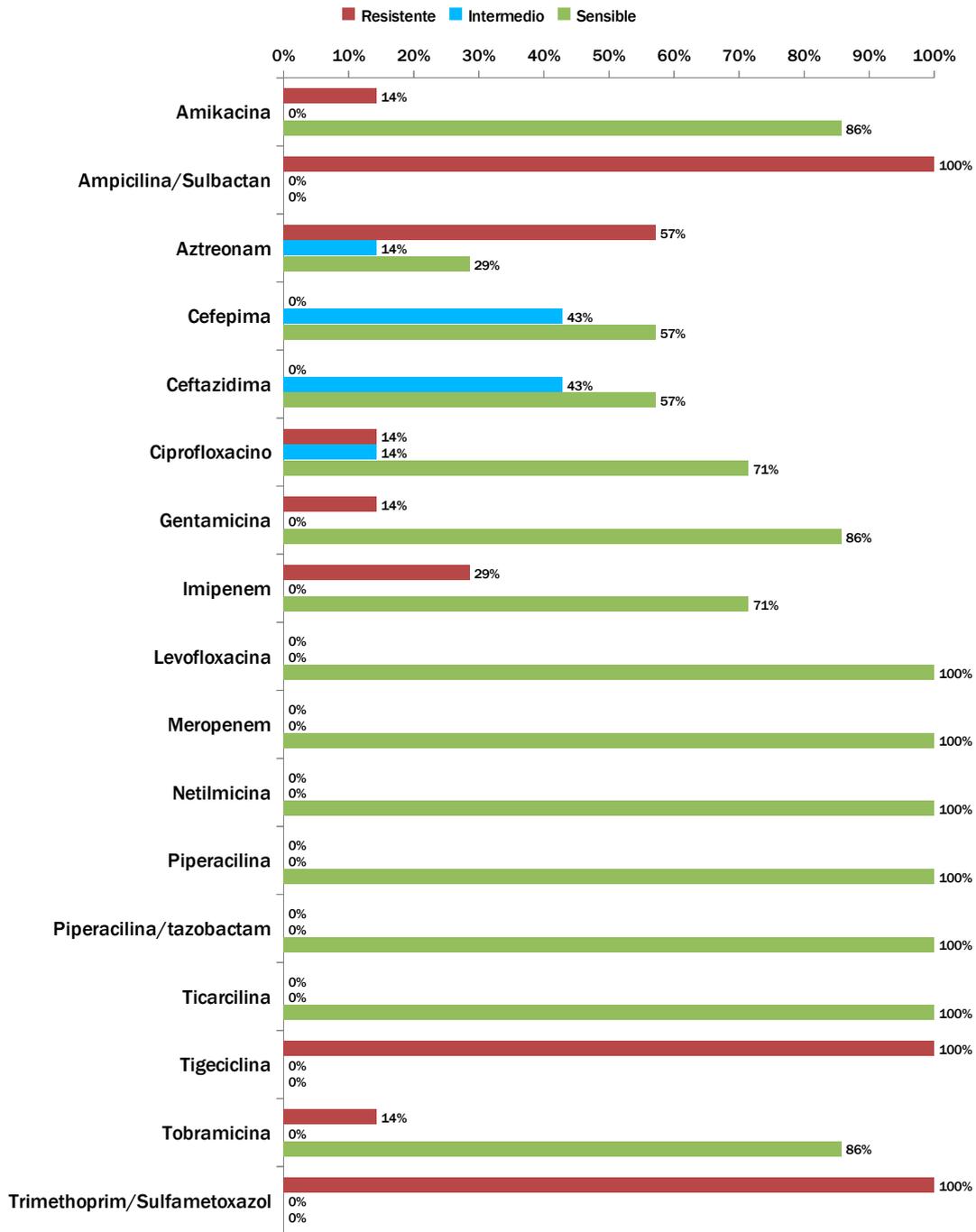
Resultados en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica frente a los aislamientos totales de *P. mirabilis* (5). Nótese la baja efectividad de la tigeciclina frente a este tipo de cepas.

Figura 7.4: Antibiograma de *Salmonella typhi*



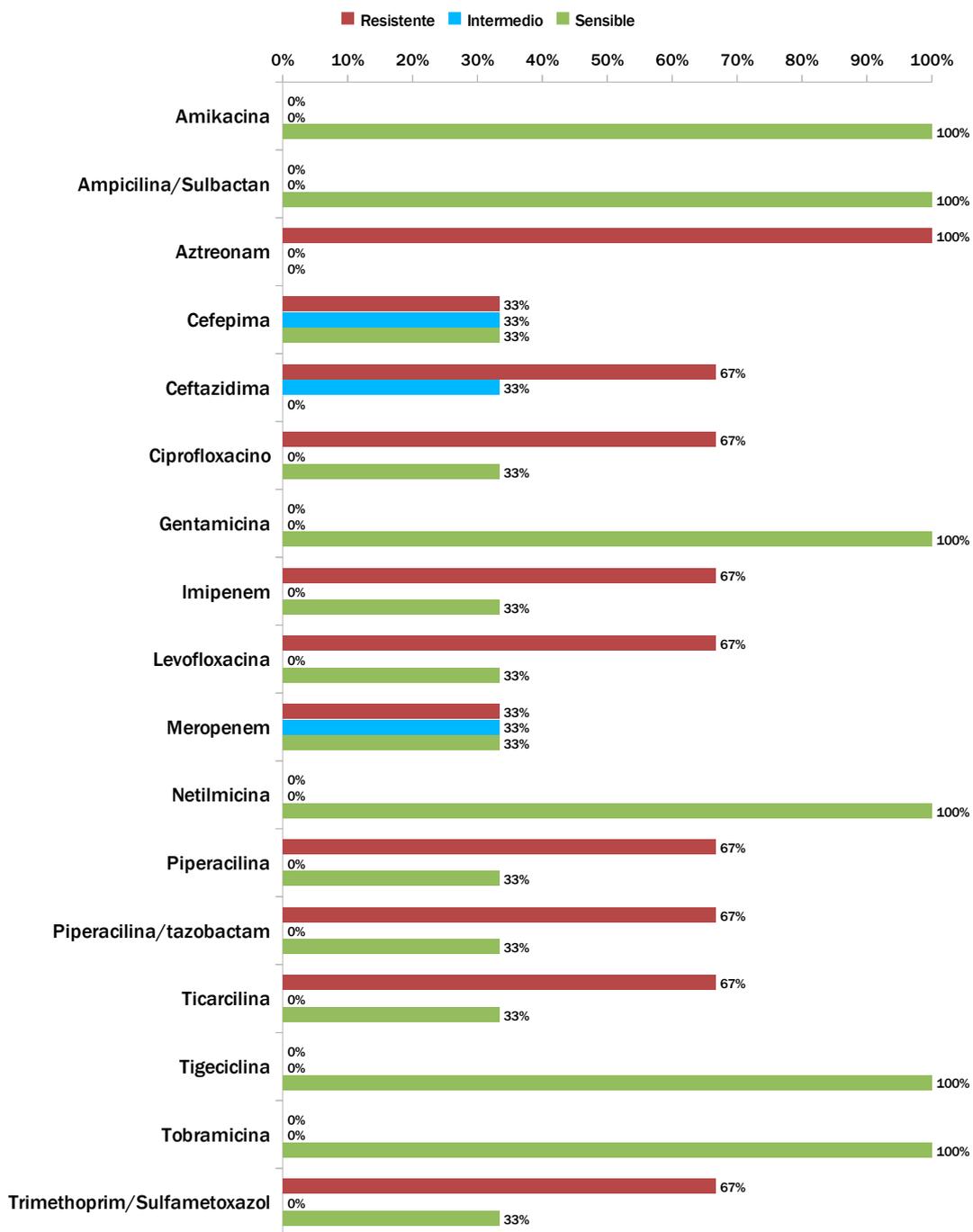
Resultados en % de los aislamientos totales de *S. typhi* (3). Obsérvese cómo la resistencia intrínseca a cefalosporinas de 1ª y 2ª generación así como a aminoglucósidos.

Figura 7.5: Antibiograma de *Pseudomonas aeruginosa*



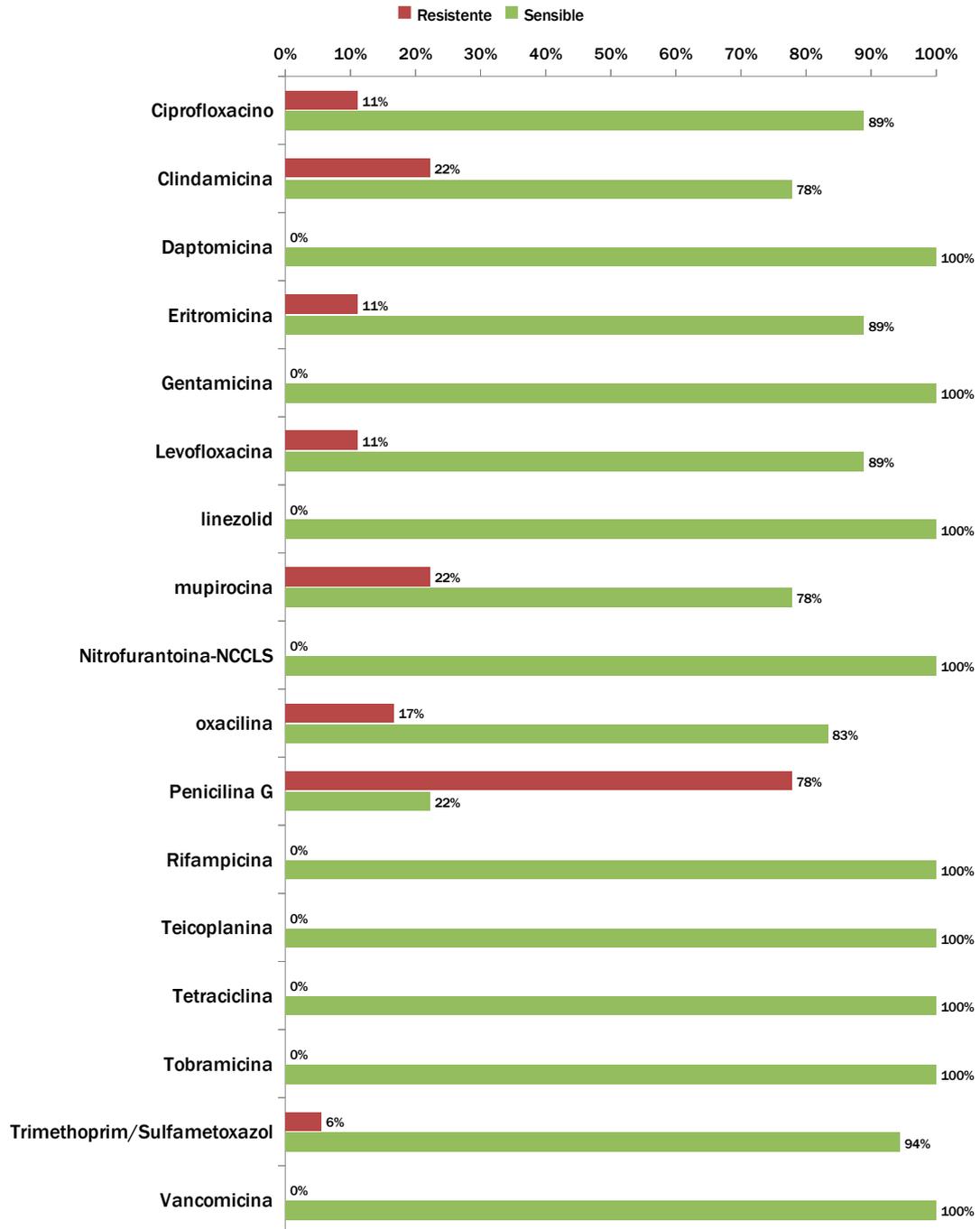
Resultados en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica de los aislamientos totales de *P. aeruginosa* (7). Nótese la ausencia de la kanamicina y neomicina en el antibiograma debido a la resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* a ésta.

Figura 7.6: Antibiograma de *Acinetobacter baumannii*



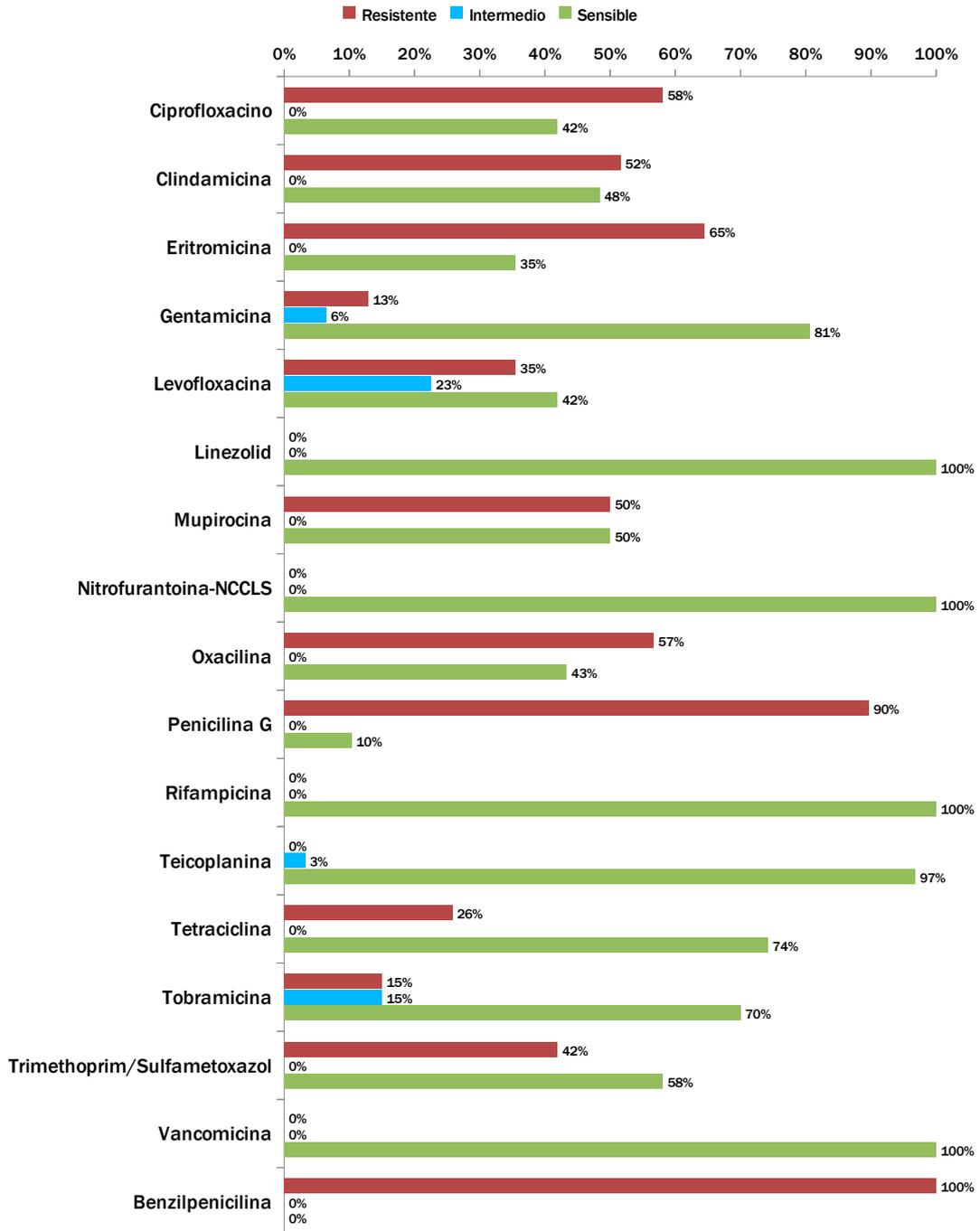
Resultados en % de los aislamientos de *A. baumannii*. Nótese que puede ser sensible a la ampicilina/sulbactam debido a la actividad del sulbactam frente a esta especie. No se indica en el antibiograma ni la ampicilina, ni la cefotaxima ni la ceftriaxona por su resistencia intrínseca.

Figura 7.7: Antibiograma de *Staphylococcus aureus*



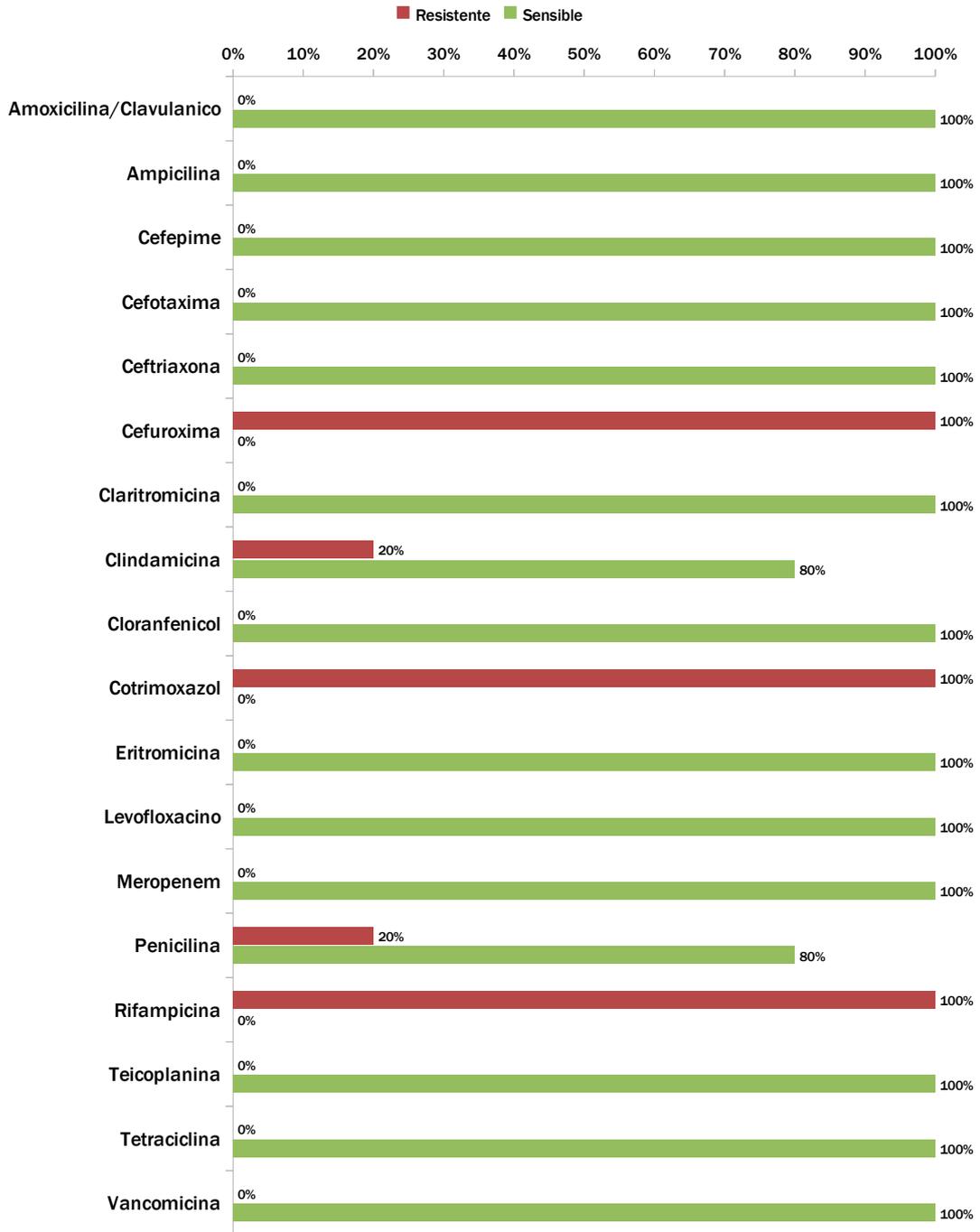
Resultados en % de la sensibilidad y resistencia de los aislamientos totales de *S. aureus* (18). Nótese ninguna resistencia a la vancomicina y el buen papel del cotrimoxazol con una sensibilidad del 94%. La resistencia a la levofloxacina implica la resistencia a todas las fluorquinolonas.

Figura 7.8: Antibiograma de *Staphylococcus coagulasa* negativa



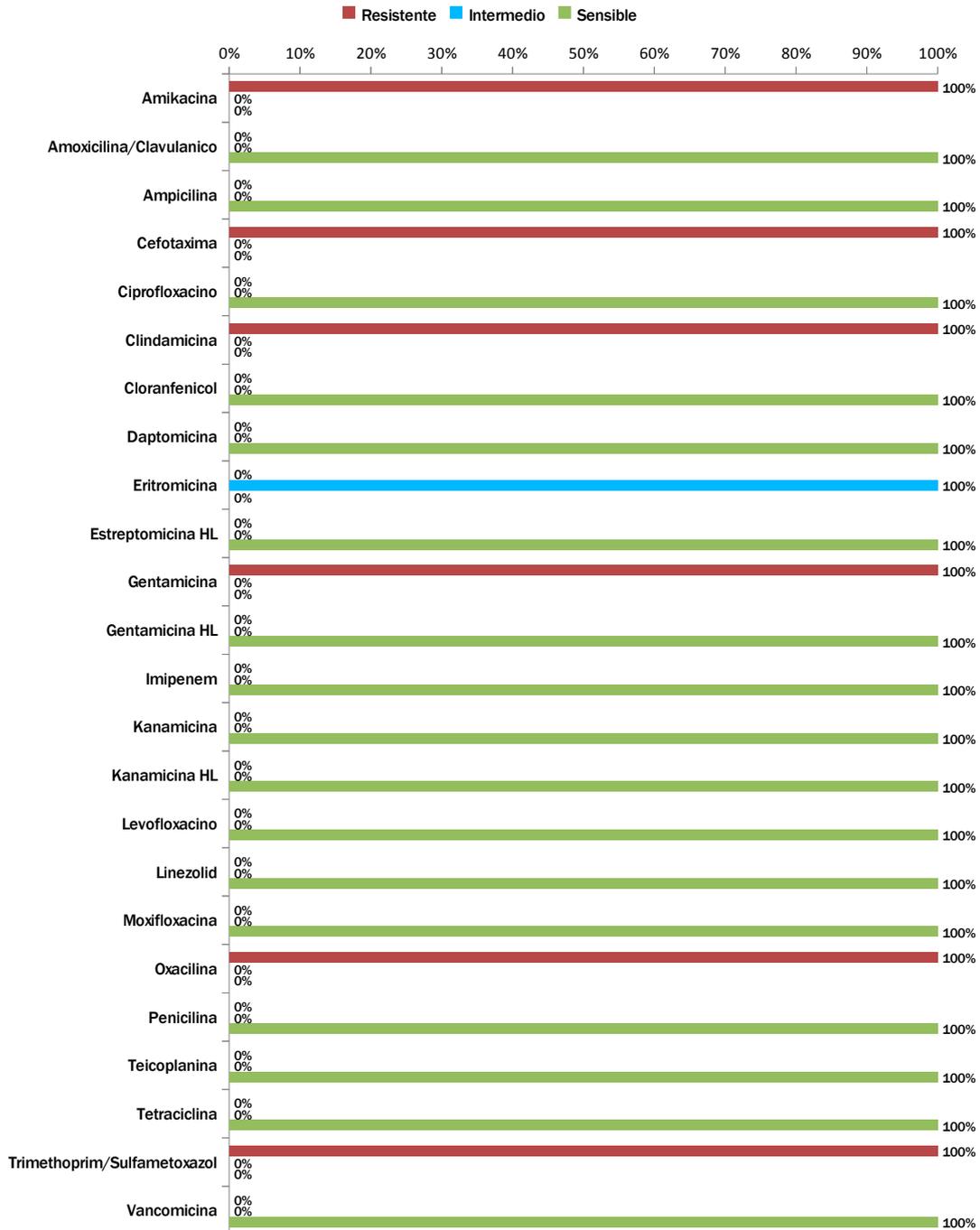
Resultados en % del perfil de sensibilidad y resistencia de SCN. La resistencia al ciprofloxacino pero no a la levofloxacina podría conllevar el desarrollo de resistencia durante el tratamiento con otras quinolonas.

Figura 7.9: Antibiograma de *Streptococcus* grupo *viridans*



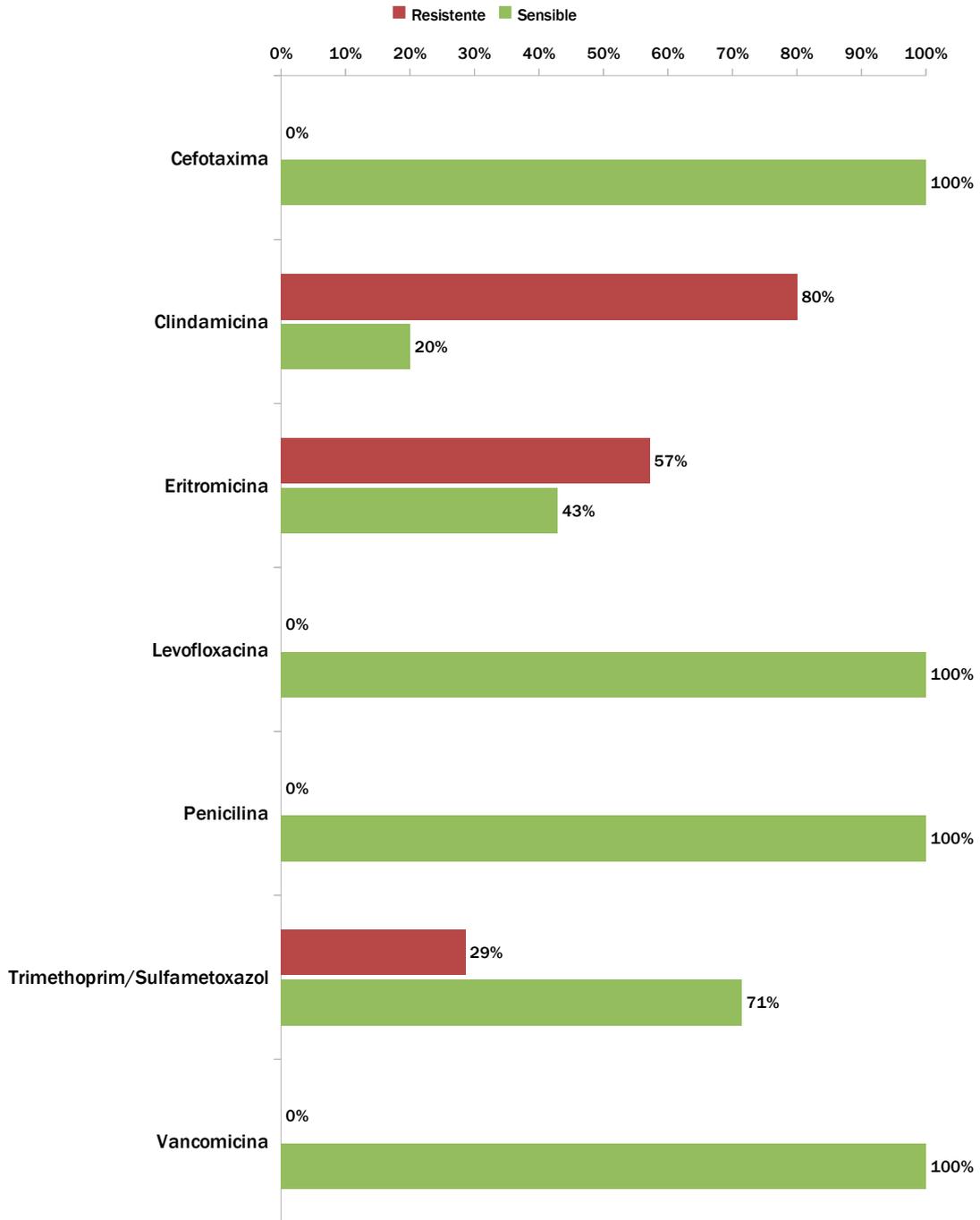
Resultados en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica frente a los aislamientos totales de estreptococos grupo *viridans*. La resistencia a la levofloxacina nos permite informar como resistente a todas las fluorquinolonas.

Figura 7.10: Antibiograma de *Enterococcus faecalis*



Resistencia en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica frente a los aislamientos totales de *E. faecalis*. Existe una resistencia intrínseca de bajo nivel a los aminoglucósidos. La combinación de aminoglucósidos con inhibidores de la pared celular (penicilinas y glucopeptidos) es sinérgica y bactericida frente a los aislados que son sensibles a los inhibidores de la pared celular y no muestra resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos.

Figura 7.11: Antibiograma de *Streptococcus pneumoniae*



Resultados en % de la sensibilidad y resistencia antibiótica frente a los aislamientos totales de *S. pneumoniae*. Nótese que la resistencia a la levofloxacina implicaría resistencia a todas las fluorquinolonas.

Figura 7.12: Sensibilidad a la daptomicina

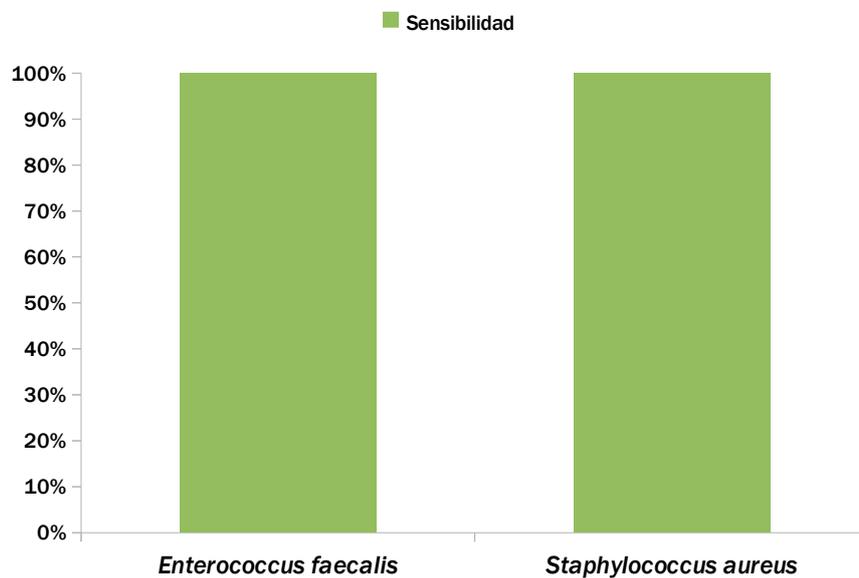


Figura 7.13: Sensibilidad al linezolid

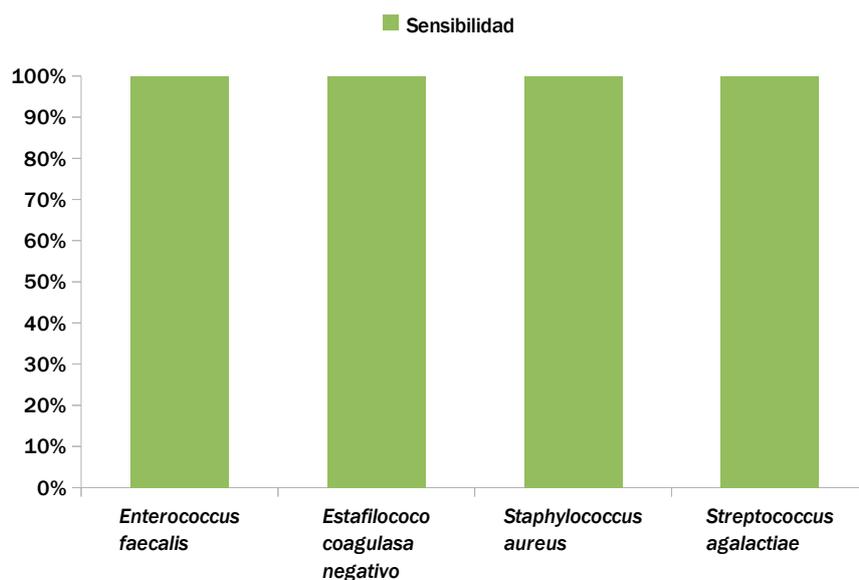
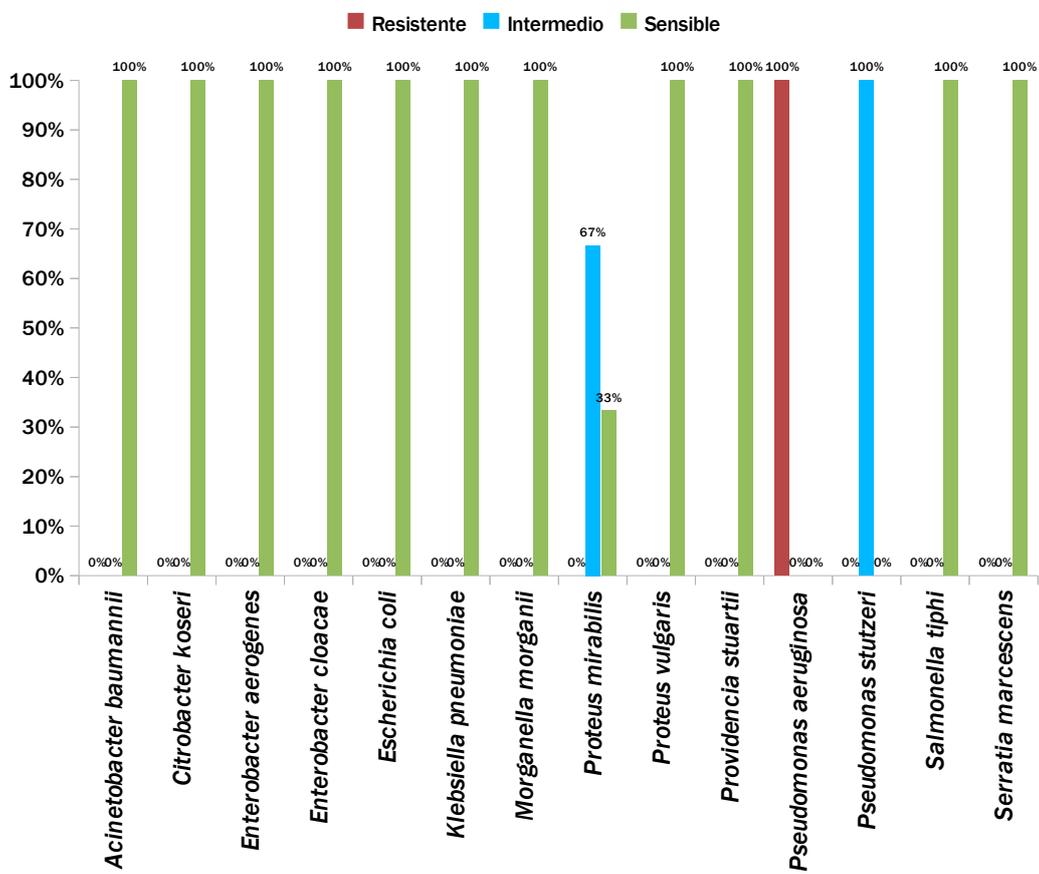


Figura 7.14: Sensibilidad a la tigeciclina



8 Discusión

Las bacteriemias son tradicionalmente clasificadas como adquiridas en la comunidad o adquiridas en el hospital (nosocomial). Las realizadas en este estudio no entrarían dentro de la definición de nosocomial ni tampoco de la comunitaria, por desconocerse si los pacientes fueron trasladados de otro hospital o recibieron diálisis crónica o incluso si existió una hospitalización previa [44].

Si se tiene presente esto, vemos que se ha obtenido una incidencia de bacteriemia similar al del ámbito nosocomial, que oscila entre el 2,8 y el 18 %, y alejado del observado en unidades de cuidados intensivos que va del 27 al 42 % por cada 1000 habitantes [39, 106].

Las características más destacadas del paciente que acude a urgencias con bacteriemia son que tiene una edad media avanzada, 63 años, comorbilidad elevada (el 83 % presentaron alguna enfermedad de base previa) y unos moderados factores de riesgo extrínseco.

El modo de presentación de la bacteriemia en cuanto a los datos demográficos (edad-sexo), enfermedad de base y factores de riesgo asociados son, por tanto, similares al de estudios previos [21, 23].

El encontrar un solo caso de infección por VIH entre los casos positivos, se debería a la nueva situación inmune de estos pacientes, que ha hecho que disminuya la asistencia a urgencias.

En cuanto a la tasa de contaminación de los hemocultivos se aproxima a los datos publicados hasta el momento (en torno al 1 %) [82]. Se ha considerado que los criterios microbiológicos de contaminación deben completarse con criterios clínicos, lo que explica también dicha tasa.

El hemocultivo tradicional suele tardar un mínimo de 48 horas hasta que se identifica el agente causal, así como la obtención del antibiograma a partir del cultivo de sangre [46]. Por lo expuesto anteriormente, los métodos microbiológicos tradicionales mediante cultivo están limitados por la propia dificultad en identificar algunos patógenos, por la interferencia que el uso de antibióticos supone al cultivo de los microorganismos y por el tiempo que requieren, que determina un retraso en ocasiones poco práctico. Es por esto, que la biología molecular se está abriendo paso en este campo. A día de hoy, existen dos técnicas, homologadas y aprobadas por las agencias reguladoras, que ofrecen la posibilidad de realizar el estudio de microorganismos productores de bacteriemias en tiempo corto, mediante la amplificación de ácidos nucleicos: LightCycler® SeptiFast Test M^{grade} (Roche Diagnostic GMBH, Mannheim, Alemania) y GenoType Blood Culture (Hain Lifescience, Nehren, Alemania) [67].

La etiología de la bacteriemia en el servicio de urgencias muestra en este estudio un predominio de las bacterias gramnegativas sobre las grampositivas, al contrario de lo que sucede en las bacteriemias con un origen hospitalario [104].

Esta diferencia está disminuida por el rasgo nosocomial de muchas de las bacteriemias que aquí se han presentando, esto justifica la presencia de bacterias tan hospitalarias como *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Pseudomonas aeruginosa* entre otras. Junto a estas aparecen otras típicamente comunitarias como los tres aislamientos de *Salmonella typhi*.

Los *Staphylococcus coagulasa negativa* son frecuentes en endocarditis protésica precoz, seguidos de los *S. aureus* y en menor medida de enterococos, el porcentaje de individuos con factores de riesgo extrínseco asociado al uso de prótesis valvular podría justificar estos datos.

Otro aspecto a destacar es la presencia de bacterias oportunistas como *Acinetobacter* o *Pseudomonas* que indican la presencia de pacientes inmunodeprimidos, destacando que el 15,5% de los pacientes tienen cáncer.

El origen más común de la bacteriemia en los pacientes en urgencias es el urinario como se describe en éste y otros estudios [66, 92]

Respecto a los aislamientos microbiológicos, señalamos que las cepas de *S. aureus* productoras de penicilinasas [22, 68, 87] son resistentes a todas las penicilinas (penicilina, ampicilina, amoxicilina, azlocilina, carbenicilina, mezlocilina, piperacilina y ticarcilina) pero sensibles a la acción de inhibidores de betalactamasas tipo ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam, por lo que se mostrarán sensibles a la asociación de betalactámicos con algunos de esos inhibidores, además de con penicilinas semisintéticas (oxacilina, meticilina, nafcilina), cefalosporinas y carbapenems, por no ser capaces de hidrolizarlas.

Las penicilinasas estafilocócicas pueden ser inducibles y se excretan extracelularmente. Estas enzimas se encuentran codificadas tanto en pequeños

plásmidos que se pueden transferir por transducción, como en plásmidos de mayor tamaño que alberguen otros genes de resistencia, que podrán transferirse por conjugación, no solamente entre cepas de *S. aureus* sino también entre cepas de *S. aureus* y de otros *Staphylococcus* coagulasa negativa.

La expresión fenotípica de la resistencia mediada por el gen *mecA* es compleja, y se afecta por diferentes factores como la temperatura, el pH, la osmolaridad y otros genes cromosómicos no relacionados.

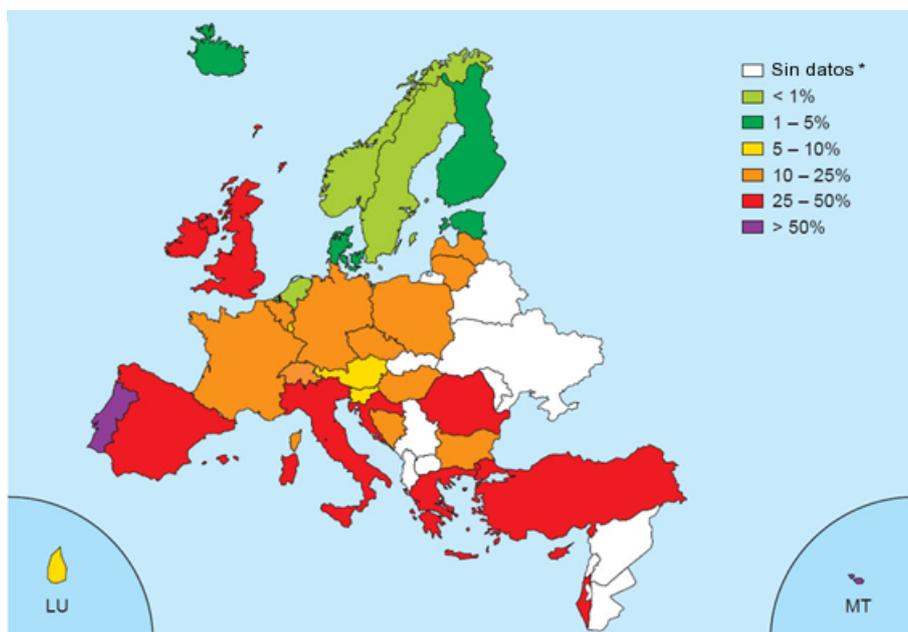
La cefoxitina es un marcador alternativo de la presencia del gen *mecA*. Las cepas resistentes a la oxacilina (o cefoxitina) son resistentes a todos los betalactámicos, por lo que no es necesaria la inclusión de ninguno de ellos en el antibiograma. Como excepción a esto, se han sintetizado dos nuevas cefalosporinas, ceftobiprol y ceftarolina, que son activas frente a cepas de SARM debido a su gran afinidad por la PBP2a [20, 47].

El empleo de discos de cefoxitina resulta especialmente útil y de preferencia sobre el disco de oxacilina para la detección de la resistencia a oxacilina mediada por el gen *mecA* en los aislamientos de *S. aureus* con resistencia a la meticilina de tipo heterogéneo [97]

Con respecto a los MRSA señalamos, que es el mecanismo de resistencia más comúnmente identificado a nivel hospitalario en gran parte del mundo.

En el 2008, 33 países europeos informaron que el 21 % de los aislamientos de *S. aureus* obtenidos de muestras invasivas fueron MRSA, variando esa proporción desde el 1 % en los países del norte al 50 % en los países del sur (figura 8.1). En España, la media de MRSA en los hospitales durante el periodo 2000–2004 fue de un 22.4 %.

Figura 8.1: Porcentaje de *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina (MRSA) en 2008



* Estos países no informaron ningún dato o informaron menos de 10 aislamientos.

Atendiendo ya a la incidencia de SARM, observamos que es inferior al de ámbito hospitalario y se mantiene bajo en nuestro entorno, a pesar de que el tipo de paciente estudiado es pluripatológico y que probablemente esté sometido a una alta presión antibiótica.

El incremento de las infecciones por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina y los cambios en los patrones de sensibilidad de las cepas sensibles a meticilina está haciendo renovar el interés en el uso de la clindamicina para el tratamiento de las infecciones estafilocócicas, sobre todo frente aislamientos obtenidos en ámbitos no hospitalarios.

Sin embargo la presencia de cepas resistentes a eritromicina hace necesario ser precavido en el uso de clindamicina por el riesgo asociado hacia una resistencia constitutiva por la presencia del gen *erm*, capaz de sintetizar metilasas ribosómicas [61, 91].

Para erradicar la colonización nasal por parte de *S. aureus* tanto sensible como resistente a la meticilina se emplea la mupirocina, que es un antibiótico de uso tópico empleado también en el tratamiento de las infecciones cutáneas superficiales [60].

Aunque la CLSI no contempla puntos de corte para interpretar la sensibilidad antibiótica a mupirocina; en general, aislamientos con CMI con valores iguales o inferiores a 4 µg/ml se consideran sensibles a ésta. La descontaminación de pacientes portadores de cepas con resistencia a mupirocina de bajo nivel (CMI entre 8 y 256 µg/ml), aunque se acepta que puede hacerse con dicho antibiótico, es un tema complicado que requiere de estudios más amplios [62]. Por el contrario, la mupirocina se ha demostrado ineficaz contra cepas con resistencia de alto nivel (CMI igual o mayor de 512 µg/ml).

Cuando la mupirocina se utiliza en la descontaminación de portadores, el desarrollo de resistencias tiene que ver con el uso inadecuado de este antibiótico. No deben descontaminarse con mupirocina tópica pacientes portadores de catéter, sondas o drenajes. Ni tampoco aquéllos con alguna solución de continuidad en las barreras naturales, como por ejemplo quemaduras, heridas o úlceras. En cualquiera de estas situaciones, puede existir microorganismos expuestos a concentraciones subinhibitorias de mupirocina, favoreciendo el desarrollo de resistencias mediante mutación en el gen nativo o mediante transferencia del plásmido de resistencia desde otra especie bacteriana.

La resistencia al linezolid es poco habitual. El linezolid se fija a la subunidad ribosomal 50S, y evita la traducción al inhibir la formación del complejo de iniciación. Al presentar esta familia de antibióticos un mecanismo de acción original, y al actuar en una diana distinta, no hay hasta ahora resistencias cruzadas con otros antibióticos que también inhiban la síntesis proteica [62].

El linezolid es activo frente a las bacterias grampositivas: estafilococos (incluidos los resistentes a la meticilina), estreptococos y enterococos multirresistentes.

Las principales indicaciones del linezolid abarcan desde la neumonía nosocomial y comunitaria, pasando por infecciones complicadas de piel y tejidos blandos en los que se conozca con certeza que no existe co-infección por microorganismos gramnegativos, al carecer de actividad frente a este tipo de gérmenes [2].

El linezolid es un antibiótico de administración parenteral u oral, que no requiere ajustar la dosis en individuos con insuficiencia renal o hepática, pero cuyo uso se descarta en pacientes en tratamiento con inhibidores de las monoamino oxidasas A o B, pacientes con tratamiento dopaminérgico o con terapia antidepresiva entre otros.

La resistencia a linezolid (CMI >4 mg/l, según el punto de corte del CLSI) es poco frecuente hasta el momento, por lo que se comprueba por E-test, sobre todo cuando se usan sistemas automatizados de antibiograma. En la práctica, las CMIs de cepas de enterococos y estafilococos resistentes al linezolid oscilan entre 16 y 128 mg/l.

A pesar de que no se ha descrito ningún caso de aislamiento de SCN resistentes al linezolid en nuestro centro, es necesario vigilar la evolución de la resistencia de los SCN (y grampositivos en general) a dicho antibiótico.

En los casos descritos en la literatura, la aparición de la resistencia al linezolid se ha asociado generalmente a tratamientos prolongados y a la presencia de material protésico y abscesos no drenados [101, 102].

La daptomicina es un lipopéptido cíclico natural, activo únicamente frente a las bacterias grampositivas, de carácter bactericida al provocar la lisis celular por inhibición de la síntesis proteica, de ADN y de ARN. Al igual que el linezolid, está indicado en infecciones complicadas de piel y tejidos blandos, así como en endocarditis infecciosa y bacteriemias por *S. aureus* asociadas a infecciones de piel o a endocarditis [2]. Los puntos de corte para daptomicina son para *Staphylococcus* y *Streptococcus* (excepto *S. pneumoniae*): sensible si la CMI es igual o inferior a 1 mg/l y resistente si la CMI es igual o mayor a 1 mg/l, aplicándose los mismos criterios para enterococos. El número de aislamiento testados frente a daptomicina se limitó a tres (2 *Staphylococcus aureus* y 1 enterococo) resultando todos sensibles.

El enterococo se aisló en un hombre de 49 años que ingresó con infección urinaria y leucocitosis con una colecistectomía previa, por lo que no se empleó la daptomicina como antibiótico preferente por existir alternativas eficientes y no cumplir los criterios de aplicación. El aislamiento de los *Staphylococcus* se dio en ancianos varones con factores de riesgo asociados pero sin infecciones de piel o endocarditis infecciosa, por lo que tampoco cumplieron los criterios de uso de la daptomicina y no fueron tratados con ésta.

A pesar de no existir ningún aislamiento de *S. aureus* con resistencia a glucopéptidos, asumimos que su aparición representa una seria amenaza para el tratamiento de infecciones graves.

Esto es obvio en *S. aureus*, pero se hace extensivo a los estafilococos coagulasa negativa, que con frecuencia creciente, son cada vez más responsables de infecciones graves de difícil tratamiento, destacando la alta proporción de bacteriemias por SCN en este estudio. Si a esto se le suma, el elevado porcentaje de resistencia a meticilina observado en estas especies con fenotipo de

sensibilidad disminuida a glucopéptidos, se agravará la dificultad terapéutica que acarreará su tratamiento.

No se conoce bien el mecanismo de resistencia a glucopéptidos de los estafilococos coagulasa negativa. Parece que la expresión de este fenotipo de resistencia no se debe a un único factor, sino que es la consecuencia de una serie de propiedades que se han observado en los aislamientos resistentes y que están ausentes en los aislamientos sensibles. Entre los factores descritos figuran diferentes cambios estructurales en la pared celular de las cepas resistentes a la teicoplanina, uno de lo más importantes consiste en el desarrollo de una pared celular gruesa y en una mayor avidez para secuestrar las moléculas de glucopéptido (teicoplanina con mayor facilidad que vancomicina) del medio [12, 13].

Diferentes estudios han demostrado que existe un incremento en el recambio de la pared celular, lo que conlleva un aumento de la presencia de precursores de péptidoglucano, de entre los cuales parte de ellos no se incorporarán a la pared celular.

Las unidades de péptidoglucano que no forman parte de la pared celular se unen a los glucopéptidos, haciendo disminuir el número de moléculas de antibiótico disponibles para fijarse a la verdadera diana [14]. Este mecanismo también se ha descrito en cepas con sensibilidad disminuida a este tipo de antibióticos. Otro hallazgo ha sido el cambio de una serina por una glicina en el péptido que entrecruza las moléculas de péptidoglucano, generando ésta una menor sensibilidad a la lisoestafina (enzima con acción lítica sobre los estafilococos).

En cuanto a los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* obtenidos en nuestro estudio, se informó la sensibilidad de acuerdo a los criterios no meníngeos, lo que se tradujo en CMI mayores para obtener los criterios cualitativos clínicos de sensible, intermedio y resistente, dados por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008).

El *Streptococcus pneumoniae* contiene seis proteínas de unión a la penicilina, cinco de alto peso molecular (1_a , 1_b , 2_a , 2_x , 2_b) y una de bajo peso molecular (PBP3).

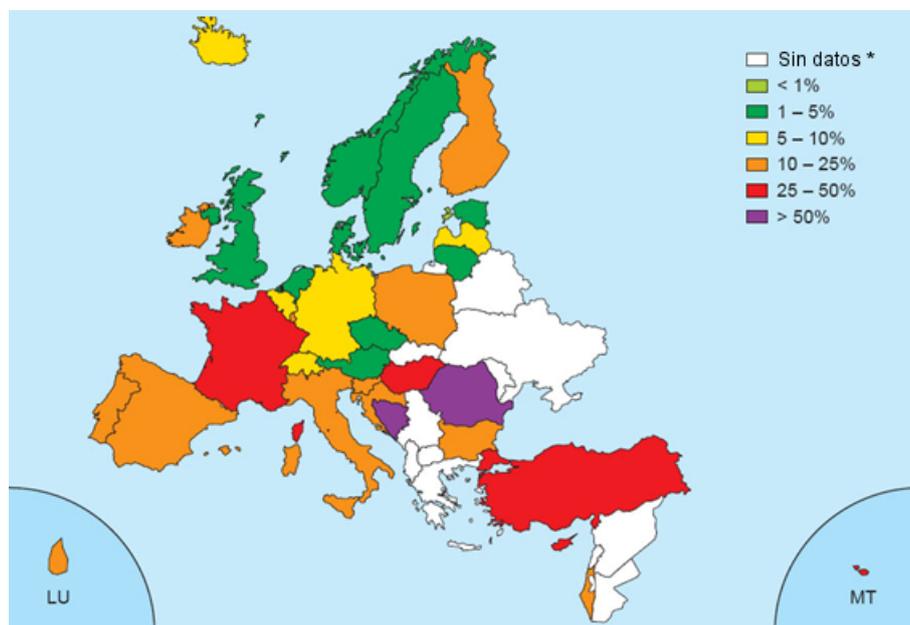
La prescripción habitual de antibióticos no betalactámicos, tipo macrólidos o fluorquinolonas, es típica de países con resistencia frecuentes a la penicilina.

La resistencia a penicilina y a otros betalactámicos se asocia a mutaciones de los genes que condifican las PBP_S. Siendo las mutaciones de las PBP_S 2_x , 2_b y 1_a las que representan una mayor implicación en el desarrollo de la resistencia a betalactámicos en aislamientos clínicos.

En el año 2008, un 10 % de los *S. pneumoniae* aislados en 32 países europeos fueron resistentes a la penicilina. Los *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina mostraron una distribución heterogenea en Europa, los países del norte por debajo del 5 % y los países del sur y este por encima del 25 % (figura 8.2). En España la proporción de *S. pneumoniae* sin sensibilidad a la penicilina fue del 34,4 %.

Al aplicarse los criterios no meníngeos descritos en 2008, en el momento actual en España el 95–98 % de las cepas invasivas son sensibles a la penicilina

Figura 8.2: Porcentaje de *Streptococcus pneumoniae* no sensibles a la penicilina (PNSP) en 2008



* Estos países no informaron ningún dato o informaron menos de 10 aislamientos.

(con CMI igual o inferior a 2 µg/ml) [31] y el 99 % son sensibles a cefotaxima (con CMI igual o inferior a 1 µg/ml) [80].

Con respecto al fenotipo MLS_B inducible, al realizarse la determinación de la sensibilidad antibiótica por microdilución, este mecanismo de resistencia se puede confundir con el fenotipo M (mediado por bombas de expulsión y no por modificación de la diana ribosomal), dando una falsa sensibilidad a macrólidos de 16 átomos y a la clindamicina. En este estudio, no se comprobó el fenotipo por técnicas de difusión de doble disco, pero si se informó al clínico de la posible inducción de resistencia a la clindamicina.

El aislamiento de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a macrólidos ha ido aumentando tanto en Europa como en España, logrando cifras del 35–50 % en muestras no invasivas y del 20–30 % en muestras invasivas. Más del 90 %

de los aislamientos de *S. pneumoniae* con resistencia a macrólidos en España presentan el fenotipo MLS_B [3, 16].

Según la base de datos del *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS) el 95% de los *S. pneumoniae* fueron sensibles a la eritromicina en el año 2008.

También cabe destacar la alta proporción de episodios de bacteriemia por estafilococos coagulasa negativa.

Con respecto a la resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos en el año 2008 para los enterococos varió del 13% en países como Finlandia al 65% en países como Chipre. El número de aislamientos en nuestro estudio ha sido tan escaso, inferior a 10 cepas, que no se puede sacar ninguna conclusión.

Si nos fijamos en la *P. aeruginosa* vemos una importante resistencia al imipenem. Esta resistencia está en concordancia con los datos obtenidos en la mayoría de los países europeos, donde $\frac{3}{4}$ partes de los países estudiados mostrarán más de un 10% de resistencia a los carbapenems.

La resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa* puede ser debida a diversos mecanismos de resistencia, como pueden ser:

- Sobreexpresión de bombas de expulsión activa.
- Pérdida de porina OprD
- Síntesis de diferentes clases de carbapenemasas.

Una resistencia al imipenem acompañado de una disminución de la sensibilidad a otros betalactámicos puede ser reflejo de la pérdida de porina OprD, ya que en líneas generales la producción de carbapenemasas afectaría también al meropenem.

La porina OprD es un canal proteico específico para aminoácidos tipo lisina y glutamato. Esta porina es usada por los carbapenems para pasar a través de la membrana externa de las *Pseudomonas aeruginosa*. La capacidad de penetración del imipenem a través de esta porina es muy superior al del meropenem, por lo que la pérdida de ésta explicaría el fenotipo de resistencia al imipenem y sensibilidad al meropenem. Para que existiera una resistencia al meropenem sería necesario no solo la pérdida de esta porina sino también un incremento en la sobreexpresión de las bombas de expulsión activa.

No se aconseja usar meropenem en caso de obtenerse cepas con resistencia al imipenem, por el riesgo de mutaciones sobre genes que codifican a las porinas y a las bombas de expulsión y que conllevarían una resistencia elevada al mismo. La pérdida de porinas no explica por sí sola una resistencia elevada al imipenem por lo que es normal que se complete con otros mecanismos de resistencia.

En cuanto a la resistencia a fluorquinolonas en *P. aeruginosa* puede producirse por alteraciones en las proteínas diana, o una disminución de la concentración intracelular del antibiótico asociada con una disminución en la permeabilidad, o por sobreexpresión de bombas de expulsión.

La fluorquinolona más activa frente a *P. aeruginosa* es el ciprofloxacino, empleándose como profiláctico frente a este agente en pacientes en situación de riesgo. Un aislado resistente al ciprofloxacino es resistente a todas las fluorqui-

nolonas. En la mayoría de los países europeos la resistencia a fluorquinolonas fue del 10% o superior. En España, la tendencia de los últimos 4 años ha mostrado un incremento del 14 al 23%.

Con respecto a los *Acinetobacter baumannii* aislados, vemos que tienen un patrón de multirresistencia que afecta a múltiples antibióticos como son los betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas y carbapénicos), quinolonas y al cotrimoxazol. Este amplio patrón de resistencia en las cepas identificadas limita mucho las opciones terapéuticas para el tratamiento de una infección causada por las mismas. El tratamiento tradicional de imipenem en monoterapia o asociado a aminoglucósidos (amikacina) así como piperacilina-tazobactam, quinolonas y ceftazidima entre los tratamientos más significativos habría que descartarlos. Así pues, de entre todas las opciones terapéuticas analizadas, sólo la tigeciclina y ampicilina-sulbactam tendrían efectividad frente a las mismas.

La tigeciclina, un antibiótico del grupo de las glicilciclinas, es un bacteriostático con efectividad frente a las bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas. Este antibiótico es capaz de superar los principales mecanismos de resistencia frente a las tetraciclinas, aunque es vulnerable frente a las bombas de expulsión codificadas cromosómicamente por la familia *Proteae* (*Proteus* spp., *Providencia* spp. y *Morganella* spp.) y por la *Pseudomonas aeruginosa*.

La resistencia adquirida a la tigeciclina por parte de *A. baumannii* puede ser un problema, debido a la limitación terapéutica comentada anteriormente, por lo que su uso frente a este tipo de germen debe ser muy estudiado para evitar el sobrecrecimiento de organismos no susceptibles tipo *Proteus* o *Pseudomonas*.

Dentro de las enterobacterias, la cepa principalmente aislada fue *E. coli*. Un 50 % de las mismas presentaron resistencia a la ampicilina con un fenotipo de sensibilidad y resistencia a los antibióticos betalactámicos que fue compatible con la producción de una betalactamasa de espectro ampliado (TEM-1).

La resistencia a aminopenicilinas en *E. coli* ha tenido una prevalencia elevada en Europa, siendo muchos los países que han informado de resistencias a la ampicilina por encima del 50 %. En España hasta el 64 % de las cepas de *E. coli* han sido resistentes a la ampicilina, con un fenotipo compatible con la producción de la betalactamasa TEM-1.

Esta betalactamasa TEM-1 entra dentro de la clasificación de Ambler como una enzima de clase A y pertenece al grupo 2b en la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros. Su perfil hidrolítico incluye las penicilinas, fundamentalmente las aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina), y en menor medida a las ureido y acil-ureidopenicilinas, sin afectar al resto de los antibióticos betalactámicos.

Esta betalactamasa de amplio espectro va a ser eficazmente inhibida por ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. La combinación de penicilinas con estos inhibidores hace recuperar en parte la actividad de los compuestos a los que se asocian. Este perfil es superponible al que confieren otras enzimas de amplio espectro como TEM-2 o SHV-1.

En ocasiones, en las cepas de *E. coli* que producen TEM-1 puede verse afectada la sensibilidad de las cefalosporinas de primera generación y mermarse la de las asociaciones de las penicilinas con inhibidores de las betalactamasas. Esto que se describe puede deberse a varios factores, sobre todo a los que incrementan la expresión de la enzima o la existencia de promotores eficaces.

Algunas de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y las denominadas enzimas IRT (*inhibitor resistant TEM*) derivan de TEM-1 por mutaciones.

El ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam son considerados como inhibidores suicidas por presentar una gran afinidad por las enzimas betalactamasas de clase A, mayor a la que presentan los compuestos betalactámicos, permitiendo a estos últimos ejercer sus acciones bactericidas, al reducir la CMI de los betalactámicos hasta valores similares a los que presentan estos compuestos en los aislados que no producen estas betalactamasas.

En el antibiograma que se presenta para *E. coli*, se observa cómo la actividad de la ampicilina/sulbactam se ve más afectada que la asociación amoxicilina/clavulánico, no comprometiéndose apenas la actividad de piperacilina/tazobactam; esto es debido más a la actividad residual de la piperacilina que a la pérdida de actividad del inhibidor asociado, como pudiera explicarse en las dos combinaciones anteriores, en el caso de observarse además, una resistencia a la ampicilina y sensibilidad al resto de antibióticos betalactámicos.

Llegado a este punto, debemos entender que no es siempre suficiente con que el microorganismo posea un gen que codifica un mecanismo de resistencia en particular. Ese gen o esos genes deben ser expresados en calidad y cantidad suficiente, y muchas veces deben interactuar distintos mecanismos de resistencia para alcanzar la supervivencia bacteriana. El mejor ejemplo de esto se da en las cepas de *E. coli* que presentan una betalactamasa constitutiva denominada AmpC. El gen que codifica para esta enzima capaz de romper distintos betalactámicos se encuentra en el cromosoma bacteriano, sin embargo, la expresión de esta enzima es mínimo cuando el microorganismo carece de su promotor natural (Amp-R). De este modo, si bien *E. coli* posee un gen capaz de producir

un efectivo mecanismo de resistencia, su escasa expresión (asociada a la acción residual de algún promotor) hace que el microorganismo pueda comportarse como sensible a la ampicilina.

La expresión de la betalactamasa AmpC en *E. coli* es constitutiva a diferencia del AmpC de *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* y *Morganella morganni* que es inducible por carbapénicos o cefoxitina.

En el caso de una hiperproducción de AmpC por parte de *E. coli*, caracterizada por una resistencia a las amino y acilureidopenicilinas, cefalosporinas de primera (cefazolina) y segunda generación (cefuroxima), incluyendo a las metoxi-cefalosporinas (cefoxitina), así como resistencia a ceftazidima, aztreonam y sensibilidad a cefepime y carbapenems, no existen criterios para reinterpretar las categorías clínicas.

Desde un punto de vista clínico y teniendo presente el perfil hidrolítico cuando el enzima AmpC está hiperproducido, la opción terapéutica más razonable sería la cefepima o imipenem, meropenem o ertapenem según el tipo de paciente y los factores de riesgo asociados.

Con respecto a los aislamientos de *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido, se presentaron como cepas con resistencia a todos los betalactámicos pero sensibles a la cefoxitina y carbapenems. Este fenotipo es igual que para *Klebsiella pneumoniae*.

Este mecanismo de resistencia se caracteriza por producir enzimas capaces de hidrolizar a cefalosporinas de amplio espectro y a las monobactamas,

pero no a las cefamicinas ni a los carbapenems, siendo inhibidas por inhibidores de betalactamasas.

Las BLEE se van a clasificar de acuerdo a la secuencia de aminoácidos. Su aparición se originó por mutaciones en betalactamasas clásicas o por la movilización e integración de genes de betalactamasas cromosómicas en diferentes estructuras genéticas, como los plásmidos.

Entre las BLEE con mayor prevalencia y donde se encuentran la mayoría de estas enzimas, se engloban las del tipo TEM, SHV, CTX-M y OXA. Así pues la BLEE tipo PER no se relaciona con las anteriores y es propia de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.

La dispersión de este tipo de resistencia representa un claro problema clínico, concretamente a nivel comunitario, puesto que no sólo son resistentes a la mayoría de las cefalosporinas, sino que suelen ser resistentes a otros antimicrobianos como las quinolonas, las tetraciclinas, los aminoglucósidos o el cotrimoxazol.

Ante una bacteriemia producida por microorganismos productores de BLEE, los fármacos de elección son los carbapenems, pero se hace necesario controlar el uso de los mismos por la posible aparición de resistencias que dificultarían el uso de estos fármacos a largo plazo.

En nuestro centro se observó un gran predominio de bacteriemias producidas por *E. coli*, con un porcentaje significativo de BLEE. Sería necesario mantener una estricta vigilancia epidemiológica de pacientes colonizados/infectados por estos patógenos en el ambiente hospitalario para evitar su diseminación.

La resistencia a carbapenems está ausente en la mayoría de los países europeos, de forma que aunque la efectividad de estos antibióticos es muy alta, la rápida diseminación de cepas productoras de carbapenemasas puede complicar el uso de esta última opción terapéutica.

Por todo lo visto hasta el momento, vemos que hasta el más común de los tratamientos no tiene una aplicación fácil. La elección de un antibiótico entre varios candidatos, tiene siempre una serie de ventajas y desventajas asociadas, que conllevará un dilema en la prescripción antibiótica.

La fiebre, la leucocitosis con neutrofilia y la edad avanzada pueden ser criterios de un SIRS de origen infeccioso que requerirá de la necesidad de un tratamiento antibiótico intravenoso.

Un tratamiento antibiótico empírico acompañado del rango de susceptibilidad más común de los patógenos mayoritariamente aislados, deberá proporcionar el mejor cambio en la clínica del paciente. No obstante, no habrá que olvidar que después de las 48 horas de la extracción del hemocultivo, será posible obtener un perfil de sensibilidad propio del agente infeccioso aislado.

Así pues, la elección del tratamiento deberá hacerse teniendo presente muchos factores tales como estado del paciente, la enfermedad a tratar, el mapa microbiológico del servicio en cuestión, así como los intereses presentes o futuros del enfermo en cuanto al desarrollo de resistencias. En consecuencia, este estudio proporciona una herramienta más al clínico para elegir el tratamiento más adecuado.

9 Conclusiones

Las conclusiones del presente estudio son las siguientes:

- La incidencia de bacteriemias verdaderas en el Servicio de Urgencias fue de un 18 %.
- El predominio de bacterias gramnegativas fue superior al de las bacterias grampositivas, destacando entre las primeras a la *E. coli* y entre las grampositivas a los *Staphylococcus* coagulasa negativa. El perfil de sensibilidad antibiótica obedece en general al de cepas salvajes, a pesar de aislarse en individuos pluripatológicos.
- La incidencia de SARM fue de 17% y la de BLEE del 12 %.
- El papel de la tigeciclina, daptomicina y linezolid frente a las cepas estudiadas fue de máxima efectividad.
- La población estudiada es una población adulta, pluripatológica mayoritariamente masculina, que presentó un tiempo medio de hospitalización no superior a los 10 días.

Bibliografía

- [1] Abraham, E. P. y Chain, E.: «An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin». *Nature*, 1940, **146**, p. 837.
<http://dx.doi.org/10.1038/146837a0>
- [2] Agencia española de medicamentos y productos sanitarios.: «Centro de Información online de Medicamentos».
<http://www.aemps.es/>
- [3] Ardanuy, C.; Fenoll, A.; Berrón, S.; Calatayud, L. y Liñares, J.: «Increase of the M phenotype among erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates from Spain related to the serotype 14 variant of the Spain^{9V}-3 clone». *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, **50(9)**, pp. 3162–3165.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00269-06>
- [4] Ardanuy, C.; Tubau, F.; Liñares, J.; Domínguez, M.^a A.; Pallarés, R.; Martín, R. y Spanish Pneumococcal Infection Study Network (G03/103): «Distribution of Subclasses *mefA* and *mefE* of the *mefA* Gene among Clinical Isolates of Macrolide-Resistant (M-Phenotype) *Streptococcus pneumoniae*, Viridans Group Streptococci, and *Streptococcus pyogenes*». *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, **49(2)**, pp. 827–829.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.49.2.827-829.2005>
- [5] Ardanuy Tisaire, C.: « β -lactamasas plasmídicas de espectro ampliado», 1997.
http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/kpbpea.htm

- [6] Arias, C. A. y Murray, B. E.: «Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci», 2009.
<http://www.uptodate.com>
- [7] Artiles Campelo, F.; Horcajada Herrera, I.; Alamo Antúnez, I.; Cañas Pedrosa, A. y Lafarga Capuz, B.: «Fenotipos y mecanismos genéticos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en estreptococos del grupo *viridans*». *Rev Esp Quimioter*, 2007, **20(3)**, pp. 317–322.
- [8] Ausina Ruíz; Moreno Guillén y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: *Tratado S.E.I.M.C. de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Editorial Médica Panamericana, S.A., 2006.
- [9] Barry, A. L.; Smith, P. B. y Turck, M.: *Cumitech 2, Laboratory diagnosis of urinary tract infections*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1975.
- [10] Becerra, G.; Plascencia, A.; Luévanos, A.; Domínguez, M. y Hernández, I.: «Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias». *Enf Inf Microbiol*, 2009, **29(2)**, pp. 70–76.
- [11] Bergogne-Berezin, E.: «Actualisation de l'examen cytobactériologique des urines». *Rev. Fr. Lab.*, 1988, **169**, pp. 49–55.
- [12] Biavasco, F.; Vignaroli, C.; Lazzarini, R. y Varaldo, P. E.: «Glycopeptide susceptibility profiles of *Staphylococcus haemolyticus* bloodstream isolates». *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, **44(11)**, pp. 3122–3126.
- [13] Biavasco, F.; Vignaroli, C. y Varaldo, P. E.: «Glycopeptide resistance in coagulase-negative staphylococci». *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000, **19(6)**, pp. 403–417.
- [14] Billot-Klein, D.; Gutmann, L.; Bryant, D.; Bell, D.; Heijenoort, J. Van; Grewal, J. y Shlaes, D. M.: «Peptidoglycan synthesis and structure in *Staphylococcus haemolyticus* expressing increasing levels of resistance to glycopeptide antibiotics». *J Bacteriol*, 1996, **178(15)**, pp. 4696–4703.

- [15] Bush, K.; Jacoby, G. A. y Medeiros, A. A.: «A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure». *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, **39(6)**, pp. 1211–1233.
- [16] Calatayud, L.; Ardanuy, C.; Cercenado, E.; Fenoll, A.; Bouza, E.; Pallares, R.; Martín, R. y Liñares, J.: «Serotypes, Clones, and Mechanisms of Resistance of Erythromycin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Isolates Collected in Spain». *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, **51(9)**, pp. 3240–3246.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00157-07>
- [17] Cantón, R.; García Sánchez, J. E.; Gómez-Lus, M.^a L.; Martínez Martínez, L.; Rodríguez-Avial, C. y Vila, J.: *Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. SEIMC, 1^a edición, 2000.
- [18] Catlin, B. W.: «Nutritional profiles of *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, and *Neisseria lactamica* in chemically defined media and the use of growth requirements for gonococcal typing». *J Infect Dis*, 1973, **128(2)**, pp. 178–194.
- [19] Centers for Disease Control and Prevention: «Laboratory Detection of Vancomycin-Intermediate/Resistant *Staphylococcus aureus* (VISA/VRSA)». Web, 2006.
http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_visavrsa_labFAQ.html
- [20] Chung, M.; Antignac, A.; Kim, C. y Tomasz, A.: «Comparative study of the susceptibilities of major epidemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to oxacillin and to the new broad-spectrum cephalosporin ceftobiprole». *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, **52(8)**, pp. 2709–2717.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00266-08>
- [21] Cisneros-Herreros, J. M.; Sánchez-González, M.; Prados-Blanco, M.^a T.; Llanos-Rodríguez, C.; Vigil-Martín, E.; Soto-Espinosa de los Monteros, B. y Pachón-Díaza, J.: «Hemocultivos en el servicio de urgencias». *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 2005, **23(3)**, pp. 135–139.

http://www.elsevier.es/revistas/ctl_servlet?_f=7012&articuloid=13072162&revistaid=28

- [22] Clinical and Laboratory Standards Institute: «Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 18th informational supplement», 2008.
- [23] Cobo Reinoso, J.; Pujol Rojo, M.; Rodríguez Baño, J. y Salavert Lletí, M.: «Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia», 2006.
http://www.seimc.org/documentos/guias/2006/Guia4_2006_Bacteriemia.pdf
- [24] Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM): «Recommandation n° 3: antibiogramme par diffusion en milieu gélosé pour les bactéries aérobies à croissance rapide». *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 1993, **8(3)**, pp. 155–166.
- [25] Courvalin, P.: «Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci». *Clin Infect Dis*, 2006, **42 Suppl 1**, pp. S25–S34.
<http://dx.doi.org/10.1086/491711>
- [26] Daciuk, L.; Lossa, G.; Laplumé, H. E.; Hara, G. L.; Clara, L.; Aguilar, L.; Bernaechea, M.^a P.; Blanco, M. y Quinteros, M.: «Consenso SADI-SATI-INE-ADECI. Guía para el manejo racional de la antibioticoterapia en la Unidad de Terapia Intensiva- Parte II». *Rev Panam Infectol*, 2008, **10(4)**, pp. 71–82.
- [27] D'Amato, R. F. y Thornsberry, C.: «Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results». *Current Microbiology*, 1979, **2(3)**, pp. 135–138.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF02605869>
- [28] Daum, R. S.: «Clinical Practice. Skin and Soft-tissue Infections Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*». *N Engl J Med*, 2007, **357(4)**, pp. 380–390.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMcp070747>

- [29] Daurel, C.; Huet, C.; Dhalluin, A.; Bes, M.; Etienne, J. y Leclercq, R.: «Differences in Potential for Selection of Clindamycin-Resistant Mutants Between Inducible *erm(A)* and *erm(C)* *Staphylococcus aureus* Genes». *J Clin Microbiol*, 2008, **46(2)**, pp. 546–550.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01925-07>
- [30] de Cueto, M.; Hernández, J. R.; López-Cerero, L.; Morillo, C. y Pascual, A.: «Actividad de fosfomicina sobre cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido». *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2006, **24(10)**, pp. 613–616.
- [31] del Campo, R.; Cafini, F.; Morosini, M.^a I.; Fenoll, A.; Liñares, J.; Alou, L.; Sevillano, D.; Cantón, R.; Prieto, J.; Baquero, F. y Spanish Pneumococcal Network (G3/103): «Combinations of PBPs and MurM protein variants in early and contemporary high-level penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in Spain». *J Antimicrob Chemother*, 2006, **57(5)**, pp. 983–986.
- [32] Delmas, P. y Freney, J.: «Les streptocoques = Streptococci». *Lyon pharmaceutique*, 1989, **40(5)**, pp. 353–369.
- [33] Deresinski, S.: «Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolutionary, Epidemiologic, and Therapeutic Odyssey». *Clin Infect Dis*, 2005, **40(4)**, pp. 562–573.
<http://dx.doi.org/10.1086/427701>
- [34] Eberhard, O. K.; Haubitz, M.; Brunkhorst, F. M.; Kliem, V.; Koch, K. M. y Brunkhorst, R.: «Usefulness of procalcitonin for differentiation between activity of systemic autoimmune disease (systemic lupus erythematosus/systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis) and invasive bacterial infection». *Arthritis Rheum*, 1997, **40(7)**, pp. 1250–1256.
<http://dx.doi.org/gt;3.0.CO;2-A>
- [35] Ellner, P. D.; Stoessel, C. J.; Drakeford, E. y Vasi, F.: «A new culture medium for medical bacteriology». *Am J Clin Pathol*, 1966, **45(4)**, pp. 502–504.

- [36] Ewing, H. G.: *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*. Elsevier Science Publishing Co Inc., New York, USA, 4ª edición, 1986.
- [37] Facklam, R. R.; Padula, J. F.; Wortham, E. C.; Cooksey, R. C. y Rountree, H. A.: «Presumptive identification of group A, B, and D streptococci on agar plate media». *J Clin Microbiol*, 1979, **9(6)**, pp. 665–672.
- [38] Famiglietti, A.; Quinteros, M.; Vázquez, M.; Marín, M.; Nicola, F.; Radice, M.; Galas, M.; Pasterán, F.; Bantar, C.; Casellas, J. M.; Kovensky Pupko, J.; Couto, E.; Goldberg, M.; Lopardo, H.; Gutkind, G. y Soloaga, R.: «Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en *Enterobacteriaceae*». *Rev Argent Microbiol*, 2005, **37(1)**, pp. 57–66.
- [39] Fariñas, M. C.; Fariñas Alvarez, C.; García Palomo, J. D. y González Macías, J.: «Bacteriemia y sepsis. Aspectos etiológicos y patogénicos. Clínica y diagnóstico». *Medicine*, 1998, **7(73)**, pp. 3377–3383.
- [40] Fiebelkorn, K. R.; Crawford, S. A.; McElmeel, M. L. y Jorgensen, J. H.: «Practical Disk Diffusion Method for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci». *J Clin Microbiol*, 2003, **41(10)**, pp. 4740–4744.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.10.4740-4744.2003>
- [41] Flandrois, J-P. y Chomarar, M.: *Bactériologie médicale pratique*. Medsi/McGraw-Hill, 1989.
- [42] Fontana, R.; Ligozzi, M.; Mazzariol, A.; Veneri, G. y Cornaglia, G.: «Resistance of Enterococci to Ampicillin and Glycopeptide Antibiotics in Italy». *Clin Infect Dis*, 1998, **27 Suppl 1**, pp. S84–S86.
- [43] Franco Moreno, A. I.; Casallo Blanco, E. S.; Marcos Sánchez, F.; Sánchez Casado, M.; Gil Ruiz, M. T. y Martínez de la Casa Muñoz, A. M.: «Estudio de las bacteriemias en el Servicio de Medicina Interna de un hospital de grupo 2: Análisis de los tres últimos años». *An. Med. Interna*, 2005, **22(5)**, pp. 217–221.

- [44] García Martos, P.; Paredes Salido, F. y Fernández del Barrio, M.^a T.: *Microbiología clínica práctica*. Servicio Publicaciones UCA, 2^a edición, 1994.
- [45] García Ordóñez, M. A.; Moya Benedicto, R.; López González, J. J. y Colmenero Castillo, J. D.: «Características epidemiológicas de la bacteriemia de origen comunitario y nosocomial en pacientes hospitalizados mayores de 65 años». *An Med Interna*, 2006, **23(2)**, pp. 62–65.
- [46] Garner, J. S.; Jarvis, W. R.; Emori, T. G.; Horan, T. C. y Hughes, J. M.: «CDC definitions for nosocomial infections, 1988». *Am J Infect Control*, 1988, **16(3)**, pp. 128–140.
- [47] Ge, Y.; Biek, D.; Talbot, G. H. y Sahm, D. F.: «In vitro profiling of ceftaroline against a collection of recent bacterial clinical isolates from across the United States». *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, **52(9)**, pp. 3398–3407.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00149-08>
- [48] Gold, H. S.: «Vancomycin-Resistant Enterococci: Mechanisms and Clinical Observations». *Clin Infect Dis*, 2001, **33(2)**, pp. 210–219.
<http://dx.doi.org/10.1086/321815>
- [49] Gray, J. W.; Stewart, D. y Pedler, S. J.: «Species Identification and Antibiotic Susceptibility Testing of Enterococci Isolated from Hospitalized Patients». *Antimicrob Agents Chemother*, 1991, **35(9)**, pp. 1943–1945.
- [50] Haltiner, R. C.; Migneault, P. C. y Robertson, R. G.: «Incidence of thymidine-dependent enterococci detected on Mueller-Hinton agar with low thymidine content». *Antimicrob Agents Chemother*, 1980, **18(3)**, pp. 365–368.
- [51] Hartman, B. y Tomasz, A.: «Altered Penicillin-Binding Proteins in Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*». *Antimicrob Agents Chemother*, 1981, **19(5)**, pp. 726–735.
- [52] Hooper, D. C.: «Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance». *Emerg Infect Dis*, 2001, **7(2)**, pp. 337–341.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid0702.010239>

- [53] Johannes, R. S.: «Epidemiology of early-onset bloodstream infection and implications for treatment». *Am J Infect Control*, 2008, **36(10)**, pp. S171.e13–S171.e17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2008.10.003>
- [54] Jones, A. E.; Fiechtl, J. F.; Brown, M. D.; Ballew, J. J. y Kline, J. A.: «Procalcitonin test in the diagnosis of bacteremia: a meta-analysis». *Ann Emerg Med*, 2007, **50(1)**, pp. 34–41.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.annemergmed.2006.10.020>
- [55] Kanafani, Z. A. y Fowler, V. G.: «*Staphylococcus aureus* Infections: New Challenges From an Old Pathogen». *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2006, **24(3)**, pp. 182–193.
<http://dx.doi.org/10.1157/13086552>
- [56] Kanematsu, E.; Deguchi, T.; Yasuda, M.; Kawamura, T.; Nishino, Y. y Kawada, Y.: «Alterations in the GyrA Subunit of DNA Gyrase and the ParC Subunit of DNA Topoisomerase IV Associated With Quinolone Resistance in *Enterococcus faecalis*». *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, **42(2)**, pp. 433–435.
- [57] Kasper, D. L.; Braunwald, E.; Fauci, A. S.; Hauser, S. L.; Longo, D. L. y Jameson, J. L.: *Harrison. Manual de medicina*. Mcgraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U., 16^a edición, 2005.
- [58] Katayama, Y.; Ito, T. y Hiramatsu, K.: «A New Class of Genetic Element, Staphylococcus Cassette Chromosome *mec*, Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*». *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, **44(6)**, pp. 1549–1555.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.44.6.1549-1555.2000>
- [59] Kirby, W. M. M.: «Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci». *Science*, 1944, **99(2579)**, pp. 452–453.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.99.2579.452>

- [60] Laupland, K. B. y Conly, J. M.: «Treatment of *Staphylococcus aureus* colonization and prophylaxis for infection with topical intranasal mupirocin: an evidence-based review». *Clin Infect Dis*, 2003, **37(7)**, pp. 933–938.
<http://dx.doi.org/10.1086/377735>
- [61] Leclercq, R.: «Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of The Resistance Elements and Their Clinical Implications». *Clin Infect Dis*, 2002, **34(4)**, pp. 482–492.
<http://dx.doi.org/10.1086/324626>
- [62] Livermore, D. M.: «Linezolid *in vitro*: mechanism and antibacterial spectrum». *J Antimicrob Chemother*, 2003, **51 Suppl 2**, pp. ii9–i16.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg249>
- [63] Lowy, F. D.: «Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*». *J Clin Invest*, 2003, **111(9)**, pp. 1265–1273.
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI18535>
- [64] MacConkey, A.: «Lactose-Fermenting Bacteria in Faeces». *The Journal of Hygiene*, 1905, **5(3)**, pp. 333–379.
<http://www.jstor.org/stable/3858744>
- [65] Martin, J. E.; Billings, T. E.; Hackney, J. F. y Thayer, J. D.: «Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium». *Public Health Rep*, 1967, **82(4)**, pp. 361–363.
- [66] Martínez Luengas, F. y Grupo colaborador para el estudio de bacteriemias: «Bacteriemia en 6 hospitales españoles». *Med Clin (Barc)*, 1986, **86**, pp. 221–232.
- [67] McCabe, W. R. y Jackson, G. G.: «Gram-Negative Bacteremia: II. Clinical, Laboratory, and Therapeutic Observations». *Arch Intern Med*, 1962, **110(6)**, pp. 856–864. doi: 10.1001/archinte.1962.03620240038007.
<http://archinte.ama-assn.org>

- [68] Medeiros, A. A.: «Beta-lactamases». *Br Med Bull*, 1984, **40(1)**, pp. 18–27.
- [69] Mensa, J.; Barberán, J.; Llinares, P.; Picazo, J. J.; Bouza, E.; Alvarez-Lerma, F.; Borges, M.; Serrano, R.; León, C.; Guirao, X.; Arias, J.; Carreras, E.; Sanz, M.^a y García-Rodríguez, J.^a: «Guía de tratamiento de la infección producida por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina». *Rev Esp Quimioter*, 2008, **21(4)**, pp. 234–258.
- [70] Moellering, R. C.: «Editorial Response: Staphylococci vs. Glycopeptides—How Much Are the Battle Lines Changing?» *Clin Infect Dis*, 1999, **29(4)**, pp. 768–770.
<http://dx.doi.org/10.1086/520430>
- [71] Molinos Abós, S. y Giménez Pérez, M.: «Características clínico-microbiológicas de las infecciones por *Staphylococcus schleiferi* y otros estafilococos coagulasa-negativos», 2005.
- [72] Montejo, M.; Hernández, J. L.; Martín de la Fuente, A.; Aguirrebengoa, K.; Fernández Bilbao, J.; Benito, J. R. y Oñate, J.: «Bacteriemia y fungemia nosocomial en adultos en un hospital terciario: Estudio de un año». *Gac Med Bilbao*, 2002, **99(4)**, pp. 100–103.
- [73] Murray, B. E.: «Vancomycin-resistant enterococcal infections». *N Engl J Med*, 2000, **342(10)**, pp. 710–721.
- [74] Murray, P. R. y Zeitinger, J. R.: «Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests». *J Clin Microbiol*, 1983, **18(5)**, pp. 1269–1271.
- [75] Naimi, T. S.; LeDell, K. H.; Como-Sabetti, K.; Borchardt, S. M.; Boxrud, D. J.; Etienne, J.; Johnson, S. K.; Vandenesch, F.; Fridkin, S.; O’Boyle, C.; Danila, R. N. y Lynfield, R.: «Comparison of Community- and Health Care-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection». *JAMA*, 2003, **290(22)**, pp. 2976–2984.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.290.22.2976>

- [76] Navarro Risueño, F.; Miró Cardona, E. y Mirelis Otero, B.: «Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias». *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2002, **20**, pp. 225–234.
http://www.elsevier.es/revistas/ctl_servlet?_f=7064&ip=84.76.234.11&articuloid=13031076&revistaid=28
- [77] Noto, M. J. y Archer, G. L.: «A Subset of *Staphylococcus aureus* Strains Harboring Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) Type IV Is Deficient in CcrAB-Mediated SCC*mec* Excision». *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, **50(8)**, pp. 2782–2788.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00032-06>
- [78] Oliver, A. y Cantón, R.: «Enterobacterias productoras de β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido», 2003.
http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/Blees.htm
- [79] Oliver Palomo, A.: «Resistencia a glucopéptidos en *Enterococcus*», 2002.
http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/Vre.htm
- [80] Pallares, R.; Liñares, J.; Vadillo, M.; Cabellos, C.; Manresa, F.; Viladrich, P. F.; Martín, R. y Gudiol, F.: «Resistance to penicillin and cephalosporin and mortality from severe pneumococcal pneumonia in Barcelona, Spain». *N Engl J Med*, 1995, **333(8)**, pp. 474–480.
- [81] Patel, M.; Waites, K. B.; Moser, S. A.; Cloud, G. A. y Hoesley, C. J.: «Prevalence of Inducible Clindamycin Resistance among Community- and Hospital-Associated *Staphylococcus aureus* Isolates». *J Clin Microbiol*, 2006, **44(7)**, pp. 2481–2484.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02582-05>
- [82] Pérez, J.A.; de la Iglesia, M. y de la Iglesia, A.: «¿Es realmente posible bajar la tasa de contaminación de hemocultivos por debajo del 8%?» SAMPAC, 2009.

- [83] Proctor, R. A. y Peters, G.: «Small Colony Variants in Staphylococcal Infections: Diagnostic and Therapeutic Implications». *Clin Infect Dis*, 1998, **27(3)**, pp. 419–422.
- [84] Robredo, B.; Singh, K. V.; Baquero, F.; Murray, B. E. y Torres, C.: «Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food». *Int J Food Microbiol*, 2000, **54(3)**, pp. 197–204.
- [85] Rodloff, A. C.; Appelbaum, P. C. y Zabransky, R. J.: *Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1991.
- [86] Rogers, H. J.: «Killing of Staphylococci by Penicillins». *Nature*, 1967, **213(5071)**, pp. 31–33.
<http://dx.doi.org/10.1038/213031a0>
- [87] Rowland, S. J. y Dyke, K. G.: «Tn552, a novel transposable element from *Staphylococcus aureus*». *Mol Microbiol*, 1990, **4(6)**, pp. 961–975.
- [88] Salavert Lletí, M.; Pemán, J.; Gimeno Cardona, C. y Zaragoza Crespo, R.: *Microbiología Aplicada al Paciente Crítico*. Editorial Médica Panamericana S.A., 2008.
- [89] Sanz Carabaña, P.; Ramos Martínez, A.; Asensio Vegas, A.; García Navarro, M.^a J. y Linares Rufo, M.: «Mortalidad y factores pronósticos en pacientes hospitalizados por bacteriemia adquirida en la comunidad». *An Med Interna*, 2006, **23(2)**, pp. 66–72.
- [90] Schaedler, R. W.; Dubos, R. y Costello, R.: «The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice». *J Exp Med*, 1965, **122**, pp. 59–66.
- [91] Siberry, George K; Tekle, Tsigereda; Carroll, Karen y Dick, James: «Failure of clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro». *Clin Infect Dis*, 2003, **37(9)**, pp. 1257–1260.
<http://dx.doi.org/10.1086/377501>

- [92] Siegman-Igra, Y.; Fourer, B.; Orni-Wasserlauf, R.; Golan, Y.; Noy, A.; Schwartz, D. y Giladi, M.: «Reappraisal of community-acquired bacteremia: a proposal of a new classification for the spectrum of acquisition of bacteremia.» *Clin Infect Dis*, 2002, **34(11)**, pp. 1431–1439. doi: 10.1086/339809.
<http://dx.doi.org/10.1086/339809>
- [93] Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene: «Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España. Protocolo del Estudio», 2009.
- [94] Stalons, D. R.; Thornsberry, C. y Dowell, V. R.: «Effect of culture medium and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens». *Appl Microbiol*, 1974, **27(6)**, pp. 1098–1104.
- [95] Starr, S. E.; Killgore, G. E. y Dowell, V. R.: «Comparison of Schaedler agar and trypticase soy-yeast extract agar for the cultivation of anaerobic bacteria». *Appl Microbiol*, 1971, **22(4)**, pp. 655–658.
- [96] Stull, T. L.: «Protein sources of heme for *Haemophilus influenzae*». *Infect Immun*, 1987, **55(1)**, pp. 148–153.
- [97] Swenson, J. M.; Tenover, F. C. y Cefoxitin Disk Study Group: «Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of *mecA* in *Staphylococcus* spp». *J Clin Microbiol*, 2005, **43(8)**, pp. 3818–3823.
- [98] Thornsberry, C.: «The development of antimicrobial resistance in staphylococci». *J Antimicrob Chemother*, 1988, **21 Suppl C**, pp. 9–17.
- [99] Tibavizco, D.; Rodríguez, J. Y.; Silva, E.; Cuervo, S. I. y Cortés, J. A.: «Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*». *Biomedica*, 2007, **27(2)**, pp. 294–307.
<http://dx.doi.org/S0120-41572007000800016>
- [100] Torres, C.: «Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos». *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2002, **20(7)**, pp. 354–63; quiz 363–4.

- [101] Tsakris, A.; Pillai, S. K.; Gold, H. S.; Thauvin-Eliopoulos, C.; Venkataraman, L.; Wennersten, C.; Moellering, R. C. y Eliopoulos, G. M.: «Persistence of rRNA operon mutated copies and rapid re-emergence of linezolid resistance in *Staphylococcus aureus*». *J Antimicrob Chemother*, 2007, **60(3)**, pp. 649–651.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm246>
- [102] Tsiodras, S.; Gold, H. S.; Sakoulas, G.; Eliopoulos, G. M.; Wennersten, C.; Venkataraman, L.; Moellering, R. C. y Ferraro, M. J.: «Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*». *Lancet*, 2001, **358(9277)**, pp. 207–208.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05410-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05410-1)
- [103] Tubau, F.; Liñares, J. y Martín, R.: «Resistencia antibiótica en *Streptococcus pneumoniae*», 1999.
http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pnepp.htm
- [104] Vallés, J.; León, C. y Alvarez-Lerma, F.: «Nosocomial bacteremia in critically ill patients: a multicenter study evaluating epidemiology and prognosis. Spanish Collaborative Group for Infections in Intensive Care Units of Sociedad Espanola de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias (SEMIUC).» *Clin Infect Dis*, 1997, **24(3)**, pp. 387–395.
- [105] von Eiff, C.: «*Staphylococcus aureus* small colony variants: a challenge to microbiologists and clinicians». *Int J Antimicrob Agents*, 2008, **31(6)**, pp. 507–510.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.10.026>
- [106] VV. AA.: «American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis», 1992.
- [107] Wilkins, T. D.; Chalgren, S. L.; Jimenez-Ulate, F.; Drake, C. R. y Johnson, J. L.: «Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin». *J Clin Microbiol*, 1976, **3(3)**, pp. 359–363.