

**Universidad de Costa Rica**

**Facultad de Microbiología**

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA AISLADAS A PARTIR DE  
PACIENTES DEL HOSPITAL MÉXICO**

**Trabajo Final de Graduación para optar por el grado de  
Licenciatura en Microbiología y Química Clínica**

**Vivian Madriz Garita**

**Comité asesor:**

**Dr. Fernando García Santamaría  
Dra. Teresita Somogyi Pérez  
Dr. Carlos Quesada Gómez**

**San José, julio del 2007**

*A Mau,*

*porque la vida nunca será la misma sin tí...*

*"No puedo ir a estar contigo porque ya estoy allí."*

*Richard Bach*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Gracias infinitas hoy y siempre a mis padres por ser el mejor ejemplo a seguir, por su dedicación constante y por ser mis guías durante este trayecto de mi vida.*

*A mis hermanos y amigos les doy las gracias por las risas que hicieron de un día difícil un día para recordar con cariño.*

*Gracias de corazón a Montero por su apoyo y paciencia incondicionales en todo momento de mi carrera a pesar de las dificultades que el camino nos deparó. Sin tu presencia en mi vida los obstáculos hubiesen sido más difíciles de atravesar.*

*Muchas gracias a Fernando, Yeimy, a las personas que trabajaron en el laboratorio de Bacterias y a todos aquellos que aportaron su ayuda en este proyecto.*



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
VICERRECTORÍA DE DOCENCIA

FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA  
CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO

Acta de presentación de Requisito Final de Graduación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el miércoles 04 de julio del año 2007 con el objeto de recibir el informe oral de la estudiante **VIVIAN MADRIZ GARITA** carné A12055, quien se acoge al Reglamento de Trabajos Finales de Graduación bajo la modalidad de **PRACTICA DE GRADUACIÓN**, para optar por el grado académico de **LICENCIADA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA** y el título profesional de **DOCTORA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA**.

Están presentes los siguientes miembros del tribunal:

Dra. Ximena Cortés **PRESIDENTA**  
Dr. Fernando García  
Dra. Teresita Somogyi  
Dr. Carlos Quesada  
Dra. Sandra Boza

**ARTICULO 1**

La presidenta informa que el expediente de **VIVIAN MADRIZ GARITA**, contiene todos los documentos de rigor, incluyendo el recibo de pago de los derechos de graduación. Declara que la postulante cumplió con todos los demás requisitos del plan de estudios correspondientes, y por lo tanto, se solicita que proceda a hacer la exposición.

**ARTICULO 2**

La postulante **VIVIAN MADRIZ GARITA**, hace la exposición oral de su trabajo de graduación título "**Caracterización molecular de cepas *Pseudomonas aeruginosa* a partir de aislamiento de pacientes de Hospital México**".

### ARTICULO 3

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la Postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

### ARTICULO 4

El tribunal considera el trabajo final de graduación satisfactorio y le confiere la calificación de: 10

### ARTICULO 5

La presidenta del Tribunal comunica a la Postulante el resultado de la deliberación y la declara acreedora al grado de **Licenciada en Microbiología y Química Clínica** y al título profesional de **Doctora en Microbiología y Química Clínica**.

Se le indica la obligación de presentarse al acto público de juramentación al que será oportunamente convocada. Se da lectura al acta que firman los Miembros del Tribunal Examinador y a la Postulante, a las 9:15 horas.

  
\_\_\_\_\_  
Dña. Ximena Cortés  
Presidenta

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Fernando García

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Teresita Somogyi

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Carlos Quesada

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Sandra Boza

  
\_\_\_\_\_  
Vivian Madrid Garita  
Postulante

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Descripción general de género <i>Pseudomonas</i> .....	1
1.2 Hábitats naturales de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	2
1.3 Importancia clínica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
1.3.A- Infecciones superficiales .....	4
1.3.B- Infecciones en pacientes con quemaduras .....	5
1.3.C- Infecciones localizadas .....	6
1.3.D- Infecciones sistémicas .....	6
1.3.E- Infecciones nosocomiales .....	7
1.3.F- Infecciones en pacientes con fibrosis quística .....	9
1.4 El genoma bacteriano de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	9
1.5 Mecanismos de resistencia a antibióticos .....	10
1.5.A- Mecanismos de resistencia en <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> .....	11
1.5.B- Proteínas de membrana externa (OMP) .....	13
1.5.C- Sistemas de bombas de flujo .....	13
1.5.D- Clasificación y organización de los sistemas de bombas de flujo .....	14
<b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>3. OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS .....</b>	<b>18</b>
3.1 Objetivo general.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>19</b>
4.1 Elaboración de la base de datos .....	19
4.2 Extracción de ADN .....	19
4.3 Corrida del ADN extraído en gel de agarosa .....	19
4.4 PCR de los ADN extraídos .....	20
4.5 Corrida en gel de agarosa de los productos de PCR .....	20
4.6 Análisis estadístico .....	20
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>22</b>

5.1 Análisis estadístico de la base de datos .....	22
5.2 Análisis comparativo de las cepas de <i>P. aeruginosa</i> .....	26
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>41</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>42</b>
<b>9. ANEXO .....</b>	<b>44</b>

*Pseudomonas aeruginosa* es un microorganismo que ha tomado gran importancia a nivel hospitalario debido a su incremento en la resistencia a distintos agentes antimicrobianos. Debido a esta situación las opciones a un tratamiento efectivo se han visto limitadas y el manejo de los pacientes con infecciones por *P. aeruginosa* se ha vuelto una tarea difícil de controlar. La presente investigación pretendió establecer el panorama de las infecciones por *P. aeruginosa* en el país, específicamente en pacientes del Hospital México. A partir de 198 muestras clínicas de pacientes del Hospital México obtenidas desde noviembre del 2004 hasta octubre del 2005, se realizó una base de datos con información referente al paciente y al patrón de resistencia a algunos agentes antimicrobianos. Con las cepas obtenidas de *P. aeruginosa* se efectuó un RADP para posteriormente comparar el patrón molecular de las cepas en el programa GelCompar II, para así establecer los porcentajes de correlación entre los distintos aislamientos. Se logró determinar los porcentajes de aislamientos según sexo, tipo de muestra, servicio y resistencia a los agentes antimicrobianos utilizados en el estudio. También se estableció la distribución de los aislamientos según el tipo de muestra, sexo y perfil de resistencia a antibióticos para obtener posibles asociaciones positivas o negativas según la característica analizada. Finalmente, mediante análisis fenotípico se establecieron los distintos clones presentes en los servicios del Hospital México y se agruparon en 9 grupos primarios y 20 grupos secundarios al compartir entre sí un 80% de similitud genética. A pesar del aumento en la resistencia a los carbapenems, en este estudio se puede observar que la resistencia a la piperacilina/tazobactam sigue siendo baja. El patrón de resistencia a los antibióticos entre los diferentes clones no es siempre el mismo, lo que sugiere la posible adquisición de genes o bien debido a la presión por el uso indiscriminado de antibióticos. Se logró definir para algunos grupos primarios y secundarios una asociación a un servicio hospitalario en particular, y en aquellos servicios donde la variabilidad de clones es baja se puede atribuir a un predominio de ciertos clones. Por último, se definió la importancia del manejo de los pacientes internados en el servicio de terapia intensiva, donde la variabilidad de genes y la importante cantidad de grupos de clones asociados hace pensar en los posibles factores de riesgo que intervienen en el establecimiento de este tipo de infecciones.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Descripción general del género *Pseudomonas*

En el género *Pseudomonas* se incluyen las bacterias no fermentadoras, conocidas también como bacterias oxidadoras o sacarolíticas, que pueden degradar de forma oxidativa los carbohidratos. Los bacilos y cocobacilos Gram negativos no fermentadores son ubicuos, se pueden encontrar en suelo, agua, plantas, vegetación en proceso de descomposición, en alimentos; en hospitales son aislados a partir de nebulizadores, fluidos de diálisis, catéteres y otros instrumentos (Mahon y Manuselis, 2000).

Las bacterias no fermentadoras representan un 15% del total de aislamientos de bacilos Gram negativos recuperados en el laboratorio de microbiología clínica. Clínicamente, existen diferencias en las infecciones causadas por cada especie. Sin embargo, algunas manifestaciones de la enfermedad y factores de riesgo presentes son comunes. Algunas de las manifestaciones de enfermedad asociadas a los organismos no fermentadores son septicemia, meningitis, osteomielitis e infecciones de heridas usualmente debidas a traumas o cirugía. Los factores de riesgo que facilitan el desarrollo de una infección por estos microorganismos son inmunosupresión (tales como la Diabetes Mellitus, el cáncer, el uso de esteroides, los trasplantes), trauma (disparos de bala, heridas por arma blanca, punción, cirugía, quemaduras), implantación de cuerpos extraños (como catéteres urinarios o sanguíneos, prótesis de válvulas y articulaciones, implantes corneales o lentes de contacto) y fluidos de infusión como dializados e irrigaciones salinas (Mahon y Manuselis, 2000).

Algunas características del género *Pseudomonas* son (Murray *et al.*, 2003; Mahon y Manuselis, 2000; Baltch, 1994 y Todar, 2004):

- Bacilos o cocobacilos Gram negativos, rectos o ligeramente curvos, aeróbicos no formadores de esporas. Miden 1.5 – 5  $\mu\text{m}$  de longitud y 0.5 – 1  $\mu\text{m}$  de ancho y poseen un estricto metabolismo respiratorio con oxígeno como el aceptor final de electrones. Algunos aislamientos

pueden crecer bajo condiciones anaeróbicas utilizando nitrato y arginina como últimos aceptores de electrones.

- Móviles por uno o más flagelos polares.
- No forman esporas.
- No realizan fotosíntesis ni logran fijar en nitrógeno.
- Oxidasa y catalasa positivos (con la excepción de *P. luteola* y *P. oryzihabitans*).
- Comúnmente crecen en Agar MacConkey generando colonias incoloras debido a que son no fermentadoras de lactosa.
- La mayoría de las especies degradan glucosa de manera oxidativa (oxidadores de carbohidratos) y convierten el nitrato a nitrito o nitrógeno gaseoso.
- Ciertas especies exhiben morfologías o pigmentación distintivas.
- Son nutricionalmente versátiles y según la especie, son capaces de utilizar una gran variedad de fuentes de carbono desde carbohidratos simples o compuestos, alcoholes y hasta aminoácidos.
- Capaces de crecer en biopelículas, lo que les proporciona protección física, química y biológica contra agentes antimicrobianos.
- Algunas especies pueden multiplicarse a 4°C, pero la mayoría son mesófilas, con una temperatura de crecimiento óptima de 30 hasta 37°C.

## **1.2 Hábitats naturales de *Pseudomonas aeruginosa***

El género *Pseudomonas* tiene una distribución cosmopolita con una predilección por ambientes húmedos. Se pueden encontrar en agua, pantanos, hábitat de costas marinas, así como en tejidos animales o sobre plantas, incluyendo frutas y vegetales. Logra formar biopelículas en superficies húmedas sobre rocas y tierra. Algunas especies de *Pseudomonas* son bien reconocidas como fitopatógenas y muchas especies fueron descritas inicialmente bajo este contexto (Murray *et al.*, 2003 y Stover *et al.*, 2000).

Debido a su habilidad de sobrevivir en ambientes acuáticos, estos organismos, particularmente *P. aeruginosa*, se han convertido en una problemática en el ambiente hospitalario. *P. aeruginosa* se ha encontrado en

una variedad de soluciones acuosas incluyendo desinfectantes, cremas, jabones, fluidos de irrigación, gotas para los ojos, fluidos de diálisis y en equipo hospitalario. También es frecuentemente encontrada en aireadores y lavamanos, en baños de bebés y de hidroterapia, en jacuzzis y en duchas y en equipos de terapia respiratoria. De igual manera este microorganismo se ha logrado aislar a partir frutas y vegetales podridos. Por lo tanto, individuos con inmunosupresión severa no deben consumir estos alimentos debido a la subsiguiente colonización gastrointestinal por *P. aeruginosa* que podría llevar a una bacteremia (Murray *et al.*, 2003).

Además de las fuentes nosocomiales, *P. aeruginosa* puede ser encontrada en piscinas, baños de vapor, soluciones para lentes de contacto, cosméticos, uñas artificiales, drogas intravenosas ilícitas y en las suelas internas de zapatos deportivos. Todos estos sitios han sido identificados como fuente de infección (Murray *et al.*, 2003).

*P. aeruginosa* ha sido encontrada infrecuentemente como parte de la flora indígena de individuos sanos. En estas personas, el tracto gastrointestinal es el sitio donde más frecuentemente se ha logrado aislar a esta bacteria, pero otros sitios húmedos del cuerpo pueden ser igualmente colonizados, como por ejemplo la garganta, la mucosa nasal y superficies húmedas de la piel como la axila y la ingle (Murray *et al.*, 2003).

Las tasas de colonización aumentan en pacientes hospitalizados, particularmente en aquellos que han sido hospitalizados por períodos extensos y/o han recibido terapia antimicrobiana de amplio espectro o quimioterapia. La colonización de estos sitios en estos pacientes es similar a la que ocurre en pacientes sanos, sin embargo, en los primeros también se incluyen las infecciones del tracto respiratorio inferior, especialmente en pacientes intubados (Murray *et al.*, 2003).

### **1.3 Importancia clínica de *Pseudomonas aeruginosa***

*P. aeruginosa* es el patógeno humano más importante en el género *Pseudomonas* con respecto al número y tipos de infecciones ocasionadas y a la morbilidad y mortalidad asociada (Murray *et al.*, 2003). La emergencia de *P.*

*aeruginosa* como un patógeno oportunista en el siglo pasado puede ser una consecuencia de su resistencia a antibióticos y desinfectantes que eliminan otras bacterias ambientales (Stover *et al.*, 2000). Es parte inusual de la flora normal, ya que únicamente del 4% al 12% de los humanos la poseen como parte de su flora normal fecal. Puede, sin embargo, representar un 5% al 15% de las infecciones nosocomiales (Mahon y Manuselis, 2000).

*P. aeruginosa* afecta a una gran variedad de pacientes cuyas defensas contra una infección están comprometidas por un trauma o por una enfermedad de fondo (Baltch, 1994). El espectro de enfermedades causadas por *P. aeruginosa* se extienden desde infecciones superficiales de la piel como quemaduras, hasta sepsis fulminante (Murray *et al.*, 2003).

Además, es capaz de producir una variedad de factores que explican su patogenicidad, tales como endotoxina, proteasas, hemolisina, mucosidad, lecitinasa, elastasa, coagulasa, ADNasa y exotoxina (Mahon y Manuselis, 2000).

### **1.3.A- Infecciones superficiales**

Probablemente la infección superficial más asociada con este organismo es la foliculitis y el rash necrotizante de la piel, este último referido como el "Síndrome del jacuzzi o del baño caliente", que se desarrolla en usuarios de estas actividades recreacionales. Ambos tipos de infecciones pueden ser adquiridas en piscinas, toboganes de agua, jacuzzis, y baños de vapor, o por uso de esponjas contaminadas (Murray *et al.*, 2003)

Las infecciones superficiales del canal auricular ocasionadas por *P. aeruginosa* frecuentemente se desarrollan en individuos involucrados en deportes acuáticos, como en nadadores de competencia y clavadistas. Esta condición es llamada "oído de nadador", y en esta infección, observada principalmente en diabéticos y adultos mayores, *P. aeruginosa* puede invadir los tejidos profundos, dañando los nervios craneales y causando osteomielitis del hueso temporal y basilar del cráneo. Se podría evolucionar a una meningitis. El tratamiento exitoso de esta infección requiere de cirugía y terapia antimicrobiana (Murray *et al.*, 2003 y Stover *et al.*, 2000).

La infección ocular por *P. aeruginosa* usualmente se continúa con un trauma menor de la córnea. Estas infecciones son frecuentemente asociadas al uso de lentes de contacto. Soluciones para lentes de contacto contaminadas y el uso de agua del tubo durante el cuidado de los lentes han sido implicados como fuentes de infecciones. Infecciones oculares por *P. aeruginosa* pueden causar úlceras corneales, que pueden progresar a una pérdida de la función ocular si no es tratada a tiempo (Murray *et al.*, 2003).

### **1.3.B- Infecciones en pacientes con quemaduras**

Las heridas por quemaduras representan un sitio susceptible para la colonización por microorganismos oportunistas. A pesar de que las técnicas actuales para el cuidado de las heridas por quemaduras han reducido la incidencia de infecciones en pacientes quemados, la alta tasa de sepsis posterior a estas infecciones por heridas son responsables de tasas de mortalidad significativas (Pirnay *et al.*, 2003, Murray *et al.*, 2003). La situación para los pacientes con infecciones por *P. aeruginosa* es particularmente problemáticas ya que este microorganismo presenta una resistencia inherente a muchas clases de antibióticos y es capaz de adquirir resistencia a los antibióticos que son efectivos en esta clase de infecciones (Pirnay *et al.*, 2003).

La colonización por *P. aeruginosa* puede originarse desde fuentes endógenas tales como el tracto intestinal, o desde fuentes exógenas como equipo contaminado o de pacientes colonizados por *P. aeruginosa*. La importancia de conocer las rutas de colonización es crucial para el desarrollo de medidas preventivas contra la infección. Sin embargo, en distintos estudios se ha demostrado que los objetos inanimados del ambiente hospitalario no son una fuente importante de *P. aeruginosa* para este tipo de pacientes. Se sospecha que el origen común de las cepas aisladas en los pacientes quemados provenga del agua que se suministra en el hospital y de la contaminación cruzada con pacientes colonizados por *P. aeruginosa* (Pirnay *et al.*, 2003).

### **1.3.C- Infecciones localizadas**

*P. aeruginosa* es una causa de neumonía adquirida en la comunidad (NAC) en un pequeño número de pacientes. Estos individuos tienden a ser de edad media, frecuentemente con una historia de fumado, y han sido expuestos a agua aerolizada de fuentes como jacuzzis o humidificadores. Debido a que esta es una causa inusual de NAC, los pacientes rara vez reciben la apropiada terapia empírica antimicrobiana y la mortalidad es alta (33%). Debido a que un 92% de estos pacientes reportados en la literatura son bacterémicos, es probable que la enfermedad más severa sea la bacteremia, y que la mortalidad de NAC causada por *P. aeruginosa* sea realmente menor (Murray *et al.*, 2003).

En la endocarditis bacteriana producida por agentes Gram-negativos, *P. aeruginosa* puede ser partícipe al provocar infecciones en válvulas y en la endovasculatura del corazón, así como en venas mayores. Las condiciones más comunes que predisponen a una endocarditis por *P. aeruginosa* son el uso de prótesis de válvulas, vías intravasculares, el padecimiento de cáncer, leucemia o un estado de neutropenia prolongado y la quimioterapia. La endocarditis ocasionada por la infección de las válvulas nativas del corazón, ocurre principalmente por el abuso de drogas intravenosas (Baltch, 1994).

*P. aeruginosa* es capaz de desarrollar un cuadro de osteomielitis en el hueso calcáneo de niños. Una herida punzante, usualmente ocasionada por una uña penetrando un zapato deportivo, puede desencadenar, después de un mes, una infección. La parte interna de la suela es la fuente infecciosa de *P. aeruginosa* (Murray *et al.*, 2003).

### **1.3.D- Infecciones sistémicas**

La bacteremia y el choque séptico ocasionados por *P. aeruginosa* continua siendo un problema mayoritario en pacientes hospitalizados llevando a enfermedades malignas, enfermedad cardiopulmonar, fallo renal, o diabetes (Murray *et al.*, 2003). Esta bacteria es propensa a invadir las paredes vasculares de las venas, lo que facilita la dispersión en el organismo colonizado. *P. aeruginosa* es responsable de 6.2% de todas las bacteremias y hasta un 75% de las bacteremias nosocomiales. Un mal pronóstico de una

bacteremia causada por *P. aeruginosa* incluye factores como granulocitopenia con choque séptico, terapia de antibióticos inapropiada y la presencia de metástasis séptica (Mahon y Manuselis, 2000).

En pacientes con cáncer, es responsable del 5 a 31% de aislamientos en casos de bacteremia. La mortalidad a causa de una bacteremia por *P. aeruginosa* en esta población de pacientes varía, desde tan bajo como un 5% hasta tan alto como un 50% en pacientes con bacteremia polimicrobiana. La bacteremia por *P. aeruginosa* en abusadores de drogas intravenosas es usualmente asociada con endocarditis bacterial, como resultado de una inyección con drogas contaminadas. El reemplazo de la válvula afectada es usualmente necesario. Estos individuos pueden también desarrollar osteomielitis en diferentes huesos (Murray *et al.*, 2003). También ocasiona bacteremia asociada con empiema gangrenoso de la piel. En raras ocasiones, *P. aeruginosa* es capaz de originar enfermedades del sistema nervioso central, incluyendo meningitis (Mahon y Manuselis, 2000).

### **1.3.E- Infecciones nosocomiales**

*P. aeruginosa* es una de las principales causas de infecciones nosocomiales, ocupando la segunda posición entre los patógenos Gram-negativos reportados por el Sistema Nacional de Supervisión de Infecciones Nosocomiales de Estados Unidos (Carmeli *et al.*, 1999). El cuadro 1 revela las posibles fuentes de infección en los hospitales.

*P. aeruginosa* es la principal causa de infección nosocomial del tracto respiratorio. Los dos factores de riesgo necesarios para la instauración de una neumonía ocasionada por este microorganismo son el uso de ventilación mecánica en la Unidad de Cuidados Intensivos y la neutropenia secundaria a la quimioterapia en pacientes con padecimientos neoplásico. Pacientes que reciben asistencia ventilatoria tienen 20 veces más riesgo de desarrollar una neumonía nosocomial, siendo *P. aeruginosa* el agente etiológico más frecuentemente identificado. En esta población de pacientes, la mortalidad varía entre un 40 a un 50% (Murray *et al.*, 2003 y Baltch, 1994).

Cuadro 1. Fuentes sospechosas de infección o colonización por *P. aeruginosa* (Baltch, 1994)

**Flúidos**

Desinfectantes	Clorexidina, cetrimide, yodo
Medicamentos	Antibióticos, soluciones oftálmicas/óticas, enjuague bucal
Soluciones	Fluidos de diálisis, solución salina, agua
Productos sanguíneos	Sangre

**Equipo médico**

Respiratorio	Nebulizadores, humidificadores, analizadores de oxígeno, venturi, intubación respiratoria
Del tracto urinario	Resectoscopio, litoscopio,
Quirúrgico	Navajillas, endoscopio, equipo de succión y de sutura
Cardíaco	Electrodos de ECC, marcapasos
Oftalmológico	Lentes de contacto
Neonatal	Fórmulas

**Alimentos y equipo para su procesamiento**

	Mezcladores de alimentos, vegetales, frutas
--	---

**Misceláneos**

	Lavamanos, agua, grifos, trapeadores, cosméticos, colchones, jabón, bañeras
--	---

*P. aeruginosa* también ocasiona infecciones nosocomiales del tracto urinario, infecciones por heridas, y peritonitis en pacientes con diálisis peritoneal crónica ambulatoria (Murray *et al.*, 2003).

### **1.3.F- Infecciones en pacientes con fibrosis quística**

También es la principal causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística, donde el epitelio respiratorio anormal permite la colonización a largo plazo de *P. aeruginosa* en los pulmones (Stover *et al.*, 2000).

Un fenotipo inusual tipo "mucoide" de *P. aeruginosa* infecta crónicamente a un aproximado de 70 a 80% de los adolescentes y adultos con fibrosis quística. Una vez infectados, los pacientes con fibrosis quística raramente o nunca eliminan a este organismo. La sobreproducción de alginato, es responsable de la apariencia típica húmeda y "mucoide" de las colonias del fenotipo mucoide. Los eventos que explican el proceso de establecimiento del fenotipo mucoide en los pulmones de los pacientes con fibrosis quística no están bien comprendidos. Se cree que la emergencia del fenotipo es causado por una mutación al azar en el gen que controla la síntesis de alginato (Murray *et al.*, 2003).

El crecimiento mucoide de *P. aeruginosa* ocurre a manera de "microcolonias", que consisten en racimos de organismos rodeados de grandes cantidades de alginato y es importante en el desarrollo de una infección crónica en las vías respiratorias de pacientes con fibrosis quística. Esta forma de crecimiento se cree que inhibe la fagocitosis, aumenta la resistencia a antibióticos, e induce una respuesta inmune de importancia en los pulmones de los pacientes con fibrosis quística mediante la acción de elastasa derivada de los neutrófilos. Altas concentraciones de elastasa dañan los pulmones y tiene un efecto deletéreo en la función pulmonar durante años o décadas, eventualmente resultando en muerte (Murray *et al.*, 2003).

*P. aeruginosa* mucoide ocasionalmente se ha visto causando infecciones pulmonares en individuos con otras enfermedades crónicas de los pulmones, o en infecciones del tracto urinario secundarias a catéteres (Murray *et al.*, 2003).

## **1.4 El genoma bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa***

La mayoría de los genes bacterianos son acarreados en el cromosoma bacteriano, una única molécula circular de ADN. Muchas bacterias también

poseen genes adicionales en plásmidos que pueden variar de tamaño, desde algunos pares de kilobases hasta 100 kbp (Mascaretti, 2003).

La secuencia del genoma de *Pseudomonas aeruginosa* es de interés debido a las evidencias que provee en relación con el papel que juega esta bacteria como patógeno y porque ofrece nueva información en relación con el tamaño de su genoma, la complejidad genética y la versatilidad ecológica de esta bacteria (Stover *et al.*, 2000).

Con 6.3 millones de pares de bases (Mbp), el genoma de *P. aeruginosa* es macadamamente más grande que la mayoría de los genomas bacterianos secuenciados hasta el momento. De hecho, con 5570 marcos de lectura abiertos (ORFs) descritos, la complejidad genética de *P. aeruginosa* es comparable con el eucariota simple *Saccharomyces cerevisiae*, cuyo genoma codifica por 6200 proteínas. En contraste, *P. aeruginosa* solo posee el 30-40% del número de genes establecidos en los metazoos simples como *Caenorhabditis elegans* y *Drosophila melanogaster* (Stover *et al.*, 2000).

Se ha logrado asignar una función al 54.2% de todos los ORFs definidos para *P. aeruginosa*. De estos ORFs con función conocida, 372 codifican para genes de enzimas biosintéticas de lipopolisacáridos, factores de virulencias tales como exoenzimas y los sistemas que las secretan y proteínas involucradas en movilidad y adhesión (Stover *et al.*, 2000).

## **1.5 Mecanismos de resistencia a antibióticos**

La resistencia bacteriana a agentes antimicrobianos es una medida cuantitativa de la eficacia de un agente antibacteriano contra una bacteria específica. Los métodos existentes para la determinación *in vitro* de la actividad antibacteriana están basados en el incremento de la concentración de un agente antimicrobiano contra un aislamiento bacteriano para descubrir a cuál concentración el crecimiento bacteriano es inhibido. Esto es conocido como la concentración mínima inhibitoria de la droga (Mascaretti, 2003).

La resistencia bacteriana a drogas es uno de los problemas más importantes en la actualidad en torno a la quimioterapia antibacteriana. La resistencia bacteriana a un agente antimicrobiano es mejor descrito y definido

cuando lo comparamos con su opuesto, la susceptibilidad bacteriana. La resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos es una condición en donde no hay susceptibilidad o la susceptibilidad está disminuida a un agente antibacteriano, que normalmente causa inhibición del crecimiento bacteriano o muerte celular (Mascaretti, 2003).

La resistencia bacteriana puede ser natural o adquirida. En la resistencia adquirida la población bacteriana es inicialmente susceptible a los agentes antimicrobianos, pero la bacteria sufre cambios, sea por adquisición de plásmidos y transposones o por mutación del cromosoma y las cepas resultantes son menos susceptibles o del todo no susceptibles a estas drogas antibacterianas (Mascaretti, 2003).

#### **1.5.A- Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa***

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* son particularmente difíciles de tratar debido a su resistencia intrínseca a los antibióticos. Se podría imaginar, que en el curso evolutivo para adquirir diversidad funcional para competir con otros microorganismos en una variedad de ambientes, desarrolló mecanismos para resistir compuestos antimicrobianos naturales. Los sistemas de flujo pueden contribuir a esta resistencia intrínseca (Stover *et al.*, 2000).

Los efectos antimicrobianos también podrían ser mitigados mediante la modulación de la expresión de drogas blanco, sistemas de transporte, modificadores enzimáticos y reacciones compensatorias. De hecho, la inusualmente amplia capacidad regulatoria en *P. aeruginosa* puede proveer una mayor adaptación de resistencia a drogas mediante regulación de genes, que en comparación con otras bacterias que poseen genomas más pequeños (Stover *et al.*, 2000).

Además, debido a su capacidad para metabolizar una amplia variedad de sustratos orgánicos, también es posible que *P. aeruginosa* posea un gran potencial para la modificación enzimática y ostente de mecanismos de resistencia degradadores de drogas. Por lo tanto, su diversidad metabólica, habilidad de transporte y adaptabilidad regulatoria que permiten que *P. aeruginosa* compita y triunfe sobre otros microorganismos, probablemente

contribuyen a su alta resistencia intrínseca a los antibióticos (Stover *et al.*, 2000).

Existe un número limitado de agentes antimicrobianos con actividad conocida contra *P. aeruginosa*, incluyendo penicilinas y cefalosporinas antipseudomonas, carbapenems y fluoroquinolonas, particularmente ciprofloxacina. Los aminoglicósidos son frecuentemente utilizados como parte complementaria al tratamiento contra infecciones severas por *P. aeruginosa*, pero no son recomendados como monoterapia. Para cada uno de estos agentes ha sido descrita la aparición de resistencia durante la terapia y ha sido reconocida como causa del fallo al tratamiento (Carmeli *et al.*, 1999)

La resistencia a antibióticos es un problema clínico en aumento y es reconocido como una amenaza a la salud pública. *P. aeruginosa* muestra una particular tendencia a desarrollar resistencia, lo cual limita las futuras elecciones de tratamiento y es asociado con elevaciones en las tasas de mortalidad y morbilidad (Carmeli *et al.*, 1999)

El problema de la resistencia a antibióticos en *P. aeruginosa* está en aumento (Aloush, 2006). Se ha demostrado que la aparición de resistencia para este microorganismo ocurre en un 10.2% de los pacientes (7.4 casos por cada 1000 pacientes por día). Este alto nivel de resistencia a drogas es el resultado de la emergencia de *novus* de resistencia en un organismo específico a antimicrobianos después de su exposición a los mismos. La acumulación de resistencia después de la exposición a varios antibióticos y la resistencia cruzada entre agentes, puede resultar en una *P. aeruginosa* multiresistente a drogas (Carmeli *et al.*, 1999; Aloush, 2006).

Tanto los mecanismos de resistencia a antibióticos adquiridos como intrínsecos hacen de *P. aeruginosa* un formidable patógeno nosocomial (Quale, 2006). Los aislamientos de *P. aeruginosa* adquiridos nosocomialmente tienden a ser más resistentes a los antimicrobianos que las cepas adquiridas en la comunidad, frecuentemente mostrando resistencia a múltiples tipos de antimicrobianos. El desarrollo de resistencia puede ocurrir durante la terapia antimicrobiana y es particularmente bien documentada durante la monoterapia (Murray *et al.*, 2003).

Se ha demostrado claramente que el desarrollo de resistencia en *P. aeruginosa* es multifactorial, con mutaciones en genes codificando porinas,

bombas de flujo, proteínas unidoras de penicilina y  $\beta$ -lactamasas cromosomales, todas contribuyendo a la resistencia a  $\beta$ -lactámicos, carbapenems, aminoglicósidos y fluoroquinolonas. Además, cepas de *P. aeruginosa* pueden contener  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro, que pueden degradar imipenem. Los genes codificadores de estas enzimas pueden ser tanto cromosomales o localizados en plásmidos o integrones (Murray *et al.*, 2003).

Así como la cantidad de cepas de *P. aeruginosa* resistente a múltiples drogas incluyendo los resistentes a todos los  $\beta$ -lactámicos, carbapenems, aminoglicósidos y fluoroquinolonas, se ha incrementado, la búsqueda de agentes antimicrobianos con mecanismos alternos de acción se ha intensificado. Esto ha resultado en el uso de colistina y polimixina B, antes considerados muy tóxicos como agentes terapéuticos para *P. aeruginosa*. El uso sinergista de combinaciones de drogas también es considerado (Murray *et al.*, 2003)

#### **1.5.B- Proteínas de membrana externa (OMP)**

Las proteínas de membrana externa son de particular interés en *P. aeruginosa* debido a su exposición en la superficie celular y a su participación en el transporte de antibióticos, en la exportación de factores de virulencia extracelulares y en anclaje de las estructuras que median la adhesión y la motilidad. Cerca de 150 genes se tienen descritos como codificadores de OMPs, un número desproporcionadamente grande en comparación con otros genomas. Tres familias están identificadas: la familia de porinas específicas OprD, la familia de porinas Ton-B, que incluye las proteínas involucradas en la captación de hierro sideróforo y la familia OprM involucradas en secreción y sistemas de flujo (Stover *et al.*, 2000).

#### **1.5.C- Sistemas de bombas de flujo**

Su función es bombear de solutos fuera de la célula. Los genes que codifican para bombas de flujo están presentes tanto en bacterias susceptibles a antibióticos como en bacterias resistentes a antibióticos. Algunos sistemas pueden ser inducidos por sus sustratos por lo que una cepa aparentemente

susceptible puede sobreproducir una bomba y convertirse en resistente. La resistencia antimicrobiana debido a una mutación en una bomba de flujo puede ocurrir por dos mecanismos: (Piddock, 2006)

- Expresión incrementada de la proteína de bomba de flujo
- La proteína contiene una sustitución en un aminoácido que hace a esta proteína más eficiente para exportar solutos.

En cualquiera de los casos, la concentración intracelular del sustrato antimicrobiano está disminuida y por lo tanto el microorganismo adquiere menos susceptibilidad a ese agente. Las bombas de flujo pueden ser específicas para un sustrato o pueden transportar un ámbito de compuestos con estructuras variables (incluyendo antibióticos de múltiples clases); esas bombas pueden ser asociadas a la multiresistencia a los antibióticos. La resistencia bajo este contexto no necesariamente significa resistencia a agentes que se utilizan para tratar infecciones por una especie en particular, o resistencia a concentraciones alcanzables en estas drogas, por lo que la relevancia clínica de la resistencia mediada por bombas de flujo es dependiente de la especie, la droga y el tipo de infección. Los genes codificadores de las bombas de flujo pueden estar presentes en el cromosoma y en elementos transmisibles como plásmidos (Piddock, 2006).

Además del rol que cumplen las bombas de flujo que poseen actividad aumentada en la resistencia antibacteriana, también ha sido sugerido que el aumento en la expresión de los genes de las bombas de flujo puede ser el primer paso para que la bacteria adquiera resistencia total. También es considerado que el aumento en las bombas de flujo disminuye la concentración intracelular del agente antimicrobiano, por lo que permite la sobrevivencia de la bacteria por mucho más tiempo (Piddock, 2006).

#### **1.5.D- Clasificación y organización de los sistemas de bombas de flujo**

La genómica ha revelado muchos genes que codifican por bombas de flujo de todos los tipos, de los cuales un grupo son los que confieren multiresistencia a los antibióticos. También hay evidencia que el tamaño del genoma es reflejado en el número de genes que codifican para las bombas de flujo, tales que los genomas grandes poseen un mayor número de genes para

bombas. Usualmente un único organismo puede poseer múltiples bombas de flujo conteniendo multiresistencia a los antibióticos (Pidcock, 2006).

Existen cinco familias diferentes de proteínas de bombas de flujo, de las cuales cuatro son codificadas en el cromosoma bacteriano (Figura 1): la familia de división nodular de resistencia (RND), la superfamilia de facilitación mayor (MFS) y las familias de multiresistencia staphylococcal (SMR) y la de multidroga y extrusión de componentes tóxicos (MATE). El papel que podría desempeñar los transportadores ABC (cassette de unión al ATP) en la clínica de MDR no está aun establecido (Pidcock, 2006).

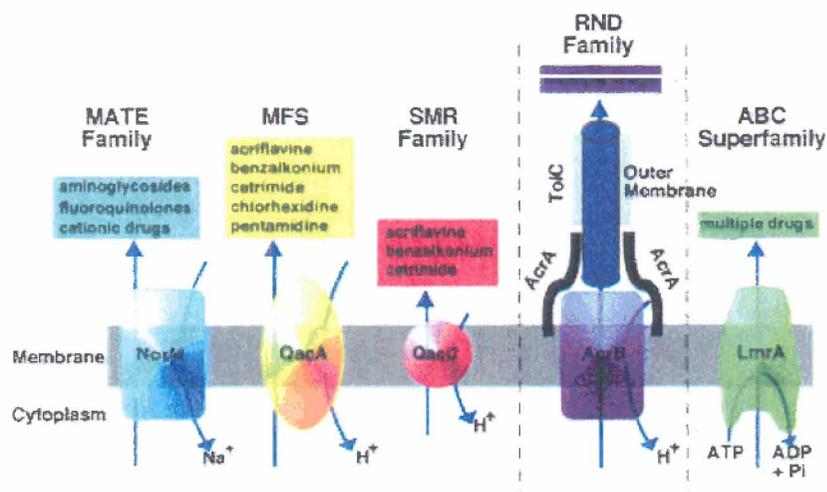


Figura 1. Diagrama comparativo de los 5 tipos de bombas de flujo (Tomado de Pidcock, 2006)

Las bombas de flujo multiresistencia a los antibióticos en las bacterias son capaces de contribuir a la resistencia a los antibióticos de diferentes modos: (Pidcock, 2006)

- Resistencia inherente en bacterias Gram negativas a un tipo completo de agentes.
- Resistencia inherente en algunas bacterias Gram negativas a agentes específicos.
- Resistencia en bacterias de relevancia clínica conferida por la sobreexpresión de alguna bomba de flujo.

Cuadro 2. Bombas de flujo tipo RND en *Pseudomonas aeruginosa* y sus respectivos sustratos (Rice y Bonomo, 2005)

Bomba de flujo RND	Expresión en <i>P. aeruginosa</i> tipo salvaje	Sustratos
MexAB-OprM	+	Quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, lincomicina, cloranfenicol, novobiocina, $\beta$ -lactámicos excepto imipenem, triclosán
MexCD-OprJ	-	Quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, lincomicina, cloranfenicol, novobiocina, penicilinas excepto carbenicilina y sulbenicilina, cepems excepto ceftazidime, flomofex, meropenem, triclosán
MexEF-OprN	-	Quinolonas, cloranfenicol, trimetoprim, tetraciclina
MexGHI-OpmD	+	Vanadium
MexJK-OprM	-	Eritromicina, tetraciclina, triclosán
MexWV-OprM	-	Quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, bromuro de etidio, acriflavina
MexXY-OprM	-	Aminoglicósidos, quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, lincomicina, cloranfenicol, novobiocina, penicilinas excepto carbenicilina y sulbenicilina, cepems excepto cefsulodin y ceftazidime, fioxef, meropenem

## 2. JUSTIFICACIÓN

La pasada década fue testigo de un aumento significativo en la prevalencia de la resistencia a los agentes antibacterianos. La resistencia a agentes antimicrobianos tiene importantes implicaciones tanto en morbilidad, mortalidad y cuidados en los hospitales, al igual que en la comunidad (Mascaretti, 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* es la causa principal de infecciones nosocomiales y es responsable del 10% de todas las infecciones adquiridas en el hospital. Las infecciones causadas por *P. aeruginosa* son usualmente severas, atentan contra la vida y son difíciles de tratar debido a la susceptibilidad limitada a los agentes antimicrobianos y a la alta frecuencia de emergencia de resistencia a antibióticos durante la terapia, dando como resultado consecuencias adversas (Aloush, 2006).

Desafortunadamente, con el aumento del uso de antibióticos de amplio espectro, la incidencia en la multiresistencia a drogas en *P. aeruginosa* ha ido también en acrecentamiento, y por lo tanto el tratamiento clínico de esta infecciones es cada vez un mayor desafío (Jung, 2004).

En nuestro país, este comportamiento de resistencia a múltiples drogas por parte de *P. aeruginosa* no es una excepción. Los pacientes en los diversos hospitales, en especial atención del Hospital México, no están exentos de padecer una infección por una cepa multiresistente de esta bacteria, que eventualmente podría ocasionar una infección más severa y comprometer tanto la vida del paciente, como la salud de los demás pacientes que comparten el mismo servicio hospitalario.

Este trabajo busca esclarecer las dudas en cuanto a la variabilidad de las cepas de *P. aeruginosa* obtenidas a partir de infecciones de pacientes del Hospital México, tomando en cuenta tanto su composición molecular, como su patrón de resistencia a antibióticos.

### **3. OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Caracterizar mediante técnicas fenotípicas y moleculares cepas de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidas a partir de pacientes del Hospital México.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Crear una colección de cepas de *P. aeruginosa* aisladas a partir de pacientes del Hospital México.

Determinar el perfil de resistencia a distintos antibióticos de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas a partir de muestras clínicas de pacientes del Hospital México.

Establecer una base de datos incluyendo el número de identificación, sexo y grupo étnico del paciente, tipo de muestra obtenida, servicio hospitalario y patrón de resistencia a antibióticos para las cepas de *P. aeruginosa*.

Correlacionar la resistencia de las cepas aisladas de *P. aeruginosa* a los distintos antibióticos con el sexo del paciente, tipo de muestra obtenida y servicio hospitalario.

Realizar un análisis mediante la técnica de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) de las cepas aisladas de *P. aeruginosa*.

Precisar una posible relación entre el perfil de resistencia y el patrón molecular obtenido con el servicio hospitalario y el tipo de muestra en el que se aisló las distintas cepas de *P. aeruginosa*.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Elaboración de la base de datos**

A partir de 198 aislamientos de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidas en pacientes del Hospital México, desde noviembre del 2004 hasta octubre del 2005, se confeccionó una base de datos en el programa de computación "Microsoft Office Excel 2003" con la siguiente información: número de cepa, número de expediente, sexo y fase etárea del paciente, ubicación del paciente dentro del centro hospitalario (servicio consultado y cama ocupada), tipo de muestra y fecha de recolección de la misma y el perfil de resistencia a antibióticos de cada cepa utilizando la tarjeta AST-GN del equipo VITEK.

### **4.2 Extracción de ADN**

Las cepas fueron almacenadas en refrigeración a 6°C y posteriormente se comprobó su viabilidad mediante la observación de turbiedad en 5 mL de caldo tripticasa soya más 1% de extracto de levadura. Las cepas fueron crecidas en agar sangre para su correspondiente análisis bioquímico y almacenadas en refrigeración a 6°C.

A las cepas se les realizó una extracción de ADN según el procedimiento descrito por Spejer (1999): se creció la cepa de *P. aeruginosa* en agar sangre por aproximadamente 24 horas, luego del cual se realizó una suspensión con una asada de la bacteria en 20 µL de una solución de NaOH 50mM más SDS 0,25%. La suspensión se calentó por 15 minutos a 95°C, inmediatamente después de este tiempo se enfrió en hielo por 10 minutos. Se centrifugó a 15000 rpm por un minuto a 4°C. Finalmente se tomó el sobrenadante para preparar diluciones en agua destilada de 1:10 y 1:50 con un volumen final de 100 µL. Las diluciones se almacenaron en congelación a -20°C.

### **4.3 Corrida del ADN extraído en gel de agarosa**

Para comprobar que la extracción de ADN fue exitosa, se realizó una electroforesis del ADN extraído en un gel de agarosa al 0,8% con una tinción posterior con bromuro de etidio. Se inoculó en los pocillos 10 µL de la dilución

1:10 de cada cepa más 2  $\mu$ L de la solución de corrida. Se dejó correr el gel por una hora a 100 V.

#### **4.4 PCR de los ADN extraídos**

Una vez que se corroboró la extracción correcta del ADN de las cepas de *P. aeruginosa*, se realizó un PCR con cada cepa bajo las siguientes condiciones (Speijer, 1999). Se trabajó con un volumen final de 25  $\mu$ L para cada reacción, el cual contenía 12,5  $\mu$ L de 2X PCR Master Mix de la casa comercial Fermentas, 1  $\mu$ L del primer ERIC2 de la casa comercial Invitrogen (AAGTAAGTGAAGTGGGGTGAGCG), 9  $\mu$ L de agua para PCR y 2,5  $\mu$ L del ADN extraído en la dilución 1:10; todo esto con el fin de obtener una concentración del primer de 20  $\mu$ M en cada pocillo. El primer ERIC2 se eligió en este método debido a que amplifica una región conservada del genoma de *P. aeruginosa*, el cual permite comparar con certeza las cepas en el programa GelCompar II. Se realizó una fase de pre-PCR a 94°C por 4 minutos, 35 ciclos de PCR compuestos por un minuto a 94°C, un minuto a 25°C y 2 minutos a 72°C; y posteriormente se efectuó un post-PCR a 72°C por 10 minutos. Para cada corrida de PCR se realizó un control negativo con agua para PCR y un control positivo con la cepa *P. aeruginosa* ATCC 27853. Los productos de PCR se almacenaron a -20°C.

#### **4.5 Corrida en gel de agarosa de los productos de PCR**

A los productos de PCR se les efectuó una corrida en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio: a cada pocillo del gel se le adicionó 15  $\mu$ L del producto de PCR más 2  $\mu$ L de la solución de corrida. Además se realizó la corrida con el marcador de peso molecular MassRuler de la casa comercial Fermentas y de los controles negativo y positivo de cada tanda de PCR. Se dejó correr por 2 horas a 150V. Finalizadas las 2 horas, a los geles se les tomó una fotografía para su posterior análisis.

#### **4.6 Análisis estadístico y comparativo**

El análisis estadístico de la base de datos se llevó a cabo mediante un simple cálculo de porcentajes y mediante el empleo de la prueba de Fisher. El

patrón de bandeo obtenido de los productos de ADN de cada cepa se comparó en el programa GelComparII, para así poder establecer el porcentaje de similitud entre las cepas de *P. aeruginosa*.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análisis estadístico de la base de datos

Mediante un análisis estadístico de la información generada en la base de datos, se lograron obtener las frecuencias de los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* según perfil de resistencia a antibióticos, sexo y tipo de muestra.

Se encontró que la mayoría de los aislamientos obtenidos por *P. aeruginosa* provienen de pacientes masculinos (62.1%), en comparación con la cantidad de aislamientos conseguidos en las pacientes del sexo femenino (37.9%) (Cuadro 3)

Cuadro 3. Porcentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* según sexo.

Sexo	n	%
Masculino	123	62.1
Femenino	75	37.9
Total	198	100

Para su análisis, las muestras se clasificaron en cuatro grupos según su origen: secreciones (secreción de herida, drenaje, piel, colgajo, tejido, úlcera, úlcera de pene, tibia, absceso, vaginal y uña), orina, tracto respiratorio (aspirado endotraqueal, endobronquial y bronquial, esputo, lavado bronquial, secreción endotraqueal y tubo endotraqueal) y otros (sangre, punta de catéter, líquido abdominal y peritoneal, fosas nasales, rectal, heces, tubo corrugado, conexión de aspiración y catéter). La clasificación "otros" se definió debido a que muchas muestras no tienen aislamientos suficientes para realizar un análisis estadístico como un elemento a parte.

Se determinó la frecuencia de aparición de *P. aeruginosa* en aislamientos según el tipo de muestra (Cuadro 4), dando como resultado una frecuencia similar entre las muestras tipo orina (n = 59; 30%) y respiratorias (n = 62; 31%). Con menor frecuencia se aislan cepas de *P. aeruginosa* a partir de secreciones (n = 48; 24%) y de otras zonas anatómicas (n = 29; 15%).

Cuadro 4. Porcentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* según tipo de muestra.

Tipo de muestra	n	%
Secreción	48	24
Orina	59	30
Respiratorio	62	31
Otros	29	15
Total	198	100

Se estableció la distribución de las cepas de *P. aeruginosa* de acuerdo al servicio del Hospital donde fueron aisladas (Cuadro 5). La mayoría de las cepas se obtuvieron de Terapia intensiva (n = 46; 23.2%), piso 6 (n = 34; 17.2%), piso 5 (n = 30; 15.2%), piso 3 (n = 25; 12.6%) y piso 4 (n = 22; 11.1%).

Cuadro 5. Pocentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* según servicio.

Servicio	n	%
Piso 1	2	1.0
Piso 2	5	2.5
Piso 3	25	12.6
Piso 4	22	11.1
Piso 5	30	15.2
Piso 6	34	17.2
Piso 7	3	1.5
Emergencias quirúrgicas	13	6.6
Emergencias	3	1.5
Terapia intensiva	46	23.2
Neurocirugía	3	1.5
Consulta externa	12	6.1
Total	198	100

La distribución de los tipos de muestra por sexo es homogénea. Sin embargo, al realizar un análisis estadístico con la prueba exacta de Fisher, se logró establecer una diferencia estadísticamente significativa entre hombres y mujeres con el tipo de muestra "otros" ( $p = 0.059$ ). (Cuadro 6)

Cuadro 6. Distribución de los aislamientos de *P. aeruginosa* según sexo y tipo de muestra.

Sexo	Secreción (n=48)		Orina (n=59)		Respiratorio (n=62)		Otros (n=28)		Total (n=197)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Masculino	28	58.3	38	64.4	34	54.8	22	78.6	122	61.9
Femenino	20	41.7	21	35.6	28	45.2	6	21.4	75	38.1
Valor p	0.609		0.749		0.206		0.059			

n: número de aislamientos

p: prueba exacta de Fisher

Mediante un análisis del perfil de resistencia a antibióticos, se alcanzó a determinar cuales antibióticos tenían menos actividad antibacteriana contra las cepas aisladas de *P. aeruginosa*. (Cuadro 7) Todos los aislamientos de *P. aeruginosa* mostraron la resistencia natural esperada a las penicilinas, las cefaloporinas de primera, segunda y tercera generación (excepto el ceftazidime), la nitrofurantoína y el trimetoprim-sulfametoxazole (TSX). De un 53.5% a un 75.3% de las cepas aisladas de *P. aeruginosa* mostraron resistencia a los demás antibióticos: aminoglicósidos, aztreonam, cefalosporinas de cuarta generación, ceftazidime, fluoroquinolonas, carbapenems y ticarcilina-ácido clavulánico. Sin embargo, se puede observar que en el caso de la piperacilina/tazobactam, la resistencia a este antibiótico no supera el 8% de las cepas aisladas.

Se elaboró la prueba exacta de Fisher con la información obtenida en las frecuencias de resistencia a antibióticos en relación al tipo de muestra, para establecer finalmente diferencias significativas entre ambos parámetros. (Cuadro 8) Se demostró que existe una asociación positiva entre los aislamientos de *P. aeruginosa* a partir de secreciones y la resistencia al aztreonam (n = 43; 89.6%; p = 0.007), la ceftazidime (n = 37; 77.1%; p = 0.038), el imipenem (n = 34; 70.8%; p = 0.092) y la ticarcilina (n = 34; 70.8%; p = 0.005).

Cuadro 7. Porcentajes de aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a los distintos tipos de agentes antimicrobianos.

Antibiótico	n	%
Amikacina	121	61.1
Aztreonam	149	75.3
Cefepime	126	63.2
Cefotetan	198	100.0
Ceftazidime	127	64.1
Ciprofloxacina	135	68.2
Gatifloxacina	139	70.2
Gentamicina	143	72.2
Imipenem	119	60.1
Meropenem	106	53.5
Piperacilina/tazobactam	15	7.6
Ticarcilina/ácido clavulánico	142	71.7
Tobramicina	134	67.7

Cuadro 8. Distribución y frecuencia de los aislamientos de *P. aeruginosa* según resistencia a antibióticos y tipo de muestra.

Antibiótico	Secreción (n=48)			Orina (n=59)			Respiratorio (n=62)			Otros (n=29)			Total (n=198)	
	n	%	p	n	%	p	n	%	p	n	%	p	n	%
Amikacina	31	64.6	0.613	33	55.9	0.343	32	51.6	(0.084)	25	86.2	0.003	121	61.1
Aztreonam	43	89.6	0.007	41	69.5	0.280	39	62.9	(0.008)	25	89.7	0.062	148	75.3
Cefepime	34	70.8	0.301	35	59.3	0.424	33	53.2	(0.055)	24	82.8	0.022	126	63.6
Ceftazidime	37	77.1	0.038	33	55.9	0.145	33	53.2	(0.038)	24	82.8	0.035	127	64.1
Ciprofloxacina	33	68.8	1.000	39	66.1	0.739	39	62.9	0.324	24	82.8	0.085	135	68.2
Gatifloxacina	33	68.8	0.857	38	64.4	0.308	43	69.4	0.868	25	86.2	0.048	139	70.2
Gentamicina	35	72.9	1.000	41	69.5	0.605	40	64.5	0.124	27	93.1	0.006	143	72.2
Imipenem	34	70.8	0.092	30	50.8	0.112	32	51.6	0.118	23	79.3	0.024	119	60.1
Meropenem	30	62.5	0.184	24	40.7	(0.020)	30	48.4	0.359	22	75.6	0.009	106	53.5
Piperacilina/Tazobactam	4	8.3	0.762	4	6.8	1.000	5	8.1	1.000	2	6.9	1.000	15	7.6
Ticarcilina	42	87.5	0.005	35	59.3	(0.016)	39	62.9	(0.088)	26	89.7	0.024	142	71.7
Tobramicina	34	70.8	0.723	39	66.1	0.868	37	59.7	0.140	24	82.8	0.084	134	67.7

n: número de aislamientos resistentes al antibiótico  
p: prueba exacta de Fisher

Para las muestras de orina, se observó una asociación negativa con la resistencia a meropenem (n = 24; 40.7%; p = 0.02) y a ticarcilina (n = 35; 59.3%; p = 0.016). La misma situación ocurrió para las muestras obtenidas a partir del tracto respiratorio, las cuales poseen una asociación negativa con la resistencia a la amikacina (n = 32; 51.6%; p = 0.084), aztreonam (n = 39; 62.9%; p = 0.008), cefepime (n = 33; 53.2%; p = 0.055), ceftazidime (n = 33; 53.2%; p = 0.038) y ticarcilina (n = 39; 62.9%; p = 0.088).

Las cepas de *P. aeruginosa* aisladas a partir de otros sitios anatómicos mostraron una asociación positiva con la resistencia a amikacina (n = 25; 86.2%; p = 0.003), aztreonam (n = 25; 89.7%; p = 0.062), cefepime (n = 24; 82.8%; p = 0.022), ceftazidime (n = 24; 82.8%; p = 0.035), ciprofloxacina (n = 24; 82.8%; p = 0.085), gatifloxacina (n = 25; 86.2%; p = 0.048), gentamicina (n = 27; 93.1%; p = 0.006), imipenem (n = 23; 79.3%; p = 0.024), meropenem (n = 22; 75.6%; p = 0.009), ticarcilina (n = 26; 89.7%; p = 0.024) y tobramicina (n = 24; 82.8%; p = 0.084).

## 5.2 Análisis comparativo de las cepas de *P. aeruginosa*

Al realizar un análisis de relación genética, mediante la técnica de RAPD (Figura 2), que existe entre las distintas cepas de *P. aeruginosa* utilizando el programa GelCompar II, se logra observar grupos de cepas que muestran similitud entre sí. (Figura 3) Para 11 cepas del total de aislamientos de *P. aeruginosa* no se logró obtener resultados (5%), sólo un 95% de las cepas se consiguió analizar. De este 95%, hay 136 aislamientos de *P. aeruginosa* (73.1%) que poseen un 80% o más de semejanza, lo que determina una relación filogenética entre sí. El resto de las cepas mantienen entre sí un porcentaje de similitud menor al 80% (0.264%), siendo molecularmente distintas a las demás.

Para las 186 cepas de *P. aeruginosa* que se lograron analizar, se observan 91 cepas (66.9%) formando 9 grupos primarios, cada uno con cerca de 6 a 13 cepas y 45 aislamientos (33.1%) distribuidos en 20 grupos secundarios cada uno con aproximadamente 2 a 3 cepas.

El grupo primario I está conformado por 12 cepas (pae-081, pae-083, pae-080, pae-018, pae-077, pae-084, pae-076, pae-078, pae-100, pae-086 y pae-088) de las cuales las cepas pae-081 y pae-014 pertenecen al mismo

paciente. Este grupo particular se puede asociar con el piso 6 del hospital. Todos estos aislamientos presentan sensibilidad a la piperacilina/tazobactam y la mayoría presenta resistencia a los carbapenems. Las cepas pae-081 y pae-014 difieren en que la primera es resistente al imipenem y un patrón intermedio al meropenem, la segunda es sensible a ambos antibióticos.

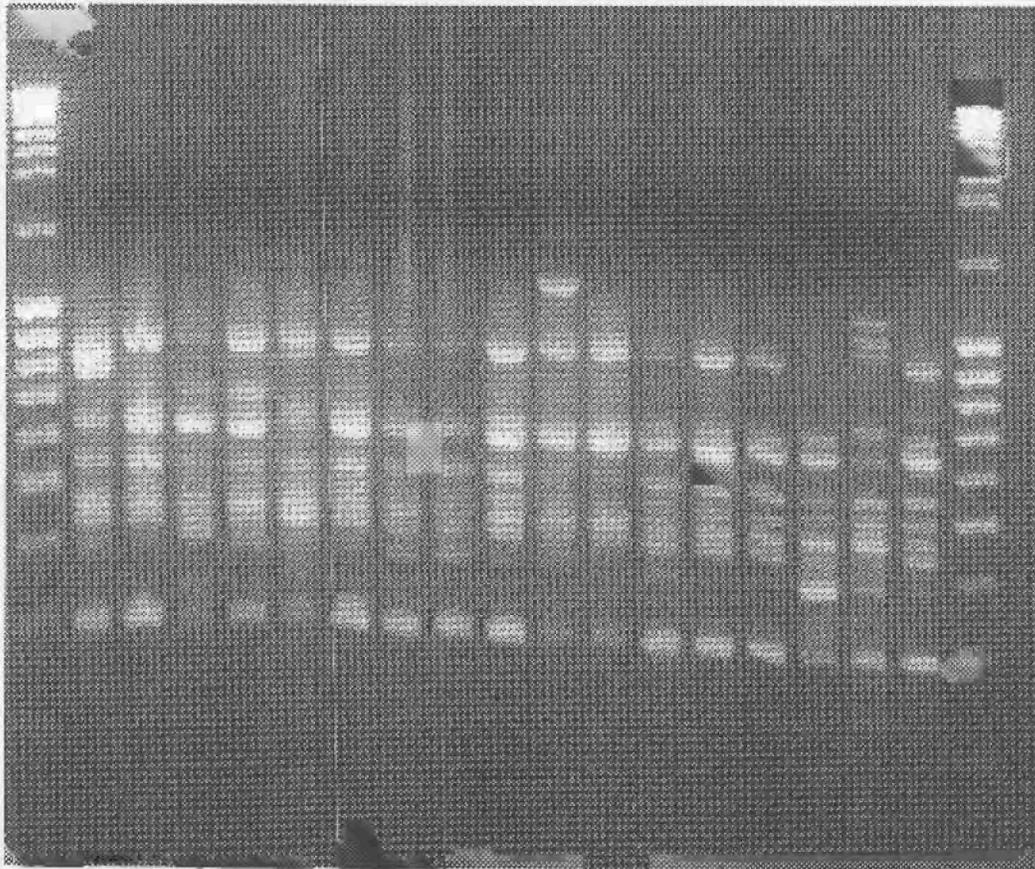
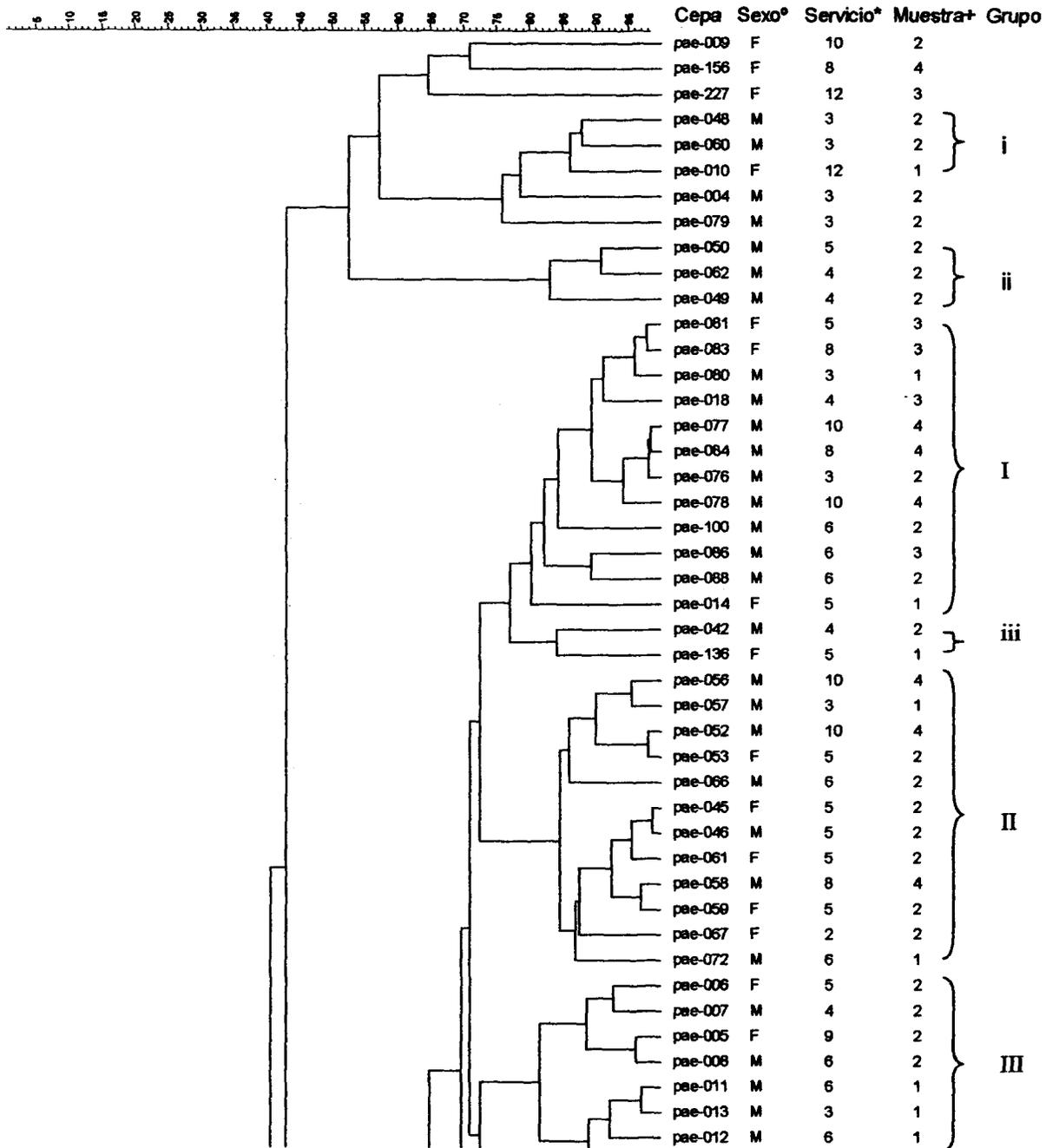


Figura 2. PCR de las cepas obtenidas de *P. aeruginosa* mediante la técnica RAPD.

Figura 3. Porcentaje de correlación entre las distintas cepas de *P. aeruginosa*, su lugar de aislamiento según sexo, servicio, tipo de muestra y grupo al que pertenecen.

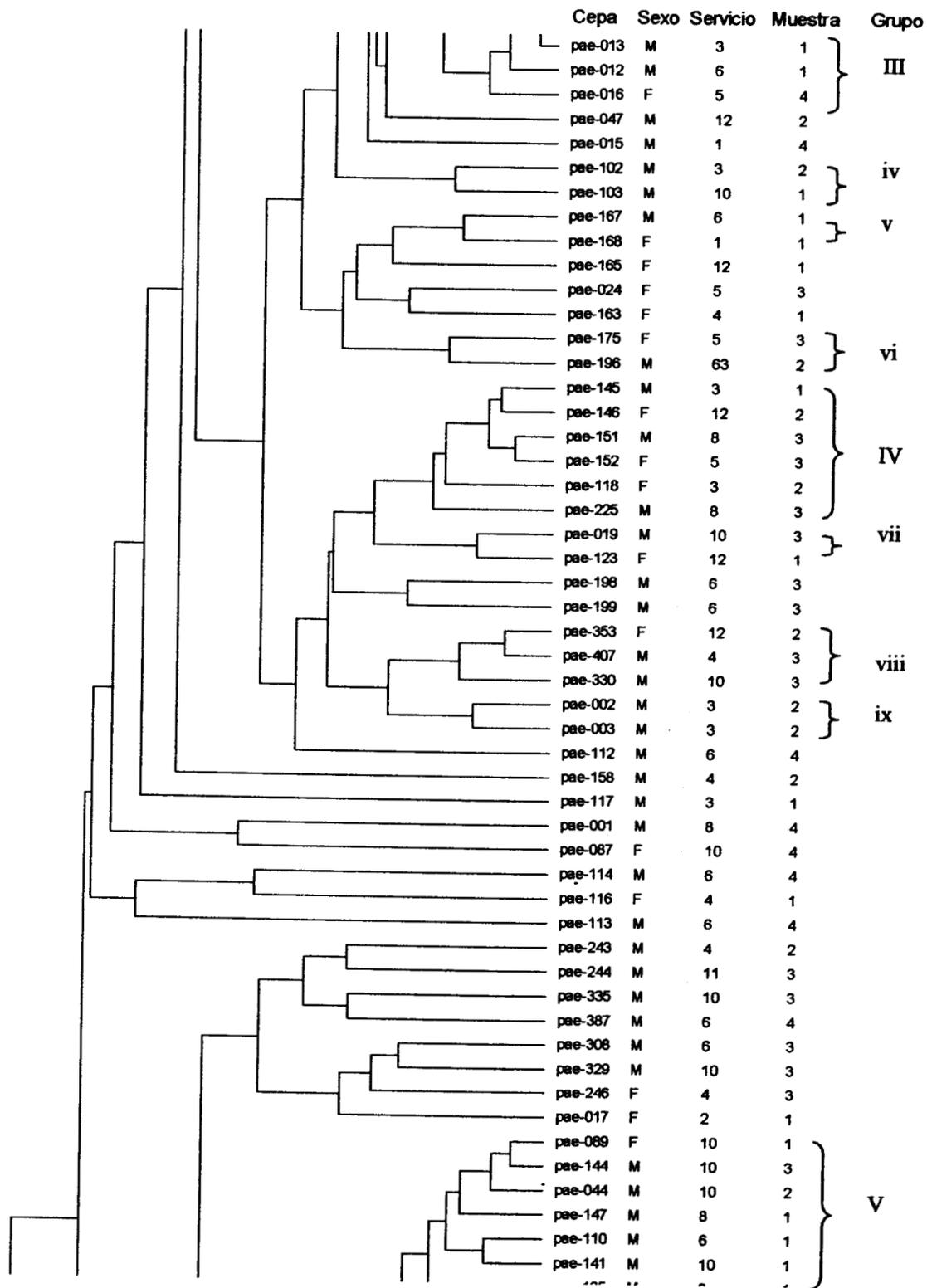
Pearson correlation [0.0%-100.0%]  
RAPD

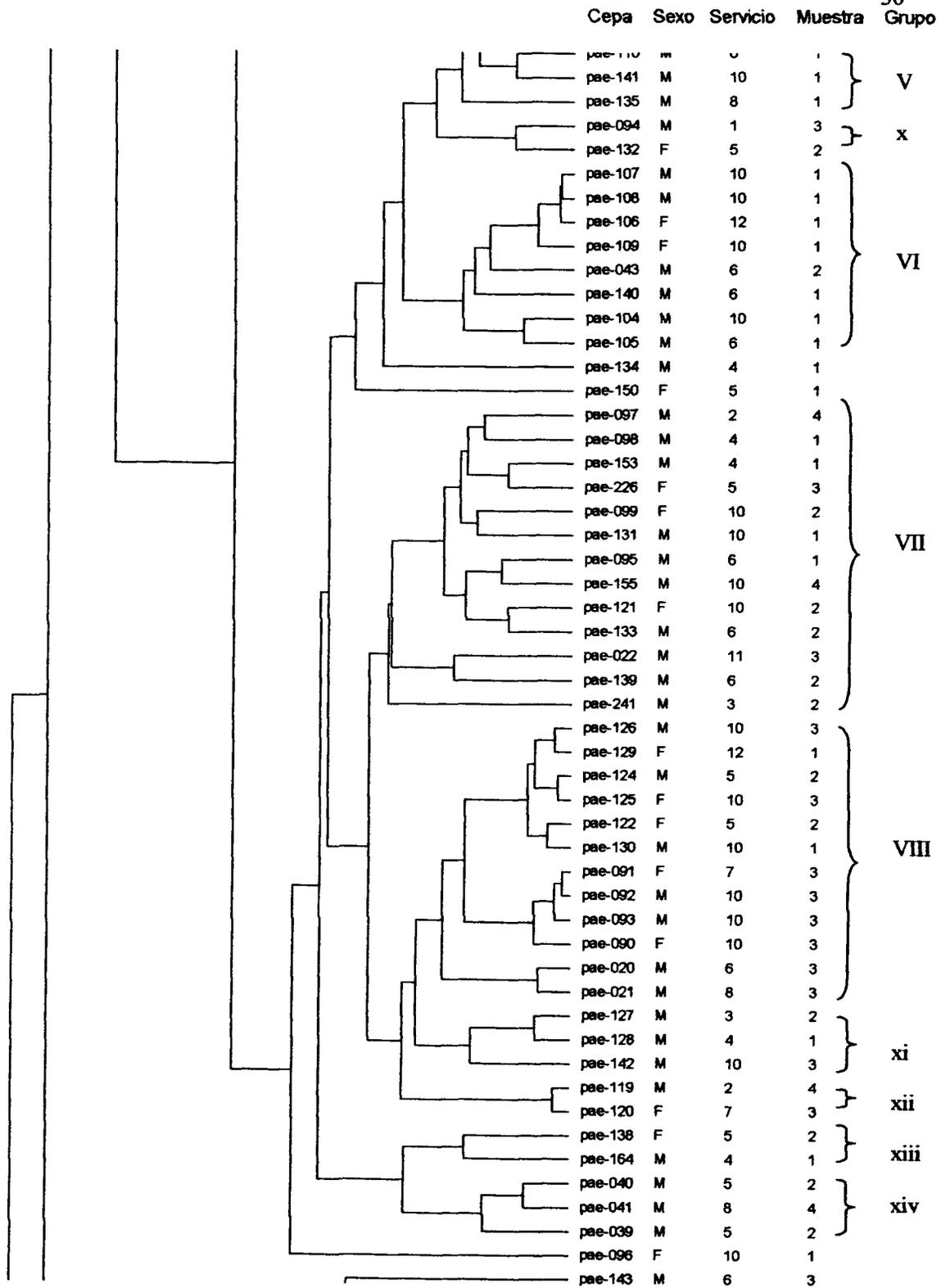


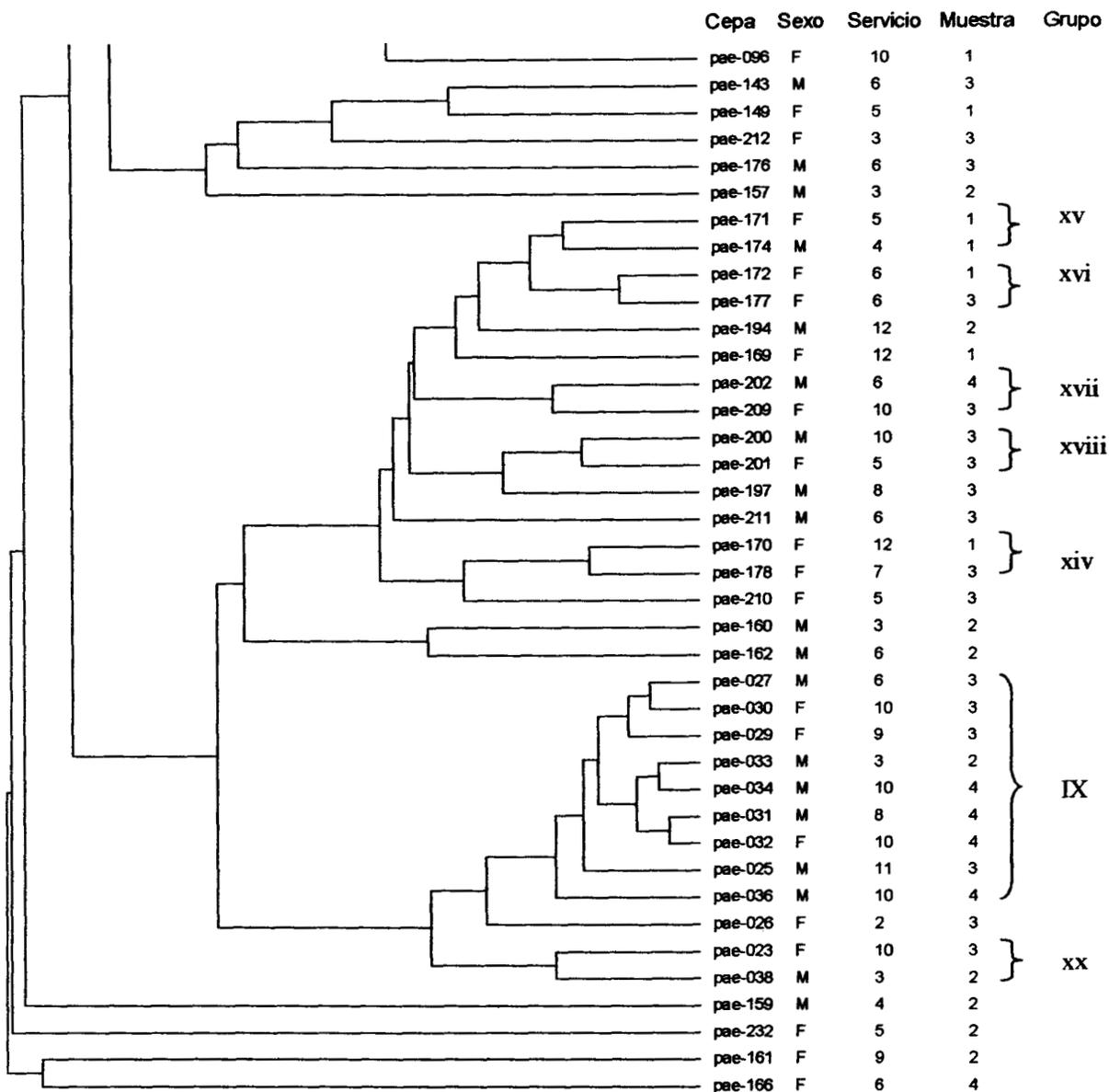
\* F = femenino, M = masculino

\* 1 = piso 1, 2 = piso 2, 3 = piso 3, 4 = piso 4, 5 = piso 5, 6 = piso 6, 7 = piso 7, 8 = emergencias quirúrgicas, 9 = emergencias, 10 = terapia intensiva, 11 = neurocirugía, 12 = consulta externa.

+ 1 = secreción, 2 = orina, 3 = respiratorio, 4 = otros







Doce cepas forman parte del grupo primario II (pae-056, pae-057, pae-052, pae-053, pae-066, pae-045, pae-046, pae-061, pae-058, pae-059 pae-067 y pae-072), el cual muestra una asociación importante al servicio presente en el piso 5. De estas 12 cepas, pae-056 y pae-052 pertenecen al mismo paciente y cepas pae-045 y pae-052 pertenecen a un segundo paciente. Estas últimas dos cepas también pertenecen al paciente con los aislamientos pae-081 y pae-014, siendo pae-045 resistente al imipenem y un patrón indeterminado ante el meropenem, en cambio pae-052 es resistente a estos dos agentes antimicrobianos. La mayoría de las cepas del grupo II (n = 11; 91.7%) son

sensibles a la piperacilina/tazobactam, excepto la cepa pae-072. También la mayoría (n = 7; 58,3%) muestran resistencia a los carbapenems.

El grupo primario III está compuesto por 8 cepas de *P. aeruginosa* (pae-006, pae-007, pae-005, pae-008, pae-011, pae-013, pae-012 y pae-016) y se asocian con el piso 6. De éstas, las cepas pae-011 y pae-012 corresponden al mismo paciente y mantienen el mismo perfil de resistencia a piperacilina/tazobactam y a los carbapenems. Todas las cepas de este grupo son sensibles a la piperacilina/tazobactam, y la gran mayoría (n = 5; 62.5%) son resistentes a los carbapenems.

Representando al grupo primario IV están 6 cepas (pae-145, pae-146, pae-151, pae-152, pae-118 y pae-225), las cuales pertenecen a distintos pacientes y no se asocian a un servicio en común. Sin embargo, comparten en común un perfil de sensibilidad tanto a los carbapenems como a la piperacilina/tazobactam.

Siete cepas forman parte del grupo primario V (pae-089, pae-144, pae-044, pae-147, pae-110, pae-141 y pae-135) y están fuertemente relacionadas con la unidad de terapia intensiva. Todos estos aislamientos son resistentes a los carbapenems y sensibles a la piperacilina/tazobactam, excepto la cepa pae-135 que es resistente a la piperacilina/tazobactam.

El grupo primario VI se compone de 8 cepas (pae-107, pae-108, pae-106, pae-109, pae-043, pae-140, pae-104 y pae-105) asociadas también a la unidad de terapia intensiva, de las cuales las cepas pae-140 y pae-105 pertenecen al mismo paciente. Todos estos aislamientos son resistentes a los carbapenems y sensibles a la piperacilina/tazobactam, excepto la cepa pae-140, la cual es resistente a este último antibiótico mencionado. En esta condición difiere de la cepa pae-105, la cual sí es sensible a la piperacilina/tazobactam.

Constituyendo al grupo primario VII se tienen a 13 cepas (pae-097, pae-098, pae-153, pae-226, pae-099, pae-131, pae-095, pae-155, pae-121, pae-133, pae-022, pae-139 y pae-241), las cuales se podrían ligar a la unidad de terapia intensiva. Todas presentan sensibilidad a la piperacilina/tazobactam y resistencia a los carbapenems, excepto las últimas tres cepas mencionadas anteriormente que son sensibles al imipenem y meropenem. Únicamente pae-

099 y pae-121 corresponden al mismo paciente y poseen el mismo perfil de resistencia a la piperacilina/tazobactam y a los carbapenems.

El grupo primario VIII se encuentra representado por 12 cepas (pae-126, pae-129, pae-124, pae-125, pae-122, pae-130, pae-091, pae-092, pae-093, pae-090, pae-020 y pae-021). De igual manera que los últimos 3 grupos primarios mencionados, este grupo se asocia a la unidad de terapia intensiva. A pesar de su similitud filogenética y epidemiológica entre estas cepas, no todas son sensibles a la piperacilina/tazobactam (pae-125, pae-092 y pae-090) ni todas son resistentes al meropenem (pae-129, pae-124 y pae-122). Sin embargo todas estas cepas sí son resistentes al imipenem.

Nueve cepas (pae-027, pae-030, pae-029, pae-033, pae-034, pae-031, pae-032, pae-025 y pae-036) son las que conforman el último grupo primario, el IX, relacionado nuevamente con la unidad de terapia intensiva. Todos estos aislamientos son sensibles a la piperacilina/tazobactam, sin embargo el patrón de resistencia a los carbapenems es distinto. La cepa pae-025 es sensible tanto al imipenem como al meropenem, las demás cepas son resistentes a ambos antibióticos, excepto pae-029 que tiene un patrón intermedio hacia el meropenem. Los aislamientos pae-034 y pae-036 corresponden al mismo paciente.

De entre los 20 grupos secundarios que poseen entre sí el 80% o más de semejanza filogenético se encuentra el grupo i, representado por las cepas pae-048, pae-060 y pae-010 y asociado al servicio 3. De estos aislamientos, pae-048 y pae-060 pertenecen al mismo paciente. Otro grupo es el iii, el cual se compone de las cepas pae-042 y pae-136. Las cepas pae-167 y pae-168 constituyen el grupo v. Representando el grupo viii están pae-353, pae-407 y pae-330. Las cepas pae-170 y pae-178 forman el grupo xiv. Todos estos aislamientos son sensibles a los carbapenems y a la piperacilina/tazobactam.

El grupo ii está conformado por los aislamientos pae-050, pae-062 y pae-049 los cuales corresponden al mismo paciente y presentan un mismo patrón de resistencia ante los antibióticos utilizados. El mismo caso sucede con el grupo ix (pae-002 y pae-003) donde ambas cepas poseen el mismo patrón de resistencia a la piperacilina/tazobactam y a los carbapenems.

Los demás grupos: iv (pae-102 y pae-103), vi (pae-175 y pae-196), vii (pae-119 y pae-123), x (pae-094 y pae-132), xi (pae-127, pae-128 y pae-142),

xii (pae-119 y pae-120), xiii (pae-138 y pae-164), xiv (pae-040, pae-041 y pae-039), xv (pae-171 y pae-174), xvi (pae-172 y pae-177), xvii (pae-202 y pae-209), xviii (pae-200 y pae-201) y xx (pae-023 y pae-038), poseen resistencia ya sea a los carbapenems o a la piperacilina/tazobactam y difiere el patrón de resistencia entre cepas del mismo grupo.

## 6. DISCUSIÓN

*P. aeruginosa* es la causa principal de infecciones nosocomiales dando origen a una variedad de infecciones oportunistas (Costa *et al.*, 2002 y Eng *et al.*, 2002). A partir de 70.067 aislamientos obtenidos de pacientes en hospitales de 5 áreas geográficas distintas y evaluados por el Programa Nacional de Supervisión de Infecciones Nosocomiales (SENTRY), se determinó que las tasas de prevalencia a infecciones por *P. aeruginosa* son mayores en América Latina y regiones del Pacífico Asiático (11.4% del total de aislamientos en cada región), que en Europa (9.3%), Estados Unidos (8.7%) y Canadá (8.6%). Infecciones producidas por este microorganismo son cada vez más difíciles de tratar debido a las opciones limitadas de agentes antimicrobianos efectivos (Costa *et al.*, 2002). Con este trabajo se buscó dilucidar la resistencia a los antibióticos presente en cepas de *P. aeruginosa* aisladas a partir de pacientes del Hospital México, para comprender un poco la situación por la que atraviesa Costa Rica.

Se observó que *P. aeruginosa* es capaz de colonizar y de desarrollar infecciones en distintas áreas anatómicas del ser humano, desde objetos inanimados como puntas de catéteres, hasta sitios superficiales o internos como uñas o pulmón respectivamente.

El hecho de que en la presente investigación *P. aeruginosa* haya tenido un porcentaje mayor de infección en hombres que en mujeres, puede deberse al simple azar de la toma de muestra y no debido a factores determinantes en el sexo masculino. También se pudo estimar que la cantidad de muestras obtenidas a partir de secreciones, orina y sistema respiratorio no es muy diferente, concluyéndose que estos son posiblemente los sitios de mayor infección o colonización producidos por *P. aeruginosa*.

Se logró obtener una diferencia significativa entre las infecciones según sexo y el tipo de muestra "otros". Sin embargo, a pesar de los resultados obtenidos, esta información no puede ser correctamente interpretada ya que la cantidad de muestras para cada una de las infecciones que conforman esta clasificación es muy poca como para obtener un valor de importancia estadística.

Se comprobó mediante este estudio la ya conocida resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* a distintos antibióticos, tales como las penicilinas, cefalosporinas de I y II generación, las cefalosporinas orales de III generación, el trimetoprim y la nitrofurantoina. Sin embargo, es interesante recalcar el aumento en la resistencia por parte de distintas cepas de *P. aeruginosa* a agentes antimicrobianos que comúnmente se utilizan como la base del tratamiento ante una infección por este microorganismo, especialmente a los carbapenems.

Los  $\beta$ -lactámicos de espectro ampliado, tales como los carbapenems, son drogas utilizadas para la terapia contra infecciones causadas por *P. aeruginosa*. Sin embargo, el aumento en el uso de carbapenems en el tratamiento de estas infecciones ha resultado en el desarrollo de *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenems (Eng *et al.*, 2000) Actualmente se ha demostrado esta disminución en la susceptibilidad a carbapenems en aislamientos a partir de pacientes hospitalizados en América Latina (desde un 83.0% a un 64.4 % entre los años 1997 y 2001) (Mendes *et al.*, 2004).

A pesar de esta situación, la mayoría de las cepas evaluadas en este trabajo continúan siendo sensibles a la piperacilina/tazobactam. La resistencia a este agente antimicrobiano entre cepas de *P. aeruginosa* es un problema emergente; de entre 127 Unidades de Cuidados Intensivos que participaron en el Proyecto de Centros para el Control y Prevención de las Enfermedades ICARE, 14.4% de los aislamientos de *P. aeruginosa* resultaron ser resistentes a la piperacilina/tazobactam (Harris *et al.*, 2002).

Con respecto al patrón de resistencia de las cepas de *P. aeruginosa* según el tipo de muestra, se logró determinar que las cepas provenientes de secreciones tienen una mayor posibilidad de ser resistentes al aztreonam, al ceftazidime, al imipenem y a la ticarcilina. De igual manera ocurre con los aislamientos obtenidos a partir de las muestras "otros", los cuales tienen mayores posibilidades de ser resistentes a todos los antibióticos empleados en el estudio, excepto a la piperacilina/tazobactam.

Con respecto a las cepas aisladas a partir de la orina y del sistema respiratorio, se puede observar que las mismas muestran una mayor posibilidad de ser sensibles a ciertos agentes antimicrobianos. Los aislamientos obtenidos a partir de la orina presentan una mayor sensibilidad al meropenem y

a la ticarcilina, en cambio las cepas provenientes del tracto respiratorio tienen una mayor posibilidad de ser sensibles a la amikacina, aztreonam, cefepime, ceftazidime y ticarcilina.

Si un conjunto de cepas son realmente clones, todos los miembros del conjunto descienden a partir de un único individuo y ninguno ha sufrido transferencia horizontal de genes, por lo tanto se espera que estos clones compartan más características entre sí que con otras cepas. Los métodos fenotípicos, tales como el GelCompar II, pueden entonces predecir de alguna manera las características de un organismo. Por otro lado, si ocurre transferencia horizontal de genes, las cepas ya no serán clones y en este caso, las características presentes en las cepas pueden ser distintas entre sí (Dale y Park, 2004).

Al realizar el análisis genético comparativo de los aislamientos de *P. aeruginosa* se logró identificar grupos de cepas que comparten el 80% o más de similitud genética, lo que sugiere la presencia de clones. Por lo tanto, para cada uno de estos grupos, tanto para los primarios como para los secundarios, hay un clon de *P. aeruginosa* presente en distintos pacientes que pueden o no compartir el mismo servicio. Sin embargo, no todos los clones de un mismo grupo presentan el mismo perfil de resistencia a los agentes antimicrobianos empleados en el presente trabajo.

Un patrón distinto de resistencia a antibióticos entre un clon y otro, puede deberse a que el microorganismo, haya adquirido factores de resistencia mediante algún mecanismo de intercambio genético a causa de la larga estancia de la bacteria bien debido a la presión por el uso de antibióticos. Esta adquisición de resistencia le confiere a la bacteria una mayor sobrevivencia en el hospedero, lo cual incrementa la dificultad del tratamiento y la mejoría del estado de salud del paciente.

Al observar el Cuadro 9 se puede apreciar la variabilidad de clones en los distintos servicios del Hospital. La mayor variabilidad se presenta en los servicios del piso 7 (1.00), piso 1 (1.00) y emergencias quirúrgicas (0.77). Se podría pensar que la razón de esta variabilidad se debe a la mayor cantidad de aislamientos en estos servicios, sin embargo, no todos muestran un número alto de aislamientos. Tal es el caso del servicio de neurocirugía y emergencias, donde de 3 aislamientos 2 son clones. La misma situación ocurre también con

los servicios del piso 7 y piso 1, en los cuales se lograron identificar 3 clones distintos a partir de 3 aislamientos y 2 clones distintos a partir de 2 aislamientos, respectivamente. Esta condición sucede también en el servicio de emergencias quirúrgicas, donde de 13 aislamientos 10 son clones.

Cuadro 9. Diversidad de clones de *P. aeruginosa* según número de aislamientos y servicio.

<b>Servicio (s)</b>	<b>Número de clones</b>	<b>Número de aislamientos</b>	<b># clones/ # aislamientos</b>
Piso 1	2	2	1.00
Piso 2	3	5	0.60
Piso 3	16	25	0.64
Piso 4	11	22	0.50
Piso 5	20	30	0.67
Piso 6	20	34	0.59
Piso 7	3	3	1.00
Emergencias quirúrgicas	10	13	0.77
Emergencias	2	3	0.67
Terapia intensiva	33	46	0.72
Neurocirugía	2	3	0.67
Consulta externa	7	12	0.58
Total	97	198	

Distintos clones de diferentes grupos presentes en un mismo servicio pueden competir por el sitio de infección provocando un desplazamiento de un clon por otro más resistente a los antibióticos. Esto se evidencia cuando un paciente que permanece en un mismo servicio, posee distintos clones de *P. aeruginosa* a lo largo de su estadía en el hospital con un perfil de resistencia a imipenem y meropenem cambiantes. Tal es el caso del paciente con los aislamientos pae-014, pae-045, pae-061 y pae-081.

Hay grupos primarios y secundarios que no se logran asociar con un servicio en particular. Esta situación supone que estos clones se encuentran dispersos en distintos servicios y áreas del hospital y que su adquisición no se relaciona con la estancia prolongada del paciente en un servicio en particular.

En los servicios con menor variabilidad de clones tales como el piso 4 (0.50), consulta externa (0.58), piso 6 (0.59), piso 2 (0.60) y piso 3 (0.64), es factible hacer la suposición de que hay un predominio de clones en estos servicios.

Es interesante observar que hay servicios donde se encuentran distintos grupos de cepas, tanto primarios como secundarios. Tal es el caso de los servicios del piso 6 y de la unidad de terapia intensiva. En el caso de los servicios del piso 6, los grupos primarios presentes I y III están conformados por clones con distinto perfil de resistencia a los carbapenems, sin embargo, todas las cepas son sensibles a la piperacilina/tazobactam. Este perfil de resistencia a los antibióticos sugiere que a pesar de que un clon desplace a otro, o que un clon adquiera resistencia a uno de los dos carbapenems, la sensibilidad a la piperacilina/tazobactam no se verá alterada, y por lo tanto aunque la cepa sea multiresistente todavía será factible su tratamiento.

En el caso de la unidad de terapia intensiva, los clones de los distintos grupos primarios que lo componen (grupos V, VI, VII, VIII y IX) son todos resistentes a los carbapenems y algunos son resistentes a la piperacilina/tazobactam. Por lo tanto, el traslado de un paciente a la unidad de cuidados intensivos, o una permanencia prolongada en este servicio conlleva al riesgo de que el paciente adquiera alguno de estos clones y que se desmejore su condición por la dificultad del tratamiento ante una infección por un clon de *P. aeruginosa* multiresistente.

La existencia de tantos grupos de clones distintos en la unidad de terapia intensiva, hace sospechar que hay factores de riesgo que facilitan la presencia de estas cepas multiresistentes en el servicio, tanto intrínsecas del paciente como por los procesos invasivos a las que está sujeto el paciente. Sin embargo, en el presente trabajo es posible que la variabilidad de clones (0.72) sea dada por la mayor cantidad de aislamientos obtenidos en este servicio (n = 46) (Cuadro 9). Los pacientes que se encuentran en este servicio generalmente están con una enfermedad de fondo o en una situación desmejorada de salud que facilita la infección por microorganismos. Cuando se trata de infecciones por clones multiresistentes de *P. aeruginosa*, estos pacientes tienen pocas oportunidades de combatir la infección de manera adecuada por sí mismos, además de que el tratamiento no será eficaz en eliminarla.

Comúnmente los pacientes de la unidad de terapia intensiva requieren de procesos y de equipo invasivos para mantener sus signos vitales estables, tales como respiradores, traqueostomías, sondas, vías, cirugías, prótesis, entre otras. Estos factores proporcionan una fácil vía de acceso a *P. aeruginosa*, y si además las cepas predominantes son multirresistentes, la vida del paciente corre un importante peligro.

Es primordial recalcar que los pacientes de la unidad de terapia intensiva se encuentran frecuentemente bajo tratamientos empíricos con antibióticos de amplio espectro o con agentes antimicrobiales restringidos. Bajo este contexto, si existe una infección por algún clon o clones de *P. aeruginosa*, la presión ejercida es tal que podría predisponer al microorganismo a buscar mecanismos de resistencia que le permitan adaptarse a este ambiente hostil. Esto podría explicar el por qué de un patrón de mayor resistencia en los clones de *P. aeruginosa* presentes en la unidad de terapia intensiva.

## 7. CONCLUSIONES

*Pseudomonas aeruginosa* es la causa principal de infecciones nosocomiales, particularmente neumonía según estudios más recientes. Este organismo también está involucrado en bacteremias y en infecciones urinarias y de heridas. Infecciones provocadas por *P. aeruginosa* son difíciles de tratar debido a la limitación de opciones terapéutica que existen, además están asociadas a una alta tasa de mortalidad a pesar del uso del tratamiento adecuado (Zavascki, Cruz y Goldani, 2005). El aumento en la resistencia de *P. aeruginosa* a distintos agentes antimicrobianos constituye una amenaza creciente para el manejo clínico de estas infecciones (Cao *et al.*, 2004).

En el presente trabajo se lograron obtener las frecuencias de resistencia a distintos antibióticos por parte de cepas aisladas a partir de muestras clínicas de pacientes del Hospital México. Además se logró establecer las distribuciones de estos aislamientos según el sexo del paciente, tipo de muestra y servicio.

Mediante un estudio filogenético con la técnica RAPD se demostró la presencia de diferentes clones agrupados en grupos primarios y secundarios, los cuales mostraron resistencias variables a los carbapenems y a piperacilina/tazobactam. Algunos de estos grupos se pudieron relacionar a servicios específicos, mientras que otros grupos comparten clones de distintos servicios. Se evidenció que una baja variabilidad de clones en un servicio en particular sugiere el predominio de ciertos clones.

Por la creciente resistencia de *P. aeruginosa* a los antibióticos, trabajos de investigación como estos muestran la realidad que se vive en Costa Rica y dan paso a investigaciones posteriores sobre el tema que mejorarán el tratamiento de estas infecciones y el manejo del paciente, tanto de terapia intensiva como en el resto de los servicios hospitalarios.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Aloush, V., Navon-Venezia S., Seigman-Igra Y., Cabili S. y Carmeli Y. (2006) Multidrug-Resistance *Pseudomonas aeruginosa*: Risk Factors and Clinical Impact Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Vol 50) 2:43-48

Baltch A. (1994) *Pseudomonas aeruginosa* Infections and Treatment USA: Informa Health Care

Cao B., Wang H., Sun H., Zhu Y. y Chen M. (2004) Risk Factors and Clinical Outcomes of Nosocomial Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections Journal of Hospital Infection (Vol 57) 112-118

Carmeli Y., Troillet N., Eliopoulos G. y Samore M. (1999) Emergence of Antibiotic Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Comparison of Risks Associated with Different Antipseudomonal Agents Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Vol 43) 6:1379-1382

Costa F., Martins L., Siqueira M., Aranha S., Pinto M., Mello J., D'Ávila A., Pires A., Teixeira E., Riley R. y Meurer B. (2002) Occurrence of a Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clone in Different Hospital in Rio de Janeiro, Brazil Journal of Clinical Microbiology (Vol 40) 7:2420-2424

Dale J. y Park S. (2004) Molecular Genetics of Bacteria England: Wiley. 4ta edición

Eng S., Subramaniam G., Palasubramaniam S. y Navaratnam P. (2002) Carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia Producing IMP-7  $\beta$ -Lactamasa Antimicrobial Agents an Chemotherapy (Vol 46) 10:3286-3287

Harris A., Perencevich E., Roghmann M., Morris G., Kaye K. y Johnson J. (2002) Risk Factors for Piperacillin-Tazobactam-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* among Hospitalized Patients Antimicrobial Agents an Chemotherapy (Vol 46) 3:854-858

Jung, R., Fish D., Obritsch M. y MacLaren R. (2004) Surveillance of Multi-drug Resistance *Pseudomonas aeruginosa* in an Urban Tertiary-care Teaching Hospital Journal of Hospital Infection (Vol 57) 105:111

Mahon, C. y Manuselis, G. (2000) Textbook of Diagnostic Microbiology USA: W.B. Saunders Company

Mascaretti, Oreste (2003) Bacteria versus Antibacterial Agents: an Integrated Approach USA: ASM Press

Mendes R., Toleman M., Ribeiro J., Sader H., Jones R. y Walsh T. (2004) Integron Carrying a Novel Metallo- $\beta$ -Gene, *bla*<sub>IMP-16</sub>, and a Fused Form of Aminoglycoside-Resistant Gene *aac* (6')-30/*aac*(6')-Ib' : Report from the

SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Vol 18) 12:4693-4702

Murray, P. (2003) Manual of Clinical Microbiology USA:ASM Press

Piddock, L. (2006) Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria Clinical Microbiology Reviews (Vol 19) 2:382-402

Pimay, J., De Vos D., Cochez C., Bilocq F., Pirson J., Struelens M., Duinslaeger L., Cornelis P., Zizi M. y Vanderkelen A. (2003) Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* Colonization in a Burn Unit: Persistence of a Multidrug-Resistant Clone and a Silver Sulfadiazine-Resistant Clone Journal of Clinical Microbiology (41) 3:1192-1202

Quale, J., Bratu S., Gupta J. y Landman D. (2006) Interplay of Efflux System, ampC, and oprD Expression in Carbapenem Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Vol 50) 5:1633-1641

Rice L. y Bonomo R. (2005) Genetic and Biochemical Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents pp 441-508. Lorian V. (editor) Antibiotics in Laboratory Medicine USA: Lippincott Williams and Wilkins. 5ta edición.

Speijer H., Savelkoul P., Bonten M., Stobberingh E. y Tjhie J. (1999) Application of Different Genotyping Methods for *Pseudomonas aeruginosa* in a Setting of Endemicity in an Intensive Care Unit Journal of Clinical Microbiology (Vol 37) 11:3654-3661

Stover C., Pham X., Erwin A., Mizoguchi S., Warrenner P., Hickey M., Brinkman F., Hufnagle W., Kowalik D., Lagrou M., Garber R., Goltry L., Tolentino E., Westbrook-Wadman S., Yuan Y., Brody L., Coulter S., Folger K., Kas A., Larbig K., Lim R., Smith K., Spencer D., Wong G., Wu Z., Paulsen I., Reizer J., Saier M., Hancock R., Lory S. y Olson M. (2000) Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. Nature (Vol 406) 959-964

Todar K. (2004) Textbook of Bacteriology USA: University of Wisconsin Madison

Zavascki A., Cruz R. y Goldani L. (2005) Risk Factors for Imipenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a Comparative Analysis of Two Case-Control Studies in Hospitalized Patients Journal of Hospital Infection (Vol 59) 96-101

# Anexo

Cuadro 10. Base de datos de los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidos a partir de pacientes del Hospital México desde noviembre del 2004 hasta octubre del 2005.

N°UCR	N° Estudio	Expediente	Sexo	Fase etérea	Servicio	Localización (cama)	Fecha	Muestra	Amikacina	Ampicilina	Amp/Sulba
3287	pae-001	502670177	M	A	Em quirúrgicas	1	3-8-05	Sangre	R	R	R
3288	pae-002	4052843	M	A	3	335	17-7-05	Orina	S	R	R
3289	pae-003	4052843	M	A	3	335	18-7-05	Orina	S	R	R
3290	pae-004	4062054	M	A	3	325	18-7-05	Orina	S	R	R
3291	pae-005	A000101640	F	A	Emergencias		3-8-05	Orina	R	R	R
3292	pae-006	A000101764	F	A	5	564	3-8-05	Orina	R	R	R
3293	pae-007	40106079	M	A	4	447	8-8-05	Orina	R	R	R
3294	pae-008	400870857	M	A	6	657	9-8-05	Orina	R	R	R
3295	pae-009	400650436	F	A	Terapia Intensiva	12	10-8-05	Orina	I	R	R
3296	pae-010	18	F	A	Consulta exé		19-7-05	Secreción	S	R	R
3297	pae-011	502240731	M	A	6	631	19-7-05	Secreción	R	R	R
3298	pae-012	502240731	M	A	6	631	29-7-05	Secreción	R	R	R
3299	pae-013	6702470	M	A	3	341	5-8-05	Secreción	R	R	R
3300	pae-014	A000101764	F	A	5	564	5-8-05	Secreción	S	R	R
3301	pae-015	RN3613	M	P	1	2	5-8-05	Punta catéter	R	R	R
3302	pae-016	503260361	F	A	5	584	8-8-05	Punta catéter	R	R	R
3303	pae-017	A000101602	F	A	2	259	9-8-05	Secreción	R	R	R
3304	pae-018	205650195	M	A	4	458	1-8-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3305	pae-019	109500275	M	A	Terapia Intensiva	14	3-8-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3306	pae-020	400870857	M	A	6	657	3-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3307	pae-021	502670177	M	A	Em quirúrgicas	1	3-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3308	pae-022	700610018	M	A	UTI neurocirugía	4	4-8-05	Asp endobronquial	S	R	R
3309	pae-023	A00010496	F	A	Terapia Intensiva	11	17-7-05	Asp endobronquial	R	R	R
3310	pae-024	11059770	F	A	5	538	5-8-05	Espujo	S	R	R
3311	pae-025	700610018	M	A	UTI neurocirugía	4	7-8-05	Asp endobronquial	S	R	R
3312	pae-026	A000101602	F	A	2	259	8-8-05	Lavado bronquial	S	R	R
3313	pae-027	400870857	M	A	6	657	10-8-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3315	pae-029	102340087	F	A	Emergencias		10-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3316	pae-030	603810080	F	A	Terapia Intensiva	4	11-8-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3317	pae-031	5267177	M	A	Em quirúrgicas		31-7-05	Líquido abdominal	R	R	R
3318	pae-032	A000101602	F	A	Terapia Intensiva	5	2-8-05	Líquido peritoneal	R	R	R
3319	pae-033	200918897	M	A	3	338	8-8-05	Orina	R	R	R
3320	pae-034	102180745	M	A	Terapia Intensiva		13-5-05	Fosas nasales	R	R	R
3321	pae-035	A000069445	ND	A	4	474	9-5-05	Espujo	S	R	R
3322	pae-036	102180745	M	A	Terapia Intensiva		13-5-05	Rectal	R	R	R
3324	pae-038	500670926	M	A	3	338	13-8-05	Orina	I	R	R
3325	pae-039	20123032	F	A	5	551	19-8-05	Orina	R	R	R
3326	pae-040	101870504	M	A	5	565	20-8-05	Orina	R	R	R
3327	pae-041	502670274	M	A	Em quirúrgicas	1	13-8-05	Sangre	R	R	R
3328	pae-042	400500365	F	A	4	423	24-8-05	Orina	S	R	R
3329	pae-043	200729767	M	A	6	651	24-8-05	Orina	R	R	R
3330	pae-044	102180745	M	A	Terapia Intensiva	12	7-5-05	Orina	R	R	R
3331	pae-045	A0000101764	F	A	5	566	18-8-05	Orina	R	R	R
3332	pae-046	101870504	M	A	5	565	20-8-05	Orina	R	R	R
3333	pae-047	1866220	M	A	Consulta exé		16-8-05	Orina	S	R	R
3334	pae-048	102860937	M	A	3	317	16-8-05	Orina	S	R	R
3335	pae-049	602340550	M	A	4	462	14-8-05	Orina	S	R	R
3336	pae-050	6202340505	M	A	5	456	18-8-05	Orina	R	R	R
3338	pae-052	102310241	M	A	Terapia Intensiva		13-5-05	Fosas nasales	R	R	R
3339	pae-053	106470562	F	A	5	548	11-5-05	Orina	R	R	R
3342	pae-056	102310241	M	A	Terapia Intensiva		13-5-05	Rectal	R	R	R
3343	pae-057	202280122	M	A	3	351	1-11-04	Herida	R	R	R

N°UCR	N° Estudio	Aztreonam	Cefazolina	Cefepime	Cefotetan	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cefuroxime	Cefuroxime Axetil	Ciprofloxacina	Gatifloxacino
3287	pa0-001	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3288	pa0-002	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3289	pa0-003	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3290	pa0-004	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3291	pa0-005	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3292	pa0-006	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3293	pa0-007	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3294	pa0-008	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3295	pa0-009	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3296	pa0-010	I	R	S	R	S	R	R	R	R	S
3297	pa0-011	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3298	pa0-012	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3299	pa0-013	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3300	pa0-014	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3301	pa0-015	I	R	I	R	S	R	R	R	R	I
3302	pa0-016	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3303	pa0-017	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3304	pa0-018	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3305	pa0-019	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3306	pa0-020	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3307	pa0-021	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3308	pa0-022	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3309	pa0-023	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3310	pa0-024	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3311	pa0-025	S	R	S	R	S	R	R	R	S	I
3312	pa0-026	S	R	S	R	S	R	R	R	S	I
3313	pa0-027	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3315	pa0-029	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3316	pa0-030	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3317	pa0-031	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3318	pa0-032	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3319	pa0-033	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3320	pa0-034	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3321	pa0-035	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S
3322	pa0-036	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3324	pa0-038	I	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3325	pa0-039	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3326	pa0-040	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3327	pa0-041	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3328	pa0-042	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S
3329	pa0-043	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3330	pa0-044	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3331	pa0-045	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3332	pa0-046	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3333	pa0-047	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S
3334	pa0-048	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3335	pa0-049	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3336	pa0-050	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3338	pa0-052	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3339	pa0-053	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3342	pa0-056	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3343	pa0-057	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R

N°UCR	N° Estudio	Gentamicina	Imipenem	Meropenem	Nitrofurantoina	Pip/Tazo	Ticarcilina/CA	Tobramicina	STX
3287	pae-001	R	R	R	R	S	R	R	R
3288	pae-002	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3289	pae-003	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3290	pae-004	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3291	pae-005	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3292	pae-006	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3293	pae-007	RR	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3294	pae-008	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3295	pae-009	R	S	S	RR	S	S	RR	RR
3296	pae-010	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3297	pae-011	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3298	pae-012	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3299	pae-013	R	RR	S	RR	S	RR	RR	RR
3300	pae-014	S	S	S	RR	S	RR	S	RR
3301	pae-015	R	S	S	RR	R	RR	RR	RR
3302	pae-016	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3303	pae-017	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3304	pae-018	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3305	pae-019	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3306	pae-020	R	R	R	RR	S	S	RR	RR
3307	pae-021	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3308	pae-022	S	S	S	RR	S	RR	S	RR
3309	pae-023	R	R	R	RR	S	RR	RR	RR
3310	pae-024	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3311	pae-025	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3312	pae-026	S	R	S	RR	S	S	S	RR
3313	pae-027	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3315	pae-029	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3316	pae-030	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3317	pae-031	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3318	pae-032	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3319	pae-033	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3320	pae-034	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3321	pae-035	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3322	pae-036	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3324	pae-038	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3325	pae-039	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3326	pae-040	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3327	pae-041	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3328	pae-042	S	S	R	RR	S	S	S	RR
3329	pae-043	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3330	pae-044	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3331	pae-045	R	RR	I	RR	S	RR	RR	RR
3332	pae-046	R	S	S	RR	S	RR	RR	RR
3333	pae-047	I	S	S	RR	S	S	S	RR
3334	pae-048	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3335	pae-049	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3336	pae-050	S	S	S	RR	S	S	S	RR
3338	pae-052	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3339	pae-053	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3342	pae-056	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR
3343	pae-057	R	RR	R	RR	S	RR	RR	RR

N°UCR	N° Estudio	Expediente	Sexo	Fase etárea	Servicio	Localización	Fecha	Muestra	Amikacina	Ampicilina	Amp/Sulfá
3344	pae-058	602670274	M	A	Em quirúrgicas	1	13-8-05	Sangre	R	R	R
3345	pae-059	20123032	F	A	5	551	19-8-05	Orina	R	R	R
3346	pae-060	102860937	M	A	3	317	16-8-05	Orina	S	R	R
3347	pae-061	A000101764	F	A	5	566	18-8-05	Orina	R	R	R
3348	pae-062	602340560	M	A	4	462	14-8-05	Orina	S	R	R
3352	pae-066	501230885	M	A	6	626	13-5-05	Orina	R	R	R
3353	pae-067	10178441	F	A	2	246	15-5-05	Orina	R	R	R
3354	pae-068	167053462	M	A	Terapia intensiva		16-5-05	Heces	R	R	R
3356	pae-070	102310241	M	A	Terapia intensiva	14	16-5-05	Asp endobronquial	R	R	R
3357	pae-071	102310241	M	A	Terapia intensiva		13-5-05	Tubo corrugado	R	R	R
3358	pae-072	301100835	M	A	6	662	21-5-05	Secreción	R	R	R
3359	pae-073	102310241	M	A	Terapia intensiva		13-5-05	Conexión de aspirar	R	R	R
3361	pae-075	112280455	M	A	Terapia intensiva	2	14-5-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3362	pae-076	102640387	M	A	3	321	3-11-04	Orina	R	R	R
3363	pae-077	50720624	M	A	Terapia intensiva	13	18-5-05	Heces	R	R	R
3364	pae-078	1112280465	M	A	Terapia intensiva	2	19-5-05	Punta catéter	R	R	R
3365	pae-079	4062843	M	A	3	335	18-7-05	Orina	S	R	R
3366	pae-080	6102470	M	A	3	341	13-8-05	Secreción	R	R	R
3367	pae-081	A000101764	F	A	5	564	12-8-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3368	pae-082	400650438	F	A	Terapia intensiva	12	13-8-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3369	pae-083	401420559	F	A	Em quirúrgicas	1	14-8-03	Secreción traqueobronquial	R	R	R
3370	pae-084	502670177	M	A	Em quirúrgicas	1	13-8-05	Catéter	R	R	R
3372	pae-086	40670857	M	A	6	657	12-8-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3373	pae-087	400650438	F	A	Terapia intensiva	12	13-8-05	Catéter	I	R	R
3374	pae-088	400670857	M	A	6	657	3-8-05	Orina	R	R	R
3375	pae-089	A000101602	F	A	Terapia intensiva	5	9-8-05	Secreción	R	R	R
3376	pae-090	603810680	F	A	Terapia intensiva	10	22-8-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3377	pae-091	301300527	F	A	7	4	22-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3378	pae-092	690301680	M	A	Terapia intensiva	4	24-8-05	Tubo endotraqueal	R	R	R
3379	pae-093	60170372	M	A	Terapia intensiva	1	25-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3380	pae-094	61760372	M	A	Terapia intensiva	1	22-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3381	pae-095	4067857	M	A	6	657	22-8-05	Secreción	R	R	R
3382	pae-096	A000101602	F	A	Terapia intensiva	5	26-8-05	Drenaje	S	R	R
3383	pae-097	301230065	M	A	2	259	22-8-05	Catéter	R	R	R
3384	pae-098	501160125	M	A	4	448	25-8-05	Secreción	S	R	R
3385	pae-099	A000101602	F	A	Terapia intensiva	5	23-8-05	Orina	R	R	R
3386	pae-100	401840373	M	A	6	670	25-8-05	Orina	S	R	R
3387	pae-101	400500355	F	A	4	423	24-8-05	Orina	S	R	R
3388	pae-102	2020722308	M	A	3	339	25-8-05	Orina	S	R	R
3389	pae-103	109530273	M	A	Terapia intensiva	14	22-8-05	Piel	R	R	R
3390	pae-104	109530273	M	A	Terapia intensiva	14	22-8-05	Secreción	R	R	R
3391	pae-105	4067857	M	A	6	657	22-8-05	Secreción	R	R	R
3392	pae-106	1375887	F	A	Consulta exter		17-8-05	Colgajo	R	R	R
3393	pae-107	109530273	M	A	Terapia intensiva	14	22-8-05	Piel	R	R	R
3394	pae-108	61760372	M	A	Terapia intensiva	1	22-8-05	Piel	R	R	R
3395	pae-109	A000101602	F	A	Terapia intensiva	5	24-8-05	Secreción	S	R	R
3396	pae-110	4067857	M	A	6	657	22-8-05	Secreción	R	R	R
3398	pae-112	900380911	M	A	6	639	26-8-05	Liq peritoneal	I	R	R
3399	pae-113	900380911	M	A	6	639	27-8-05	Liq peritoneal	S	R	R
3400	pae-114	900380911	M	A	6	639	28-8-05	Liq peritoneal	S	R	R
3402	pae-116	114190777	F	A	4	402	25-8-05	Secreción	S	R	R
3403	pae-117	102320351	M	A	3	331	26-8-05	Úlcera pene	S	R	R
3404	pae-118	102100836	F	A	3	332	22-8-05	Orina	S	R	R

N°UCR	N° Estudio	Axtreonam	Cefazolina	Cefepime	Cefotetan	Ceftazidima	Ceftriaxone	Cefuroxime	Cefuroxime Axetil	Ciprofloxacina	Gatifloxacino
3344	pae-058	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3345	pae-059	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3346	pae-060	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3347	pae-061	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3348	pae-062	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3352	pae-066	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3353	pae-067	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3354	pae-068	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3356	pae-070	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3367	pae-071	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3368	pae-072	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3369	pae-073	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3361	pae-075	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3362	pae-076	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3363	pae-077	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3364	pae-078	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3365	pae-079	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3366	pae-080	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3367	pae-081	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3368	pae-082	R	R	I	R	I	R	R	R	R	R
3369	pae-083	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3370	pae-084	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3372	pae-086	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3373	pae-087	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3374	pae-088	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3375	pae-089	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3376	pae-090	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3377	pae-091	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3378	pae-092	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3379	pae-093	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3380	pae-094	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3381	pae-095	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3382	pae-096	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S
3383	pae-097	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3384	pae-098	I	R	S	R	I	R	R	R	S	S
3385	pae-099	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3386	pae-100	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3387	pae-101	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3388	pae-102	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3389	pae-103	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3390	pae-104	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3391	pae-105	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3392	pae-106	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3393	pae-107	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3394	pae-108	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3395	pae-109	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3396	pae-110	I	R	R	R	R	R	R	R	S	S
3398	pae-112	R	R	I	R	I	R	R	R	S	S
3399	pae-113	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3400	pae-114	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3402	pae-116	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3403	pae-117	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3404	pae-118	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S

N°UCR	N° Estudio	Gentamicina	Imipenem	Meropenem	Nitrofurantoina	Pip/Tazo	Ticarcilina/CA	Tobramicina	STX
3344	pae-058	R	R	R	R	S	R	R	R
3345	pae-059	R	R	S	R	S	R	R	R
3346	pae-060	S	S	S	R	S	R	R	R
3347	pae-061	R	R	I	R	S	R	R	R
3348	pae-062	S	S	S	R	S	R	R	R
3352	pae-066	R	R	R	R	S	R	R	R
3353	pae-067	R	R	S	R	S	R	R	R
3354	pae-068	R	R	S	R	S	R	R	R
3356	pae-070	R	R	R	R	S	R	R	R
3357	pae-071	R	R	R	R	S	R	R	R
3358	pae-072	R	R	R	R	R	R	R	R
3359	pae-073	R	R	R	R	S	R	R	R
3361	pae-075	R	R	R	R	S	R	R	R
3362	pae-076	R	R	R	R	S	R	R	R
3363	pae-077	R	R	R	R	S	R	R	R
3364	pae-078	R	R	R	R	S	R	R	R
3365	pae-079	S	S	S	R	S	S	R	R
3366	pae-080	R	R	I	R	S	R	R	R
3367	pae-081	R	R	S	R	S	R	R	R
3368	pae-082	R	S	S	R	S	R	R	R
3369	pae-083	R	R	R	R	S	R	R	R
3370	pae-084	R	R	R	R	S	R	R	R
3372	pae-086	R	R	R	R	S	R	R	R
3373	pae-087	R	S	S	R	S	R	R	R
3374	pae-088	R	R	R	R	S	R	R	R
3375	pae-089	R	R	R	R	S	R	R	R
3376	pae-090	R	R	R	R	R	R	R	R
3377	pae-091	R	R	R	R	R	R	R	R
3378	pae-092	R	R	R	R	R	R	R	R
3379	pae-093	R	R	R	R	S	R	R	R
3380	pae-094	R	R	R	R	S	R	R	R
3381	pae-095	R	R	R	R	S	R	R	R
3382	pae-096	R	R	R	R	S	R	R	R
3383	pae-097	R	R	R	R	S	R	R	R
3384	pae-098	S	S	S	R	S	R	R	R
3385	pae-099	R	R	S	R	S	R	R	R
3386	pae-100	R	S	S	R	S	R	R	R
3387	pae-101	S	S	S	R	S	S	R	R
3388	pae-102	S	S	S	R	S	S	R	R
3389	pae-103	R	R	R	R	S	R	R	R
3390	pae-104	R	R	R	R	S	R	R	R
3391	pae-105	R	R	R	R	S	R	R	R
3392	pae-106	R	R	R	R	S	R	R	R
3393	pae-107	R	R	R	R	S	R	R	R
3394	pae-108	R	R	R	R	S	R	R	R
3395	pae-109	R	R	R	R	S	R	R	R
3398	pae-110	R	R	R	R	S	R	R	R
3398	pae-112	I	S	S	R	S	R	S	R
3399	pae-113	I	S	S	R	S	S	S	R
3400	pae-114	I	S	S	R	S	S	S	R
3402	pae-116	S	S	S	R	S	R	S	R
3403	pae-117	S	S	S	R	S	R	S	R
3404	pae-118	S	S	S	R	S	S	S	R

N°UCR	N° Estudio	Expediente	Sexo	Fase etárea	Servicio	Localización	Fecha	Muestra	Amikacina	Ampicilina	Amp/Sulba
3405	pae-119	301230085	M	A	2	259	22-8-05	Catéter	R	R	R
3406	pae-120	301300527	F	A	7	4	22-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3407	pae-121	A000101602	F	A	Terapia intensiva	5	23-8-05	Orina	R	R	R
3408	pae-122	20123032	F	A	5	551	19-8-05	Orina	R	R	R
3409	pae-123	700590490	F	A	Consulta exter		16-8-05	Úlcera	S	R	R
3410	pae-124	101870504	M	A	5	565	20-8-05	Orina	R	R	R
3411	pae-125	603810680	F	A	Terapia intensiva	10	22-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3412	pae-126	61760372	M	A	Terapia intensiva	1	22-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3413	pae-127	500970628	M	A	3	338	13-8-05	Orina	S	R	R
3414	pae-128	501160125	M	A	4	448	23-8-05	Secreción	S	R	R
3415	pae-129	1375887	F	A	Consulta exter		17-8-05	Colgajo	R	R	R
3416	pae-130	106530273	M	A	Terapia intensiva	14	22-8-05	Secreción	R	R	R
3417	pae-131	106530273	M	A	Terapia intensiva	14	22-8-05	Piel	R	R	R
3418	pae-132	A000101764	F	A	5	564	24-8-05	Orina	R	R	R
3419	pae-133	200729767	M	A	6	651	24-8-05	Orina	R	R	R
3420	pae-134	53331333	M	A	4	447	29-8-05	Tibia	R	R	R
3421	pae-135	502670177	M	A	Em quirúrgicas	1	29-8-05	Secreción	R	R	R
3422	pae-136	100697217	F	A	5	550	30-8-05	Secreción	S	R	R
3424	pae-138	A000101764	F	A	5	564	24-8-05	Orina	R	R	R
3425	pae-139	401840373	M	A	6	670	26-8-05	Orina	S	R	R
3426	pae-140	4087857	M	A	6	657	22-8-05	Secreción	R	R	R
3428	pae-141	61760372	M	A	Terapia intensiva	1	22-8-05	Piel	R	R	R
3429	pae-142	6603010680	M	A	Terapia intensiva	4	24-8-05	Tubo endotraqueal	R	R	R
3430	pae-143	200729767	M	A	6	651	26-8-05	Espujo	I	R	R
3431	pae-144	60170372	M	A	Terapia intensiva	1	25-8-05	Asp endobronquial	R	R	R
3432	pae-145	102320351	M	A	3	331	26-8-05	Úlcera pene	S	R	R
3433	pae-146	108170079	F	A	Consulta exter		2-9-05	Orina	S	R	R
3434	pae-147	A000102462	M	A	Em quirúrgicas	3	29-8-05	Secreción	R	R	R
3436	pae-149	900310912	F	A	5	576	5-9-05	Secreción	R	R	R
3437	pae-150	900310912	F	A	5	576	5-9-05	Secreción	R	R	R
3438	pae-151	A0000102770	M	A	Em quirúrgicas	6	31-8-05	Asp bronquial	S	R	R
3439	pae-152	40590770	F	A	5	506	2-9-05	Espujo	S	R	R
3440	pae-153	2457227	M	A	4	452	4-9-05	Secreción	R	R	R
3442	pae-155	700240257	M	A	Terapia intensiva	2	30-8-05	Liq peritoneal	R	R	R
3443	pae-156	501390672	F	A	Em quirúrgicas	4	4-9-05	Liq abdominal	S	R	R
3444	pae-157	500900660	M	A	3	319	5-9-05	Orina	S	R	R
3445	pae-158	20560195	M	A	4	458	6-9-05	Orina	S	R	R
3446	pae-159	205650195	M	A	4	458	7-9-05	Orina	S	R	R
3447	pae-160	A0000102523	M	A	3	323	7-9-05	Orina	R	R	R
3449	pae-161	2163105	F	A	Emergencias	Observación	9-9-05	Orina	R	R	R
3450	pae-162	500500728	M	A	6	628	8-9-05	Orina	R	R	R
3451	pae-163	114190777	F	A	4	402	1-9-05	Tejido	S	R	R
3452	pae-164	602830764	M	A	4	450	6-9-05	Herida	S	R	R
3453	pae-165	104700623	F	A	Consulta exter		6-9-05	Úlcera	S	R	R
3454	pae-166	2022210163	F	A	6	636	6-9-05	Punta catéter	R	R	R
3455	pae-167	3184243	M	A	6	623	6-9-05	Abceso	S	R	R
3456	pae-168	6331619	F	A	1	173	6-9-05	Secreción vaginal	S	R	R
3457	pae-169	111160970	F	A	Consulta exter		6-9-05	Secreción vaginal	I	R	R
3458	pae-170	203860200	F	A	Consulta exter		7-9-05	Uña	S	R	R
3459	pae-171	900310912	F	A	5	576	7-9-05	Secreción	R	R	R
3460	pae-172	700106427	F	A	6	666	7-9-05	Secreción	I	R	R
3462	pae-174	2467227	M	A	4	452	9-9-05	Secreción	R	R	R
3463	pae-175	110590770	F	A	5	579	4-9-05	Espujo	R	R	R

N°UCR	N° Estudio	Aztreonam	Cefazolina	Cefepime	Cefotetan	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cefuroxime	Cefuroxime Axetil	Ciprofloxacina	Gatifloxacino
3405	paee-119	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3406	paee-120	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3407	paee-121	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3408	paee-122	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3409	paee-123	I	R	S	R	S	R	R	R	S	R
3410	paee-124	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3411	paee-125	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3412	paee-126	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3413	paee-127	I	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3414	paee-128	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R
3415	paee-129	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3416	paee-130	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3417	paee-131	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3418	paee-132	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3419	paee-133	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3420	paee-134	I	R	I	R	I	R	R	R	R	R
3421	paee-135	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3422	paee-136	S	R	S	R	S	R	R	R	S	R
3424	paee-138	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3425	paee-139	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3426	paee-140	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3428	paee-141	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3429	paee-142	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3430	paee-143	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3431	paee-144	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3432	paee-145	I	R	S	R	S	R	R	R	S	R
3433	paee-146	S	R	S	R	S	R	R	R	S	R
3434	paee-147	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3436	paee-149	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3437	paee-150	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3438	paee-151	S	R	S	R	S	R	R	R	S	R
3439	paee-152	S	R	S	R	S	R	R	R	S	I
3440	paee-153	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3442	paee-155	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3443	paee-156	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3444	paee-157	I	R	S	R	S	R	R	R	S	R
3445	paee-158	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
3446	paee-159	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3447	paee-160	I	R	R	R	R	R	R	R	R	S
3449	paee-161	S	R	I	R	S	R	R	R	R	R
3450	paee-162	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3451	paee-163	R	R	S	R	I	R	R	R	S	R
3452	paee-164	I	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3453	paee-165	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3454	paee-166	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3455	paee-167	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3456	paee-168	I	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3457	paee-169	I	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3458	paee-170	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3459	paee-171	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3460	paee-172	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3462	paee-174	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3463	paee-175	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I

N°UCR	N° Estudio	Gentamicina	Imipenem	Meropenem	Nitrofurantoina	Pip/Tazo	Ticarcilina/CA	Tobramicina	STX
3405	pae-119	R	R	R	R	S	R	R	R
3406	pae-120	R	R	R	R	S	R	R	R
3407	pae-121	R	R	R	R	S	R	R	R
3408	pae-122	R	R	S	R	S	R	R	R
3409	pae-123	S	R	S	R	S	R	R	R
3410	pae-124	R	R	S	R	S	R	R	R
3411	pae-125	R	R	R	R	R	R	R	R
3412	pae-126	R	R	R	R	S	R	R	R
3413	pae-127	R	R	I	R	S	R	R	R
3414	pae-128	S	S	S	R	S	R	R	R
3415	pae-129	R	R	S	R	S	R	R	R
3416	pae-130	R	R	R	R	S	R	R	R
3417	pae-131	R	R	R	R	S	R	R	R
3418	pae-132	R	R	R	R	S	R	R	R
3419	pae-133	R	R	R	R	S	R	R	R
3420	pae-134	R	S	R	R	R	R	R	R
3421	pae-135	R	S	R	R	R	R	R	R
3422	pae-136	S	S	S	R	S	R	R	R
3424	pae-138	R	S	I	R	S	R	R	R
3425	pae-139	R	S	S	R	S	R	R	R
3426	pae-140	R	R	R	R	R	R	R	R
3428	pae-141	R	R	R	R	S	R	R	R
3429	pae-142	R	R	R	R	R	R	R	R
3430	pae-143	R	R	R	R	S	R	R	R
3431	pae-144	R	R	R	R	S	R	R	R
3432	pae-145	S	S	S	R	S	R	R	R
3433	pae-146	S	S	S	R	S	R	R	R
3434	pae-147	R	R	R	R	S	R	R	R
3436	pae-149	R	R	I	R	S	R	R	R
3437	pae-150	R	R	I	R	S	R	R	R
3438	pae-151	S	S	S	R	S	R	R	R
3439	pae-152	I	S	S	R	S	R	R	R
3440	pae-153	R	R	R	R	S	R	R	R
3442	pae-155	R	R	R	R	S	R	R	R
3443	pae-156	S	R	I	R	R	R	R	R
3444	pae-157	R	S	S	R	R	R	R	R
3445	pae-158	I	R	R	R	S	R	R	R
3446	pae-159	R	S	S	R	R	R	R	R
3447	pae-160	R	R	S	R	S	R	R	R
3449	pae-161	R	S	R	R	R	R	R	R
3450	pae-162	R	R	R	R	S	R	R	R
3451	pae-163	S	S	S	R	S	R	R	R
3452	pae-164	R	R	I	R	S	R	R	R
3453	pae-165	S	S	S	R	S	R	R	R
3454	pae-166	R	R	R	R	S	R	R	R
3455	pae-167	S	S	S	R	S	R	R	R
3456	pae-168	S	S	S	R	S	R	R	R
3457	pae-169	R	S	I	R	S	R	R	R
3458	pae-170	I	R	S	R	S	R	R	R
3459	pae-171	R	R	S	R	S	R	R	R
3460	pae-172	R	R	R	R	S	R	R	R
3462	pae-174	R	R	R	R	S	R	R	R
3463	pae-175	R	R	R	R	R	R	S	R

N°UCR	N° Estudio	Expediente	Sexo	Fase etárea	Servicio	Localización	Fecha	Muestra	Amikacina	Ampicilina	Amp/Sulba
3464	pae-176	502630131	M	A	6	678	6-9-05	Lavado bronquial	S	R	R
3465	pae-177	500890980	F	A	6	636	6-9-05	Espuito	S	R	R
3466	pae-178	603590060	F	A	7	728	6-9-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3467	pae-179	400500355	F	A	4	423	6-9-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3468	pae-180	603810660	F	A	Terapia intensiva	4	6-9-05	Asp bronquial	R	R	R
3477	pae-185	A000098111	F	A	3	303	10-9-05	Espuito	S	R	R
3478	pae-186	40050355	M	A	4	453	11-9-05	Asp bronquial	S	R	R
3481	pae-189	500900860	M	A	3	319	5-9-05	Orina	S	R	R
3486	pae-194	202360566	M	A	Consulta exter	6	5-9-05	Orina	R	R	R
3488	pae-196	10260282	M	A	3	328	12-9-05	Orina	S	R	R
3489	pae-197	1262624	M	A	Em quirúrgicas	5	12-9-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3490	pae-198	600380043	M	A	6	623	12-9-05	Espuito	S	R	R
3491	pae-199	501050894	M	A	6	657	12-9-05	Espuito	S	R	R
3492	pae-200	1026000928	M	A	Terapia intensiva	11	12-9-05	Lavado bronquial	R	R	R
3493	pae-201	201830292	F	A	5	567	13-9-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3494	pae-202	A000102400	M	A	6	676	4-9-05	Heces	R	R	R
3501	pae-209	110490498	F	A	Terapia intensiva	14	9-10-05	Asp bronquial	R	R	R
3502	pae-210	201630105	F	A	5	561	16-9-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3503	pae-211	103710692	M	A	6	647	13-9-05	Espuito	S	R	R
3504	pae-212	A000098111	F	A	3	303	10-9-05	Espuito	S	R	R
3506	pae-214	104160981	F	A	5	510	2-10-05	Sangre	I	R	R
3512	pae-220	601780372	M	A	6	674	12-9-05	Asp endobronquial	R	R	R
3513	pae-221	40500355	F	A	4	447	13-9-05	Asp endobronquial	I	R	R
3514	pae-222	2016301005	F	A	5	561	13-9-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3515	pae-223	41530674	M	A	5	508	13-9-05	Espuito	S	R	R
3516	pae-224	600460259	M	A	3	331	26-9-05	Orina	S	R	R
3517	pae-225	12514695	M	A	Em quirúrgicas	6	13-9-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3518	pae-226	400560478	F	A	5	556	14-9-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3521	pae-227	103640707	F	A	Consulta exter	4	26-9-05	Espuito	S	R	R
3522	pae-232	201630105	F	A	5	561	15-9-05	Orina	R	R	R
3524	pae-241	401070235	M	A	3	338	13-9-05	Orina	S	R	R
3525	pae-243	26330710	M	A	4	474	16-9-05	Orina	S	R	R
3526	pae-244	602190543	M	A	UTI neurocirugía	6	25-9-05	Asp bronquial	S	R	R
3527	pae-246	40500355	F	A	4	447	22-9-05	Asp endobronquial	S	R	R
3536	pae-308	A000103590	M	A	6	658	12-10-05	Asp bronquial	S	R	R
3538	pae-329	10686356	M	A	Terapia intensiva	33	4-11-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3539	pae-330	10686357	M	A	Terapia intensiva	34	5-11-05	Asp endotraqueal	S	R	R
3537	pae-335	10686362	M	A	Terapia intensiva	39	10-11-05	Asp endotraqueal	R	R	R
3540	pae-353	400510408	F	A	Consulta exter	6	20-10-05	Orina	S	R	R
3542	pae-387	18080738	M	A	6	626	20-10-05	Punta catéter	S	R	R
3543	pae-407	600260214	M	A	4	457	24-10-05	Asp endotraqueal	S	R	R

N*UCR	N° Estudio	Aztreonam	Cefazolina	Cefepime	Cefotetan	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cefuroxime	Cefuroxime Axetil	Ciprofloxacina	Gatifloxacino
3464	paee-176	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3465	paee-177	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3466	paee-178	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3467	paee-179	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3468	paee-180	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3477	paee-185	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S
3478	paee-186	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3481	paee-189	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3486	paee-194	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S
3488	paee-196	I	R	R	R	S	R	R	R	S	S
3489	paee-197	I	R	R	R	S	R	R	R	R	R
3490	paee-198	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3491	paee-199	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3492	paee-200	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3493	paee-201	I	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3494	paee-202	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3501	paee-209	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3502	paee-210	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3503	paee-211	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3504	paee-212	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3506	paee-214	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
3512	paee-220	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3513	paee-221	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3514	paee-222	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3515	paee-223	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3516	paee-224	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3517	paee-225	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S
3518	paee-226	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3521	paee-227	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3522	paee-232	S	R	I	R	S	R	R	R	R	R
3524	paee-241	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3525	paee-243	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3526	paee-244	S	R	S	R	S	R	R	R	I	R
3527	paee-246	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3536	paee-308	I	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3538	paee-329	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3539	paee-330	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S
3537	paee-335	I	R	I	R	R	R	R	R	R	R
3540	paee-353	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
3542	paee-387	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
3543	paee-407	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S

N°UCR	N° Estudio	Gentamicina	Imipenem	Meropenem	Nitrofurantoina	Pip/Tazo	Ticarcilina/CA	Tobramicina	STX
3484	pae-176	S	S	S	R	S	S	S	R
3485	pae-177	S	S	S	R	S	S	S	R
3486	pae-178	S	S	S	R	S	S	S	R
3487	pae-179	R	S	S	R	S	R	R	R
3488	pae-180	R	R	R	R	S	R	R	R
3477	pae-185	S	S	S	R	S	S	S	R
3478	pae-186	R	S	S	R	S	R	R	R
3481	pae-189	R	S	S	R	S	S	R	R
3486	pae-194	R	I	S	R	R	S	R	R
3488	pae-196	S	S	S	R	S	S	S	R
3489	pae-197	R	R	R	R	S	R	S	R
3490	pae-198	I	S	S	R	S	S	S	R
3491	pae-199	S	S	S	R	S	S	S	R
3492	pae-200	R	R	R	R	S	R	S	R
3493	pae-201	R	R	I	R	S	R	R	R
3494	pae-202	R	R	R	R	S	R	R	R
3501	pae-209	R	S	S	R	S	R	R	R
3502	pae-210	S	S	S	R	S	S	S	R
3503	pae-211	S	S	S	R	S	S	S	R
3504	pae-212	S	S	S	R	S	S	S	R
3508	pae-214	R	R	R	R	S	R	R	R
3512	pae-220	R	R	R	R	S	R	R	R
3513	pae-221	R	S	S	R	S	R	S	R
3514	pae-222	S	S	S	R	S	S	S	R
3515	pae-223	S	S	S	R	S	S	S	R
3516	pae-224	R	S	S	R	S	R	R	R
3517	pae-225	S	S	S	R	S	S	S	R
3518	pae-226	R	R	R	R	S	R	R	R
3521	pae-227	S	S	S	R	S	S	S	R
3522	pae-232	R	S	S	R	R	R	R	R
3524	pae-241	S	S	S	R	S	S	S	R
3525	pae-243	S	S	S	R	S	S	S	R
3526	pae-244	S	S	S	R	S	S	S	R
3527	pae-246	R	S	S	R	S	R	R	R
3536	pae-308	R	S	S	R	S	R	R	R
3538	pae-329	R	R	R	R	S	R	R	R
3539	pae-330	S	S	S	R	S	S	S	R
3537	pae-335	R	I	R	R	S	R	R	R
3540	pae-353	S	S	S	R	S	S	S	R
3542	pae-387	S	S	S	R	S	S	S	R
3543	pae-407	S	S	S	R	S	S	S	R