



# Estudio de los mecanismos de resistencia de los principales microorganismos Gram negativos no fermentadores asociados a infecciones nosocomiales

MIGUEL ANGEL SANCHEZ PORRAS

Asesor interno:

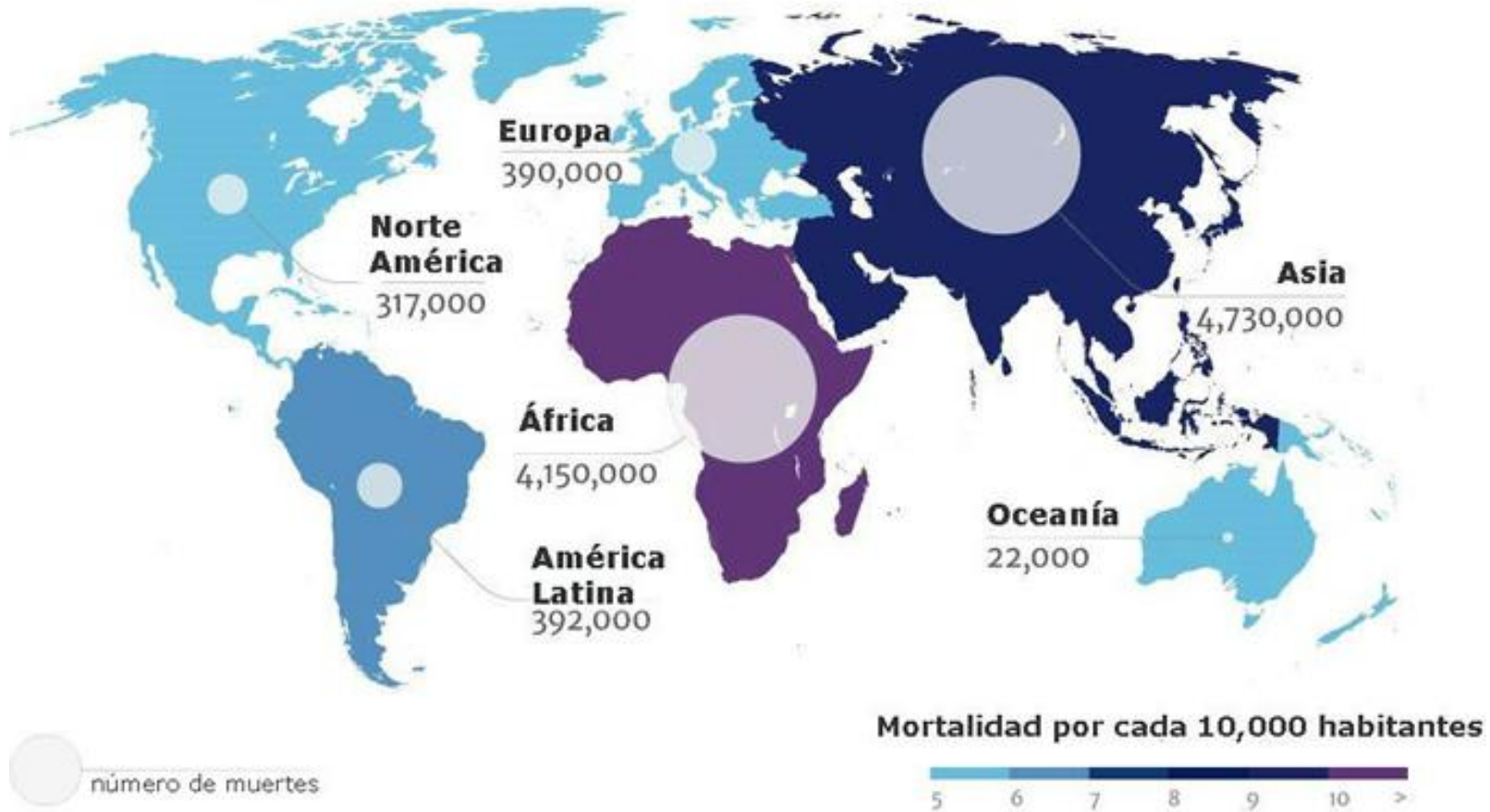
Karen Andrea Cubillos Abello

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

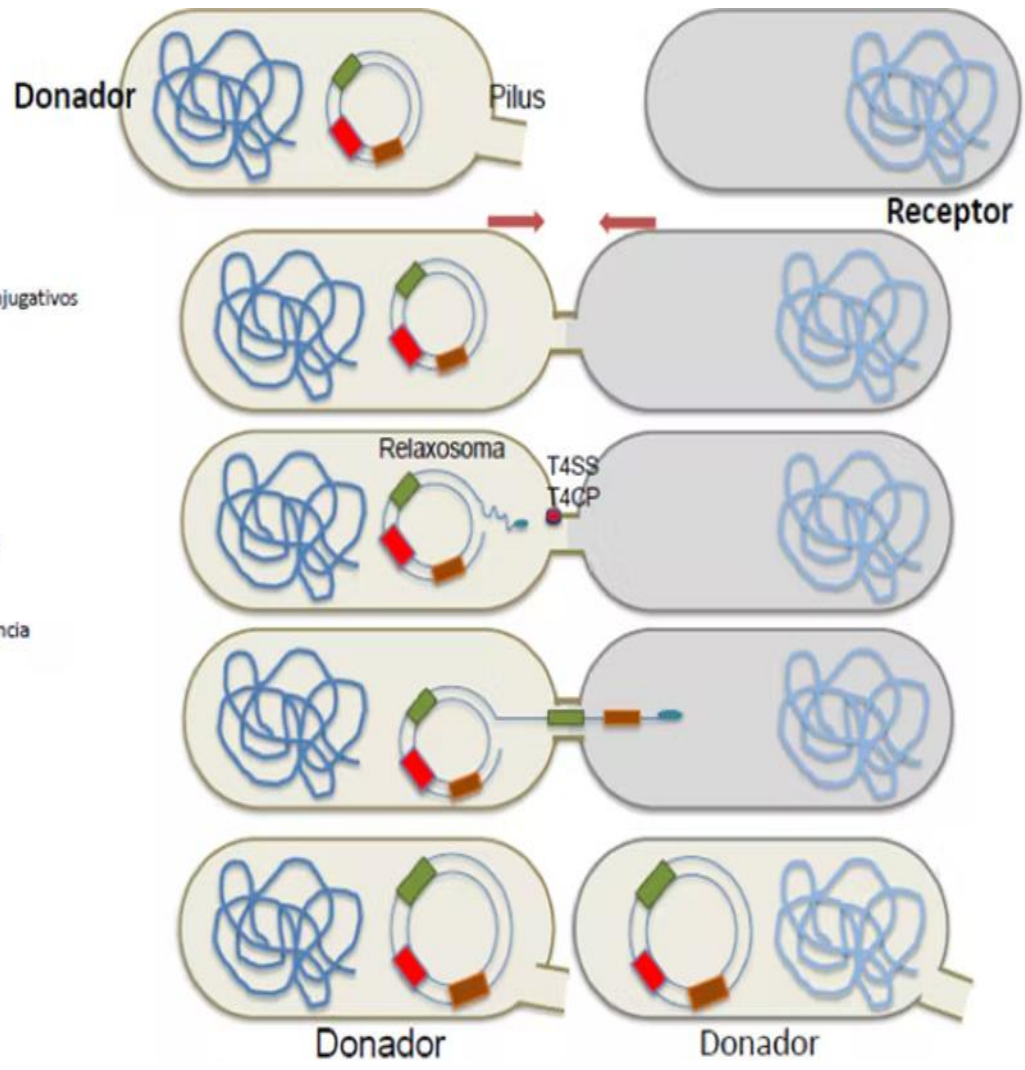
Trabajo de grado Bogotá D.C, 0 de mayo de 2022



Review on Antimicrobial Resistance - <https://amr-review.org/>

Tomado de Review on antimicrobial resistance; 2014

## Introducción

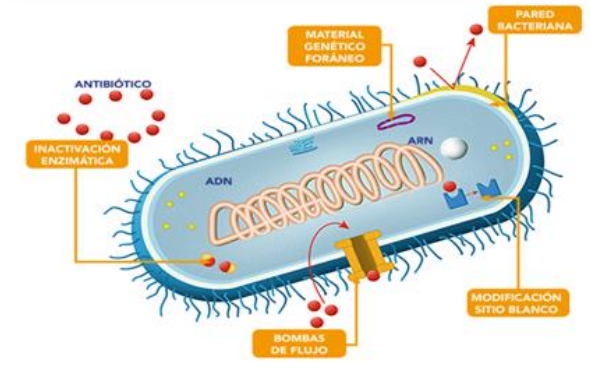


Elementos de los plásmidos conjugativos

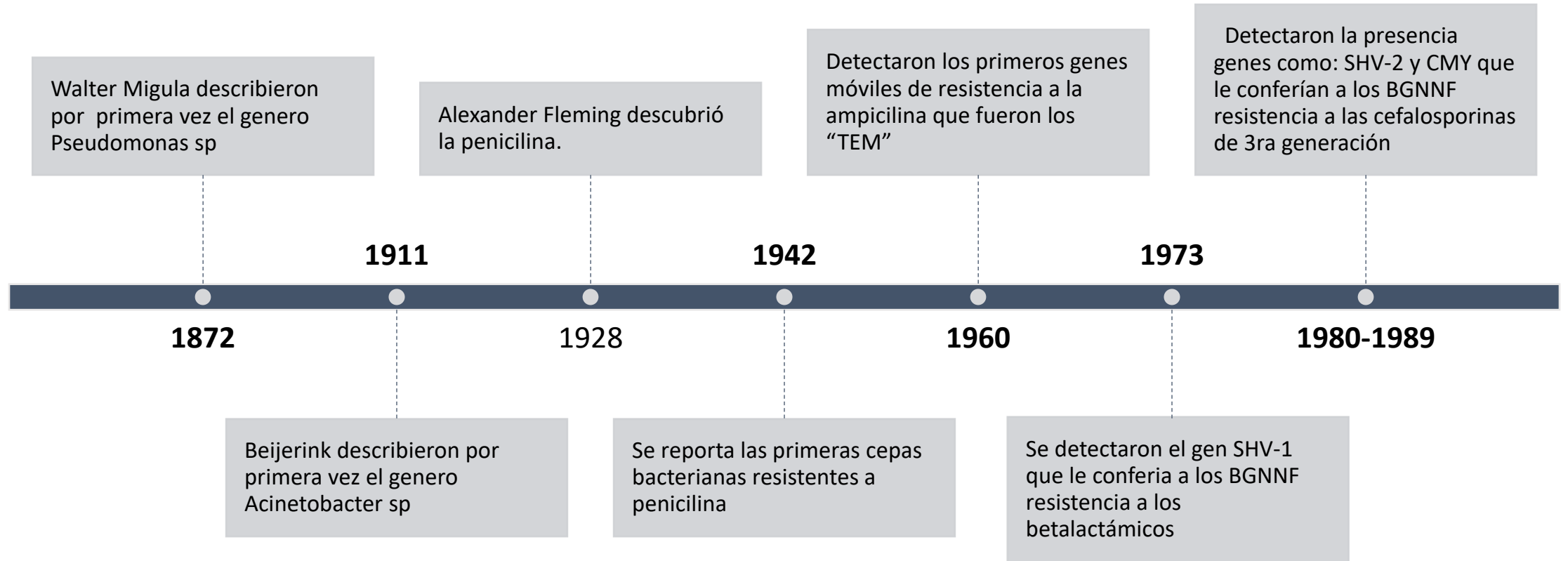


- Genes de resistencias
- Genes de transferencia

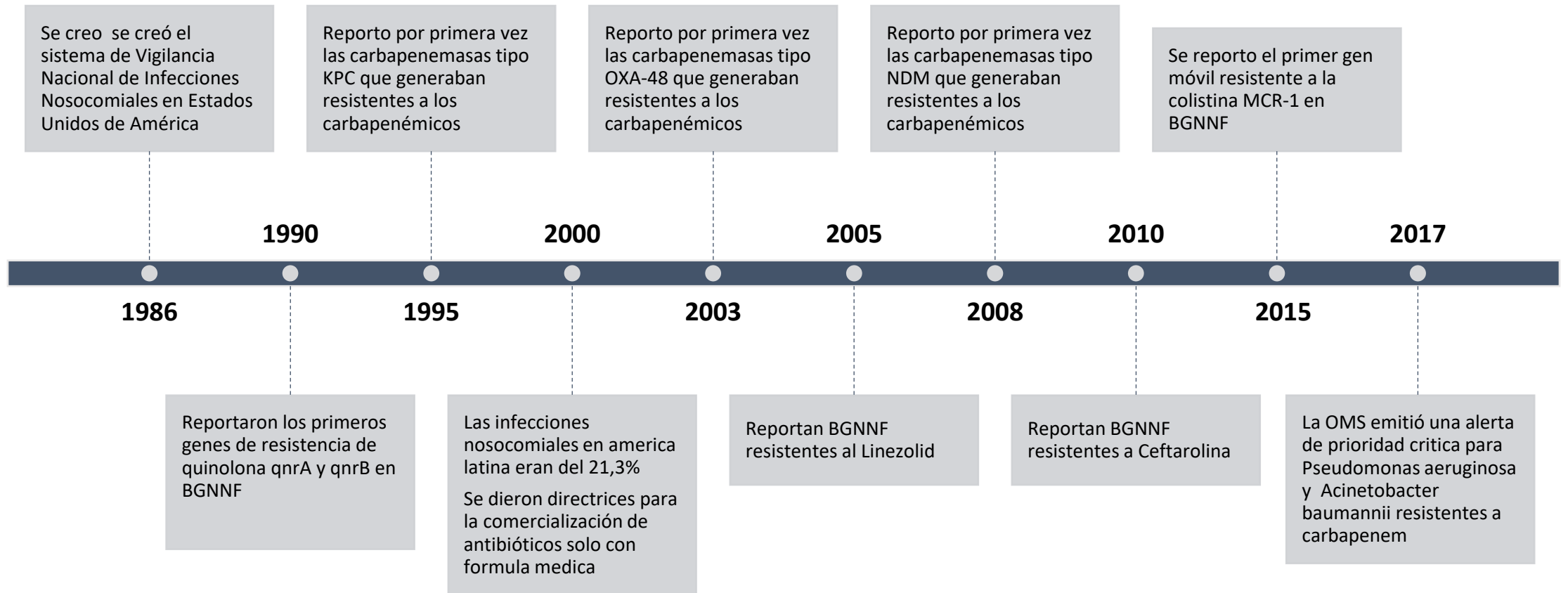
### RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EVOLUCIÓN DE ACCIÓN



# Antecedentes



# Antecedentes



# Objetivos

**Describir los mecanismos de resistencia antimicrobianos de los principales bacilos Gram negativos no fermentadores asociada con infecciones nosocomiales.**

## Objetivos específicos

Diferenciar los mecanismos de resistencia naturales y adquiridos de las principales bacterias gram negativas no fermentadoras asociadas con infecciones nosocomiales.

Describir las técnicas fenotípicas para el diagnóstico de resistencia bacteriana según el manual CLSI.

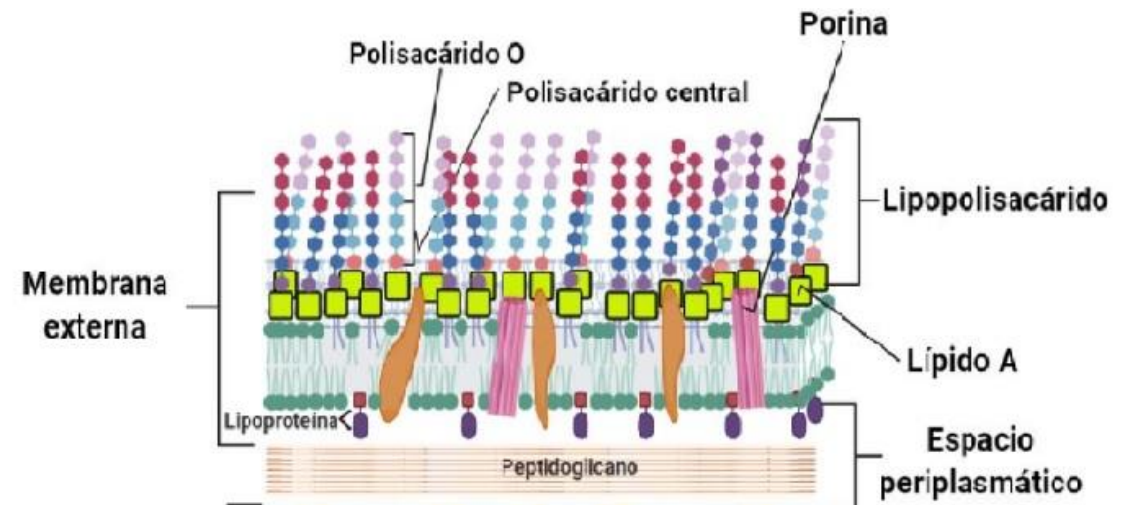
# Marco referencial



# Bacilos Gram negativos



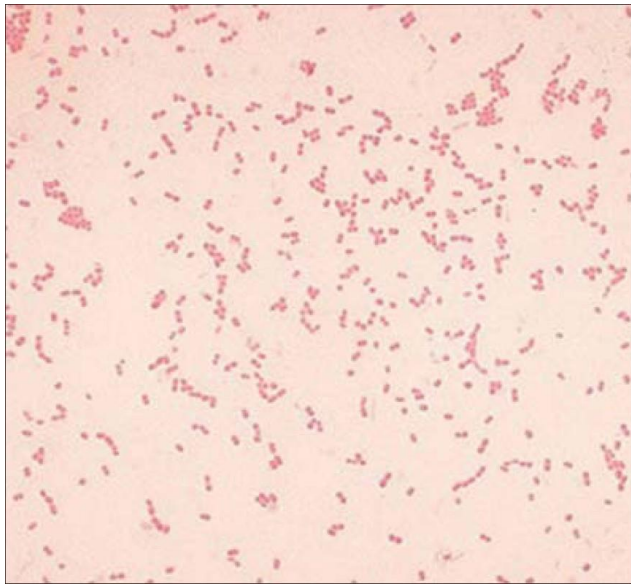
Cortesía de Castillo et al



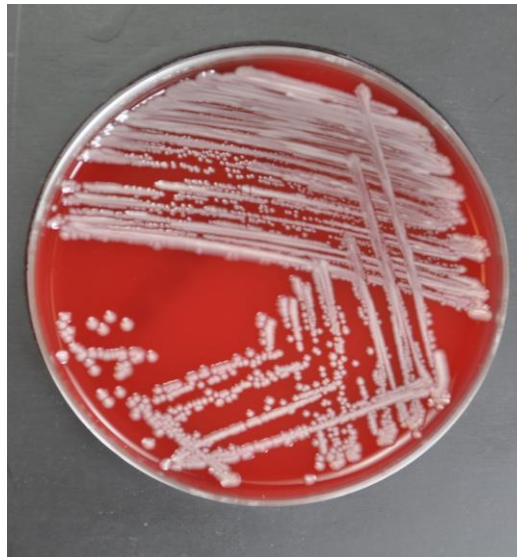
Cortesía de Castillo et al



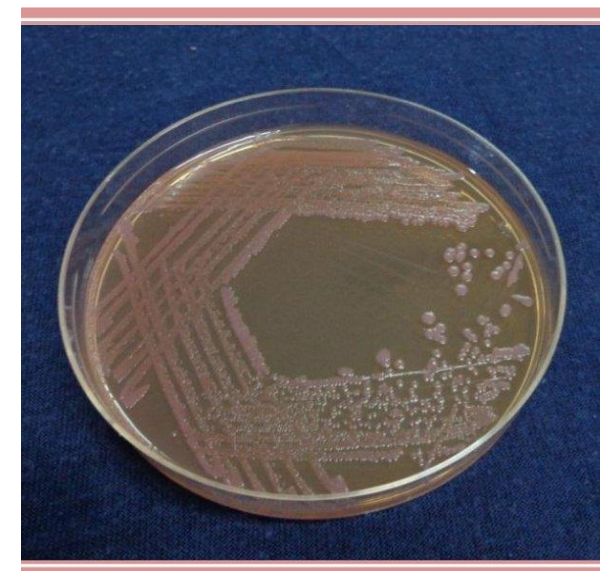
# Complejo *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*



Cortesía de Mendez et al;2019



Cortesía de Afid et al 2021



Cortesía de Mendez et al;2019

*Acinetobacter*, viene de la palabra griega “*Acinetobacter*” proviene del griego; “*a*”: negación, “*kinetos*”: móvil, y “*bakter*” significa “bacilo”

# Mecanismos de resistencia natural

Betalactamasas tipo ADC (s cefalosporinas derivadas de Acinetobacter)

- La presencia de "Insertion sequence Acinetobacter baumannii 1"

Betalactamasas tipo OXA

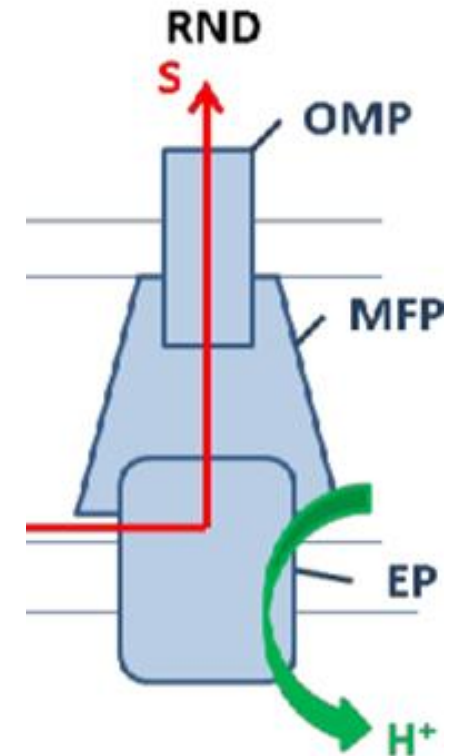
- OXA 51 y la OXA69

Pedida de purinas

- OprCy OprE

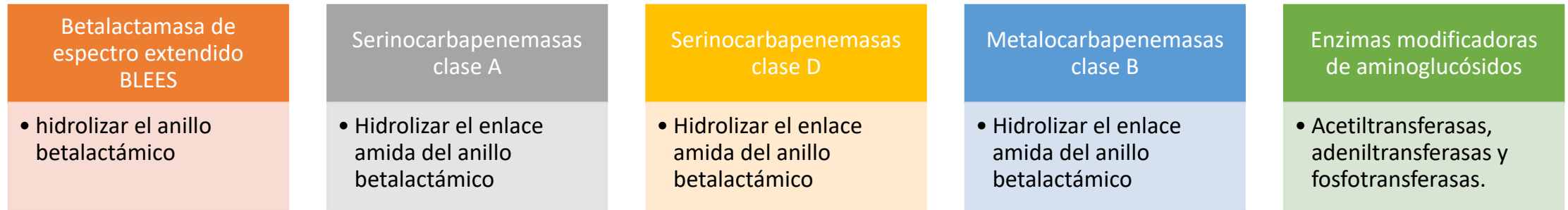
Bombas de eflujo

- RND, SMR y las ATP ABC

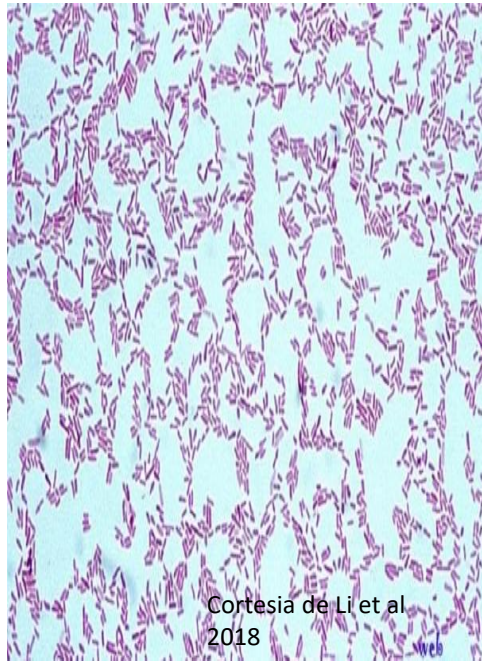


Cortesía de Mullie et al

# Mecanismos de resistencia adquiridas



# Pseudomonas aeruginosa



- “Pseudomonas” significa “falsa unidad”, y “monas” “una sola unidad”

# Mecanismos de resistencia natural

## Betalactamasas cromosómicas tipo PDC

- Hidroliza el anillo betalactámico

## Bombas de eflujo

- Evita la llegada de los antibióticos a los sitios diana mediante la captura y expulsión

## Pérdida de las porinas

- Limita el acceso a los antibióticos al sitio diana intracelular

# Mecanismos de resistencia adquiridos

## Enzimas modificadoras de aminoglucósidos EMA

- Acetilan y fosforilan las moléculas de los aminoglucósidos bloqueando su actividad

## Metilasas del ARNr16S

- Modifica el sitio diana del antibiótico

## Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

- Hidroliza el anillo betalactámico

## Metalcarbapenemasas clase B

- Hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico

## Serinocarbapenemasas clase A

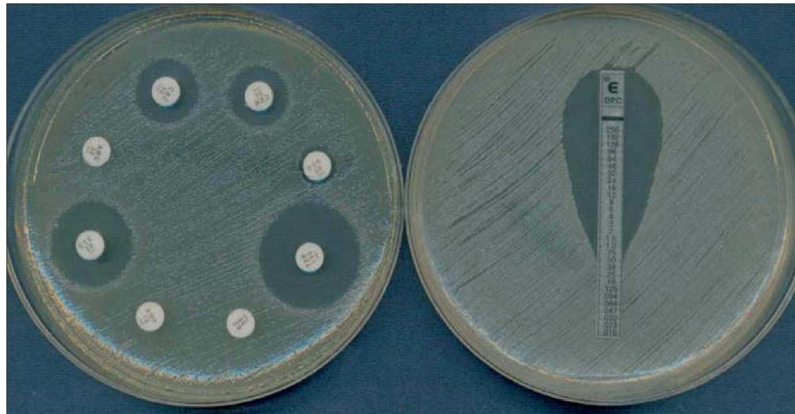
- Hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico

## Serinocarbapenemasas clase D

- Hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico

# Métodos de identificación fenotípica de beta lactamasas según el manual del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés)

- Método de difusión en disco o método de Kirby-Bauer



An Pediatr Contin. 2009;7:214-7

- prueba de sinergia de doble disco



Cortesía de Ophelie C, Queste M, 2016

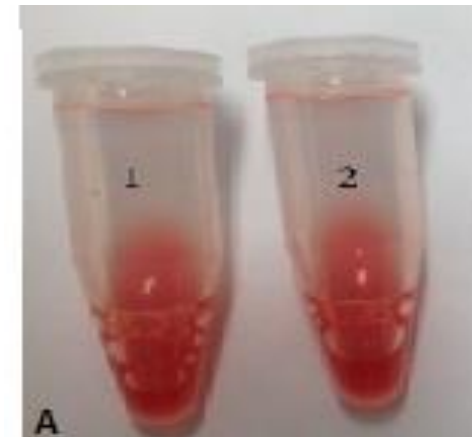
# Métodos de identificación fenotípica de beta lactamasas según el manual del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés)

- Prueba modificado de inactivación de carbapenémicos



Cortesía de Miranda et al, 2018

## Prueba Carba NP

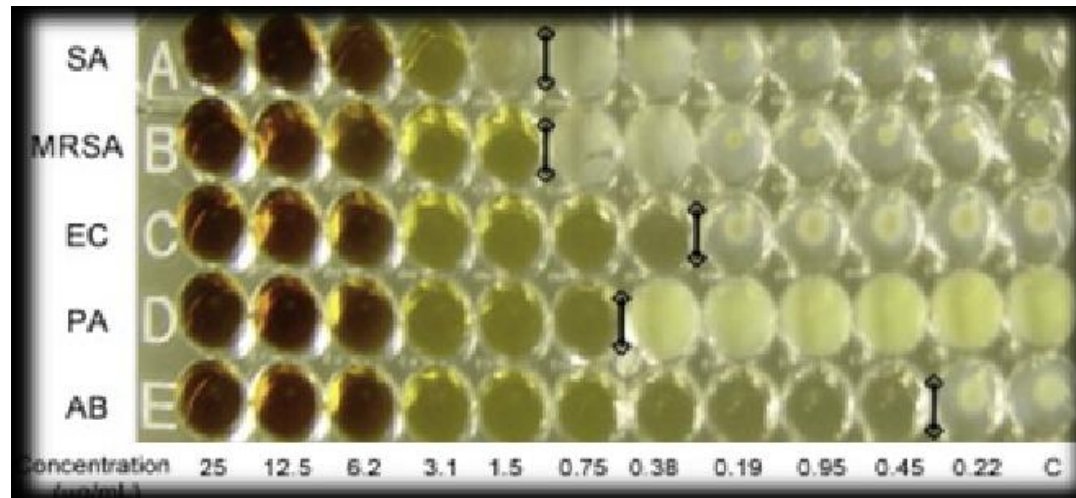


Cortesía de Muñoz et al, 2017



# Métodos de identificación fenotípica de beta lactamasas según el manual del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés)


- Micro dilución en caldo

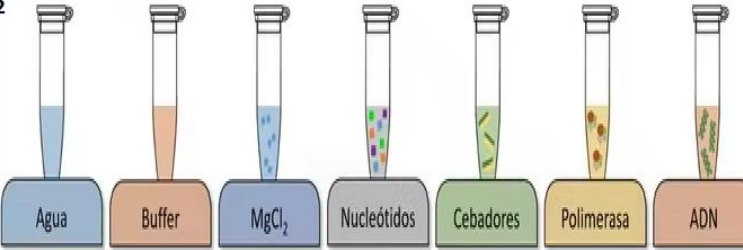



Cortesía de Muñoz et al, 2019

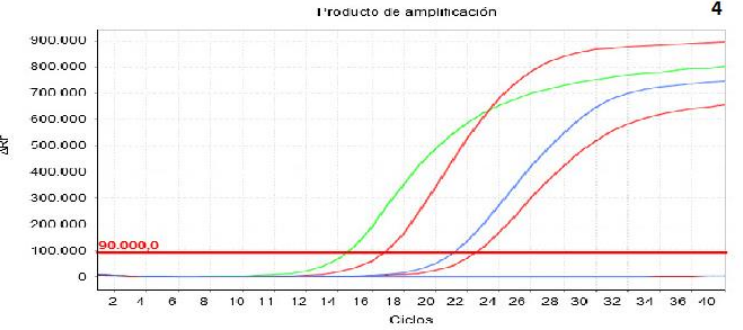
# Método de qPCR

# Método de genexper

1 

2   
Agua Buffer  $MgCl_2$  Nucleótidos Cebadores Polimerasa ADN

3 

4   
Producto de amplificación  
 $\Delta R$   
900.000  
800.000  
700.000  
600.000  
500.000  
400.000  
300.000  
200.000  
100.000  
0  
90.000,0  
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40  
Ciclos

1 

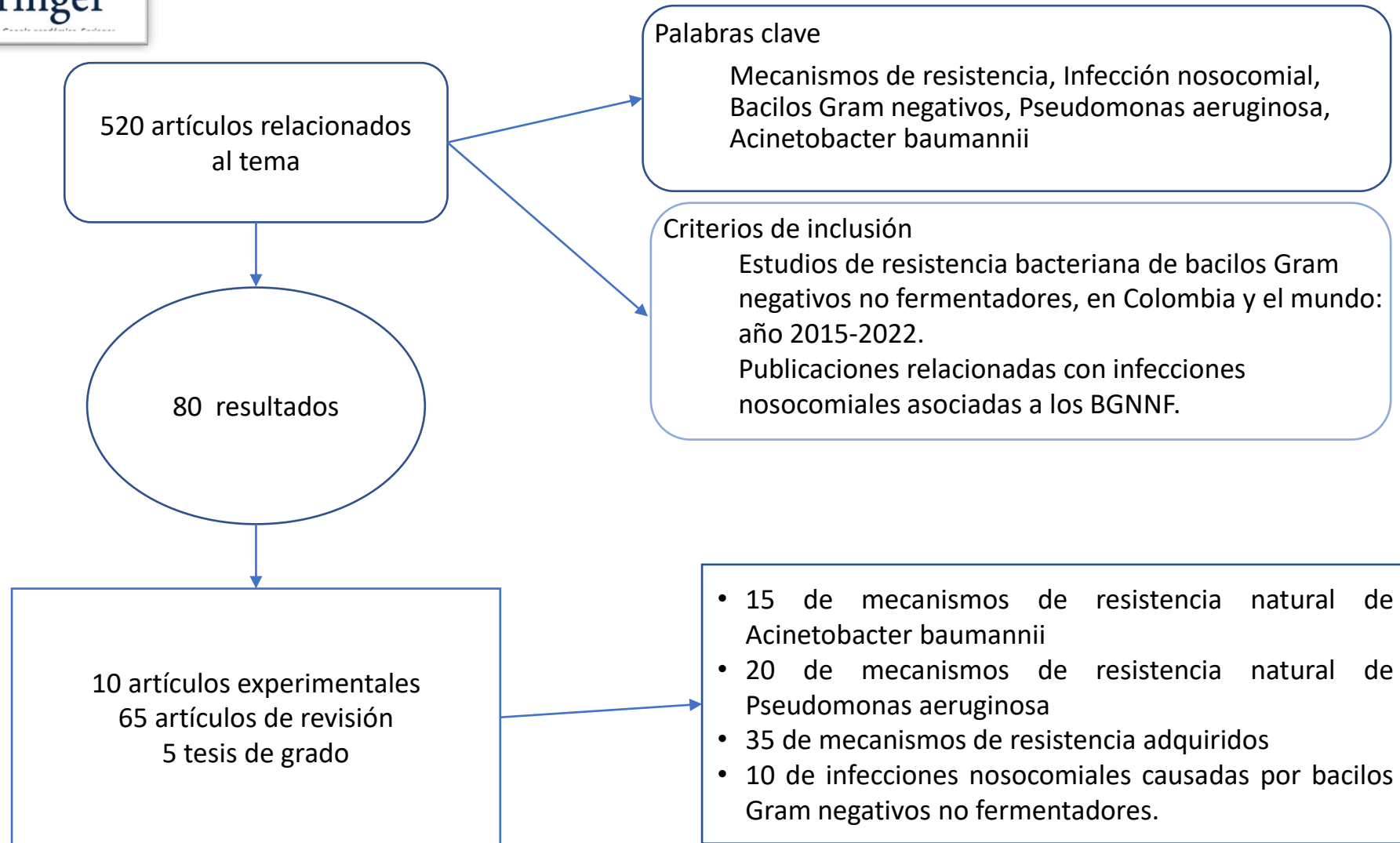
2 

3 

4 

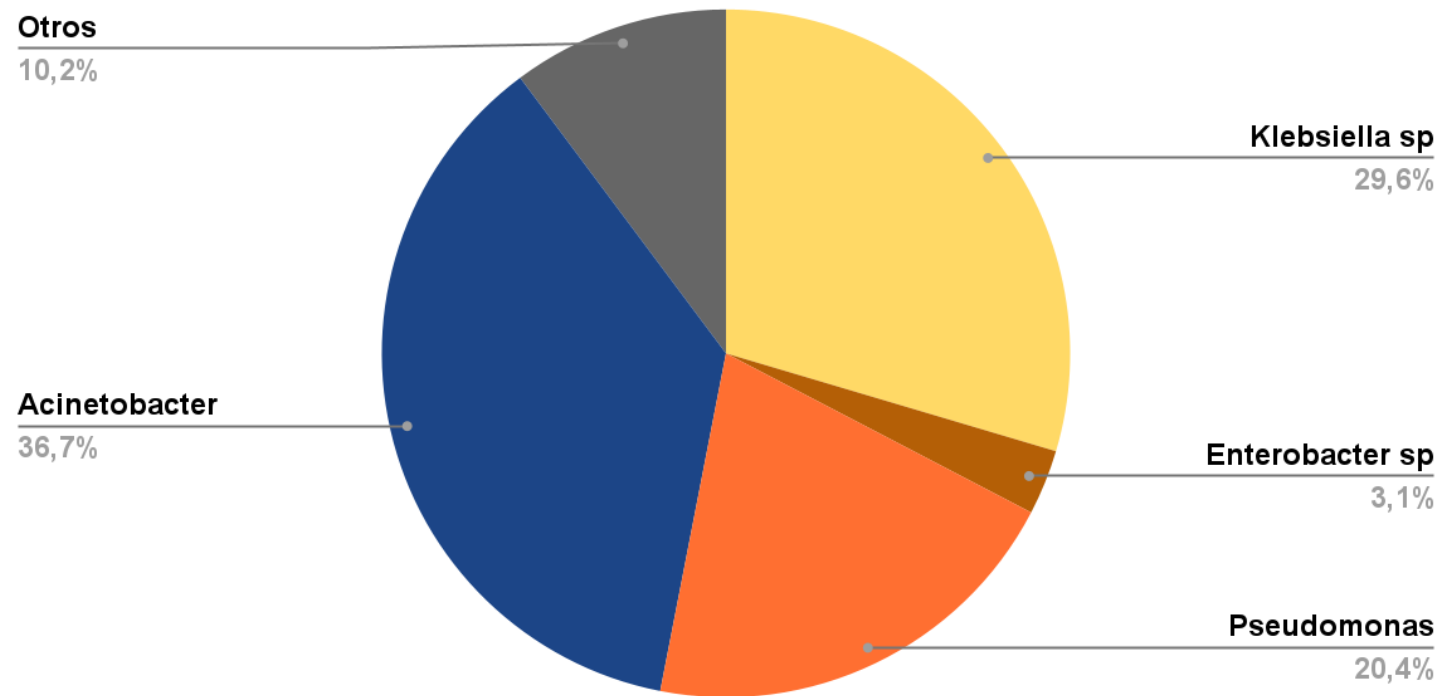


# Diseño metodológico

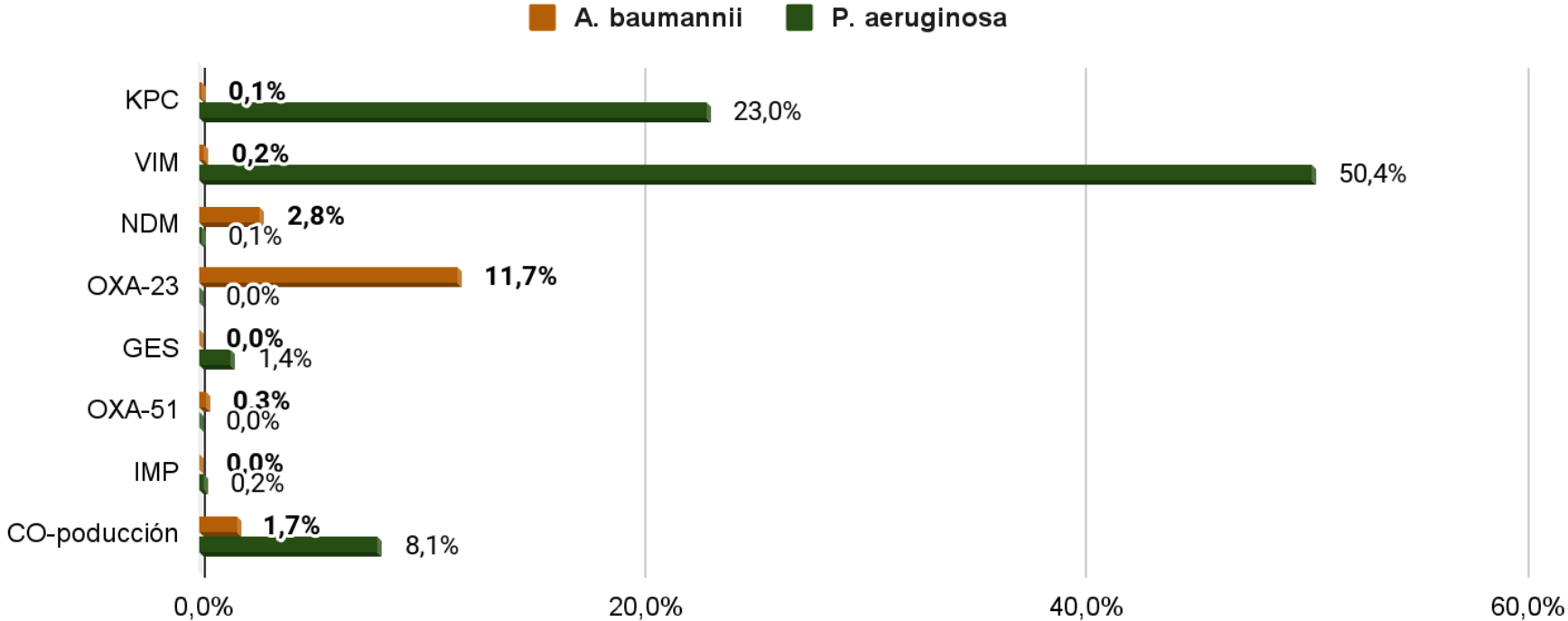


# Resultados de la búsqueda

## Porcentaje de bacilos Gram negativos multirresistentes asociados a infecciones nosocomiales



### Porcentaje de carbapanemasas expresadas por *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en Colombia durante el 2012 al 2018





**Tipos de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa***

VIM, KPC, GES y coproducción de KPC+VIM, KPC +GES, KPC+NDM, NDM+VIM, GES+VIM

**Tipos de carbapenemasas en *Acinetobacter baumannii***

OXA23/51, NDM, las coproducciones de NDM +OXA51, VIM +OXA23/51, KPC+NDM, NDM+OXA<sub>58</sub>, NDM+OXA<sub>23</sub>

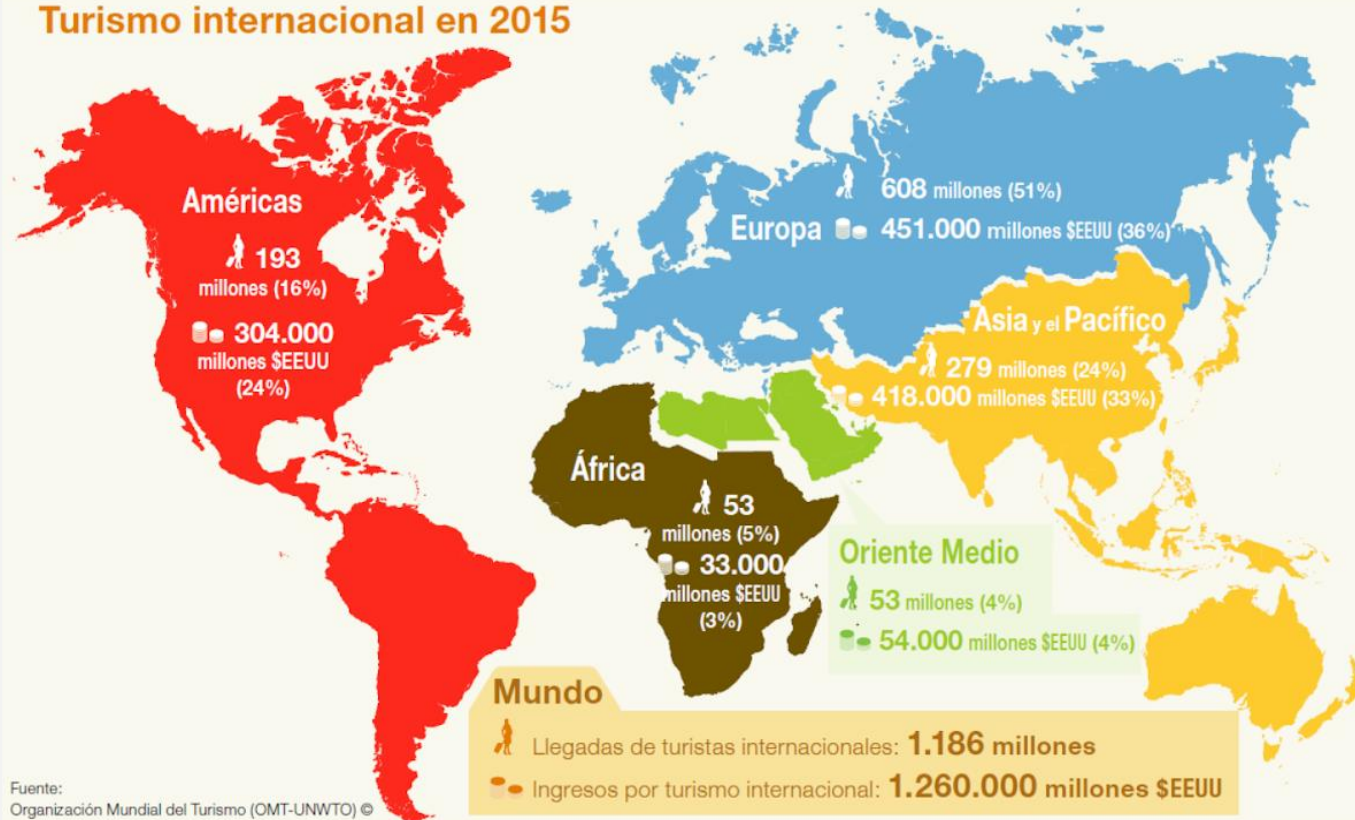


# Discusión



Cortesía de Méndez et al; 2021

## Turismo internacional en 2015



# Discusión

- La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* en Europa en el 2018 fue de:
  - fluoroquinolonas (20,3%)
  - piperacilina/tazobactam (18,3%)
  - carbapenémicos (17,4%)
  - ceftazidima (14,7%)
  - aminoglucósidos (13,2%).
- La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* en Colombia en el 2021 fue de:
  - fluoroquinolonas 33.3%,
  - piperacilina/tazobactam 35.6%,
  - carbapenémicos 67.6%
  - ceftazidime 29.1%,
  - aminoglucósidos 40%



# Discusión

---

- La resistencia de Acinetobacter en Colombia para el año 2021 fue de:
  - carbapenémicos 50%
- La resistencia de Acinetobacter en Alemania para el año 2021 fue de:
  - carbapenémicos 75%



Cortesía del Hospital clínico de Barcelona; 2021

# Conclusiones

- 1. Actualmente los bacilos Gram negativos no fermentadores más importantes en las infecciones nosocomiales son *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, los cuales cuentan con una gran capacidad para resistir a diversos antibióticos, debido a sus mecanismos de resistencia natural y adquirida.
- 2. Los genes que codifican betalactamasas cromosómicas tipo PDC le confieren a *Pseudomonas aeruginosa* resistencia principalmente a carbapenémicos, y junto con la adquisición de nuevos mecanismos dificulta alcanzar el éxito terapéutico.

# Conclusiones

- 3. La resistencia de los bacilos Gram negativos no fermentadores varía de acuerdo a la epidemiología de cada país. Se concluyó que la resistencia a carbapenémicos en Europa es más alta en *Acinetobacter baumannii* y en Colombia la resistencia a los carbapenémicos es más alta en *Pseudomonas aeruginosa*.
- 4. Tras la comparación de las diferentes técnicas aprobadas por el CLSI para la identificación por métodos fenotípicos de mecanismos de resistencia, se observó que los más usados son: el test de sinergismo con doble disco de ácido clavulánico, EDTA o ácido borónico y el carba NP que tiene gran sensibilidad para la detección principalmente de carbapenemasas, sin embargo, el CLSI recomienda como método de referencia la técnica de microdilución en caldo.



Gracias