

Caracterización de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes quemados

Rafael García González, Roberto Hernández Salinas, Teresa Sánchez Sánchez,
Pablo Mendoza Hernández, Facultad de Medicina, UNAM.

Resumen

El análisis bacteriológico de 392 muestras de exudados y 57 biopsias, provenientes de lesiones de pacientes quemados, evidenció a *Pseudomonas aeruginosa*, como el microorganismo más frecuentemente aislado, con aparición a partir del tercer día de la quemadura.

Las cepas se caracterizaron por su alta capacidad para invadir tejidos adyacentes, así como por su capacidad para elaborar exoenzimas con actividad proteolítica, siendo además multiresistentes a los antimicrobianos probados, salvo la amikacina, así como a iones de metales pesados de plata, en tanto que el 100% de las cepas fueron tolerantes al mercurio. Notándose además un predominio del tipo piocínico 1 y subtipo X de Govan.

Abstract

Bacteriological analysis of 392 exudate samples and of 57 biopsies taken from burned patients revealed *Pseudomonas aeruginosa* as the most frequently present microorganism, appearing on the 3rd day after burning had occurred.

The strains were characterized by their high capacity to invade adjacent tissues and by their ability to elaborate exoenzymes with proteolytic activity. They were also multiresistant to the antimicrobial compounds tested, except for amikacin, as well as to silver ions whereas 100% of the strains were tolerant to mercury. Pyocine type 1 and subtype X of Govan predominated.

Introducción

Aun cuando la gran mayoría de las quemaduras son de poca extensión y no requieren hospitalización, aquellas que abarcan una amplia superficie corporal y profundidad son consideradas lesiones catastróficas, debido al daño físico, psíquico y económico que generan en el paciente y, de manera indirecta, a la familia del mismo. Las causas de este tipo de lesiones son múltiples, habiéndose descrito una frecuencia del 75% por accidentes domésticos y 25% de tipo industrial¹.

El pronóstico de un paciente quemado es difícil de determinar con cierto grado de seguridad, ya que el índice de mortalidad se eleva con la severidad de la quemadura, la edad del paciente y las complicaciones que se presentan durante el curso del padecimiento en el 75% de los casos¹.

Generalmente, las quemaduras son estériles durante un tiempo relativamente corto, como ha sido descrito y se confirmó en el presente trabajo. Sin embargo, con el paso del tiempo las lesiones son colonizadas tanto por bacterias Gram negativas como positivas de origen endógeno y/o exógeno, las cuales más tarde invaden tejidos subyacentes¹⁻⁹. La explicación a este fenómeno, que complica el pronóstico, se encuentra en el excelente medio de cultivo que la propia lesión constituye para las bacterias¹. Una evidencia de esto se obtiene a través de la recuperación del o de los microorganismos por medio del cultivo de exudado o biopsias de las lesiones, este último procedimiento como medio para el análisis cuantitativo de bacterias¹⁶.

Entre los microorganismos frecuentemente involucrados en procesos infecciosos, en el paciente quemado, están las *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria con una

amplia distribución en la naturaleza y de considerable importancia clínica²⁰. Este organismo oportunista no sólo se encuentra como colonizador de sus lesiones, sino que, además, funge como agente infeccioso e invasor, llegando a causar septicemia y muerte a través de una serie de mecanismos de patogenicidad^{9 18 19}.

En el presente trabajo se estudiaron muestras clínicas (exudados y biopsias) de pacientes con quemaduras de distinto grado de profundidad a fin de caracterizar la flora bacteriana, con especial énfasis del microorganismo predominante. Los resultados señalan a *P. aeruginosa* como el organismo más frecuentemente aislado, con alta capacidad proteolítica y resistencia a agentes antimicrobianos de uso común, pertenecientes al tipo piocínico 1, subtipo X, obteniéndose en pacientes de una institución de referencia para quemados en la Cd. de México.

Material y métodos

Material biológico

Se estudiaron 392 muestras de exudado y 57 biopsias obtenidas de 135 pacientes con quemaduras de segundo y tercer grado, del Hospital Dr. Rubén Leñero de los Servicios Médicos del Departamento del Distrito Federal, México.

Cepas de referencia

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; ocho cepas indicadoras tipo y cinco subtipos piocínicos de *P. aeruginosa* de J.R.W. Govan, proporcionado por V.R. Dowell, Jr.

Medios

Aislamiento; Agar Chapman de Merck; agar Mac Conkey de Merck y agar base de sangre del Difco, complementada con el 5% de sangre desfibrinada de carnero⁴.

Identificación bioquímica: Base descarboxilasa de Moeller de BBL; base rojo de fenol de Merck; medio basal OF de BBL; caldo infusión cerebro-corazón de Bioxón; gelatina nutritiva de Merck; agar Kligler de Merck; medio de SIM de Merck; medio de Simmons-agar citrato de Merck. Agar nitratos de Difco¹³.

Identificación de otras actividades hidrolíticas: D-Nasa agar de BBL, agar soya tripticaseína de Bioxón complementado con Tween 80 al 1.0%, agar base sangre de Difco adicionada con yema de huevo solución isotónica, infusión cerebro corazón dializado-agar al 3%-leche descremada al 5% (DBHI-SMA)^{4 10}.

Producción de pigmento y fluorescencia: DBHI-SMA, Infusión cerebro-corazón-agar-leche descremada y agar *Pseudomonas* de Difco¹⁰.

Otros medios: Medio para conservación de cepas, Caldo Mueller Hinton de Merck, agar Mueller Hinton de Merck, caldo soya tripticasa de Merck, caldo Luria⁵.

Adiciones

a) Carbohidratos: D-glucosa, D-maltosa y D-xilosa de Merck a una concentración del 10% para el medio basal OF; d-trealosa y manitol de Merck a una concentración de 0.5% para la base rojo de fenol¹⁴.

b) L-aminoácidos de Sigma; L-lisina clorhidrato, L-arginina clorhidrato y L-ornitina clorhidrato para la base descarboxilasa de Moeller¹⁴.

c) Bases; timina de Merck para el medio Luria a una concentración final de 20 ug/ml⁵.

d) Tween 80 al 1.0% para determinar la presencia de lipasa; leche descremada al 5% para determinar la actividad hidrolítica sobre caseína¹⁰.

e) Antimicrobianos: Ampicilina de Wyeth Vales, sulfato de amikacina de Bristol, cefalotina de E. Lilly, carbenicilina de Pfizer, sulfato de estreptomina de Lakaside, sulfato de tobramicina de E. Lilly, polimixina de Zapata y Tetraciclina de C. Erba.

Soluciones

Azul de toluidina de Aldrich Chemical Co. al 0.01%, solución acuosa al 0.2% de rojo neutro de BBL para determinar actividad de lipasa, solución salina isotónica-yema de huevo para determinar actividad sobre lecitina⁴. Solución salina isotónica para realizar diluciones.

Amortiguadores

Solución amortiguadora de fosfato M/15 a pH. 7.0, empleado para la determinación de lipasa⁴.

Reactivos especiales

Cloruro de calcio al 0.25% para determinar fibrinolisis, cloroformo de J.T. Baker, empleada en la determinación de patrones piocínicos. Mac Farlan de 0.5%.

Otros

Plasma humano⁴, reactivos para tinción de Gram y tinción de flagelos¹³.

Método

Análisis bacteriológico

Se estudiaron 392 muestras de exudados, las cuales se obtuvieron con el empleo de hisopos estériles, transpor-

tados al laboratorio en tubos de ensaye, que contenían 1.0 ml de solución salina isotónica. Las muestras fueron sembradas en agar Mac Conckey, agar Chapman y agar sangre, incubadas a 35°C durante 18-24 horas y, con base en sus características coloniales y tintoriales, se procedió a la identificación bioquímica, tomando como parámetros el criterio sugerido por la American Society for Microbiology¹³. Paralelamente se realizaron 57 biopsias en el quirófano de la Institución hospitalaria, durante la debridación de las quemaduras. La zona a muestrear se lavó previamente con solución salina isotónica estéril y la toma se realizó bajo anestesia local. Posteriormente, las muestras fueron colocadas en condiciones asépticas, durante un período no mayor de una hora, hasta su procesamiento. El peso fluctuó entre 23 y 126 mg.

En el laboratorio, el procesamiento se realizó con un tratamiento inicial con etanol al 70% y sometiendo la muestra a la flama, posteriormente se colocaron en 0.2 ml de solución salina isotónica por cada 10 mg de peso de tejido obtenido, con el fin de realizar la homogenización del mismo y efectuar diluciones dobles seriadas, de las que se tomó un inóculo de 0.03 ml, que se sembró en agar sangre y se incubó a 35°C durante 24-48 horas¹⁶.

Con base en la fórmula de Loeb y colaboradores, se determinó el número de microorganismos por gramo de tejido (unidades formadoras de colonias/gramo)¹⁶.

La identificación bioquímica se efectuó de la misma manera, como se mencionó con anterioridad¹³.

Estandarización del inóculo

Con el objeto de trabajar con colonias perfectamente aisladas, se partió de un cultivo de 5 ml de caldo infusión cerebro corazón con la cepa a estudiar, incubándose toda la noche a 35°C. Posteriormente, se efectuaron diluciones seriadas usando solución salina isotónica, con el fin de lograr de 35 a 70 colonias en medio de infusión cerebro corazón dializado-agar al 3%-leche descremada al 5% (DBHI-SMA), con una incubación de 35°C durante 18 horas¹⁰.

Actividad hidrolítica

A partir de colonias aisladas, por el procedimiento anterior, se determinaron en 80 cepas, elegidas al azar, las siguientes características:

a) Capacidad para degradar ácido desoxiribonucleico, empleando D-Nase agar y como indicador, azul de toluidina⁴.

b) Coagulación del plasma⁴.

c) Capacidad para degradar el colágeno modificado, empleando gelatina nutritiva^{4 13 14}.

d) Capacidad para lisar eritrocitos de carnero⁴.

e) Determinación de lipasa. Empleando solución amortiguadora de fosfato M/15 a pH 7.0, Tween 80 y rojo neutro⁴. De manera paralela se efectuó la prueba en agar soya tripticasa, adicionando Tween al 1.0%

f) Producción de lecitinasa. Para esta determinación se usó yema de huevo y solución salina isotónica a partes iguales, complementada con agar sangre⁴; la incubación se efectuó a 22°C durante 72 horas para la gelatina y el resto a 35°C, durante 18-24 horas.

Determinación de sensibilidad a antimicrobianos

Esta se realizó con el total de cepas aisladas por el método de doble dilución seriada en placa de la siguiente manera: Las cepas a estudiar se cultivaron en 5 ml de caldo Mueller Hinton, incubándose durante toda la noche a 35°C. A partir de éste, y ajustándose con un Mac Farland de 0.5% se logró un inóculo de 10⁴ unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml), el cual fue sembrado con el empleo del replicador de Steers en placas de petri, que contenían agar Mueller Hinton con cada una de las diluciones dobles seriadas de los distintos agentes antimicrobianos, los que fueron preparados el día del estudio²¹.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue determinada, después de 18 horas de incubación a 35°C, en las placas sembradas y fue definida como la concentración más pequeña de antimicrobianos que no presenta desarrollo o solamente 4 colonias en el sitio de inoculación²¹.

La CMI requerida para inhibir el 50% y 90% de las muestras (CMI₅₀ y CMI₉₀) determinó el porcentaje de inhibición acumulativa a varias concentraciones de cada uno de los agentes antimicrobianos probados. El valor de corte en microorganismos por milímetro (ug/ml), para considerar a una cepa sensible o resistente, se estableció con base en los niveles promedios que alcanza el antimicrobiano en suero^{11 17}.

Determinación de patrones piocínicos

Estos fueron determinados únicamente en 67 de las 80 cepas de *P. aeruginosa*, que se sometieron a determinación de producción de exoenzimas en cultivos recientes de cada una de las cepas de *P. aeruginosa*, para lo cual se inocularon en 7 ml de caldo de soya tripticasa y se incubaron durante 14 horas a 32°C. Al cabo de este tiempo, el cultivo fue vertido en cajas de petri estériles y expuestos a luz ultravioleta (lámpara Mineralight modelo R-51)

durante 55 segundos y vuelto a reincubar por 24 horas a la misma temperatura; pasado este tiempo, se adicionó 0.3 ml de cloroformo. El contenido se sometió a agitación durante 10 segundos, seguido de centrifugación a 1,500 rpm durante 15 minutos. Finalmente, se eliminó el cloroformo y el sobrenadante se recolectó para su uso inmediato. Las cepas indicadoras se cultivaron en 3 ml de caldo Luria y se incubaron a 32°C durante 3 horas. La inoculación de los extractos piocínicos se realizó en agar nutritivo, empleando el replicador de Steers y dejando secar a temperatura ambiente.

Más tarde, las cepas indicadoras se sembraron por estría cerrada y se incubaron durante 15 horas a 32°C. Los resultados se interpretaron de acuerdo con Govan y col.⁶.

Determinación de tolerancia a iones de metales pesados

La tolerancia a iones de metales pesados, mercurio y plata, se determinó en todas las cepas aisladas por el método de doble dilución seriada en agar Mueller Hinton, usando el inóculo de 10⁴ UFC y el replicador de Steers, como se mencionó con anterioridad²¹.

Resultados

Análisis bacteriológico, Caracterización bacteriológica de muestras de exudados

En las 392 muestras estudiadas se identificaron bacterias pertenecientes a tres familias, Micrococaceae, Pseudomonadaceae y Enterobacteriaceae.

Los géneros que predominaron fueron en orden decreciente *Staphylococcus* y *Pseudomonas*. La identificación bioquímica permitió determinar a *P. aeruginosa* como la especie más frecuentemente aislada (29%), en segundo lugar a *S. aureus* y *S. epidermidis* (22% cada una) y con frecuencia menor al 7% para los distintos miembros de la familia enterobacteriaceae.

Caracterización bacteriológica de biopsias

De las 57 biopsias (peso promedio de 50 mg), 32 de ellas, que representaron el 56% fueron positivas y 25 (43%) resultaron negativas al estudio bacteriológico. Tomando como base los resultados descritos por Martínez y colaboradores¹⁶, consideramos a más de 10⁴ UFC/g de tejido estudiado como muestra significativa de la presencia de bacterias con capacidad invasora, siendo *P. aeruginosa* el microorganismo más frecuentemente identificado (53.5%) y en segundo lugar *S. aureus* (21.5%).

Secuencia de colonización de quemaduras de segundo y tercer grado

El análisis de los resultados anteriores nos permitió determinar la presencia de bacterias a partir del segundo día posquemadura (*Staphylococcus*) y es a partir del tercer día en que se nota la aparición de enterobacterias y *Pseudomonas*.

Caracterización de *Pseudomonas aeruginosa*. El 100% de las cepas de *P. aeruginosa* fueron productoras de pigmento y fluorescencia. Sus colonias mostraron tres tipos morfológicos: lisas, semirrugosas y rugosas. De un total de 165 cepas aisladas, se eligieron al azar 80 de ellas, las cuales fueron sometidas a distintos sustratos para poder visualizar actividad hidrolítica, los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que el 95% presentaba actividad proteolítica sobre caseína, el 69.2% sobre fibrina y el 65% sobre colágeno. El 81.3% presentó actividad hemolítica, en tanto que la acción sobre lecitina alcanzó el 51.3% y fueron menores al 50% en actividad; lipasa y coagulasa (cuadro 1).

Cuadro 1

Pseudomonas aeruginosa, producción de exoenzimas extracelulares

Exoenzimas	Productoras, total	Porcentaje
Proteasa*	76/80	(95.0)
Hemolisina	65/80	(81.3)
ADNasa	53/80	(66.3)
Colagenasa	52/80	(65.0)
Lecitinasa	41/80	(51.3)
Lipasa	38/80	(47.5)
Coagulasa	4/80	(5.0)
Fibrinolisisina	27/39	(69.2)

* Caseína

Sensibilidad a agentes antimicrobianos

El total de *P. aeruginosa* aislados fue sometido a sensibilidad a antimicrobianos.

El porcentaje acumulativo de la concentración mínima inhibitoria, como se observa en el Cuadro II, muestra para polimixina CMI₅₀, 1.0 ug/ml; CMI₇₅, 2.0 ug/ml y CMI₉₀, 8.0 ug/ml. Para el sulfato de amikacina: CMI₅₀, 2.0 ug/ml; CMI₇₅ menor a 8 ug/ml y CMI₉₀, 16 ug/ml. Para sulfato de tobramicina; CMI₅₀, 8.0 ug/ml; CMI₇₅, menor de 32 ug/ml y CMI₉₀ menor de 64 ug/ml. Para tetraciclina se encontró un CMI₅₀ menor de 32 ug/ml y CMI₉₀ igual a 64 ug/ml. Para sulfato de gentamicina, el

CMI₅₀ se logró con 32 ug/ml y el CMI₉₀ con 128 ug/ml. En el caso de cefalotina, CMI₅₀ se obtuvo con 64 ug/ml y CMI₉₀ con menor de 256 ug/ml. Para carbenicilina disódica, el CMI₅₀ fue menor de 128 ug/ml, en tanto que el CMI₉₀ para cloranfenicol fue de 256 ug/ml y el CMI₅₀ para ampicilina fue de 256 ug/ml (cuadro II).

de 94.25 ug/ml; para el mercurio, fue de 0.90 a 500 ug/ml, la CMI₅₀ fue de 125 ug/ml y CMI₉₀ de 275 ug/ml.

Patrones piocínicos

El 91% de las cepas de *P. aeruginosa* son productoras de piocinas, con 17 patrones diferentes de los 105 tipos

Cuadro II

Actividad de agentes antimicrobianos sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes quemados

	Porcentaje acumulativo de concentración mínima inhibitoria (ug/ml).												
	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16	32	64	128	256	256
Polimixina		21	29	57	75	79	97		98		100		
Sulfato de amikacina	2	12		16	50	52	82	92	96	100			
Sulfato de tobramicina	15	28		34	44	45	53	66	82	97	98	100	
Tetraciclina		1	2	10	14	19	36	40	66	89	97	100	
Sulfato de gentamicina		9		13	18	30	33	37	52	81	89	96	100
Cefalotina				16	18	19	27	32	43	55	76	98	100
Carbenicilina disódica					3		19		25	41	63	99	100
Cloranfenicol								1		6	28	93	100
Sulfato de estreptomina							2	5	10	22	30	56	100
Ampicilina							1					50	100

Total de cepas estudiadas 165.

Con base en los valores de corte, se determinó que el 92% de las cepas fueron sensibles a amikacina, 63% a carbenicilina, 45% a tobramicina, 30% a gentamicina, 27% a cefalotina, 22% a estreptomina, 19% a tetraciclina, 1% a ampicilina; todas las cepas fueron resistentes al cloranfenicol (cuadro II).

Marcadores de resistencia

En el cuadro III se pueden observar los patrones de resistencia constituidos con mayor frecuencia, habiéndose formado 8 grupos más frecuentes, con 9 a 2 marcadores de resistencia. De éstos el más frecuente fue el grupo III, con 7 marcadores, del cual 10 cepas presentaron el patrón Ap Ce Cm Gm Sm Tc To. En segundo lugar, el grupo VII con 3 marcadores, de los cuales el más frecuentemente identificado fue Ap Cm Tc (siete cepas) y en tercer lugar, el grupo II con doce cepas y 8 marcadores de resistencia, Ap Ca Ce Cm Gm Sm Tc To. El resto de las cepas presentó patrones de resistencia con menos frecuencia y variables.

Tolerancia a iones de metales pesados

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: para la plata, el margen fue de 7.81 a 125 ug/ml, con una CMI₉₀

Cuadro III

Pseudomonas aeruginosa. Patrones de resistencia a agentes antimicrobianos, más frecuentemente identificados

Grupo	Marcadores	Patrón de resistencia	Número de Cepas
I	9	Ap Amik Ca Ce Cm Sm Tc To	5
II	8	Ap Ca Ce Cm Gm Sm Tc To	12
III	7	Ap Ce Cm Gm Sm Tc To	10
		Ap Ca Cm Gm Sm Tc To	8
		Ap Amik Ce Cm Gm Sm Tc	2
IV	6	Ap Cm Gm Sm Tc To	8
		Ap Ce Cm Gm Sm Tc	3
		Ap Ca Cm Gm Sm To	2
V	5	Ap Cm Gm Sm Tc	4
VI	4	Ap Cm Gm Tc	7
		Ap Cm Gm Tc	2
VII	3	Ap Cm Tc	7
		Ap Cm Sm	6
		Ap Ge Cm	3
		Ap Ce Cm	2
VIII	2	Ap Cm	2

Ap: Ampicilina. Amik: amikacina. Ca: Carbenicilina. Ce: Cefalotina. Cm: cloranfenicol. Gm: gentamicina. Sm: estreptomina. Tc: tetraciclina. To: tobramicina.

Total de cepas estudiadas: 165.

descritos por Govan y col.⁶ Únicamente 6 cepas no pudieron tipificarse con el empleo de la metodología usada. Los tres tipos más frecuente son el I (42%), el 10 (9%) y el 6 (6%) (cuadro IV). Se logró, además, identificar 10 subtipos, de éstos el más frecuente es el X (40%), le sigue el F (9%) y H (9%), en tercer lugar el K (6%); el 19% de las cepas no pudieron clasificarse por esta metodología (cuadro V).

Cuadro IV

Tipos de piocinas producidas por *Pseudomonas aeruginosa*

Tipos de piocina	Núm.	%
I	28	42
10	6	9
6	4	6
4	3	4
40	3	4
105	3	4
2	2	3
5	2	3
58	2	3
13	1	2
18	1	2
37	1	2
41	1	2
44	1	2
53	1	2
59	1	2
63	1	2
Cepas no tipificables	6	9
Tota del cepas estudiadas	67.0	

Cuadro V

Subtipos de piocinas producidas por cepas *Pseudomonas aeruginosa*

Subtipos de piocinas	Núm.	%
X	25	40
F	6	9
H	6	9
K	4	6
C	2	3
D	2	3
J	2	3
V	2	3
R	1	2
Z	1	2
Cepas no tipificables	12	19

Total de cepas estudiadas 63.

Discusión

Es indudable que la integridad de la piel constituye una barrera en contra de la penetración de organismos potencialmente patógenos, protección que desaparece en el paciente quemado. En éste, no sólo se presenta una alteración de gran impacto visual, sino que, además, se generan cambios fisiológicos, locales y generales, de importancia para el manejo y sobrevivencia del quemado¹.

Independientemente de la naturaleza de la quemadura, estas lesiones son invariablemente contaminadas¹, hecho que fue puesto de manifiesto en el presente trabajo; desde el segundo día, el paciente fue colonizado por miembros del género *Staphylococcus*, y, a partir del tercer día, se encuentran bacilos Gram negativos; *Pseudomonas* y enterobacterias.

Ha sido referido en la literatura¹ que el predominio de *P. aeruginosa*, entre las bacterias Gram negativas, ha ido declinando con el tiempo, sin embargo, en las 392 muestras procesadas, la más alta frecuencia correspondió a esta bacteria (29%), en tanto que para los miembros de la familia enterobacteriaceae fue del 26%. Este ligero predominio de *P. aeruginosa* sobre las demás bacterias Gram negativas no es significativo, hablando de familias; sin embargo, en la bacteriología del paciente quemado, del Hospital Dr. Rubén Leñero, se observa un predominio de *P. aeruginosa* sobre otros Gram negativos, específicamente sobre cada una de las especies de enterobacterias identificadas. Este fenómeno se vuelve a poner de manifiesto, con mayor intensidad, al analizar los resultados de las biopsias, notando la capacidad invasora de *P. aeruginosa*, descrita por diferentes autores^{2, 8}, la cual se ve favorecida por la alteración inmunológica local y transitoria que se encuentra en el quemado¹, además, por el excelente medio en que se constituye la lesión para el desarrollo del microorganismo¹.

Aunado a lo antes referido, es bien conocido el hecho de que la actividad proteolítica constituye uno de los mecanismos de patogenicidad de *P. aeruginosa*, la cual se encuentra involucrado en la invasividad del tejido quemado^{9, 18}. El análisis de las cepas provenientes de pacientes quemados, del Hospital Dr. Rubén Leñero, manifestó un alto porcentaje de positividad para esta actividad (95% para caseinasa, 60% para fibrinolisisina y 65% para colagenasa). Por otro lado, el resto de las exoenzimas estudiadas y demostradas nos hablan del potencial enzimático referido por otros autores^{8, 18}.

P. aeruginosa, por lo anteriormente expuesto, se encuentra capacitada para generar daño en el paciente quemado, lo cual además se ve favorecido por las condiciones del paciente. Por otro lado, la permanencia de esta bacteria por largos períodos de tiempo, como se demostró en el presente trabajo al realizar un seguimiento del paciente a través del muestreo bacteriológico, se encuentra favorecida por la aparición de variantes resistentes a distintos agentes antimicrobianos, encontrando cepas portadoras de más de 8 marcadores de resistencia a los antimicrobianos probados. Podemos asegurar, por los resultados obtenidos, que únicamente la Amikacina es el antibiótico de elección para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa*; sin embargo (trabajo no publicado), el porcentaje de resistencia a este antimicrobiano se incrementa con el tiempo. Lo cual pone de relieve la multiresistencia de *P. aeruginosa*, constantemente referida y, por otro lado, el cambio de marcadores de resistencia a antimicrobianos en cuanto a lugar y tiempo. Sin embargo, podemos decir que los marcadores de resistencia, encon-

trados durante nuestro estudio, caracterizan a *P. aeruginosa*, aisladas de pacientes quemados de este hospital, las que además, se caracterizan por ser 100% sensibles a la plata y tolerantes en la misma proporción al mercurio. Hecho que podría explicarse con base en la exposición o no de las cepas a los iones de los metales pesados estudiados, que en el caso del mercurio permitió la selección de variantes tolerantes^{7 15}. Podemos concluir que las cepas de *P. aeruginosa* estudiadas fueron altamente productoras de proteasas, cuyo efecto se conocía por su repercusión en diferentes sistemas^{2 8 9 18}. Además, salvo por su sensibilidad a la amikacina, son resistentes al resto de los antimicrobianos probados, con diferentes patrones de resistencia, siendo esta propiedad y el marcador a la ampicilina el más constante, así como la tolerancia al mercurio. El tipo piocínico I y el subtipo X de Govan y col. fueron los más frecuentes, a semejanza con lo que ocurre en otros países⁶. Con base en estos resultados es difícil asegurar un origen único de todas las cepas estudiadas.

Referencias

1. Artz, A.P., Moncrief J.A. and Pruitt B.A. Eds. Burns. A team approach. Philadelphia W.B. Saunders Co. 45-49, 107-119, 1979.
2. Bejarano, P.A., Langeveld, J.P.M., Hudson, B.G. and Noelken, M.E. Degradation of basement membranes by *Pseudomonas aeruginosa* elastase. *Infect. Immun.* 57 (12): 3783-3787, 1989.
3. Falkiner, F.R. and Keane, C.T. Epidemiological information from active and positive pyocine typing of *Pseudomonas aeruginosa* J. *Med. Microbiol.* 10: 447-459, 1977.
4. Finegold, S.M. and Baron, E.J. (Eds). Bailey and Scott's. Diagnostic Microbiology. 7th edition St. Louis. The C.V. Mosby Co. 86-125, 314-328, 1986.
5. García, G.R., Taylor, M.L. y Alfaro M.G. Estudio bacteriológico del agua de consumo de una comunidad mexicana. *Bol. Sanit. Panam.* 93 (2): 127-141, 1982.
6. Govan, J.R.W. Pyocin typing of *Pseudomonas aeruginosa*. Eds. Bergan T. and Morris J.R. *Methods in Microbiology*. Vol. 10. London. Academic Press. 1978.
7. Harnett, M.N. and Gyles, L.C. Resistance to drugs and heavy metal, colicine production and biochemical characteristics of selected bovine and porcine strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 (5): 930-935, 1984.
8. Heck, L.W., Morihara, K., McRae, W.B. and Miller, E.J. Specific cleavage of human type III and IV collagens by *Pseudomonas aeruginosa* elastase. *Infect. Immun.* 51: (1): 115-118, 1986.
9. Holder, I.A. and Neely, A.N. *Pseudomonas* elastase acts as a virulence factor in burned hosts by Hagerman factor dependent activation of the host kinin cascade. *Infect. Immun.* 57 (11): 3345-3348, 1989.
10. Janda, J.M., Sheehan, D.J. and Bottone, E.J. Recovery of *Pseudomonas aeruginosa* colonial dissociants on a protease detection medium. *J. Clin. Microbiol.* 15 (1): 178-180, 1982.
11. Jones, R.N. Standards and advisory activities. *Antimicrob. Newsletter*. 3: 81-86, 1986.
12. Krieg, N.R. and Holt, J.G. (Eds). *Bergey's Manual of systematic bacteriology*. Baltimore. Williams and Wilkins. Vol. 1. 140-214, 1984.
13. Lennette, E.H., Balow, E., Hausler, Jr. W.L. and Shadomy, H.L. (Eds). *Manual of clinical microbiology*. 4th. edition. Washington D.C. American Society for Microbiology. pp. 350-372, 1985.
14. Mac Faddin J.F. *Biochemical test for indication of medical bacteria*. Baltimore. The Williams and Wilkins Co. 1-310, 1976.
15. Márquez, M.A., Congregado, F. and Simon, P.M.D. Antibiotic and heavy metal resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from soils. *J. Appl. Bacteriol.* 47: 347-350, 1979.
16. Martínez, O., Malinin, T. and Ward, G.O. The use of a radiometric technique for the rapid detection of contaminated tissue specimens from burned patients. *Brief Scientific Reports*. 74(3): 319-323, 1980.
17. Molina, L.J., Vega, C.M.A. y García G.R. Estado actual de la resistencia a antimicrobianos en un hospital pediátrico. *Investigación Médica Internacional* 16 (2): 98-103, 1989.
18. Nicas, T.I. and Iglewski, B.H. The contribution of exoproducts to virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Can. J. Microbiol.* 31: 387-392, 1985.
19. Ramphal, R. and Pier, G.B. Role of *Pseudomonas aeruginosa* mucoid exopolysaccharide in adherence to tracheal cells. *Infect. Immun.* 47 (1): 1-4, 1985.
20. Star, M.P., Stolp H., Traper H.G., Balows, A. and Schlegel, H.G. (Eds). *The prokaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. Berlin, Heidelberg, New York. Springer Verlag. 1: 653-700, 1981.
21. Vega, C.M.A., Gómez, R.M.L. y García R.R. Sensibilidad de cepas bacterianas de origen intrahospitalario. *Rev. Mex Patol. Clin.* 36: 71-74, 1989.