



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

CARACTERIZACION DE CEPAS DE *Escherichia coli* RESISTENTES A CIPROFLOXACINO AISLADAS EN EL HOSPITAL CIVIL DE GUADALAJARA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

VERONICA ELIZABETH ZAVALA ZENDEJAS



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES FACULTAD DE QUIMICA

2005

m. 343210



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Profa. Rosa María Ramírez Gama
Vocal	Profa. María Del Carmen Cortés Decuir
Secretario	Dra. Celia Mercedes Alpuche Aranda
1er. Suplente	Prof. Luciano Hernández Gómez
2º. Suplente	Profa. María Del Carmen Urzua Hernández

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Infectología y Microbiología Clínica de la Unidad de Medicina Experimental de la Facultad de Medicina de la UNAM.



Dra. Celia Mercedes Alpuche Aranda  
ASESOR



Dra. María Dolores Alcántar Curiel  
SUPERVISOR TÉCNICO



Verónica Elizabeth Zavala Zendejas  
SUSTENTANTE

ÍNDICE GENERAL

	Página
ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. <i>Escherichia coli</i> .....	5
1.2. Antibióticos.....	7
1.2.1. Quinolonas.....	9
1.3. Mecanismos de Resistencia Bacteriana a Fluoroquinolonas.....	13
1.4. <i>Escherichia coli</i> Resistentes a Quinolonas.....	15
1.5. Epidemiología Molecular.....	16
1.5.1. Sistemas de Tipificación de Cepas.....	18
1.5.1.1. Métodos Fenotípicos.....	18
1.5.1.1.1. Serotipificación.....	18
1.5.1.1.2. Susceptibilidad a Antibióticos.....	18
1.5.1.1.3. Tipificación de Fagos.....	19
1.5.1.1.4. Biotipificación.....	19
1.5.1.2. Métodos Genotípicos.....	19
1.5.1.2.1. Huella Digital Plasmídica.....	19
1.5.1.2.2. Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE).....	19
1.5.1.2.3. Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD).....	20
1.5.1.2.4. Análisis de Polimorfismos de Longitud en Fragmentos de Restricción (RFLP).....	20
1.5.1.2.5. Ribotipificación.....	21
1.5.1.2.6. Polimorfismo en la Longitud de Fragmentos Amplificados (AFLP).....	21
2. JUSTIFICACIÓN.....	22
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivo General.....	23
3.2. Objetivos Particulares.....	23
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	24
4.1. Cepas Bacterianas.....	24
4.2. Identificación de Género y Especie.....	24
4.3. Patrón de Susceptibilidad a Antibióticos por el Método de Kirby-Bauer.....	25
4.4. Etest.....	25
4.5. Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE).....	26
4.6. Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD).....	27
4.6.1. RAPD1.....	27
4.6.2. RAPD2.....	28
4.6.3. RAPD3.....	29
4.7. Aislamiento de ADN Plasmídico por Lisis Alcalina.....	30
5. RESULTADOS.....	32
5.1. Aislamientos de <i>Escherichia coli</i> en el HCG.....	32
5.2. Aislamientos de <i>Escherichia coli</i> Resistentes a Ciprofloxacino Recibidos del HCG.....	33

5.3. Caracterización de Huella Digital Genómica por Electroforesis por Campos Pulsados (PFGE).....	36
5.4. Caracterización de Huella Digital Genómica por Electroforesis por Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD).....	44
5.4.1. RAPD1.....	44
5.4.2. RAPD2.....	50
5.4.3. RAPD3.....	55
5.5. Perfil de Plásmidos.....	61
5.6. Análisis de Cepas por Clona.....	67
5.6.1. Clona 2.....	67
5.6.2. Clona 10.....	70
5.6.3. Clona 21.....	73
5.6.4. Clona 27.....	74
5.6.5. Clona 30.....	77
5.6.6. Clona 32.....	78
5.6.7. Clona 35.....	79
5.6.8. Clona 36.....	80
5.6.9. Clona 37.....	81
5.6.10. Clona 53.....	82
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	83
6.1. Resistencia a las Cuatro Fluoroquinolonas Probadas.....	83
6.2. <i>Escherichia coli</i> Multi Resistente a Antibióticos (MAR o MDR).....	83
6.3. Técnicas de Diferenciación Clonal.....	83
6.4. Prevalencia Clonal.....	84
7. CONCLUSIONES.....	86
APÉNDICE I Soluciones y Reactivos.....	87
APÉNDICE II Datos Generales de las 105 Cepas Analizadas.....	91
APÉNDICE III Susceptibilidad de las 105 Cepas Analizadas a los 18 Diferentes Antibióticos Probados.....	95
APÉNDICE IV Datos Generales de las Cepas Agrupadas en las 8 Clonas con Mayor Frecuencia.....	102
APÉNDICE V Susceptibilidad de las Cepas Agrupadas en las 8 Clonas con Mayor Frecuencia a los 18 Antibióticos Empleados.....	107
REFERENCIAS.....	118

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura Base de las Quinolonas.....	10
Figura 2. Compuestos Pertenecientes a la 1ª Generación de Quinolonas.....	10
Figura 3. 2ª Generación de Quinolonas (Fluoroquinolonas).....	11
Figura 4. Compuestos Obtenidos en la 3ª Generación de Quinolonas.....	12
Figuras 5, 6, 7 y 8. Patrones Diferentes Obtenidos por PFGE para Las 86 cepas.....	37
Figuras 9, 10 y 11. Huella Digital Genómica para las 23 cepas incluidas en la denominada Clona 2.....	38
Figura 12. 9 Cepas de la Denominada Clona 10 por PFGE.....	39
Figura 13. PFGE de 3 Cepas Pertenecientes a la Clona 21.....	39
Figura 14. 7 Cepas de la Clona 27 por PFGE.....	40
Figura 15. Clona 30 por PFGE.....	40
Figura 16. Perfil por PFGE de 2 Cepas de la Clona 32.....	41
Figura 17. Huella Digital Genómica por PFGE de la Clona 35.....	41
Figura 18. PFGE de 3 Cepas de la Clona 36.....	42
Figura 19. 2 Cepas de la Clona 53 por PFGE.....	42
Figura 20. Huella Digital Genómica de Clona 1 y 3 Cepas de Clona 2 por RAPD1.....	45
Figura 21. 13 Cepas de la Clona 2 por RAPD1.....	45
Figura 22. Últimas 7 Cepas de la Clona 2 por RAPD1.....	45
Figura 23. Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 por RAPD1.....	46
Figura 24. 7 Cepas de Clona 10 y Clonas 11, 12, 13 y 14 por RAPD1.....	46
Figura 25. RAPD1 de Clonas 15, 16, 17, 18, 19 y 20.....	46
Figura 26. 3 Cepas de Clona 21 y Clonas 22, 23 y 24 por RAPD1.....	47
Figura 27. Huella Digital Genómica por RAPD1 de las Clonas 25, 26, 27 y 28.....	47
Figura 28. RAPD1 de Clonas 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36 y 37.....	47
Figura 29. 2 Cepas de la Clona 32 por RAPD1.....	48
Figura 30. Huella Digital Genómica por RAPD1 de las Clonas 38 a 51.....	48
Figura 31. Clonas 52 a 59 por RAPD1.....	48
Figura 32. Huella Digital Genómica de Clona 1 y 3 Cepas de Clona 2 por RAPD2.....	50
Figura 33. 13 Cepas de la Clona 2 por RAPD2.....	50
Figura 34. Últimas 7 Cepas de la Clona 2 por RAPD2.....	50
Figura 35. Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 por RAPD2.....	51
Figura 36. 7 Cepas de Clona 10 y Clonas 11, 12, 13 y 14 por RAPD2.....	51
Figura 37. RAPD2 de Clonas 15, 16, 17, 18, 19 y 20.....	51
Figura 38. 3 Cepas de Clona 21 y Clonas 22, 23 y 24 por RAPD2.....	52
Figura 39. Huella Digital Genómica por RAPD2 de las Clonas 25, 26, 27 y 28.....	52
Figura 40. RAPD2 de Clonas 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36 y 37.....	52
Figura 41. 2 Cepas de la Clona 32 por RAPD2.....	53
Figura 42. Huella Digital Genómica por RAPD2 de las Clonas 38 a 51.....	53
Figura 43. Clonas 52 a 59 por RAPD2.....	53
Figura 44. Huella Digital Genómica de Clona 1 y 3 Cepas de Clona 2 por RAPD3.....	55

Figura 45. 13 Cepas de la Clona 2 por RAPD3.....	55
Figura 46. Últimas 7 Cepas de la Clona 2 por RAPD3.....	55
Figura 47. Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 por RAPD3.....	56
Figura 48. 7 Cepas de Clona 10 y Clonas 11, 12, 13 y 14 por RAPD3.....	56
Figura 49. RAPD3 de Clonas 15, 16, 17, 18, 19 y 20.....	56
Figura 50. 3 Cepas de Clona 21 y Clonas 22, 23 y 24 por RAPD3.....	57
Figura 51. Huella Digital Genómica por RAPD3 de las Clonas 25, 26, 27 y 28:.....	57
Figura 52. RAPD3 de Clonas 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36 y 37.....	57
Figura 53. 2 Cepas de la Clona 32 por RAPD3.....	58
Figura 54. Huella Digital Genómica por RAPD3 de las Clonas 38 a 51.....	58
Figura 55. Clonas 52 a 59 por RAPD3.....	58
Figura 56. Plásmidos de la Clona 1 y las Cepas de la Clona 2.....	62
Figura 57. Perfil Plasmídico de las Clonas 3 a 10.....	63
Figura 58. Huella Digital Plasmídica de las Clonas 10 a 13.....	63
Figura 59. Plásmidos contenidos en las Clonas 15 a 21.....	63
Figura 60. Gel Mostrando los Plásmidos de las Clonas 22 a 24.....	64
Figura 61. Patrón de Plásmidos de la Clonas 25 y 26.....	64
Figura 62. Plásmidos Aislados de las 7 Cepas de la Clona 27.....	64
Figura 63. Plásmidos de las Clonas 28 y 29.....	64
Figura 64. Perfil Plasmídico de las Clonas 30, 31 y 32.....	65
Figura 65. Huella Digital Plasmídica de las Clonas 33 a 39.....	65
Figura 66. Plásmidos Contenidos en las Clonas 40 a 44.....	65
Figura 67. Plásmidos de las Clonas 45 a 50.....	66
Figura 68. Patrón de Plásmidos de las Clonas 51 a 59.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Perfil Bioquímico de <i>Escherichia coli</i> .....	6
Tabla 2. Grupos de Antibióticos.....	7
Tabla 3. Pruebas Bioquímicas Empleadas.....	24
Tabla 4. Condiciones de Reacción de RAPD1.....	27
Tabla 5. Condiciones de Amplificación de RADP1.....	28
Tabla 6. Condiciones de Reacción de RAPD2.....	28
Tabla 7. Condiciones de Amplificación de RADP2.....	29
Tabla 8. Condiciones de Reacción de RAPD3.....	29
Tabla 9. Condiciones de Amplificación de RADP3.....	30
Tabla 10. Susceptibilidad a los 18 Antibióticos Probados en las 105 Cepas de <i>Escherichia coli</i> Resistentes a Ciprofloxacino del Hospital Civil de Guadalajara.....	36
Tabla 11. Cepas con el Mismo Patrón de Restricción con <i>Xba</i> I Resuelto por Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE).....	43
Tabla 12. Cepas con el Mismo Perfil de RAPD1.....	49
Tabla 13. Cepas que Compartieron el Perfil Obtenido por RAPD2.....	54
Tabla 14. Cepas con el Mismo Patrón Obtenido por RAPD3.....	58
Tabla 15. Cepas Agrupadas en Cada Clona Mediante la Genotipificación por RAPD y PFGE.....	60
Tabla 16. Capacidad para Tipificar de Cada Metodología Empleada.....	61
Tabla 17. Cepas de la Clona 2 Aisladas por Mes de Estudio.....	67
Tabla 18. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 2.....	70
Tabla 19. Cepas de la Clona 10 Aisladas por Mes de Estudio.....	71
Tabla 20. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 10.....	73
Tabla 21. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 21.....	74
Tabla 22. Cepas de la Clona 27 Aisladas por Mes de Estudio.....	74
Tabla 23. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 27.....	76
Tabla 24. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 30.....	77
Tabla 25. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 32.....	78
Tabla 26. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 35.....	79
Tabla 27. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 36.....	80
Tabla 28. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 37.....	81
Tabla 29. Resistencia de las Cepas Agrupadas en la Clona 53.....	82

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Número de Aislamientos en el Hospital Civil de Guadalajara de <i>Escherichia coli</i> Totales y Resistentes a Ciprofloxacino por mes de Estudio.....	32
Gráfica 2. Servicio Hospitalario de Origen de las 105 Cepas de <i>Escherichia coli</i> Resistentes a Ciprofloxacino recibidas del Hospital Civil de Guadalajara incluidas en el estudio.....	33
Gráfica 3. Muestras de las que Fueron Aisladas las 105 Cepas Incluidas en el Estudio.....	34
Gráfica 4. Tipo de Infección Causada por las 105 <i>Escherichia coli</i> Resistentes a Ciprofloxacino.....	35
Gráfica 5. Servicio Hospitalario de Origen de las Cepas de la Clona 2.....	68
Gráfica 6. Origen de la Muestra de las Cepas de la Clona 2.....	68
Gráfica 7. Tipo de Infección Causada por las Cepas de la Clona 2.....	69
Gráfica 8. Servicio Hospitalario de Origen de las Cepas de la Clona 10.....	71
Gráfica 9. Origen de la Muestra de las Cepas de la Clona 10.....	72
Gráfica 10. Servicio Hospitalario de Origen de las Cepas de la Clona 27.....	75
Gráfica 11. Origen de la muestra de las Cepas de la Clona 27.....	75
Gráfica 12. Tipo de Infección Causada por las Cepas de la Clona 27.....	76

**ABREVIATURAS**

ADN	Ácido Desoxiribonucleico
AFLP	Polimorfismo en la Longitud de Fragmentos Amplificados
AMK	Amikacina
AMP	Ampicilina
ATCC	Colección Americana de Cultivos Tipo
ATM	Aztreonam
BHI	Infusión cerebro corazón
Brij 58	Polioxietileno 20 cetil éter
CAZ	Ceftazidima
CIP	Ciprofloxacino
CIP <sup>R</sup>	Resistente a Ciprofloxacino
CTX	Cefotaxima
CXM	Cefuroxima
dNTP	2'-Desoxinucleosido trifosfato
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ESP	Solución amortiguadora con EDTA, SDS y proteinasa K
FDA	Administración de Alimentos y Fármacos
FEP	Cefepima
FQ's	Fluoroquinolonas
GAT	Gatifloxacino
GEN	Gentamicina
HCG	Hospital Civil de Guadalajara
IMP	Imipenem
LB	Luria-Bertani
LPS	Lipopolisacárido
LVX	Levofloxacino

MAR	Multiresistente a antibióticos
MDR	Multiresistente a fármacos
MIC	Concentración Mínima Inhibitoria
NCCLS	Comité Nacional de Estándares para el Laboratorio Clínico
OFX	Ofloxacino
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PFGE	Electroforesis en geles por Campos Pulsados
PIV	Solución amortiguadora con Tris y NaCl
RAPD	Amplificación Aleatoria de ADN
RFLP	Análisis de Polimorfismos de Longitud en Fragmentos de Restricción
SDS	Dodecil sulfato de sodio
STR	Estreptomina
SXT	Trimetoprim-sulfametoxazol
TBE	Solución amortiguadora con Tris, boratos y EDTA
TE	Solución amortiguadora con Tris y EDTA
TET	Tetraciclina
TIM	Tricarilina-ácido clavulánico
TOB	Tobramicina
UV	Ultravioleta

## RESUMEN

Las fluoroquinolonas (FQ's) son agentes antimicrobianos de espectro extendido, que han sido ampliamente utilizados desde su introducción tanto a nivel clínico como veterinario, lo que ha resultado en el desarrollo actual de resistencia. Los mecanismos que median la resistencia a quinolonas incluyen alteraciones en el sitio blanco que son, la ADN Girasa y Topoisomerasa IV, modificaciones en sistemas de bombas de flujo que tienen por efecto la disminución intracelular de la cantidad de antibiótico o bien en porinas. Actualmente se ha reportado que la resistencia a quinolonas también puede estar mediada por genes acarreados en un plásmido pGM225.

La resistencia a este tipo de agentes ha aumentando de manera marcada en los últimos años. En México la resistencia a FQ's en bacterias Gram negativas particularmente *Escherichia coli* se ha incrementado hasta un 30-40%. Aunque en un principio el problema de resistencia a fluoroquinolonas se observó únicamente en infecciones adquiridas en los hospitales, recientemente se ha observado un aumento considerable de cepas resistentes a estos antibióticos en la comunidad. Aún con éstos antecedentes, es escasa la información sobre la epidemiología y bases moleculares de la resistencia a FQ's de estas bacterias.

La interacción entre la microbiología clínica, la biología molecular y la epidemiología aplicada, permite estudiar con precisión el fenómeno de la resistencia bacteriana a los antibióticos, los mecanismos de transmisión y las fuentes de las infecciones, que actualmente son un problema importante de salud en todo el mundo.

En este trabajo se analizaron 105 cepas, identificadas como *Escherichia coli* resistentes a Ciprofloxacino (CIP<sup>R</sup>) aisladas de infecciones nosocomiales (IN) y de la comunidad (IC) del Hospital Civil de Guadalajara (HCG) en un periodo de 28 meses, octubre 2001 a abril de 2004. Al total de cepas se les determinó el perfil de susceptibilidad a 18 antibióticos incluyendo: FQ's, aminoglucósidos y  $\beta$ -lactámicos, entre otros, utilizando el método de difusión con disco de Kirby-Bauer. Se obtuvo la clonalidad por Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE) y Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD). Se realizó el aislamiento de ADN Plasmídico por la técnica de lisis alcalina.

Durante el periodo de estudio, 2087 cepas de *Escherichia coli* fueron aisladas en el HCG, de las cuales 957 (45.9%) fueron resistentes a Ciprofloxacino. Se seleccionaron las cepas aisladas de infecciones definidas y se descartaron todos los casos de aislamientos de colonizantes, solo 105 de estas cepas estuvieron disponibles para este análisis. El 56.2% de las cepas causaron infecciones nosocomiales (59/105), 40.0% comunitarias (42/105). De las 105 cepas el 51% fue obtenida de urocultivos, seguido de secreciones de herida quirúrgica en un 15.1% y hemocultivos 3.8%. Todas las demás fuentes de aislamiento estuvieron por debajo del 3%. Hay un discreto incremento de aislamiento de cepas FQ's resistentes en las áreas de atención a pacientes adultos con respecto a las pediátricas. Las cepas causantes de infecciones comunitarias fueron aisladas principalmente de orina (27/42), aunque fueron aisladas también de otros orígenes como semen, pus y expectoración (1/42), líquido biliar (2/42), líquido peritoneal (3/42) y otras secreciones (7/42), mientras que aquellas cepas causando infecciones nosocomiales fueron

aisladas de orina (26/59), otras secreciones (10/59), de herida quirúrgica (9/59), de sangre (4/59), así como de líquido biliar, catéter y úlcera sacra (2/59) y líquido ascítico, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural y expectoración (1/58). Como era de esperarse, el principal servicio hospitalario de origen de las cepas causantes de infecciones comunitarias fue el de consulta externa (16/42), las cepas aisladas de infecciones nosocomiales provinieron principalmente del servicio de Infectología Adultos (10/59), seguida de Cirugía General (8/59), Gastroenterología (6/59) y Unidad de Cuidados Intensivos (5/59). Las 105 cepas CIP<sup>R</sup> en estudio fueron resistentes a otras fluoroquinolonas, como Gatifloxacino, Levofloxacino y Ofloxacino. Un 16.2% de resistencia a Amikacina (17/105), 25.7% a Cefepime (27/105), 51.4% a Gentamicina y Aztreonam (54/105), 61.9% a Tobramicina (65/105), 57.1% a Cefotaxime y Ceftazidime (60/105), 79.0% a Tricarclina-ácido clavulánico (83/105), 87.6% a Trimetoprim-sulfametoxazol y Estreptomina (92/105), 95.2% a Ampicilina (100/105), 96.2% a Tetraciclina (101/105) y el 91.4% de las cepas fue resistente a Cefuroxime (96/105). Todas fueron sensibles a Imipenem. La determinación de huella digital genómica realizada por PFGE y RAPD demuestra gran variabilidad clonal entre todas las cepas dando un total de 59 diferentes clones, de las cuales, únicamente 8 tuvieron más de una cepa incluidas en ellas, siendo la denominada Clona 2 la que mayor número de cepas presentó (23 cepas en total). En esta clona fueron identificadas 7 cepas causantes de infecciones comunitarias, 15 de infecciones nosocomiales y 1 no determinada, siendo inicialmente aislada como causante de infección nosocomial de líquido ascítico. 8 de las cepas agrupadas en esta clona fueron causantes de infecciones en vías urinarias. Esto nos puede indicar que posiblemente esta clona se encuentra ampliamente distribuida en la comunidad y que gracias a esto pudo persistir a lo largo de todo el estudio en el Hospital Civil de Guadalajara.

Existe resistencia cruzada de las 105 *Escherichia coli* resistentes a Ciprofloxacino analizadas a otras tres FQ's incluyendo aquellas conocidas como más estables a fluoroquinolonas más nuevas. El 57% de estas cepas son también resistentes a Cefalosporinas de espectro extendido, Tetraciclinas y Aminoglicósidos, lo cual nos permite concluir que más de la mitad de estas cepas cumplen los criterios de multiresistencia. La prevalencia de las *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> seleccionadas para este estudio provienen en su mayoría de infecciones en vías urinarias y de origen nosocomial. Existió una buena correlación para definición de clones entre la técnica de PFGE y RAPD. La técnica de PFGE mostró tener mayor poder de discriminación que la Amplificación Aleatoria de ADN, sin embargo la capacidad de tipificación resultó ser mayor en esta última técnica, ya que 19 de las 105 cepas no pudieron ser analizadas por Electroforesis en Gel por Campos Pulsados debido a la degradación persistente del ADN y si fue posible analizarlas por RAPD. La determinación de 59 diferentes clones nos permite definir que el incremento de estas *Escherichia coli* resistentes a FQ's no se debe a diseminación clonal cruzada sino parece ser un problema de infecciones endógenas. La clona 2 parece estar presente ampliamente en la comunidad. El análisis de plásmidos de algunas de estas clones demuestra de 1 a 19 diferentes plásmidos y todas ellas comparten uno de aproximadamente 54Kb. Se muestra claramente que el problema de resistencia a este grupo de antibióticos ya no es exclusivo de los hospitales, sino también de la comunidad, en la cual va aumentando cada vez más la cantidad de cepas resistentes.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los bacilos Gram negativos pertenecientes al género *Enterobacteriaceae* son de las bacterias recuperadas más frecuentemente de muestras clínicas. Los pacientes inmunocomprometidos o debilitados son altamente susceptibles a las infecciones adquiridas en los hospitales, después de la colonización con cepas ambientales o a continuación de procedimientos invasivos, como cateterización, broncoscopia, colposcopia o biopsias quirúrgicas, en las cuales las membranas mucosas se traumatizan y se cortan.

*Escherichia coli* es de las especies bacterianas que se recupera con mucha frecuencia en los laboratorios clínicos y ha sido encontrada en enfermedades infecciosas que involucran todos los tejidos humanos y sistemas de órganos. *Escherichia coli* es una de las bacterias más comunes involucrada en sepsis producida por bacterias Gram negativas y en choque séptico inducido por endotoxinas. Las infecciones del tracto urinario y de las heridas, la neumonía en pacientes hospitalizados inmunosuprimidos y la meningitis en los neonatos son otras formas comunes de infección causada por *Escherichia coli*.

#### 1.1. *Escherichia coli*

El género *Escherichia* está constituido por bacilos Gram negativos, no esporulados, principalmente móviles, aunque hay cepas que no presentan movilidad, anaerobios facultativos, crecen en medios sintéticos con glicerol o glucosa. Fermentan una gran variedad de carbohidratos produciendo ácido y gas. En medios de cultivo sólidos, las colonias son circulares, lisas, de bordes continuos, algunas cepas producen colonias mucoides. En medios con sangre, se detecta la producción de una  $\beta$ -hemolisina, probablemente relacionada con la patogenicidad de la bacteria (62).

La bacteria ahora conocida como *Escherichia coli*, fue descrita por primera vez por el pediatra alemán Theodor Escherich, quien la denominó *Bacterium coli commune*. (1, 28, 62)

En un principio se aisló de heces normales y se consideró a este microorganismo como no patógeno; sin embargo, el mismo Escherich señaló que se encontraba fuertemente en la orina de mujeres jóvenes que padecían infección del tracto urinario, antecedente que permitió considerar a esta bacteria como un importante patógeno oportunista, capaz de causar infecciones cuando se encuentra fuera de su hábitat.

Actualmente, se sabe que *Escherichia coli* se encuentra distribuido ampliamente en el ambiente: en plantas, suelo, agua e intestino humano y animal. (1, 6, 12)

La membrana externa de *Escherichia coli* está constituida por proteínas, lípidos y lipopolisacárido. Algunas de estas proteínas forman poros, que le sirven a la

bacteria para intercambiar sustancias a través de la pared celular; otras intervienen en procesos de captación de hierro o en la adherencia bacteriana. (1, 12, 28, 40)

Su pared celular está formada por un lipopolisacárido (LPS), que es un importante mediador de la virulencia del microorganismo. Serológicamente el LPS es conocido como antígeno O y farmacológicamente como endotoxina. Algunas cepas de este microorganismo son capsuladas y presentan una envoltura constituida por un polisacárido extracelular, denominados antígenos K. *Escherichia coli* tiene la capacidad de moverse gracias a sus flagelos, dando lugar a la existencia del antígeno flagelar H. (28, 48, 62)

Su perfil bioquímico es el siguiente (62):

**Tabla 1. Perfil bioquímico de *Escherichia coli***

Lactosa	Glucosa	Gas	H <sub>2</sub> S	Rojo de metilo	Voges Proskauer	Indol	Citrato	Ureasa	Motilidad	Lisina Descarboxilasa	Ornitina Descarboxilasa	Reducción de NO <sub>3</sub>
95%	100%	95%	1%	99%	0%	98%	1%	1%	95%	90%	65%	100%

*Escherichia coli* puede adquirir algunos factores de virulencia, gracias a los cuales pasa de ser flora normal a patógeno. Entre los factores de virulencia se encuentra el factor de colonización, el cual le confiere la propiedad de adherencia a la mucosa con el pili, la habilidad de invadir células del epitelio intestinal, producción de exotoxinas, entre las cuales se encuentran las lábiles al calor y la toxina shiga-like y las exotoxinas, como una porción del LPS denominado lípido A. (28)

La adquisición del factor de virulencia de pili permite a *Escherichia coli* subir a la uretra e infectar la vejiga o hasta el riñón, dando lugar a infecciones en el tracto urinario. Este tipo de infecciones es más común en mujeres y pacientes hospitalizados cateterizados en la uretra. (28, 62)

*Escherichia coli* es el segundo agente causal más importante de meningitis en neonatos, siendo el primer lugar para *Streptococcus* del grupo B en Estados Unidos. (1, 28, 62)

La principal causa de septicemia por bacterias Gram negativas la ocupa también *Escherichia coli* y ocurre principalmente en pacientes hospitalizados y diabéticos. El lípido A del LPS es la causa del choque séptico y la principal causa de muerte por este tipo de infecciones. (1, 28, 48)

Según estadísticas realizadas en los Estados Unidos de América, *Escherichia coli* es el principal agente causal de infecciones en vías urinarias, siendo el

agente causal de aproximadamente el 50% de éstas infecciones en nosocomios y el 90% en infecciones comunitarias (62); el cuarto en infección de heridas quirúrgicas, el quinto agente causante de neumonía y el cuarto agente causante de septicemia, pero en general, ocupa el primer lugar como agente causal de todas las infecciones intrahospitalarias. (26, 28, 62)

## 1.2. ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos son agentes naturales, producidos por el metabolismo de algunos microorganismos, o bien sintéticos, con la propiedad de eliminar o inhibir el desarrollo de microorganismos. (1)

El tratamiento con agentes antimicrobianos ha jugado un papel importante en el tratamiento de infecciones en humanos durante el Siglo XX. Desde el descubrimiento de las penicilinas, se han desarrollado una gran cantidad de antibióticos, que hoy en día pueden ser utilizados clínicamente.

**Tabla 2. Grupos de Antibióticos**

TIPO DE ANTIBIÓTICO	FAMILIA	EJEMPLOS	ESPECTRO DE ACTIVIDAD	MECANISMO DE ACCIÓN
β - LACTÁMICOS	Penicilinas	Penicilina G o Bencilpenicilina y Penicilina V, Metilcilina, Oxacilina y Cloxacilina	Principalmente a bacterias Gram positivas no productoras de β-lactamasas y algunas bacterias Gram negativas no fastidiosas. (1, 28, 85)	Penetran la pared celular, a través de las porinas e ingresan a la membrana citoplásmica, donde se encuentran las transpeptidasas, (enzimas necesarias para la unión transversal de dos cadenas de peptidoglicana, compuesto formado por disacáridos y aminoácidos, necesarios para la síntesis de la pared celular), uniéndose competitivamente por el anillo β-lactámico a esta enzima, inhibiéndola. La pared celular sigue sintetizándose, pero al ya no existir enlaces transversales
	Aminopenicilinas	Ampicilina, Ciclacilina y Amoxicilina	Son compuestos que tienen una mayor acción en contra de las bacterias Gram negativas, debido a que tienen una mayor penetración en las membranas. (1, 62, 85)	
	Cefalosporinas	1ª Generación: Cefalotina, Cefapirina, Cefradina, Cefalexina, Cefazolina, Cefadroxil. 2ª Generación:	Cada una de estas generaciones diferentes espectros de actividad contra bacterias Gram positivas que para Gram negativas,	

β - LACTÁMICOS		Cefamandol, Cefaclor, Cefuroxima, Cefoxitina, Cefotetan. 3ª Generación: Ceftriaxona, Ceftazidima, Cefotaxima, Ceftizoxima, Ceftibuten. 4ª Generación: Cefepima, Cefipiroma.	siendo los compuestos de la 2ª, 3ª y 4ª generación mas eficientes contra las bacterias Gram negativas (28, 85)	entre los peptidoglicanos, se debilita su estructura, y debido al complejo transpeptidasa-antibiótico, se estimula la liberación de enzimas autolíticas, que degradan la pared celular existente, dando lugar a la muerte de la bacteria. (1, 5, 62, 85)
	Carbapenems	Imipenem y el Meropenem	Tienen actividad contra bacterias Gram positivas, Gram negativas y anaerobias (28, 40, 85)	
	Monobactámicos	El único antibiótico monobactámico aprobado para uso clínico por la FDA, el Aztreonam	Actividad contra todas las bacterias Gram negativas aeróbicas(1, 28, 85)	
ANTIBIÓTICOS ANTI-RIBOSOMALES	Cloramfenicol	Cloramfenicol	Bacterias Gram positivas, Gram negativas y anaerobias	Inhibe la síntesis de proteínas, uniéndose irreversiblemente a la subunidad 50s de los ribosomas y previniendo el proceso de transpeptidación de péptidos en la elongación de la cadena (28, 40, 62)
	Aminoglicósidos	Estreptomicina, Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, Neomicina y Netilmicina	Son utilizados principalmente para tratar infecciones causadas por bacilos Gram negativos y anaerobios, aunque también tienen actividad contra <i>Staphylococcus aureus</i>	Inhiben la síntesis de proteínas actuando sobre la subunidad 30s de los ribosomas, uniéndose irreversiblemente a ésta, lo que hace que la traducción del ARNm no se lleve a cabo, dando lugar a la muerte celular. Los aminoglicósidos causan también una mala lectura del

ANTIBIÓTICOS ANTI-RIBOSOMALES				código genético, lo que da lugar a la producción de proteínas sin sentido (28, 40, 85)
	Tetracilinas	Tetracilina	Bacterias Gram positivas y Gram negativas	Se unen irreversiblemente a la subunidad 30s de los ribosomas, inhibiendo la síntesis de proteínas (28, 29, 40, 85)
INHIBIDORES DE LA VÍA DEL FOLATO		Sulfametoxazol	Algunos organismos Gram positivos y Gram negativos	Tiene estructura similar al PABA, lo que da lugar a una competencia por su sitio activo (dihidrofolato reductasa) y la inhibición de la síntesis del TH4, lo que previene la síntesis del ADN bacteriano (28, 48, 85)

### 1.2.1. QUINOLONAS

Las quinolonas pertenecen a un grupo de antibióticos potentes que se encuentran bioquímicamente relacionados con el ácido nalidíxico, usado inicialmente como antiséptico de vías urinarias. Debido al poco uso clínico de este compuesto y sus dos análogos existentes (ácido oxolínico y cinoxacina), la resistencia bacteriana a estas moléculas se esparció rápidamente. (1, 29)

Las quinolonas tienen una estructura aromática bicíclica (Figura 1) que puede contener un Carbono en la posición 8, dando lugar a una verdadera quinolona, o un Nitrógeno, que da lugar a una naftiridona. Ambas estructuras, sin embargo, tienen actividad de agentes antimicrobianos como quinolonas. Para tener dicha actividad, se requiere la presencia del anillo piridona (Figura 1), un ácido carboxílico en la posición 3, una cetona en el carbono 4 y un sustituyente R en el nitrógeno de la posición 1. (33, 91)

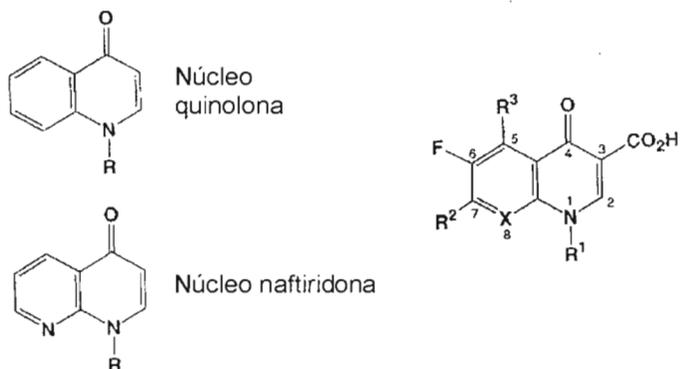


Figura 1. Estructura base de las Quinolonas

La primer quinolona con actividad antibacteriana fue descubierta a principio de la década de 1960. Este agente fue el ácido nalidíxico (Figura 2), que es un agente con actividad moderada contra bacterias Gram negativas. En 1963 fue introducido este agente en los Estados Unidos. (91)

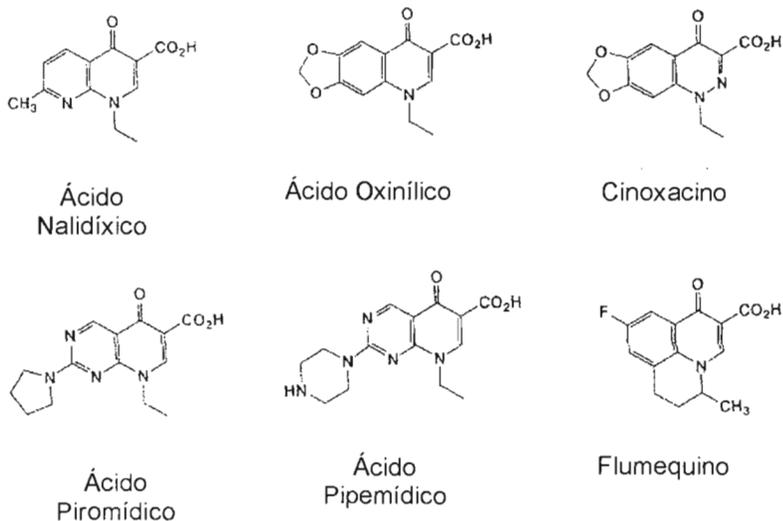
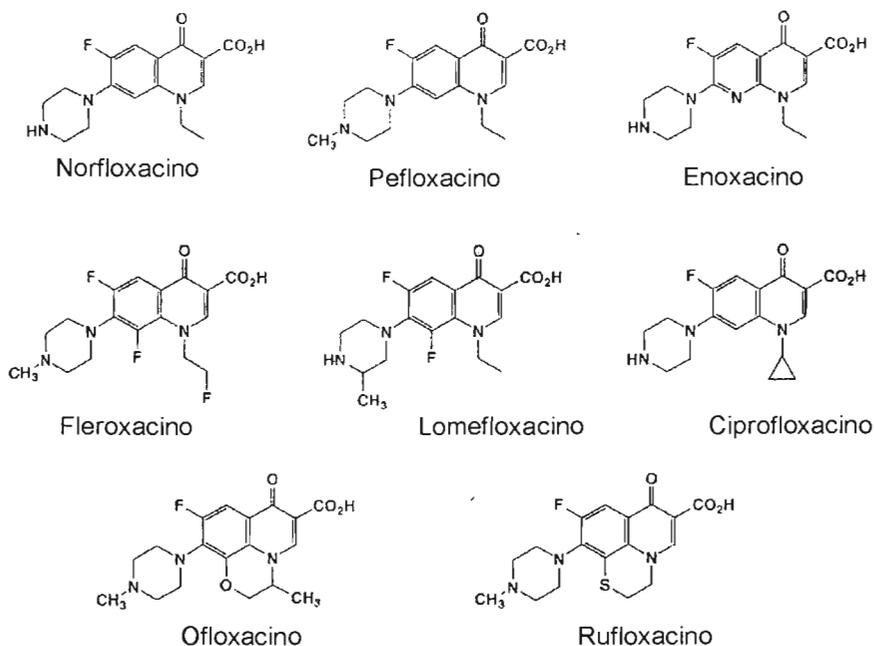


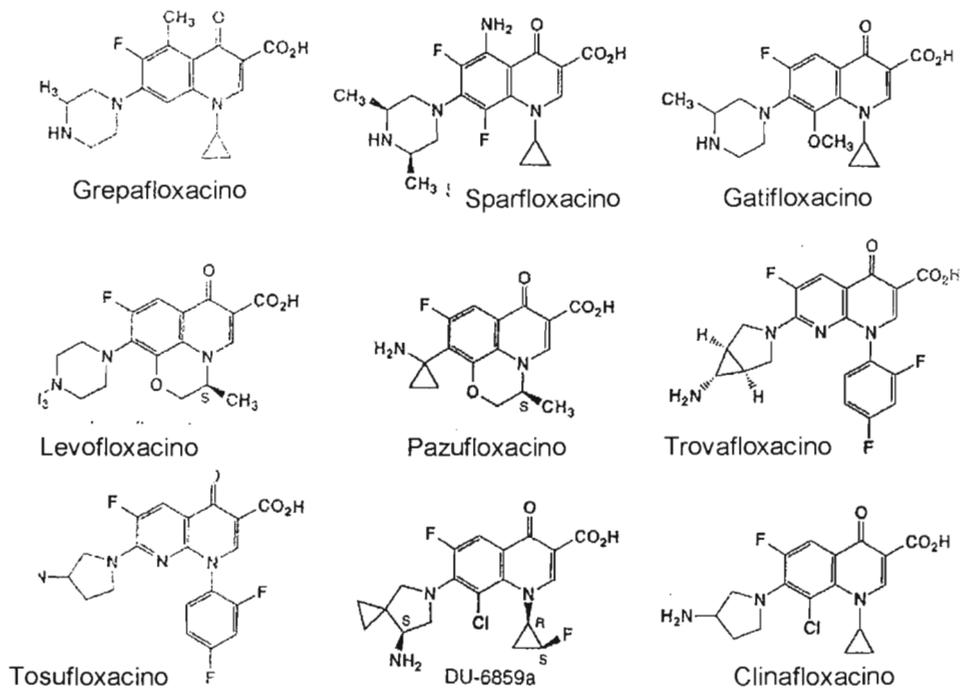
Figura 2. Compuestos Pertencientes a la 1ª Generación de Quinolonas

La primera generación de quinolonas se desarrolla a lo largo de la década de 1960 y 1970 debido a la temprana experimentación con el compuesto original (ácido nalidíxico). (Figura 2) (31, 82, 91)



**Figura 3. 2ª Generación de Quinolonas (Fluoroquinolonas)**

En 1980 se obtuvo un mayor avance en el campo de las quinolonas cuando se desarrolló el Norfloxacin, que tiene actividad contra algunos microorganismos Gram positivos y una acción mejorada contra bacterias Gram negativas. El Norfloxacin fue el primer compuesto de las llamadas fluoroquinolonas por el Flúor colocado en la posición 6 del anillo base. (Figura 3) Estudios posteriores demostraron que la inserción de este átomo sirvió para aumentar la actividad contra su enzima blanco (ADN Girasa) y facilitar la penetración a la célula bacteriana. Algunas modificaciones a la estructura del Norfloxacin dieron lugar a los compuestos pertenecientes a la segunda generación de quinolonas. Estos compuestos se caracterizan por tener una buena o excelente actividad contra bacterias Gram negativas (siendo el Ciprofloxacin el de mayor espectro contra este grupo de microorganismos) y con actividad moderada contra *Staphylococcus aureus*. (12, 28, 29, 33, 41, 82, 91)



**Figura 4. Compuestos Obtenidos en la 3ª Generación de Quinolonas**

Los compuestos pertenecientes a la tercera generación de quinolonas (Figura 4) se caracterizan por el aumento de complejidad estructural, que les ha dado características útiles como actividad contra cocos Gram positivos (principalmente *S. pneumoniae*), bacterias anaerobias y microorganismos patógenos atípicos y en algunos casos, ha mejorado su farmacocinética. (22, 71, 72, 80, 82, 91)

Este grupo de compuestos incluye una gran cantidad de agentes cuya función principal es la inhibición de la actividad de la ADN Girasa, un tipo de ADN Topoisomerasa II, enzima necesaria para la replicación, recombinación y reparo del ADN. (3, 13, 88) Las nuevas fluoroquinolonas son capaces de inhibir la ADN Topoisomerasa IV. El blanco principal de las fluoroquinolonas es la subunidad A de la ADN Girasa de las bacterias Gram negativas, mientras que en bacterias Gram positivas, es la subunidad C de la Topoisomerasa IV. (15, 18, 19) La inhibición de estas enzimas da lugar a la relajación del ADN superenrollado,

dando lugar a la terminación de la replicación cromosomal e interferencia con la división celular y expresión de genes. Por esta razón, las fluoroquinolonas son antibióticos bactericidas; sin embargo, esta actividad se ve afectada por pH bajo, orina y cationes divalentes. (18, 19, 33, 47, 73, 91)

Las fluoroquinolonas son un grupo de antibióticos relativamente nuevos, que llegan a niveles plasmáticos elevados (60 a 95%) mediante la absorción oral, llegando a su concentración máxima después de 1 o 2 horas de la administración, siendo el intestino el principal órgano de absorción. La presencia de alimento no afecta significativamente la absorción de estos fármacos, pero al administrarse en conjunto con multivitámicos conteniendo fierro o zinc, o antiácidos con aluminio, magnesio o calcio, reduce significativamente la absorción gastrointestinal. Las fluoroquinolonas penetran muy bien en diferentes tejidos, como pulmones, testículos, músculo y pared intestinal. Estos compuestos pueden introducirse con concentraciones elevadas en macrófagos, fagocitos y neutrófilos, lo que les confiere una buena actividad contra patógenos intracelulares. (66, 90)

Son excretadas principalmente por riñón, aunque también pueden eliminarse en poca cantidad por la bilis. Algunas fluoroquinolonas se metabolizan primero en hígado, para ser eliminadas posteriormente. (33, 85, 91)

Estos antibióticos tienen algunos efectos adversos, entre los que están: irritabilidad del tracto gastrointestinal (náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal), dolor de cabeza, cansancio, insomnio, mareo y agitación, siendo estos últimos menos frecuentes. Se han reportado casos de reacciones alérgicas, en los que se manifiesta urticaria y prurito generalizado. (33, 91)

La introducción de fluoroquinolonas en los 80's fue de gran importancia debido a su amplio espectro, en especial fue usado para tratar infecciones producidas por bacterias Gram negativas, como infecciones en vías urinarias, tracto gastrointestinal, tracto respiratorio, huesos, piel y tejidos blandos y en infecciones de transmisión sexual. (25, 28, 33, 91)

### **1.3. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA A FLUOROQUINOLONAS**

La introducción de agentes antimicrobianos clínicamente efectivos ha sido acompañada por la emergencia rápida de cepas de bacterias resistentes, pertenecientes a especies que normalmente serían consideradas sensibles. La adquisición de resistencia ha reducido de manera seria el valor terapéutico de muchos antibióticos, pero de igual manera estimula a la industria farmacéutica a encontrar agentes antimicrobianos nuevos y más efectivos. (7, 10)

Cuando consideramos el problema creciente de bacterias resistentes a agentes antimicrobianos, es necesario recordar que no se trata de un fenómeno nuevo ni

inesperado cuando se sabe que se usan ampliamente agentes de gran potencia antibacteriana. (46)

Las primeras observaciones sistemáticas de resistencia adquirida a fármacos, fueron hechas por Paul Ehrlich entre 1902 y 1909 mientras trabajaba con compuestos azólicos, arsénicos orgánicos y derivados del trifenilmetano. Aunque la quimioterapia antibacteriana realmente empezó con la introducción de sulfonamidas en 1935 y penicilina en 1941, en pocos años, microorganismos descritos inicialmente como susceptibles a dichos agentes, se encontró que habían adquirido resistencia. (1, 62)

Una causa importante de aparición de bacterias resistentes es el uso indiscriminado de antibióticos para el tratamiento de las infecciones, tanto dentro como fuera de los hospitales. El esparcimiento de patógenos resistentes se ha atribuido a la transmisión de paciente a paciente o presumiblemente por trabajadores de los centros de salud. (4)

Aunque la resistencia a antibióticos es un problema predominantemente nosocomial, las bacterias resistentes se encuentran también esparcidas en toda la comunidad, lo que actualmente es de gran importancia debido a que cada vez es más complicado encontrar tratamientos efectivos o sintetizar nuevos antibióticos.

Otra fuente importante de esparcimiento y surgimiento de bacterias resistentes a antibióticos, son nichos no humanos en los cuales los antibióticos son usados en exceso. Un ejemplo es el uso de estos agentes en animales para consumo humano, ya que se puede adquirir resistencia de bacterias que contaminan los alimentos o que infectan humanos. La aparición de cepas de *Escherichia coli* resistentes a ciprofloxacino está asociada al uso de fluoroquinolonas en aves de corral (38, 97).

Por el uso excesivo de las fluoroquinolonas, tanto a nivel veterinario como humano, se han expandido rápidamente organismos resistentes. (38, 70, 77) La resistencia a estos antibióticos se asocia principalmente a la mutación puntual en los genes estructurales para una de las subunidades de la ADN Girasa (GyrA) o la Topoisomerasa IV (ParC), que son los blancos de acción de las quinolonas y son esenciales para la replicación del ADN bacteriano (57, 63, 73, 91, 96, 101, 102) ; sin embargo, Oethinger y colaboradores demostraron que estas mutaciones no producen resistencia por sí solas (67), por lo que mutaciones en genes regulatorios encargados de la permeabilidad de estos compuestos por la membrana externa (como los genes *acrR*, *marA* y *soxS* entre otros) son también necesarios (2, 36, 43, 51, 52, 55, 68, 83, 92), originando sobre expresión de las bombas de flujo dependientes de energía que pueden eliminar fármacos de la pared celular (como la bomba AcrAB) (7, 17, 27, 30, 49, 64, 67, 74, 78, 89, 100), o bien, inhiben la expresión de proteínas que forman parte de porinas de la membrana externa (como *OmpF*). (17, 33, 91)

Se ha reportado resistencia a fluoroquinolonas mediada por un plásmido (pMG252), aunque solamente ha sido descrito en cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* aisladas en los Estados Unidos de América y China (54, 93, 94), aunque se ha asociado que la resistencia otorgada por la presencia de éste plásmido es realmente baja, pero se presenta un efecto sinérgico si aparte de los plásmidos se tienen mutaciones a nivel cromosomal. El gen presente en éste plásmido codifica para una proteína que parece bloquear el sitio de acción de las fluoroquinolonas en la Girasa A. (35, 54, 94)

### 1.4 *Escherichia coli* RESISTENTES A QUINOLONAS

Desde la introducción de las fluoroquinolonas en los años 80's para el tratamiento de infecciones nosocomiales y comunitarias, la aparición de cepas resistentes ha ido en aumento. (56, 95, 98)

Recientemente, se ha observado un incremento importante de cepas de *Escherichia coli* resistentes a fluoroquinolonas, lo que ocasiona una gran preocupación, ya que ahora no solo se encuentran cepas resistentes causando infecciones nosocomiales, sino también, se encuentra como causa de infecciones comunitarias. (93, 99)

Según estadísticas realizadas en los Estados Unidos de América, *Escherichia coli* es el principal agente causal de infecciones en vías urinarias, siendo el agente causal de aproximadamente el 50% de éstas infecciones en nosocomios y el 90% en infecciones comunitarias (62).

En Beijing, el 60% de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales entre 1997 y 1999, mostraron un fenotipo de resistencia a Ciprofloxacino y el 50% de las cepas aisladas de infecciones comunitarias fueron resistentes a este mismo antibiótico (92).

En el Hospital Español, entre 56.9% – 73% de los enfermos que son ingresados al mismo, reciben antibióticos, los cuales son usados de manera profiláctica o terapéutica. Entre éstos, las fluoroquinolonas son ampliamente usadas y su uso va aumentando con el paso del tiempo. En el 2000, el 19% de los antibióticos empleados fueron fluoroquinolonas, en el 2001 el 17.5%, en el 2002 el 11.8% y en el 2003 el 25.5%, según los datos presentados en el XXIX Congreso de la Asociación Mexicana de la Infectología y Microbiología Clínica en agosto del 2004, por el Dr. Raymundo Rodríguez. De éste mismo, se tienen datos de resistencia a Ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli* aisladas en el mismo hospital. En 1998, el 34% de dichas cepas fueron resistentes a esta fluoroquinolona, en 1999, 38% de las cepas mostraron resistencia, en el año 2000 38%, en el 2001 44% y en el 2002 50%. En datos presentados en el mismo congreso por el Dr. José Donis Hernández, se tiene que en México, de las cepas

de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos, en 1998 16% fueron resistentes a Ciprofloxacino, en 1999 23% presentaron resistencia a este antibiótico, en el 2000 21% mostraron resistencia, y aumentó para el año 2001 al 26% de cepas resistentes y en el 2002 a un 36%. Se estima que en México, la resistencia a ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli* aisladas entre los años 1998 y 2002 aumentó a un 26%.

### 1.5 EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

Varias son las definiciones de Epidemiología Molecular que han sido publicadas (20, 23), todas mencionan el uso de herramientas de biología molecular, pero no explican su uso específico en la epidemiología. La Epidemiología Molecular no solamente trata de la taxonomía, filogenia y genética de poblaciones mediante técnicas de biología molecular, sino la aplicación de éstas técnicas en problemas epidemiológicos. En la taxonomía o filogenia, los datos son generados para describir las propiedades y características de los organismos. La genética de poblaciones tiene algo en común con la epidemiología, ya que ambas usan acercamientos a la población para describir la distribución de las características de interés y analizar los datos para identificar los determinantes de esa distribución. La epidemiología intenta identificar factores que determinen la distribución de la enfermedad en tiempo y espacio, así como factores que determinan la transmisión, manifestación y el progreso de la enfermedad. La epidemiología siempre es motivada por la oportunidad o posibilidad para la intervención y/o prevención de la enfermedad (23, 32, 34, 53).

Lo que distingue a la epidemiología molecular es tanto lo “molecular”, que es el uso de técnicas de biología molecular para caracterizar ácidos nucleicos o contenido de aminoácidos y la “epidemiología”, que es el estudio de la distribución y determinantes de ocurrencia de la enfermedad en poblaciones humanas. (23)

Aplicando la epidemiología molecular a enfermedades infecciosas, en este caso bacterianas, permite identificar cepas causantes de brotes y distinguir aquellas cepas que son endémicas de entre las epidémicas y las pertenecientes a la propia flora de los pacientes, o bien aislados esporádicos (86). Esto permite entender la manera en la que la infección se disemina, vías, fuentes o vectores de transmisión y la caracterización de genes responsables para la virulencia o resistencia. La aplicación de estas técnicas para la identificación de brotes y el monitoreo o evaluación de las medidas de control, documentando la prevalencia con respecto al tiempo y la circulación de clones epidémicas en poblaciones infectadas (11, 84).

La premisa básica de la tipificación epidemiológica es que aislados de un agente infeccioso que son parte de la misma cadena de transmisión se encuentran relacionados clonalmente, es decir, que son progenie de la misma célula antecesora. Dentro de la población de microorganismos patógenos de la misma

especie, existe gran diversidad genómica y de fenotipo. Esta diversidad refleja la divergencia evolutiva que se da por mutaciones y flujo de genes. (14) Aislados relacionados clonalmente tienen significativamente mayor cantidad de caracteres relacionados que aquellos aislados que no se encuentran clonalmente relacionados. Estos caracteres distintivos, llamados marcadores epidemiológicos, son calificados por sistemas de tipificación diseñados para optimizar la discriminación entre aislados de microorganismos patógenos de interés epidemiológicamente relacionados y no relacionados (8, 50, 84).

La evolución de subclonas y la emergencia de variantes que ocurren en huéspedes individuales o durante largos periodos de transmisión pueden ser reconocidas por varios sistemas de tipificación molecular de alta resolución, como puede ser la Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE) (45, 84).

Varios son los criterios propuestos para la evaluación del desarrollo de sistemas de tipificación. Estos criterios incluyen la capacidad para tipificar, reproducibilidad, estabilidad, poder de discriminación y concordancia epidemiológica. (84, 86)

La capacidad para tipificar se refiere a la cantidad de aislados que pueden ser probados en el sistema de tipificación y a los cuales puede asignársele un tipo. Lo ideal sería que todos los aislados pudieran ser tipificados. (42, 84, 86)

La reproducibilidad se refiere a la capacidad del sistema de tipificación de asignarle el mismo tipo en pruebas repetidas a la misma cepa. (42, 84, 86)

La estabilidad es una propiedad biológica de aquellos aislados de la misma clona de expresar constantemente marcadores durante el tiempo y generaciones. (84, 86)

El poder de discriminación es una propiedad característica de los sistemas de tipificación porque condiciona la probabilidad de que aislados que comparten los mismos tipos, o son muy cercanos, sean realmente clonas y parte de la misma cadena de transmisión, es decir, que un sistema es capaz de distinguir cepas que no están relacionadas (42, 84, 86).

La concordancia epidemiológica es la capacidad de un sistema de tipificación de clasificar correctamente en la misma clona a todos los aislados epidemiológicamente relacionados de un brote bien descrito. (84, 86)

Un sistema de tipificación debe tener ventajas prácticas aparte de su capacidad intrínseca de tipificación cuando es usado con un microorganismo patógeno particular. El sistema debe ser versátil, es decir, que pueda ser capaz de tipificar cualquier agente patógeno, haciendo pequeñas modificaciones al método. La interpretación de los resultados y el desarrollo de la misma técnica deben ser fáciles, así como el costo y la disponibilidad de reactivos y equipo. Los

resultados deben ser obtenidos lo suficientemente rápido para poder ser usados en la toma de decisiones sobre el manejo de un brote. (42, 84, 86)

Debido a que no existe un sistema de tipificación óptimo que cubra todos los requerimientos mencionados, como regla, es necesario usar la combinación de varios sistemas. (84)

### **1.5.1 SISTEMAS DE TIPIFICACIÓN DE CEPAS**

Los métodos empleados para tipificar cepas bacterianas pueden dividirse en dos categorías generales: fenotípicos y genotípicos. Los métodos fenotípicos se basan en la expresión de marcadores en la superficie de la célula o la producción y expresión de ciertas enzimas metabólicas. Dentro de estos métodos se encuentra la serotipificación, el patrón de susceptibilidad a antibióticos, tipificación de fagos y biotipificación. Los métodos genotípicos son dependientes de la presencia o ausencia de elementos genéticos o sitios de restricción en el ADN. Estos métodos incluyen la huella digital plasmídica, ribotipificación, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y electroforesis en gel por campos pulsados, entre otros (23, 42)

#### **1.5.1.1 Métodos Fenotípicos**

##### **1.5.1.1.1 Serotipificación**

Estas técnicas reconocen diferentes determinantes antigénicos expresados en la superficie de la célula, como pueden ser polisacáridos capsulares, proteínas de membrana y organelos extracelulares, como los flagelos. Aquí se incluyen las técnicas de aglutinación, coaglutinación, anticuerpos fluorescentes o anticuerpos unidos a enzimas. Estos métodos tienen algunas limitantes, como son la baja sensibilidad para algunos organismos, la falta de reproducibilidad y de métodos estandarizados, así como la limitada disponibilidad de antiseros de alta calidad. (42, 86)

##### **1.5.1.1.2 Susceptibilidad a Antibióticos**

En esta técnica, los aislados obtenidos son puestos a prueba para obtener su susceptibilidad a un panel de agentes antimicrobianos. Tiene una utilidad limitada en estudios epidemiológicos debido a que los fenotipos varían y la resistencia se encuentra bajo presión selectiva en el ambiente hospitalario. Los patrones de resistencia pueden cambiar debido a una mutación puntual y la adquisición o pérdida de plásmidos de resistencia y transposones. Debido a esto, la reproducibilidad no está garantizada. (42, 45, 86)

### **1.5.1.1.3 Tipificación de Fagos**

La tipificación de bacteriófagos se basa en la susceptibilidad o resistencia de la cepa en cuestión a ser lisada por un panel de bacteriófagos. Este método sufre de una falta de estandarización, baja reproducibilidad y disponibilidad limitada del panel de bacteriófagos a emplear. La estabilidad de la técnica a lo largo del tiempo debe ser cuidadosamente documentada y controlada. El rango de ineffectividad puede alterarse por cambios en las condiciones ambientales, pases seriales y exposición a luz UV. (42)

### **1.5.1.1.4 Biotipificación**

La biotipificación usa patrones de actividades metabólicas expresadas por el aislado y puede incluir algunas reacciones bioquímicas, morfología colonial, pH del medio y tolerancia a las temperaturas. Estas características son comúnmente empleadas en el laboratorio para identificar bacterias y hongos. (42, 86)

## **1.5.1.2 Métodos Genotípicos**

### **1.5.1.2.1 Huella Digital Plasmídica**

El análisis del perfil de plásmidos fue una de las primeras técnicas basadas en el ADN aplicadas a estudios epidemiológicos. Este método incluye el aislamiento de ADN Plasmídico de las bacterias para posteriormente separar los plásmidos electroforéticamente en un gel de agarosa. El ADN es teñido y los patrones obtenidos se comparan entre los diferentes aislamientos. Una limitación del análisis de plásmidos es que pueden ser adquiridos o perdidos espontáneamente, por lo que aislados relacionados epidemiológicamente pueden tener un perfil diferente de plásmidos (42, 86).

### **1.5.1.2.2 Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE)**

La electroforesis en gel por campos pulsados es una manera de comparar el material genético, involucrando inicialmente la restricción del DNA y después el análisis del número y tamaño de los fragmentos en electroforesis en geles de agarosa. El análisis de macro restricción resuelto por electroforesis en gel de campos pulsados es denominada ahora el estándar de oro para la obtención de huella digital genómica de microorganismos patógenos. Esta técnica fue desarrollada en la década de 1980. La selección de enzimas de restricción de baja frecuencia permite el corte de todo el cromosoma bacteriano de cualquier especie en menos de 30 fragmentos. El cambio de orientación del campo eléctrico durante la electroforesis en geles de agarosa permite la separación y la determinación del tamaño de los fragmentos obtenidos por esta macro restricción. (84) Con pequeñas modificaciones en la selección de las enzimas y

los protocolos de orientaciones del campo eléctrico, esta técnica puede aplicarse a cualquier bacteria o levadura. (16, 24, 42, 84, 86)

Aunque las secuencias de reconocimiento de las enzimas para el corte son pocas, una variación de menos del 0.01% del cromosoma bacteriano, rearrreglos de gran tamaño, secuencias duplicadas, deleciones o inserciones son detectados como cambios en los tamaños o número de fragmentos obtenidos. La técnica de PFGE requiere una gran cantidad de tiempo antes de obtener resultados, así como equipo especializado, que es más costoso que aquel requerido para otras técnicas, aunque debido a su versatilidad, reproducibilidad y poder de resolución, este sistema de tipificación es el método de elección para tipificar la mayoría de los patógenos nosocomiales y algunos adquiridos en la comunidad. (84)

### **1.5.1.2.3 Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD)**

Esta técnica se basa en la amplificación de fragmentos usando la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y una secuencia arbitraria iniciadora de 10 nucleótidos. Durante los primeros ciclos de la reacción de PCR el oligonucleótido se alinea a varias secuencias de homología parcial y se amplifican regiones del genoma flanqueadas por dichas regiones. Después de otros ciclos adicionales, se obtienen segmentos de diferentes tamaños específicos para cada cepa. Este sistema de tipificación es rápido y simple que ha sido aplicado de manera satisfactoria para delinear el genoma de las cepas y analizar la genética de población de una gran cantidad de microorganismos patógenos. Todos los aislamientos son tipificables y no es necesario tener conocimiento previo de la secuencia del genoma. La discriminación es buena y hay buena correlación con otras técnicas de genotipificación. El poder de discriminación es variable según el número y la secuencia arbitraria usada como oligonucleótido de inicio y las condiciones de amplificación. La técnica de RAPD tiene problemas de reproducibilidad y de falta de reglas generales para interpretar las diferencias de los patrones observados. (42, 65, 84, 86)

### **1.5.1.2.4 Análisis de Polimorfismos de Longitud en Fragmentos de Restricción (RFLP)**

Este procedimiento utiliza la tecnología del Southern Blot para detectar variabilidad genética. Después de la digestión del ADN por una enzima de restricción y la separación electroforética de los fragmentos obtenidos, el ADN es transferido a una membrana, que es revelada usando un fragmento marcado de ADN. Las variaciones en el tamaño o número de fragmentos correlacionan con la variación genética. Esto funciona bien si hay varias copias de la secuencia marcada presentes a lo largo del genoma. Una desventaja de la técnica es cuando solamente se encuentra una copia de la secuencia. La complejidad de esta técnica ha restringido su uso a la investigación y laboratorios de referencia. (42, 44, 86)

### **1.5.1.2.5 Ribotipificación**

Es una técnica específica de RFLP que utiliza un operón ribosomal de *Escherichia coli* como templado. Las secuencias de ADN de los ribosomas son altamente conservadas y puede usarse en una gran cantidad de especies bacterianas. Los operones ribosomales tienden también a ser estables entre especies y aislados que son epidemiológicamente diferentes pueden dar lugar a patrones iguales con esta técnica. (42)

Se basa en la detección de diferencias genéticas en secuencias genómicas dentro o a lado de los genes 16S, 5.8S y 23S del ARN ribosomal. Esta técnica es reproducible y estable a lo largo del tiempo. (84)

Según las especies analizadas, la Ribotipificación puede discriminar varios o cientos de diferentes tipos dentro de una especie bacteriana. La caracterización por el ribotipo puede dar información epidemiológica de gran utilidad, sobre todo a gran escala (en un País o alrededor del mundo). (84)

### **1.5.1.2.6 Polimorfismo en la Longitud de Fragmentos Amplificados. (AFLP)**

Se basa en la amplificación de fragmentos de genoma previamente cortados mediante el uso de la PCR. El primer paso es la restricción del ADN cromosomal y la ligación simultánea a los adaptadores apropiados. Esta técnica tiene un alto poder de discriminación y generalmente se aplica para genotipificar sin conocer previamente secuencias del genoma a analizar.

## 2. JUSTIFICACIÓN

El problema de resistencia bacteriana a los antibióticos de uso común se considera como un problema de salud pública mundial por instancias internacionales como la Organización Mundial de la Salud. Lo anterior se basa en la rápida aparición y diseminación de este problema ante el uso de antibióticos aún los más nuevos y de mayor espectro de actividad. Las fluoroquinolonas son antibióticos que tiene un promedio de 15 años de uso clínico, el cual se ha incrementado dado el amplio espectro de actividad antimicrobiana de estos antibióticos, su farmacocinética que favorece el uso de una o dos dosis por día y por el problema de resistencia bacteriana que se ha desarrollado hacia otros tipos de antibióticos de uso común. Asociado al incremento de uso clínico de estos antibióticos se ha demostrado aparición y diseminación de resistencia a fluoroquinolonas en diferentes partes del mundo. En México datos como los de la RED NACIONAL DE VIGILANCIA DE RESISTENCIA BACTERIANA, nos demuestran que la resistencia a ciprofloxacino se ha incrementado hasta en un 30% en los últimos tres años. El conocer con más detalle las características epidemiológicas y los mecanismos moleculares de esta resistencia bacteriana nos brinda elementos importantes para entender por qué ocurre este problema y diseñar mejores esquemas de tratamiento de las infecciones causadas por estas bacterias resistentes y posibles programas de prevención de las mismas.

El presente trabajo se realizó con la finalidad de caracterizar el fenotipo de susceptibilidad a diferentes antibióticos y realizar un análisis de epidemiología molecular de las cepas de *Escherichia coli* resistentes a ciprofloxacino aisladas en el Hospital Civil de Guadalajara.

Mediante el uso de técnicas empleadas en epidemiología molecular se pretendió determinar si las cepas involucradas en este tipo de infecciones dentro y fuera del hospital se encontraban relacionadas entre sí, lo que sugeriría transmisión cruzada además de la presión de selección por el mismo uso de antibióticos como causa de incremento de la resistencia como se encuentra con frecuencia entre las clonas que persisten dentro del ambiente hospitalario, si se encontraban ampliamente distribuidas en la comunidad o si las cepas aisladas pertenecen a diferentes clonas lo que nos descartaría que el incremento de resistencia se debe a diseminación cruzada y favorecería la explicación de presencia del mecanismo genético en diversas clonas las cuales se han seleccionado por la alta presión de selección por el mismo uso de antibióticos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar la epidemiología molecular de cepas de *Escherichia coli* resistentes a Ciprofloxacino (CIP<sup>R</sup>) aisladas en el Hospital Civil de Guadalajara (HCG) en un período comprendido de octubre de 2001 a abril de 2004.

#### 3.2. OBJETIVOS PARTICULARES:

- 3.2.1. Comparar la prevalencia de cepas resistentes a Ciprofloxacino (CIP<sup>R</sup>) aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales con aquellas cepas aisladas de pacientes con infecciones comunitarias.
- 3.2.2. Determinar el patrón de susceptibilidad a un panel de 18 diferentes antibióticos mediante la técnica de Kirby-Bauer.
- 3.2.3. Detectar la variabilidad clonal de las cepas aisladas mediante el uso de Electroforesis por Campos Pulsados (PFGE) y Amplificación al Azar de ADN (RAPD).
- 3.2.4. Obtener el perfil de plásmidos aislados de dichas cepas mediante la técnica de lisis alcalina.

#### 4. MATERIAL Y MÉTODOS:

##### 4.1. Cepas bacterianas:

105 cepas de *Escherichia coli* resistentes a Ciprofloxacino fueron aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales y comunitarias en diferentes servicios del Hospital Civil de Guadalajara a partir de octubre del 2001 a abril del 2004.

##### 4.2. Identificación de género y especie:

De las muestras recibidas se llevó a cabo un aislamiento por agotamiento en placas de Agar Mac Conkey de Difco para una posterior identificación por un panel de pruebas bioquímicas, dando lugar a 10 resultados.

**Tabla 3. Pruebas Bioquímicas Empleadas**

Medio	Forma de inoculación	Información que proporciona
Agar Citrato de Simmons (Difco)	Estría	Utilización de Citrato como única fuente de Carbono
Agar Urea de Christensen (Difco)	Estría	Utilización de Urea
Agar Hierro Kligler (Difco)	Picadura y Estría	Utilización de Glucosa Utilización de Lactosa Producción de Gas Producción de H <sub>2</sub> S
Medio MIO (Difco)	Picadura	Descarboxilación de Ornitina Producción de Indol Motilidad
Agar Hierro Lisina (Difco)	Doble Picadura y Estría	Descarboxilación de Lisina

Una vez inoculados los tubos se incubaron por 24 h a 37°C.

Mediante el uso de tablas de perfil bioquímico de bacterias y con las pruebas realizadas fue posible determinar el género y la especie de la bacteria recibida en la muestra. (62)

Utilización de sistemas comerciales API ® 20 E, BIOMÉRIEUX (Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes):

Únicamente se llevó a cabo en caso de que los resultados de las pruebas bioquímicas fueran insuficientes y se siguió el inserto de dicho sistema de identificación.

Bajo condiciones asépticas se realizó una suspensión bacteriana en agua estéril, ajustando a una turbidez de 0.5 de la escala de Mc Farland (equivalente a  $1 - 2 \times 10^8$  UFC). Se llenó cada uno de los pozos del panel de la prueba de API®, según su inserto., sellando con aceite mineral aquellos que requieren condiciones de anaerobiosis para observar así la fermentación de ciertos carbohidratos. Una vez que se hubo inoculado todo el panel de pruebas con la suspensión se incubó a 37°C por 24 h. Al transcurrir las 24 horas se revelaron las pruebas que lo requirieron para hacer la primera lectura de la prueba. Posteriormente, se volvieron a incubar a 37°C por 24 h para realizar la segunda lectura.

Los resultados de estas pruebas se introdujeron en el programa APILAB®, dando inmediatamente el género y la especie de la bacteria en cuestión.

### **4.3. Patrón de susceptibilidad a antibióticos por el Método de Kirby-Bauer:**

La determinación del patrón de susceptibilidad a antibióticos se llevó a cabo mediante el uso de la técnica de difusión de disco, descrita en de la NCCLS (21), la cual consiste en la elaboración de una suspensión bacteriana a partir de un cultivo fresco en placa en agua estéril, ajustando a una turbidez de 0.5 de la escala de Mc Farland (correspondiente a  $1 - 2 \times 10^8$  UFC/mL). Con ayuda de un hisopo se inoculó por completo la superficie de una placa de Agar Muller-Hinton de Difco. Se dejó eliminar el exceso de humedad de la placa por 10 min y se colocaron los discos de los diferentes antibióticos sobre la placa, dejando aproximadamente 2.5 cm entre cada disco. Se dejó difundir el antibiótico por 15 min y se invirtieron las placas para incubar 24 h a 37°C. Como cepa control se utilizó la *Escherichia coli* ATCC 25922. (21)

Los antibióticos utilizados fueron los siguientes:

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina, IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico y TOB: Tobramicina. Todos los discos empleados fueron de BECTON DICKINSON.

Una vez transcurrida la incubación, se realizó la lectura utilizando el programa del aparato BIOMIC®. La lectura realizada indica el Kirby Bauer en mm de halo de inhibición, la concentración mínima de antibiótico a la cual es capaz de inhibir el desarrollo del microorganismo (Concentración Mínima Inhibitoria, o MIC) en  $\mu\text{g/mL}$  y en base a ésta y según el antibiótico analizado, se les da la categoría de Sensible (S), Resistente (R) o Intermedio (I).

### **4.4. Etest:**

Para tratar de determinar la MIC para Ciprofloxacino, se empleó una tira de Etest de este antibiótico de los laboratorios AB BIODISK.

A partir de un cultivo fresco en placa se llevó a cabo una suspensión bacteriana en agua estéril, ajustando a una turbidez de 0.5 de la escala de Mc Farland ( $1 - 2 \times 10^8$  UFC/mL). Se inoculó por completo la superficie de una placa de Agar Muller-Hinton de Difco mediante el uso de un hisopo. El exceso de humedad se eliminó dejándola por 10 min, para posteriormente colocar la tira que contenía dicho antibiótico. Se dejó difundir el antibiótico por 15 min y se invirtieron las placas para incubar 24 h a 37°C. (21)

Después de la incubación, se realizó la lectura según las especificaciones del fabricante, donde la MIC corresponde la concentración señalada en la tira en la que se observa inhibición del crecimiento bacteriano.

#### 4.5. Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE):

A partir de un cultivo fresco en placa de BHI, se tomó una colonia aislada y se inocularon de 3 a 5 mL de caldo BHI, incubando toda la noche a 37°C con agitación en el equipo Cell-Production Roller Drum de Bellco Glass Inc. De ese cultivo, se centrifugaron entre 50 y 100  $\mu$ L, para obtener el botón necesario para realizar todo el procedimiento, por dos minutos a una velocidad de 13,000 revoluciones por minuto (RPM) en microcentrífuga BIO-RAD Modelo 14K o EPPENDORF 5415D. Se retiró el sobrenadante y se hace un lavado con 400  $\mu$ L de Solución Amortiguadora PIV (ver apéndice I), centrifugando nuevamente y resuspendiendo el botón en 150  $\mu$ L del mismo Amortiguador. La suspensión bacteriana obtenida se incubó a 50°C para adicionar 150  $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión al 1.6% (ver apéndice I), mezclando y pipeteando los 300  $\mu$ L dentro de los moldes respectivos para formar los bloques. Se dejó gelificar por 30 min y se suspendieron los bloques en 500  $\mu$ L de Amortiguador de Lisis (ver apéndice I), incubando a 50°C ON. Al día siguiente se reemplazó el Amortiguador de Lisis por 500  $\mu$ L de Solución Amortiguadora ESP (ver apéndice I) y se incubó nuevamente a 50°C ON. Al concluir el tiempo de incubación se realizaron 7 lavados con 10 mL de TE 1X (ver apéndice I) en un SHAK-R-BATH de LAB-LINE, de 30 min cada uno para finalmente lavar 3 veces con 10 mL de TE 0.1X también de 30 min cada uno. Una vez que se llevaron a cabo todos los lavados se colocaron los bloques en 300  $\mu$ L del Amortiguador de Restricción de la enzima XbaI de Invitrogen, que realiza cortes en una secuencia (5'-T↓CTAGA-3', 3'-AGATC↑T-5' de la respectiva cadena de ADN) que se encuentra con poca frecuencia en el genoma de esta bacteria, y de 30 a 50 unidades de la misma enzima, incubando toda la noche a 37°C en un Thermomixer de EPPENDORF.

Los bloques tratados con la enzima de restricción, se colocaron en un gel de agarosa Micropor 12 de Pronadisa al 1% en TBE 0.5X (ver apéndice I), sellando los pozos, una vez colocados los bloques, con agarosa Micropor 12 de Pronadisa al 0.8% en TBE 0.5X. Como marcador de peso molecular se colocó Lambda Ladder PFG Marker, de Bio Labs. El gel se corrió en la cámara para PFGE, utilizando 2 L de Amortiguador TBE 0.5X, con el programa necesario para *Escherichia coli*, por alrededor de 10 horas a una temperatura de 14°C empleando el equipo para PFGE GenePath System de BIO-RAD. El

gel obtenido se tiñó con Bromuro de Etidio (ver apéndice I) por 10 min y observado bajo la incidencia de luz UV mediante el uso del aparato Gel Doc 2000 de BIO-RAD, mediante el cual fue también posible tomar la fotografía (8, 16, 24).

La interpretación de los patrones de los fragmentos de cada cepa fueron realizadas en base a lo descrito por Tenover *et al.* en 1995 (86, 87).

#### 4.6. Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD):

A partir de un cultivo fresco en placa, se tomó una colonia aislada y se inocularon de 3 mL de caldo LB, incubando toda la noche a 37°C con agitación en el equipo Cell-Production Roller Drum de Bellco Glass Inc. De ese cultivo, se centrifugaron 50 µL a 13,000 RPM por 1 min a temperatura ambiente en microcentrífuga BIO-RAD Modelo 14K o EPPENDORF 5415D, se eliminó el sobrenadante para dejar el botón de bacteria, el cual fue lavado con 200 µL de agua estéril centrifugando nuevamente por 1 min a 13,000 RPM a temperatura ambiente en microcentrífuga BIO-RAD Modelo 14K o EPPENDORF 5415D. El sobrenadante se eliminó y se resuspendió el botón en 50 µL de agua estéril para someterlo posteriormente a una temperatura de 98°C por 15 min en un Thermomixer de EPPENDORF e inmediatamente después, a 4°C por otros 15 min usando un baño de hielo. Después de ésta última incubación, los tubos se centrifugaron por 2 min a 13,000 RPM a temperatura ambiente en microcentrífuga BIO-RAD Modelo 14K o EPPENDORF 5415D. El sobrenadante obtenido aquí fue empleado como templado para las tres condiciones de RAPD empleadas. (6, 9, 39, 60)

##### 4.6.1. RAPD 1

Las condiciones a las que se llevaron a cabo las reacciones en este método se explican en la siguiente tabla:

**Tabla 4. Condiciones de Reacción de RAPD1**

	Concentración Final de Cada Tubo de Reacción
MgCl <sub>2</sub>	2mM
Oligo 1	0.8µM
Taq Polimerasa	2 U
Solución Amortiguadora de Reacción	1X
dNTP	0.2 mM de cada uno

Se empleó la Taq DNA Polimerasa de Invitrogen, con su Amortiguador y MgCl<sub>2</sub> y el dNTP Mix 10 mM de Applied Biosystems. El oligonucleótido empleado para esta reacción se le denominó Oligo 1, sintetizado por Invitrogen Custom Primers, ordenado por Accesolab, con la siguiente secuencia: 5'-ACG TAT CTG C-3'

El volumen final de la reacción fue de 20  $\mu$ L y se le agregaron 6  $\mu$ L del sobrenadante empleado como templado.

Las condiciones en el termociclador iCycler de BIO-RAD fueron las siguientes:

**Tabla 5. Condiciones de Amplificación de RAPD1**

# PASO	# DE CICLOS	CONDICIÓN 1	CONDICIÓN 2	CONDICIÓN 3
1	1	5 min a 94°C	-	-
2	40	1 min a 94°C	2 min a 36°C	2 min a 72°C
3	1	5 min a 72°C	-	-

El producto de estas reacciones se resolvió mediante electroforesis en geles de agarosa básica LE de Pronadisa al 1% en TBE 1X, corridos a 120 V por alrededor de 2 horas en cámaras Continental Lab Products, Modelo 75.1214 con una fuente de poder EC570 de E-C Apparatus Corporation. Los geles se tiñeron con Bromuro de Etidio por 5 min y se dejaron desteñir en agua tridestilada, para poder ser observados bajo la incidencia de luz UV mediante el uso del aparato Gel Doc 2000 de BIO-RAD, mediante el cual fue también posible tomar la fotografía. Como marcador de peso molecular se utilizó el de 100 pb DNA Ladder de Invitrogen.

#### 4.6.2. RAPD 2

Las condiciones a las que se llevaron a cabo las reacciones en este método se explican en la siguiente tabla:

**Tabla 6. Condiciones de Reacción de RAPD2**

	Concentración Final de Cada Tubo de Reacción
MgCl <sub>2</sub>	2.5mM
Oligo 2	0.8 $\mu$ M
Taq Polimerasa	1 U
Solución Amortiguadora de Reacción	1X
dNTP	0.3 mM de cada uno

Se empleó la Taq DNA Polimerasa de Invitrogen, con su Amortiguador y MgCl<sub>2</sub> y el dNTP Mix 10 mM de Applied Biosystems. El oligonucleótido empleado para esta reacción se le denominó Oligo 2 sintetizado por Invitrogen Custom Primers, ordenado por Accesolab, que tiene la siguiente secuencia: 5'-CCG CAG CCA A-3'

El volumen final de la reacción fue de 25  $\mu$ L y se le agregaron 6  $\mu$ L del sobrenadante empleado como templado.

Las condiciones en el termociclador Gene Cyclor de BIO-RAD fueron las siguientes:

**Tabla 7. Condiciones de Amplificación de RADP2**

# PASO	# DE CICLOS	CONDICIÓN 1	CONDICIÓN 2	CONDICIÓN 3
1	1	5 min a 94°C	5 min a 36°C	5 min a 72°C
2	10	1 min a 94°C	1 min a 36°C	2 min a 72°C
3	20	1 min a 94°C	1 min a 50°C	2 min a 72°C

El producto de estas reacciones se resolvió mediante electroforesis en geles de agarosa básica LE de Pronadisa al 1% en TBE 1X, corridos a 120 V por alrededor de 2 horas en cámaras Continental Lab Products, Modelo 75.1214 con una fuente de poder EC570 de E-C Apparatus Corporation. Los geles fueron teñidos con Bromuro de Etidio por 5 min y se dejaron desteñir en agua tridestilada, para poder ser observados bajo la incidencia de luz UV mediante el uso del aparato Gel Doc 2000 de BIO-RAD, mediante el cual fue también posible tomar la fotografía. Como marcador de peso molecular se utilizó el de 100 pb DNA Ladder de Invitrogen. (6, 9)

#### 4.6.3. RAPD 3

Las condiciones a las que se llevaron a cabo las reacciones en este método se explican en la siguiente tabla:

**Tabla 8. Condiciones de Reacción de RAPD3**

	Concentración Final de Cada Tubo de Reacción
MgCl <sub>2</sub>	2mM
Oligo 2	0.8 $\mu$ M
Taq Polimerasa	2 U
Solución Amortiguadora de Reacción	1X
dNTP	0.2 mM de cada uno

Se empleó la Taq DNA Polimerasa de Invitrogen, con su Amortiguador y MgCl<sub>2</sub> y el dNTP Mix 10 mM de Applied Biosystems. El oligonucleótido empleado para esta reacción se le denominó Oligo 2 sintetizado por Invitrogen Custom Primers, ordenado por Accesolab, de la siguiente secuencia: 5'-CCG CAG CCA A-3'

El volumen final de la reacción fue de 20  $\mu$ L y se le agregaron 6  $\mu$ L del sobrenadante empleado como templado.

Las condiciones en el termociclador iCycler de BIO-RAD fueron las siguientes:

**Tabla 9. Condiciones de Amplificación de RAPD3**

# PASO	# DE CICLOS	CONDICIÓN 1	CONDICIÓN 2	CONDICIÓN 3
1	1	5 min a 94°C	-	-
2	40	1 min a 94°C	2 min a 36°C	2 min a 72°C
3	1	5 min a 72°C	-	-

El producto de estas reacciones se resolvió mediante electroforesis en geles de agarosa básica LE de Pronadisa al 1% en TBE 1X, corridos a 120 V por alrededor de 2 horas en cámaras Continental Lab Products, Modelo 75.1214 con una fuente de poder EC570 de E-C Apparatus Corporation. Los geles se tiñeron con Bromuro de Etidio por 5 min y se dejaron desteñir en agua tridestilada, para poder ser observados bajo la incidencia de luz UV mediante el uso del aparato Gel Doc 2000 de BIO-RAD, mediante el cual fue también posible tomar la fotografía. Como marcador de peso molecular se utilizó el de 100 pb DNA Ladder de Invitrogen. (6, 9)

#### **4.7. Aislamiento de ADN Plasmídico por Lisis Alcalina**

A partir de un cultivo fresco en placa, se tomó una colonia aislada y se inocularon de 3 mL de caldo LB, incubando toda la noche a 37°C con agitación en el equipo Cell-Production Roller Drum de Bellco Glass Inc. De ese cultivo, se centrifugaron 1.5 mL a 13,000 RPM por 5 min a temperatura ambiente en microcentrífuga BIO-RAD Modelo 14K o EPPENDORF 5415D, se eliminó el sobrenadante y se le adicionaron 100  $\mu$ L de la solución I (ver apéndice I) al botón obtenido, resuspendiendo con la micropipeta. A esta suspensión se le adicionaron 200  $\mu$ L de la solución II (ver apéndice I), se agitó ligeramente y se dejó reposar por 3 min para posteriormente agregar 150  $\mu$ L de la solución III (ver apéndice I) al mismo tubo agitando suavemente. Una vez agregada esta última solución, se dejó reposar en un baño de hielo durante 30 minutos para posteriormente centrifugar por 20 min a 13,000 RPM a 4°C en una microcentrífuga refrigerada Hettich Zentrifugen Universal 32R. El sobrenadante obtenido se colocó en un tubo nuevo y se colocó el mismo volumen de una solución 25:24:1 de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico de Sigma. Se agitó manualmente y se volvió a centrifugar por 15 min a 13,000 RPM a 4°C en la microcentrífuga refrigerada Hettich Zentrifugen Universal 32R. La fase acuosa volvió a ser separada y colocada en un tubo nuevo para adicionar el doble del volumen de cloroformo EM Science de Merck, agitar y centrifugar nuevamente por 15 min a 13,000 RPM a 4°C en la microcentrífuga refrigerada Hettich Zentrifugen Universal 32R. La fase acuosa se colocó en un tubo nuevo y se adicionó el doble del volumen de etanol J.T. Baker al 95% y se colocó en un

REVCO a  $-70^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos para permitir la precipitación del ADN. Se centrifugó por 20 min a 13,000 RPM a  $4^{\circ}\text{C}$  en la microcentrifuga refrigerada Hettich Zentrifugen Universal 32R y se eliminó el sobrenadante. Al botón obtenido se le realizó un lavado con 1 mL de etanol J.T. Baker al 70% y se centrifugó a 13,000 RPM por 15 min a temperatura ambiente en microcentrifuga BIO-RAD Modelo 14K o EPPENDORF 5415D. El etanol fue eliminado nuevamente y el botón fue secado a vacío con el Speed Vac SC110, la trampa refrigerada de vapor RVT4104 y el calibrador digital de vacío DVG50 de SAVANT, a temperatura media de 15 a 20 min. El precipitado ya seco fue resuspendido en 40  $\mu\text{L}$  de ARNasa 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (ver apéndice I). (35, 54)

Los plásmidos fueron resueltos en geles de agarosa grado Biología Molecular de ONBIO al 0.4% en TBE 1X que fueron corridos a 120 V por alrededor de 2 horas en cámaras Continental Lab Products, Modelo 75.1214, con una fuente de poder EC570 de E-C Apparatus Corporation. Los geles se tiñeron con Bromuro de Etidio por 5 min y se dejaron desteñir en agua tridestilada, para poder ser observados bajo la incidencia de luz UV mediante el uso del aparato Gel Doc 2000 de BIO-RAD, mediante el cual fue también posible tomar la fotografía. Cuatro marcadores de peso molecular fueron empleados en cada gel corrido. 1Kb DNA Ladder de Invitrogen, fragmentos de  $\lambda$  DNA *Hind III* de Invitrogen y los plásmidos aislados de la cepa de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, que contiene dos plásmidos, uno de 160 Kb y otro de 80 Kb y la cepa de *Escherichia coli* RP4, con un plásmido de 54 Kb.

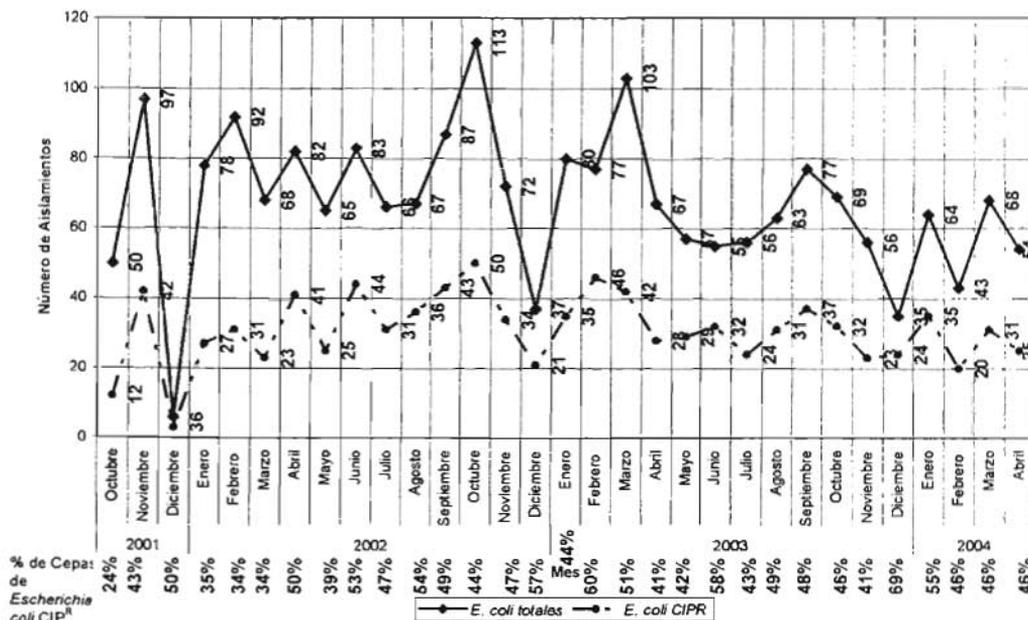
5. RESULTADOS:

5.1. Aislamientos de *Escherichia coli* en el HCG:

En un periodo de 31 meses que comprenden de octubre de 2001 a abril de 2004, 2087 cepas de *Escherichia coli* fueron aisladas en el Hospital Civil de Guadalajara (HCG), de las cuales, 957 (45.9%) resultaron resistentes a ciprofloxacino (CIP<sup>R</sup>).

El mes en el que hubo un mayor número de cepas *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> aisladas fue octubre de 2002 (50 cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup>), de 113 cepas de *Escherichia coli* totales aisladas (Gráfica 1). Durante este tiempo el porcentaje de resistencia observada en cepas de *Escherichia coli* permaneció dando un promedio de 46.6%, siendo el porcentaje de menor resistencia de 24%, observado el mes de octubre de 2001 y el de mayor resistencia de 68.6% en diciembre de 2003 (Gráfica 1).

Aislamientos de *Escherichia coli* a lo Largo del Estudio

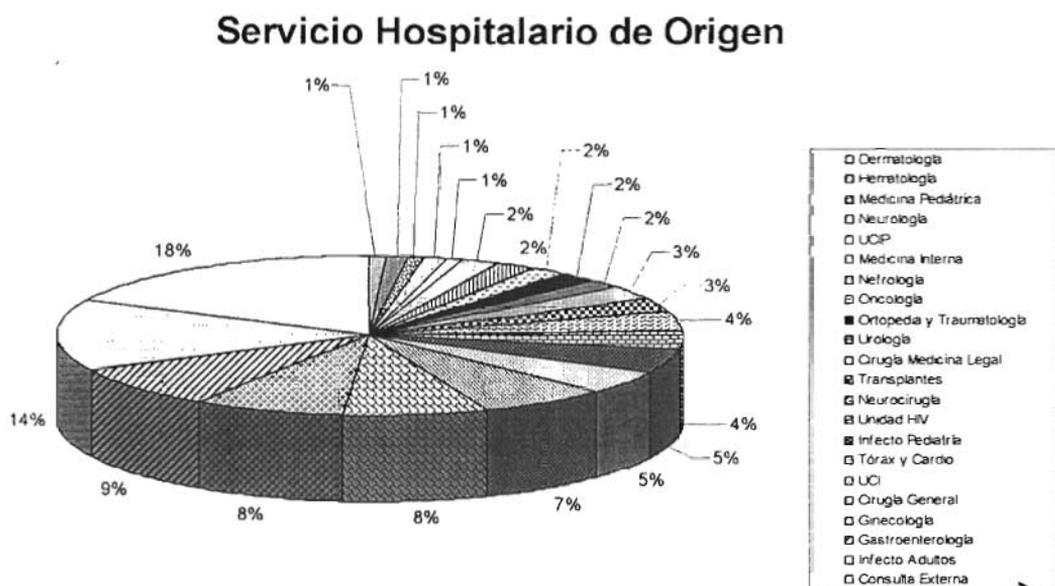


Gráfica 1. Número de aislamientos en el HCG de *Escherichia coli* totales y CIP<sup>R</sup> por cada mes comprendido en el estudio.

### 5.2. Aislamientos de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> recibidos del HCG:

De las 957 cepas CIP<sup>R</sup> aisladas en este hospital, 105 (11%) fueron recibidas en el Laboratorio Infectología y Microbiología Clínica de la Unidad de Medicina Experimental de la Facultad de Medicina de la UNAM. Estas cepas corresponden a la depuración de procesos infecciosos que cumplen la definición clínica, de un solo evento y que estuvieran viables al momento de iniciar el estudio, es decir, se omitieron del estudio las cepas colonizantes, los cultivos repetidos de un mismo. Dichas cepas fueron nuevamente identificadas con un panel de pruebas bioquímicas para confirmar género y especie. Posterior a la identificación y con el fin de comprobar que las cepas recibidas fueran resistentes a ciprofloxacino, se realizó la prueba de resistencia a este antibiótico mediante el método de difusión de disco de Kirby-Bauer.

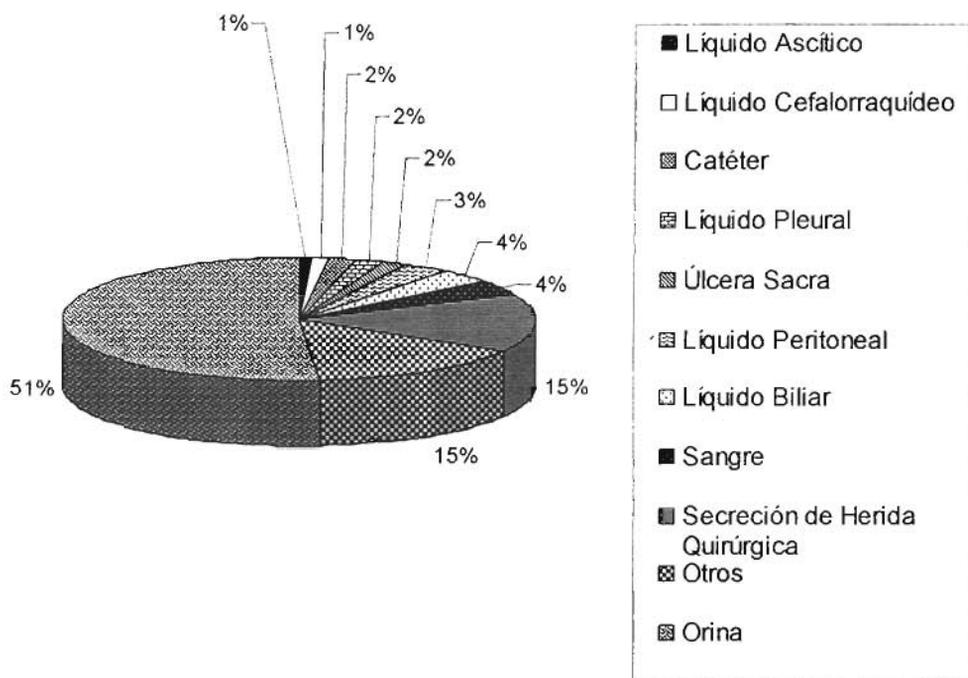
Los 105 aislamientos recibidos fueron identificados como *Escherichia coli*, todos CIP<sup>R</sup>. Éstos provenían de una gran variedad de servicios hospitalarios, siendo el servicio de Consulta Externa del que mayor número de cepas se recibieron (19/105), seguido del servicio de Infectología Adultos (15/105), sin embargo, no se observa prevalencia de un servicio hospitalario en particular (Gráfica 2).



**Gráfica 2.** Servicio hospitalario de origen de las 105 cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> recibidas del HCG incluidas en el estudio.

La mayoría de las cepas recibidas fueron aisladas de pacientes con infecciones en vías urinarias, siendo éstas el 51% de las muestras totales recibidas (54/105). Las cepas aisladas de secreciones de herida quirúrgica tuvieron también un porcentaje importante, siendo el 15% (16/105) de las cepas provenientes de este tipo de muestra. Otro tipo de muestra de origen de las cepas, como sangre, líquido biliar, líquido peritoneal, líquido pleural, úlcera sacra, catéter y líquido cefalorraquídeo también se encontró entre las cepas recibidas, pero en mucha menor cantidad (**Gráfica 3**).

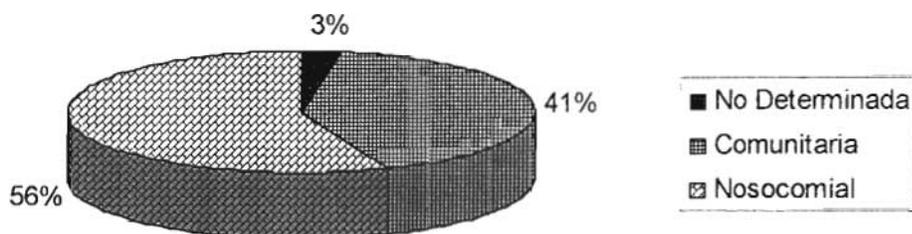
### Muestra en Estudio



**Gráfica 3.** Muestras de las cuales fueron aisladas las 105 cepas incluidas en el estudio. Las muestras agrupadas en Otros, se incluyen aquellas de menor importancia y menor número de muestras, como semen, secreción vaginal, secreción de glúteo, entre otras (ver **Apéndice II** para más datos).

Las cepas fueron aisladas de pacientes con infecciones tanto nosocomiales como comunitarias, siendo la mayoría de dichas cepas causantes de infecciones nosocomiales, con un 56% (59/105) y 43 de las 105 cepas (41%) fueron aisladas de infecciones adquiridas en la comunidad. (**Gráfica 4**)

### Tipo de Infección



**Gráfica 4.** Tipo de infección causada por las 105 cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> aisladas en el HCG.

Se determinó el patrón de susceptibilidad a 18 diferentes antibióticos, entre los que se encontraron fluoroquinolonas, Aminopenicilinas, Cefalosporinas Carbapenems y Aminoglucósidos, entre otros, mediante el método de difusión de disco de Kirby-Bauer. Para tratar de determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de Ciprofloxacino se usaron tiras de E-test de este antibiótico.

La selección de estas cepas fue que fueran CIP<sup>R</sup> y se corroboró que todas las cepas enviadas expresaban este fenotipo. Por otra parte estas cepas también mostraron resistencia a una gran cantidad de antibióticos, siendo de llamar la atención la resistencia a todas las otras fluoroquinolonas analizadas (Gatifloxacino, Levofloxacino y Ofloxacino) (Tabla 10), siendo la MIC encontrada para Ciprofloxacino incluso mayor a 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , por lo que no fue posible determinar la MIC exacta con las tiras empleadas (ver Apéndice III para más datos). El único antibiótico al cual ninguna de las 105 cepas presentó resistencia fue uno de los integrantes del grupo de los Carbapenems, el Imipenem.

**Tabla 10.** Susceptibilidad a los 18 antibióticos probados en las 105 cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> del HCG.

FAMILIA	ANTIBIÓTICO	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Aminopenicilinas	Ampicilina	96/105	3/105	6/105
Cefalosporinas 2 <sup>a</sup> Generación	Cefuroxima	60/105	36/105	9/105
Cefalosporinas 3 <sup>a</sup> Generación	Ceftazidima	49/105	11/105	45/105
	Cefotaxima	39/105	20/105	46/105
Cefalosporinas 4 <sup>a</sup> Generación	Cefepima	23/105	4/105	78/105
Monobactámicos	Aztreonam	38/105	16/105	51/105
β-Lactámico con Inhibidor	Tricarclina-ácido clavulánico	49/105	34/105	22/105
Carbapenems	Imipenem	0/105	0/105	105/105
Aminoglicósidos	Estreptomina	90/105	2/105	13/105
	Gentamicina	48/105	6/105	51/105
	Tobramicina	60/105	5/105	40/105
	Amikacina	7/105	10/105	88/105
Tetraciclinas	Tetraciclina	100/105	1/105	4/105
Inhibidor del Folato	Trimetoprim-sulfametoxazol	92/105	0/105	13/105
Fluoroquinolonas 2 <sup>a</sup> Generación	Ciprofloxacino	105/105	0/105	0/105
	Ofloxacino	104/105	1/105	0/105
Fluoroquinolonas 3 <sup>a</sup> Generación	Levofloxacino	100/105	5/105	0/105
	Gatifloxacino	99/105	5/105	1/105

### 5.3. Caracterización de Huella Digital Genómica por Electroforesis por Campos Pulsados (PFGE):

Con el fin de determinar la prevalencia o variabilidad clonal en las 105 cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> recibidas, se realizó un análisis de la Huella Digital Genómica obtenida por PFGE.

Bajo las condiciones ya mencionadas fueron identificados 42 diferentes perfiles de PFGE en 86/105 cepas, ya que 19 de las cepas mostraron únicamente un barrido a la hora de resolver los geles, el cual fue repetitivo cada vez que se analizaban estas cepas. Por esta razón, se le dio un número de clona a cada perfil observado según la fecha de aislamiento de cada cepa, pero dejando libre el número de clona que le correspondían a las cepas de las cuales no fue posible obtener su clonalidad por esta técnica, pero si por las tres metodologías de Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD) empleadas. Los 42 patrones observados se muestran en los geles que comprenden las Figuras 5, 6, 7 y 8.

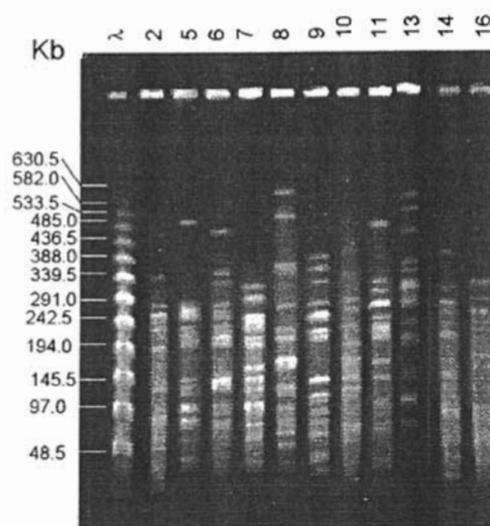


Figura 5

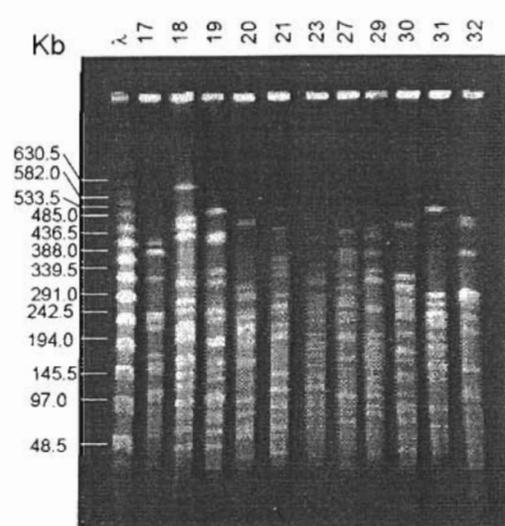


Figura 6

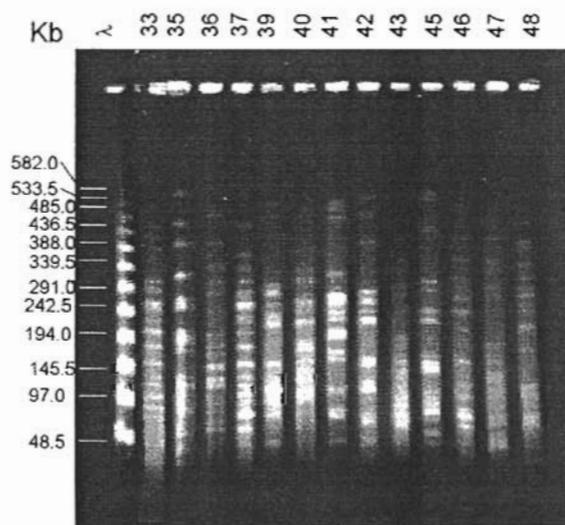


Figura 7

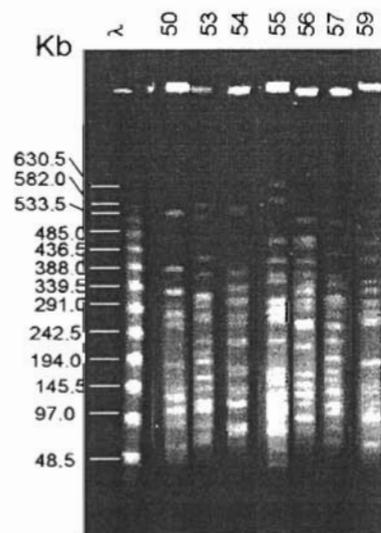


Figura 8

Figuras 5, 6, 7 y 8. 42 patrones diferentes observados en las 86 cepas de las que fue posible obtener su huella digital genómica por PFGE.

En la clona 2 fueron identificadas 23 cepas. Los perfiles de bandeo obtenidos por esta técnica se muestran en las figuras 9, 10 y 11. Se muestran pequeñas variaciones entre un perfil y el otro, pero con base al criterio de Tenover y Goering (86, 87) se clasifican como clonas altamente relacionadas genéticamente y epidemiológicamente son la misma clona.

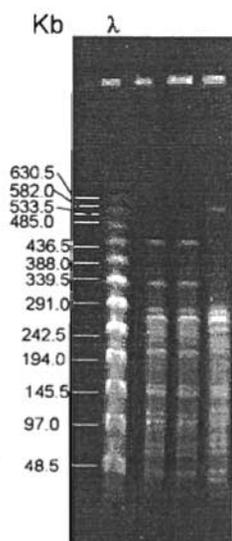


Figura 9

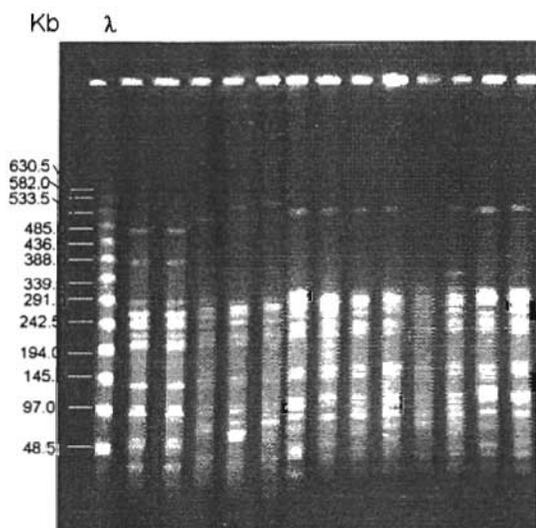


Figura 10

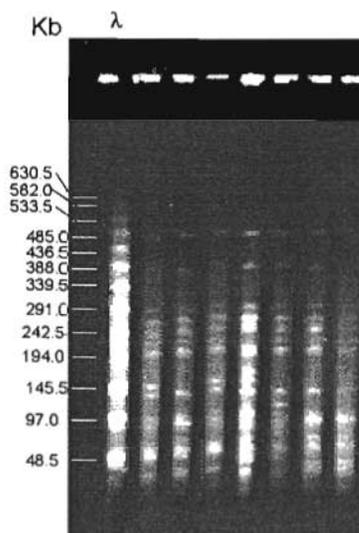


Figura 11

**Figura 9, 10 y 11.** Huella digital genómica observada en las 23 cepas incluidas en la denominada Clona 2 por PFGE.

9 cepas fueron agrupadas dentro de la Clona 10 y 3 cepas presentaron el mismo perfil de bandeo de la denominada Clona 21.

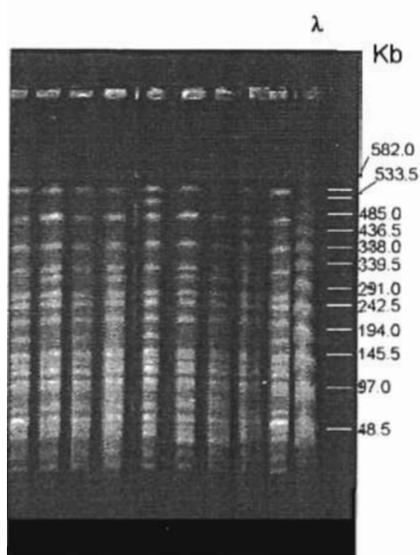


Figura 12

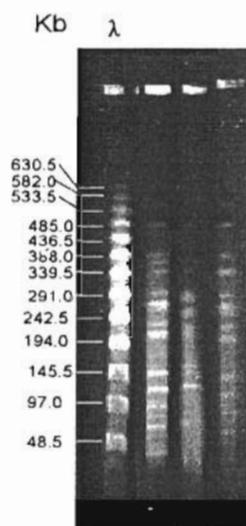


Figura 13

Figura 12. 9 cepas de la denominada Clona 10.  
Figura 13. 3 cepas pertenecientes a la Clona 21.

Dentro de la Clona 27 se encontraron 7 cepas diferentes y 2 cepas se encontraron compartiendo el mismo perfil de PFGE, por lo que fueron agrupadas dentro de la denominada Clona 30.

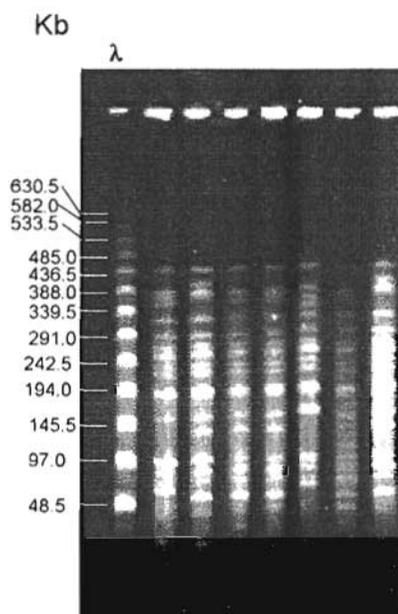


Figura 14

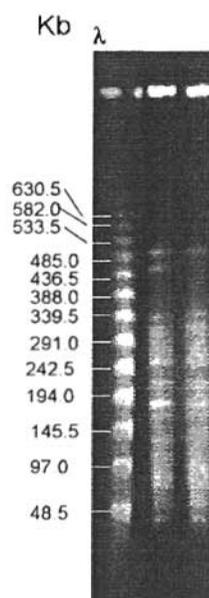


Figura 15

**Figura 14.** 7 cepas que presentaron huella digital genómica característica de la clona 27.

**Figura 15.** La clona 30 contó con 2 cepas que presentaron el mismo bandeo.

La clona 32, al igual que en la clona 35, tiene dos cepas relacionadas genéticamente.

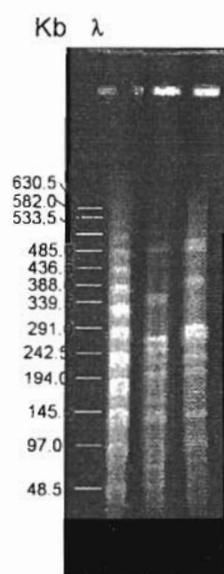


Figura 16

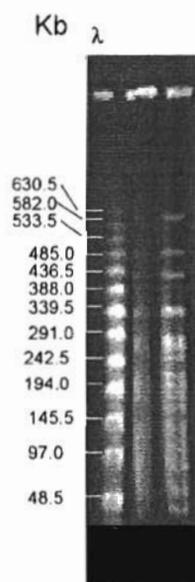


Figura 17

Figura 16. En la clona 32 se incluyeron 2 cepas.

Figura 17. 2 cepas que tuvieron la misma huella digital genómica de la clona 35.

En la Clona 36 fueron agrupadas 3 cepas que compartieron el mismo patrón de restricción realizado con la enzima *Xba*I y 2 cepas fueron agrupadas en la Clona 53, al presentar bandas compartidas en ambas cepas.

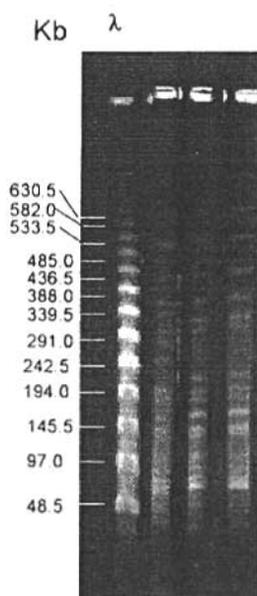


Figura 18

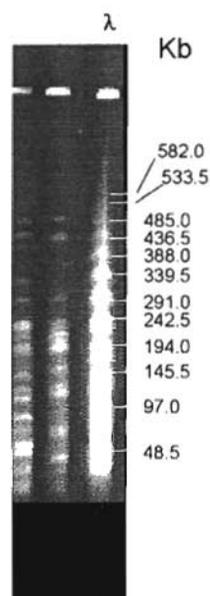


Figura 19

Figura 18. 3 cepas pertenecientes a la clona denominada 36,  
 Figura 19. La clona 53 se presentó con 2 cepas.

Con los resultados obtenidos por la técnica de electroforesis en geles por campos pulsados las cepas que aparecieron estar relacionadas fueron las siguientes:

**Tabla 11.** Cepas con el mismo patrón de restricción con *Xba*I resuelto por PFGE

Cepas Genéticamente Relacionadas por PFGE
030-02, 031-02, 034-02, 051-02, 057-02, 065-02, 071-02, 074-02, 079-02, 081-02, 082-02, 083-02, 084-02, 085-02, 088-02, 138-02, 149-02, 303-02, 304-02, 307-02, 318-02, 328-02, 329-02
033-02
037-02
036-02
038-02
039-02
040-02, 041-02, 054-02, 056-02, 058-02, 060-02, 062-02, 068-02, 069-02
043-02
047-02
048-02
052-02
053-02
055-02
059-02
061-02
066-02, 067-02, 140-02
070-02
087-02, 089-02, 146-02, 156-02, 298-02, 300-02, 301-02
141-02
148-02, 139-02
142-02
143-02, 153-02
137-02
151-02, 310-02
152-02, 145-02, 147-02
154-02
159-02
302-02
160-02
306-02
305-02
308-02
309-02
313-02
319-02
320-02
324-02, 325-02
326-02
316-02
327-02
330-02
312-02

#### **5.4. Caracterización de Huella Digital Genómica por Electroforesis por Amplificación Aleatoria de ADN (RAPD):**

Al no poder determinarse el patrón de restricción por XbaI de 19 de las *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> por PFGE, posiblemente debido a las mismas endonucleasas presentes en éstas, fue necesario buscar otro método de genotipificación en el cual pudieran ser incluidas éstas 19 cepas.

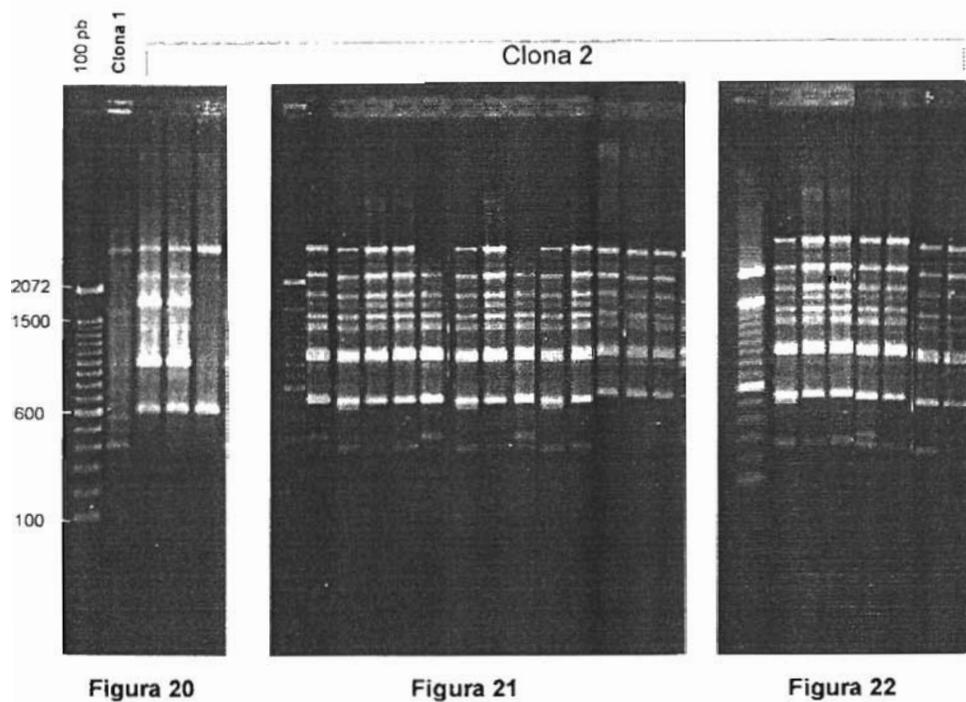
Debido a la facilidad y la disponibilidad de los equipos necesarios, se decidió realizar la estandarización de tres metodologías diferentes para llevar a cabo RAPD.

##### **5.4.1. RAPD 1**

Se procedió a la estandarización inicial de esta técnica con cepas controles y posteriormente se analizaron las 105 cepas previamente caracterizadas por PFGE.

La Clona 1 fue una de las muestras de las cuales no pudo determinarse la clonalidad por PFGE, y muestra un patrón diferente al de todas las demás muestras.

Las 23 cepas de la Clona 2 mostraron tener la misma huella digital genómica mediante este análisis entre ellas.



**Figura 20**

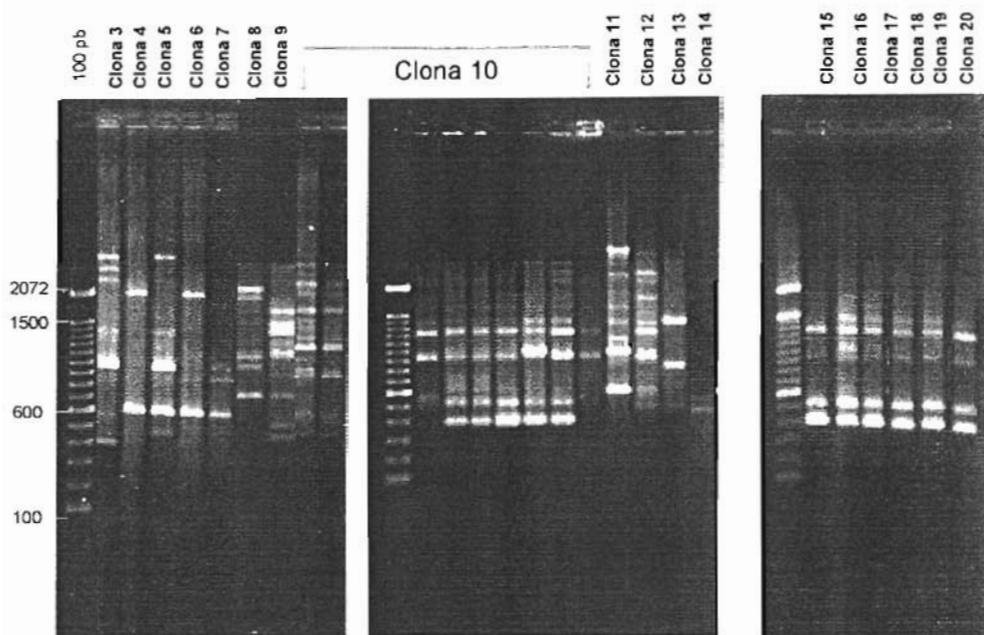
**Figura 21**

**Figura 22**

**Figura 20.** Huella digital genómica de la Clona 1 y el de 3 cepas de la Clona 2 obtenidas por RAPD1.

**Figura 21.** 13 cepas de la Clona 2, con el mismo perfil de bandeo entre sí.

**Figura 22.** Las 7 últimas cepas que se encontraron formaban parte de la Clona 2.



**Figura 23**

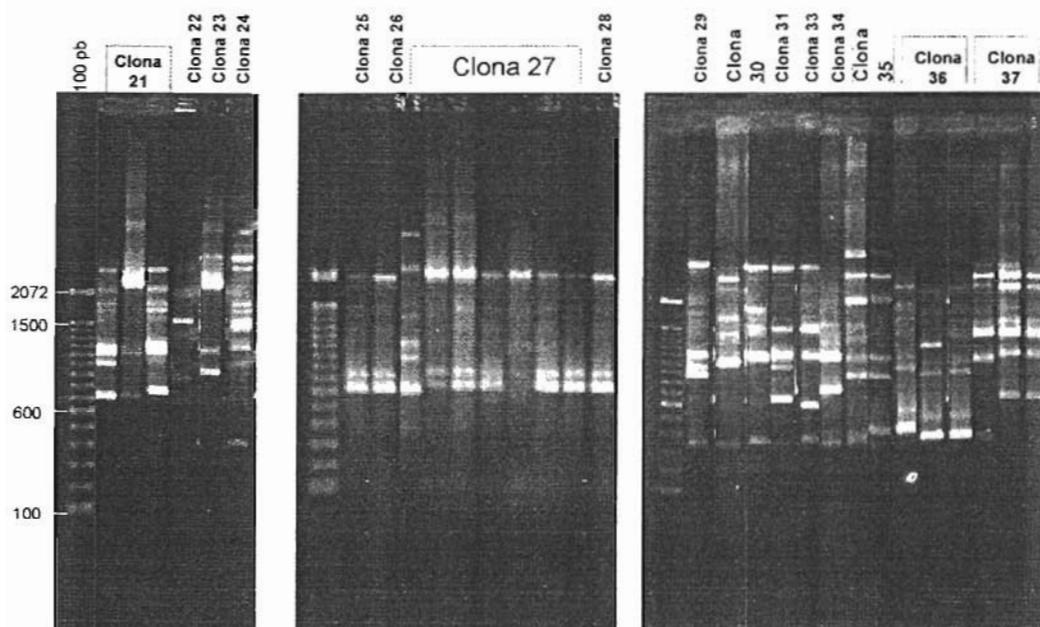
**Figura 24**

**Figura 25**

**Figura 23.** Perfil de bandeo de las Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y de 2 cepas de la Clona 10.

**Figura 24.** Patrón obtenido por RAPD1 para 7 de las cepas que forman parte de la Clona 10 y para las cepas identificadas como Clona 11, 12, 13 y 14 respectivamente.

**Figura 25.** Huella digital genómica para las Clonas 15, 16, 17, 18, 19 y 20 por RAPD1.



**Figura 26**

**Figura 27**

**Figura 28**

**Figura 26.** 3 Cepas de la Clona 21 y las cepas que fueron identificadas como Clona 22, 23 y 24.

**Figura 27.** Cepas de la Clona 25, 26 y 28 y las 7 cepas de la Clona 27

**Figura 28.** Huella digital genómica obtenido por RAPD1 para las cepas pertenecientes a las Clonas 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 y 37.

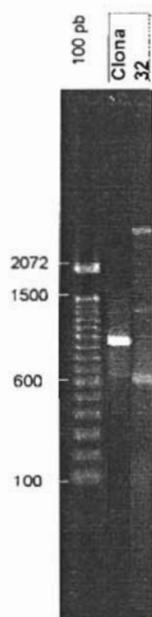


Figura 29

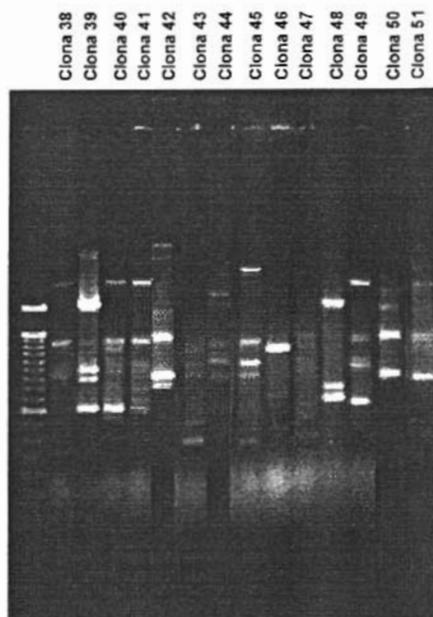


Figura 30

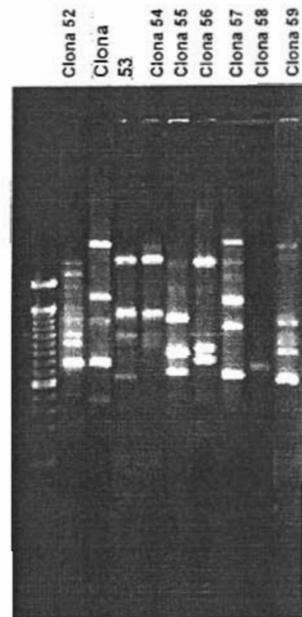


Figura 31

**Figura 29.9** Las 2 cepas incluidas en la Clona 32.

**Figura 30.** Perfil de bandeado obtenido por RAPD1 para las cepas de las Clonas 38 a la 51

**Figura 31.** Genotipificación de las cepas de la Clona 52 a 59 por RAPD1.

Con esta técnica, las cepas que presentaron la misma huella digital genómica fueron las siguientes:

Tabla 12. Cepas con el mismo perfil de RAPD1.

Cepas Genéticamente Relacionadas por RAPD1
029-02
030-02, 031-02, 034-02, 051-02, 057-02, 065-02, 071-02, 074-02, 079-02, 081-02, 082-02, 083-02, 084-02, 085-02, 088-02, 138-02, 149-02, 303-02, 304-02, 307-02, 318-02, 328-02, 329-02
032-02
035-02, 037-02
033-02
036-02
038-02
039-02
040-02, 041-02, 054-02, 056-02, 058-02, 060-02, 062-02, 068-02, 069-02, 050-02, 052-02, 053-02, 055-02, 059-02, 061-02
043-02
045-02
047-02
048-02
067-02
066-02, 140-02
063-02
070-02
064-02
076-02, 078-02, 087-02, 086-02, 089-02, 146-02, 156-02, 298-02, 300-02, 301-02
141-02
148-02, 139-02
142-02
143-02
153-02
137-02
150-02
151-02, 310-02
152-02, 145-02, 147-02
154-02, 155-02, 157-02
158-02
159-02
302-02, 160-02
306-02
305-02
299-02
308-02
309-02
313-02
319-02
311-02
320-02
322-02
323-02
324-02, 325-02
326-02
316-02
327-02

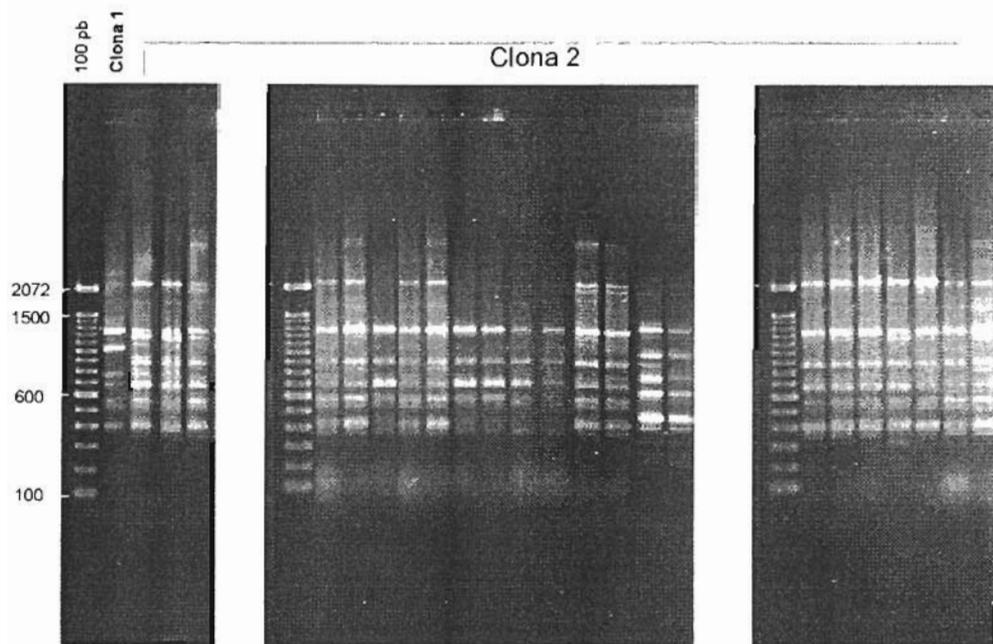
Cepas Genéticamente Relacionadas por RAPD1	
	330-02
	317-02
	312-02

**Tabla 12. Cont.:** Cepas con el mismo perfil de RAPD1

Al no tener un poder de discriminación similar al de la técnica de PFGE, se decidió llevar a cabo otras dos metodologías diferentes, una de las cuales (RAPD2) fue empleada anteriormente por Aslam *et. al.* en el 2003 (6), el cual afirmó tener buenos resultados para la diferenciación genética en cepas de *Escherichia coli*. La otra técnica empleada (RAPD3) fue una combinación de la utilizada por Aslam y la empleada anteriormente por un Velarde en el laboratorio.

Los resultados obtenidos de dichas metodologías se muestran a continuación.

#### 5.4.2. RAPD 2:



**Figura 32**

**Figura 33**

**Figura 34**

**Figura 32.** Huella digital genómica de la Clona 1 y el de 3 cepas de la Clona 2 obtenidas por RAPD2.

**Figura 33.** 13 cepas de la Clona 2, con el mismo perfil de bandeos entre sí.

**Figura 34.** Las 7 últimas cepas que se encontraron formaban parte de la Clona 2

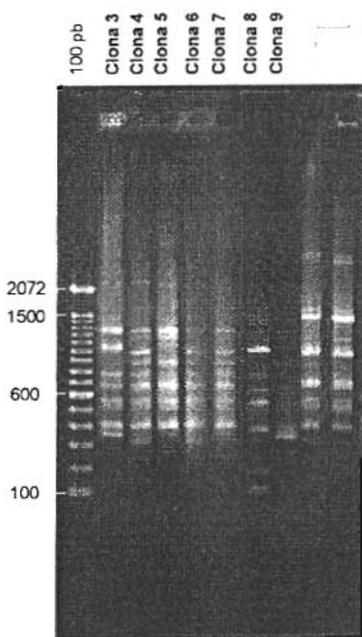


Figura 35

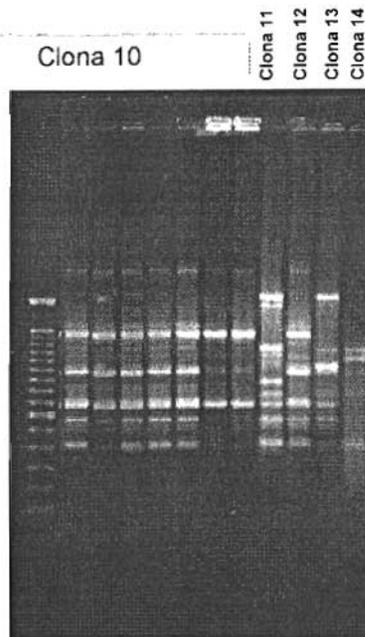


Figura 36

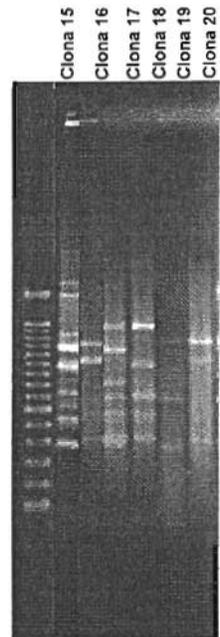
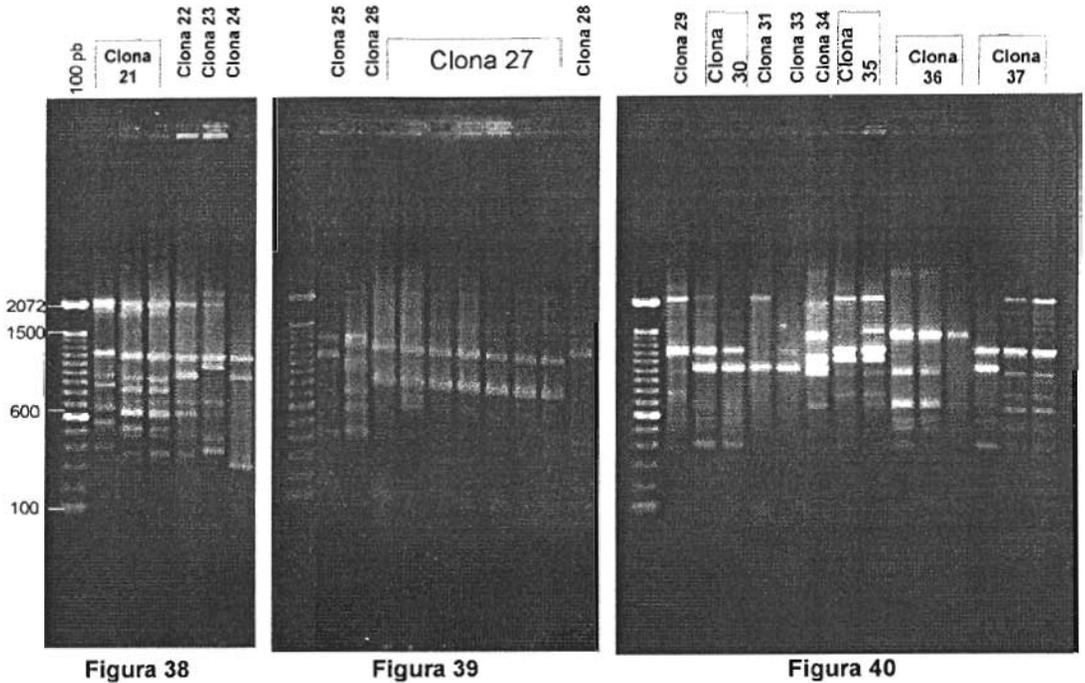


Figura 37

**Figura 35.** Perfil de bandeo de las Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y de 2 cepas de la Clona 10.

**Figura 36.** Genotipificación por RAPD2 para 7 de las cepas que forman parte de la Clona 10 y para las cepas identificadas como Clona 11, 12, 13 y 14 respectivamente.

**Figura 37.** Huella digital genómica obtenida para las Clonas 15, 16, 17, 18, 19 y 20 por RAPD2.



**Figura 38.** 3 Cepas de la Clona 21 y las cepas que fueron identificadas como Clona 22, 23 y 24.

**Figura 39.** Genotipificación por RAPD2 de cepas de la Clona 25, 26 y 28 y las 7 cepas de la Clona 27.

**Figura 40.** Huella digital genómica por RAPD2 para las cepas pertenecientes a las Clonas 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 y 37.

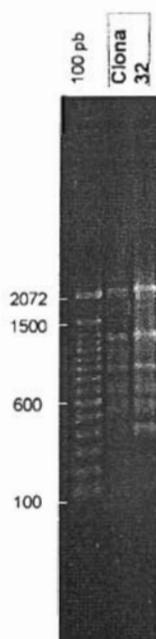


Figura 41

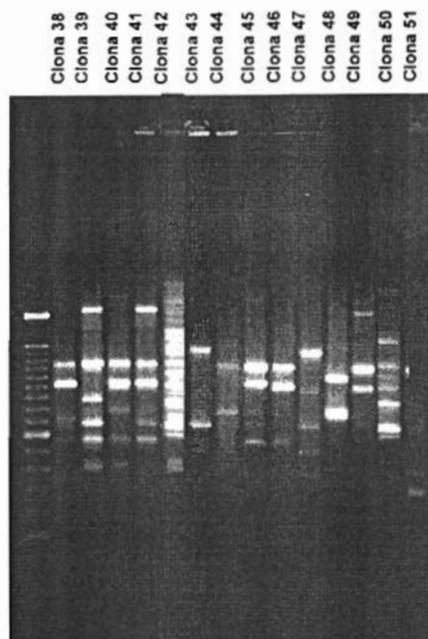


Figura 42

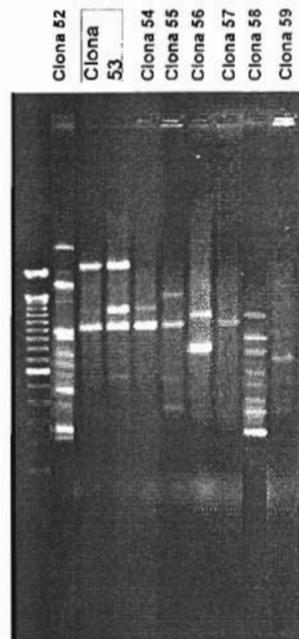


Figura 43

**Figura 41.** Las 2 cepas incluidas en la Clona 32.

**Figura 42.** Perfil de bandeo obtenido por RAPD2 para las cepas de las Clonas 38 a la 51

**Figura 43.** Genotipificación de las cepas de la Clona 52 a 59 por RAPD2.

Mediante esta técnica las cepas que mostraron la misma huella digital genómica fueron las siguientes:

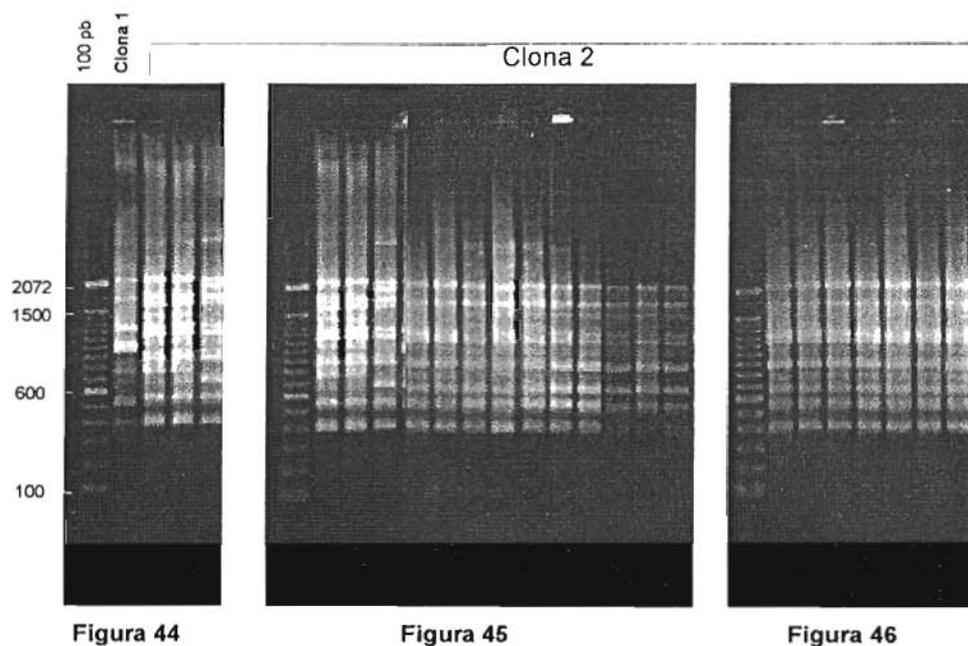
Tabla 13. Cepas que compartieron el perfil obtenido por RAPD2.

Cepas Genéticamente Relacionadas por RAPD2
029-02
030-02, 031-02, 034-02, 051-02, 057-02, 065-02, 071-02, 074-02, 079-02, 081-02, 082-02, 083-02, 084-02, 085-02, 088-02, 138-02, 149-02, 303-02, 304-02, 307-02, 318-02, 328-02, 329-02
032-02, 035-02, 033-02, 037-02, 036-02
038-02
039-02
040-02, 041-02, 054-02, 056-02, 058-02, 060-02, 062-02, 068-02, 069-02, 045-02
043-02
047-02
048-02
050-02
052-02
053-02
055-02
059-02
061-02
066-02, 067-02, 140-02
063-02
070-02
064-02
076-02
078-02
087-02, 089-02, 146-02, 156-02, 298-02, 300-02, 301-02
086-02
141-02
148-02, 139-02
142-02
143-02, 153-02
137-02
150-02
151-02, 310-02
152-02, 145-02, 147-02
154-02, 155-02, 157-02
158-02
159-02
302-02
160-02
306-02
305-02
299-02
308-02, 309-02
313-02
319-02
311-02
320-02
322-02
323-02
324-02, 325-02
326-02

Cepas Genéticamente Relacionadas por RAPD2	
	316-02
	327-02
	330-02
	317-02
	312-02

**Tabla 13. Cont.:** Cepas que compartieron el perfil obtenido por RAPD2.

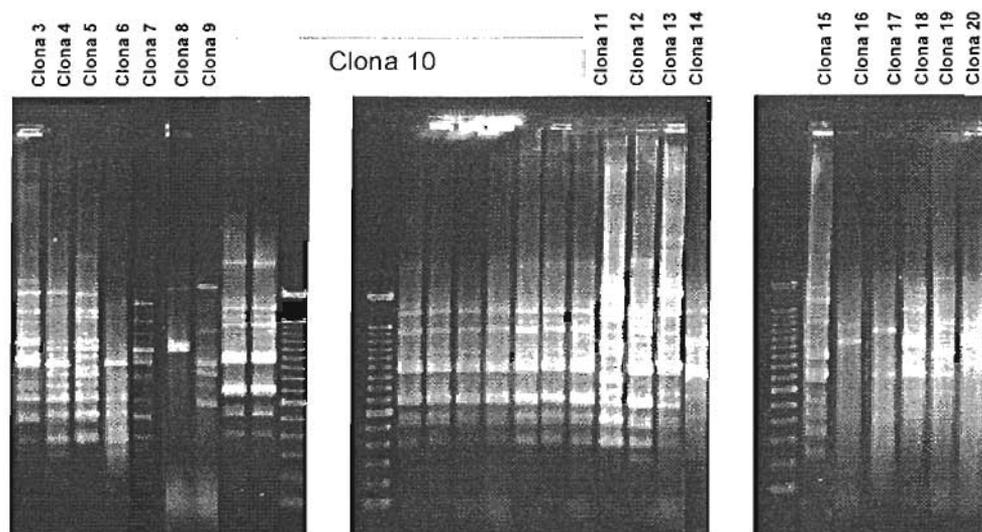
#### 5.4.3. RAPD 3:



**Figura 44.** Huella digital genómica de la Clona 1 y I de 3 cepas de la Clona 2 obtenidas por RAPD3.

**Figura 45.** 13 cepas de la Clona 2, con el mismo perfil de bandeo entre sí.

**Figura 46.** Genotipificación de las 7 últimas cepas que se encontraron formaban parte de la Clona 2.



**Figura 47**

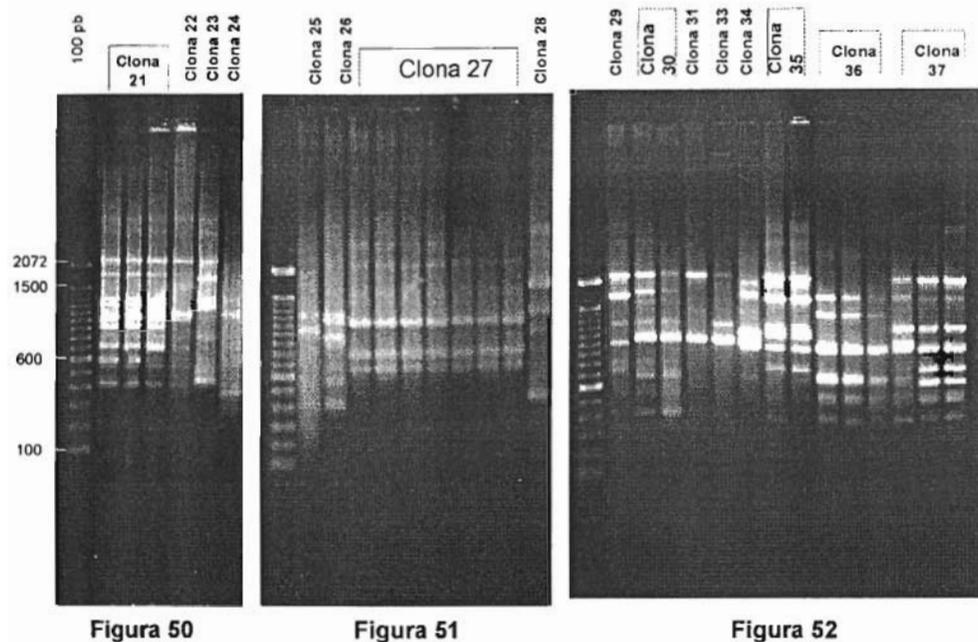
**Figura 48**

**Figura 49**

**Figura 47.** Perfil de bandeo de las Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y de 2 cepas de la Clona 10.

**Figura 48.** Genotipificación por RAPD3 para 7 de las cepas que forman parte de la Clona 10 y para las cepas identificadas como Clona 11, 12, 13 y 14 respectivamente.

**Figura 49.** Huella digital genómica de las Clonas 15, 16, 17, 18, 19 y 20 por RAPD3.



**Figura 50.** 3 Cepas de la Clona 21 y las cepas que fueron identificadas como Clona 22, 23 y 24.

**Figura 51.** Huella digital genómica de las Cepas pertenecientes a las Clonas 25, 26 y 28 y las 7cepas de la Clona 27.

**Figura 52.** Patrón de bandeo obtenido por RAPD3 para las cepas pertenecientes a las Clonas 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 y 37.

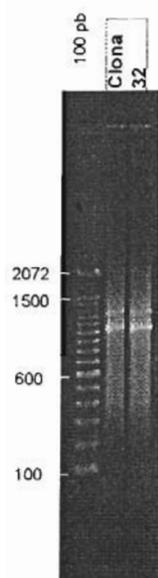


Figura 53

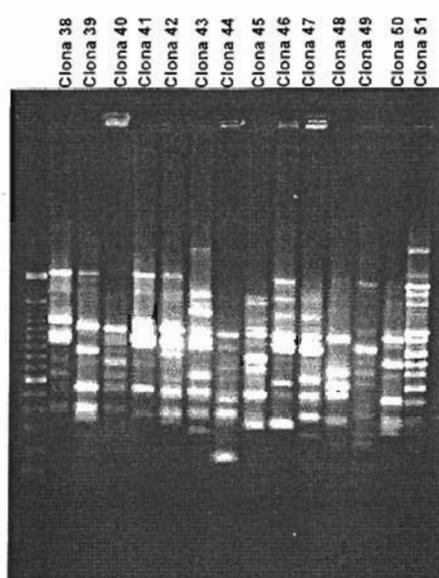


Figura 54

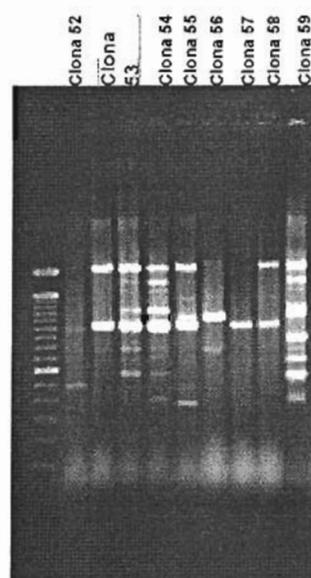


Figura 55

**Figura 53.** Huella digital genómica por RAPD3 de las 2 cepas incluidas en la Clona 32.

**Figura 54.** Perfil de bandeos obtenido por RAPD3 para las cepas de las Clonas 38 a la 51

**Figura 55.** Genotipificación de las cepas de la Clona 52 a 59 por RAPD3.

Mediante esta técnica las cepas que presentaron una huella digital genómica similar fueron:

**Tabla 14.** Cepas con el mismo patrón obtenido por RAPD3.

Cepas Genéticamente Relacionadas por RAPD3
029-02
030-02, 031-02, 034-02, 051-02, 057-02, 065-02, 071-02, 074-02, 079-02, 081-02, 082-02, 083-02, 084-02, 085-02, 088-02, 138-02, 149-02, 303-02, 304-02, 307-02, 318-02, 328-02, 329-02, 032-02, 035-02, 033-02
037-02
036-02
038-02
039-02
040-02, 041-02, 054-02, 056-02, 058-02, 060-02, 062-02, 068-02, 069-02
043-02
045-02
047-02
048-02, 050-02

Cepas Genéticamente Relacionadas por RAPD3
052-02
053-02
055-02
059-02
061-02
066-02, 067-02, 140-02
063-02
070-02
064-02
076-02
078-02
087-02, 089-02, 146-02, 156-02, 298-02, 300-02, 301-02
086-02
141-02, 148-02, 139-02
142-02
143-02, 153-02
137-02
150-02
151-02, 310-02
152-02, 145-02, 147-02
154-02, 155-02, 157-02
158-02
159-02
302-02
160-02
306-02
305-02
299-02
308-02
309-02
313-02
319-02
311-02
320-02
322-02
323-02
324-02, 325-02
326-02
316-02
327-02
330-02
317-02
312-02

**Tabla 14. Cont.:** Cepas con el mismo patrón obtenido por RAPD3.

Mediante el análisis realizado con las tres metodologías de RAPD empleadas, fue posible obtener un poder de discriminación similar al obtenido por PFGE. Las cepas que por las tres técnicas mostraron una huella digital genómica entre sí, fueron colocadas como pertenecientes a una misma clona, siempre tomando también en cuenta el resultado obtenido por PFGE. Aquellas cepas que tuvieron un mismo perfil

de restricción por PFGE fueron colocadas en una misma clona aunque no se cumpliera lo mismo por RAPD, esto debido a que la técnica de electroforesis por campos pulsados es la considerada como estándar de oro para genotipificar. Tomando esto en cuenta, las cepas agrupadas en cada clona son las siguientes:

**Tabla 15.** Cepas agrupadas en cada clona mediante la genotipificación por Amplificación Aleatoria de ADN y Electroforesis en Gel por Campos Pulsados.

CLONA	# CEPA
1	029-02
2	030-02, 031-02, 034-02, 051-02, 057-02, 065-02, 071-02, 074-02, 079-02, 081-02, 082-02, 083-02, 084-02, 085-02, 088-02, 138-02, 149-02, 303-02, 304-02, 307-02, 318-02, 328-02, 329-02
3	032-02
4	035-02
5	033-02
6	037-02
7	036-02
8	038-02
9	039-02
10	040-02, 041-02, 054-02, 056-02, 058-02, 060-02, 062-02, 068-02, 069-02
11	043-02
12	045-02
13	047-02
14	048-02
15	050-02
16	052-02
17	053-02
18	055-02
19	059-02
20	061-02
21	066-02, 067-02, 140-02
22	063-02
23	070-02
24	064-02
25	076-02
26	078-02
27	087-02, 089-02, 146-02, 156-02, 298-02, 300-02, 301-02
28	086-02
29	141-02
30	148-02, 139-02
31	142-02
32	143-02, 153-02
33	137-02
34	150-02
35	151-02, 310-02
36	152-02, 145-02, 147-02
37	154-02, 155-02*, 157-02*
38	158-02
39	159-02
40	302-02
	* Cepas que no pudieron ser analizadas por PFGE debido a degradación persistente del ADN

CLONA	# CEPA
41	160-02
42	306-02
43	305-02
44	299-02
45	308-02
46	309-02
47	313-02
48	319-02
49	311-02
50	320-02
51	322-02
52	323-02
53	324-02, 325-02
54	326-02
55	316-02
56	327-02
57	330-02
58	317-02
59	312-02

\* Cepas que no pudieron ser analizadas por PFGE debido a degradación persistente del ADN.

**Tabla 15. Cont.:** Cepas agrupadas en cada clona mediante la genotipificación por RAPD y PFGE.

De esta manera, podemos decir que la técnica de RAPD tiene una mayor capacidad para tipificar que PFGE, ya que no se pudo obtener la huella digital genómica de todas las cepas por PFGE y sí por RAPD (**Tabla 16**).

**Tabla 16.** Capacidad para tipificar de cada metodología empleada.

Técnica de Tipificación	Cantidad de Cepas Tipificables	Cantidad de Cepas No Tipificables
PFGE	86/105	19/105
RAPD1	105/105	0/105
RAPD2	105/105	0/105
RAPD3	105/105	0/105

### 5.5. Perfil de plásmidos:

Para observar el número de plásmidos presentes en cada una de las cepas en estudio, se llevó a cabo la extracción de los mismos mediante la técnica de lisis alcalina. Los plásmidos fueron resueltos en geles de agarosa al 0.4% conteniendo cada gel un

marcador de 1 Kb, 23 Kb, los plásmidos de *Klebsiella pneumoniae* (80 y 160 Kb respectivamente) y de *Escherichia coli* RP4 (54Kb).

A continuación se muestran los plásmidos presentes en cada una de las cepas, divididos por clonas.

La Clona 1 presentó dos plásmidos, uno de aproximadamente 54Kb y el otro de 100Kb. Las 23 cepas de la Clona 2 presentaron gran variabilidad en cuanto a los plásmidos contenidos en cada una de ellas. Las cepas incluidas en esta Clona presentaron de 2 a 9 plásmidos diferentes. El único plásmido que parece conservarse es el que es mayor a las 54Kb.

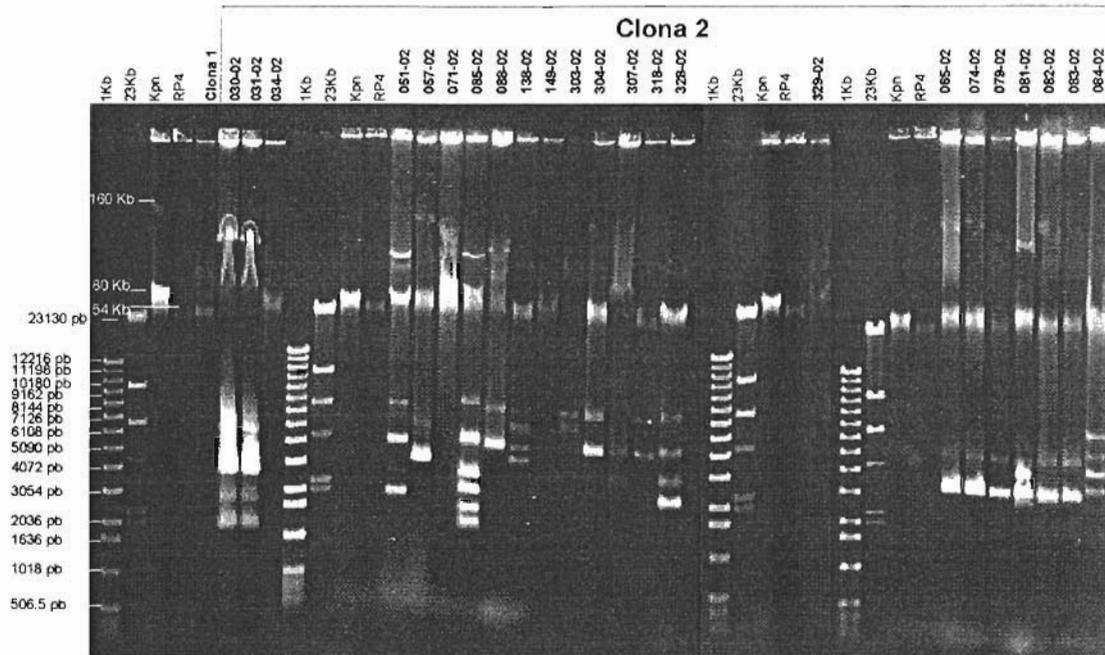


Figura 56

**Figura 56.** Cuatro gels mostrando los plásmidos contenidos en la cepa de la Clona 1 y en las 23 cepas de la Clona 2. Cada gel presenta los cuatro marcadores de peso molecular empleados.

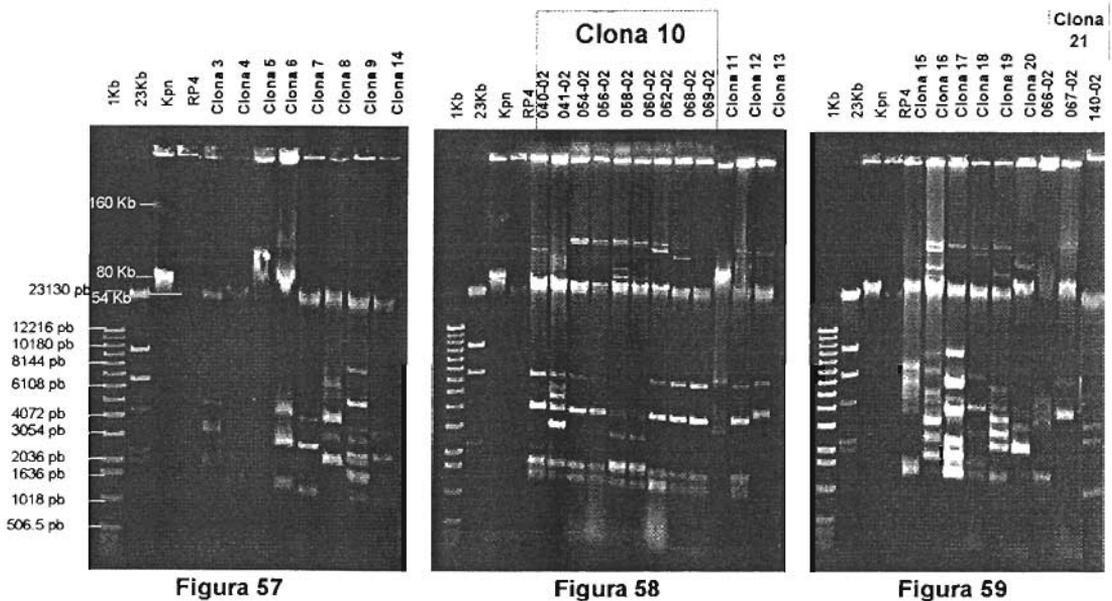
La cepa de la Clona 3 presentó 6 plásmidos, la de la Clona 4, 4 plásmidos, la Clona 5, 2 plásmidos, la cepa de la Clona 6, 7 plásmidos, la Clona 7, 6 plásmidos, la Clona 8, 7

plásmidos, la Clona 9, 13 plásmidos y la Clona 14, 6 plásmidos. Todas ellas tienen un plásmido de aproximadamente 54Kb.

Las 9 cepas de la Clona 10 siguen un patrón similar de plásmidos, que van de los 8 a los 12 plásmidos, aunque comparte un plásmido de aproximadamente 120Kb, uno de aproximadamente 70Kb y otro de aproximadamente 54Kb así como otros dos de entre 2 y 1.6 Kb.

La Clona 11 presentó 7 plásmidos, la Clona 12 se encontró que contenía 9 plásmidos, la 13, 6 plásmidos al igual que Clona 14.

La Clona 15 contuvo 7 plásmidos, a diferencia de la Clona 16, que presentó 14 plásmidos, pero la cepa en la que mayor cantidad de plásmidos se observaron fue la de la Clona 17, con 19 plásmidos en total. La cepa de la Clona 18 presentó 9 plásmidos, la de la Clona 19, 10 plásmidos, la de la Clona 20 6 plásmidos y las cepas de la Clona 21 presentaron de 4 a 7 plásmidos. 2 de dichas cepas presentaron el tres plásmidos iguales, pero entre las 3 solo se observó que compartían un solo plásmido, el de mayor tamaño.



**Figura 57.** Plásmidos presentes en las cepas de las Clonas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

**Figura 58.** Patrón de los plásmidos presentes en las cepas de la Clona 10 y las cepas de las Clonas 11, 12 y 13.

**Figura 59.** Huella digital plasmídica de las clonas 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

La cepa de la Clona 22 se encontró que tenía 3 plásmidos, la Clona 23, 8 plásmidos y la cepa de la Clona 24, 6 plásmidos. En la Clona 25 se observaron 8 plásmidos, mientras que en la Clona 26 solo se presentaron 4.

Las 7 cepas de la Clona 27 presentaron al menos un plásmido de aproximadamente 54Kb en común, aunque llegaron a tener de 6 a 11 plásmidos. 3 plásmidos fueron encontrados en la Clona 28 y 8 plásmidos en la Clona 29.

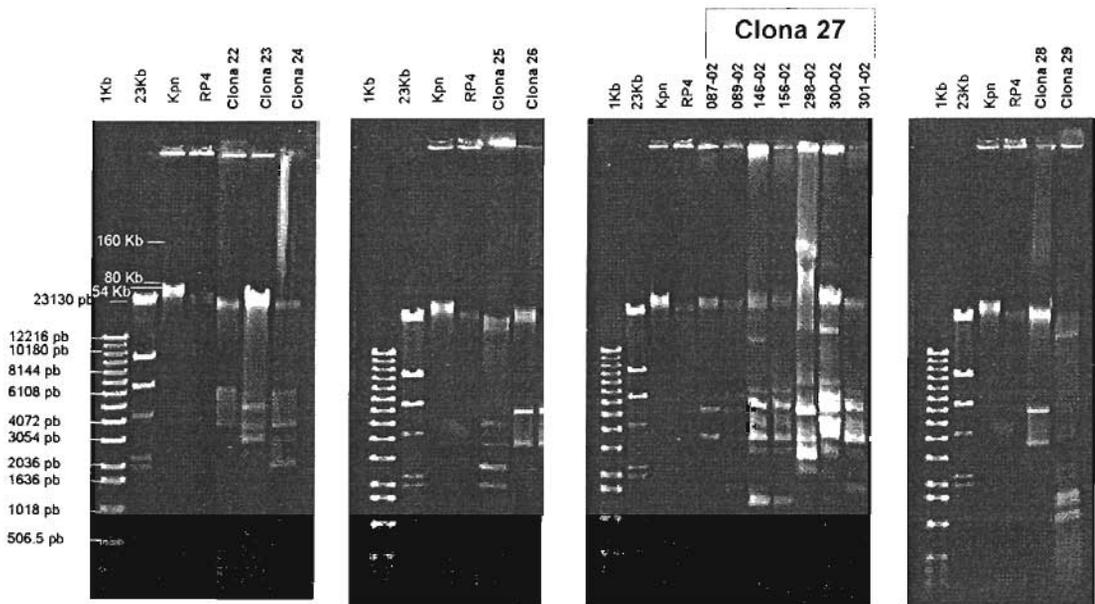


Figura 60

Figura 61

Figura 62

Figura 63

**Figura 60.** Plásmidos de las Clonas 22, 23 y 24.

**Figura 61.** Patrón de plásmidos de las Clonas 25 y 26

**Figura 62.** Plásmidos aislados de las 7 cepas de la Clona 27.

**Figura 63.** Huella digital plasmídica de las cepas que fueron identificadas como Clona 28 y 29.

Las 2 cepas de la Clona 30 presentaron los mismos 6 plásmidos, a diferencia de las 2 cepas de la Clona 32, en las cuales se observaron 9 y 11 plásmidos respectivamente. En la Clona 31 se observaron únicamente 2 plásmidos.

Los plásmidos de las cepas de la Clona 34, así como 2 de las cepas de la Clona 36 y la Clona 37 no pudieron extraerse y resolverse por electroforesis debido a que únicamente se observó degradación del ADN purificado, sin embargo, los plásmidos de la Clona 33 pudieron extraerse satisfactoriamente, siendo un total de 3, y de las dos cepas de la Clona 35 que van de 9 a 11 plásmidos, compartiendo prácticamente todos los plásmidos entre ellas. En una de las cepas de la Clona 36 se encontraron 8 plásmidos y 6 en otra cepa de la Clona 37. Los plásmidos extraídos de la Clona 38 y 39 fueron 6 y 4 respectivamente.

5 plásmidos fueron aislados de la cepa denominada Clona 40, 12 de la Clona 41, 4 de la Clona 42, 6 de la Clona 43 y 5 plásmidos de la Clona 44.

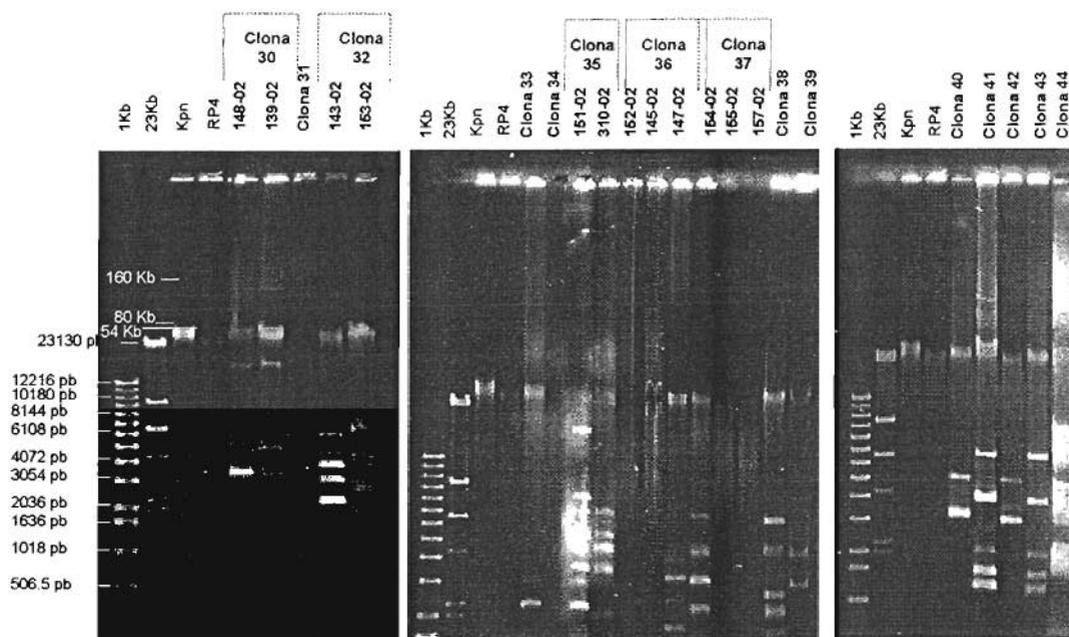


Figura 64

Figura 65

Figura 66

**Figura 64.** Plásmidos contenidos en las 2 cepas de la Clona 30, y 32, así como la cepa de la Clona 31.

**Figura 65.** Huella digital plasmídica de las Clonas 33 a 39.

**Figura 66.** Perfil de plásmidos de las cepas pertenecientes a las Clona 40, 41, 42, 43 y 44.

Los plásmidos extraídos de la Clona 45 a la 50 fueron 4, 1, 9, 7, 8 y 8 respectivamente. En 2 Clonas diferentes (Clona 51 y 52) se encontraron el mismo número de plásmidos y del mismo tamaño, pudiendo ser exactamente los mismos, aunque habría que hacer otros estudios para determinar si efectivamente lo son, mientras que en las dos cepas de la Clona 53 se encontraron plásmidos diferentes, compartiendo únicamente los de mayor tamaño. En esta clona se encontraron 12 y 9 plásmidos en cada cepa respectivamente. De la Clona 54 se aislaron 8 plásmidos, en la Clona 55, 7 plásmidos, de la 56 se purificaron 12 plásmidos, 6 plásmidos de la Clona 57; en la 58 se encontraron 7 plásmidos y finalmente, en la Clona 59, 1 plásmido.

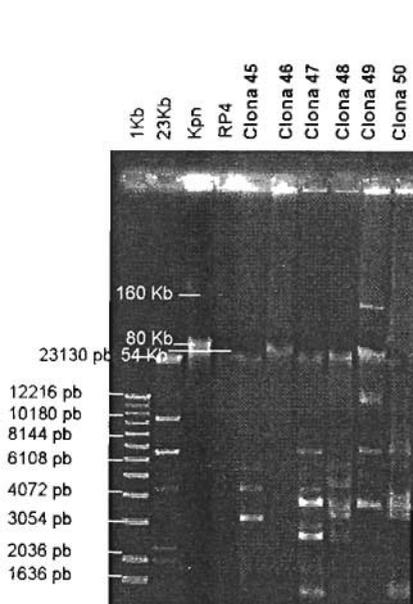


Figura 67

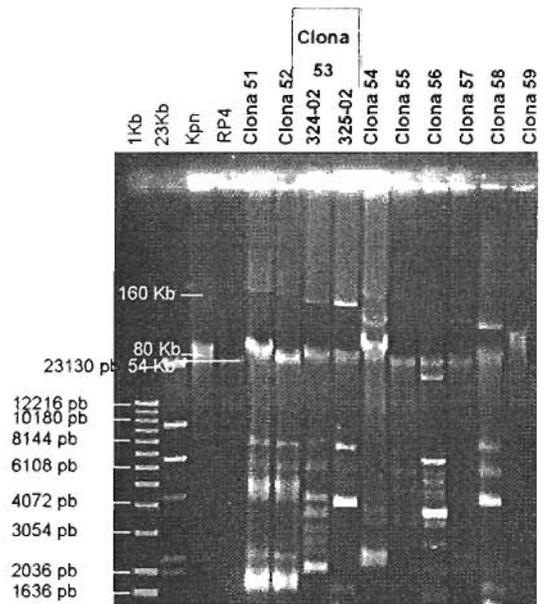


Figura 68

**Figura 67.** Plásmidos de las Clonas 45 a 50.

**Figura 68.** Perfil de los plásmidos contenidos en las cepas que forman parte de las Clonas 51 a 59.

**5.6. Análisis de cepas por clona:**

**5.6.1. CLONA 2:**

Esta fue la Clona que mayor número de cepas en estudio presentó y por mas tiempo. 23 cepas fueron identificadas como pertenecientes a este grupo.

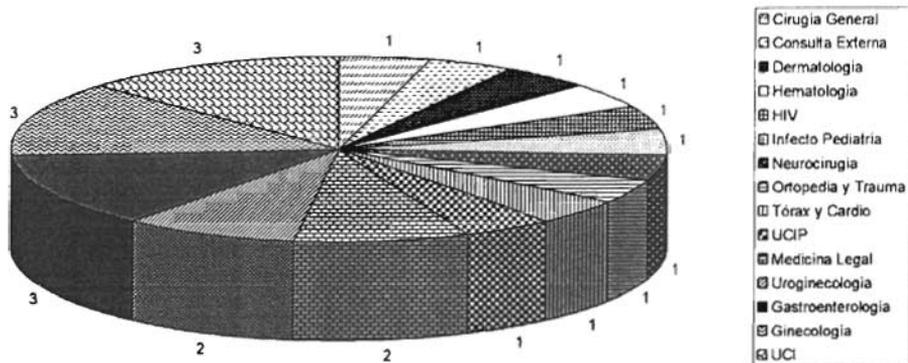
La Clona 2 se presentó durante todo el estudio, de febrero de 2002 a abril de 2004 (**Tabla 17**). Probablemente las diferencias en cuanto a los plásmidos contenidos en esta clona, que van de 1 a 9 diferentes plásmidos en cada cepa, conservándose solamente uno de peso mayor a las 54 Kb en todas las cepas, sea debido a la gran cantidad de tiempo que esta Clona estuvo presente en el HCG.

**Tabla 17.** Cantidad de cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> de la Clona 2 aisladas por cada mes del estudio.

MES	# de Cepas de la Clona 2 Aisladas cada mes
Feb-02	2
Mar-02	-
Abr-02	-
May-02	1
Jun-02	-
Jul-02	-
Ago-02	-
Sep-02	-
Oct-02	-
Nov-02	-
Dic-02	1
Ene-03	-
Feb-03	1
Mar-03	1
Abr-03	1
May-03	-
Jun-03	1
Jul-03	2
Ago-03	4
Sep-03	1
Oct-03	-
Nov-03	-
Dic-03	-
Ene-04	2
Feb-04	4
Mar-04	-
Abr-04	2

La Clona 2 fue aislada en 15 diferentes servicios hospitalarios del HCG, sin predominancia de alguno en particular. (**Gráfica 5**)

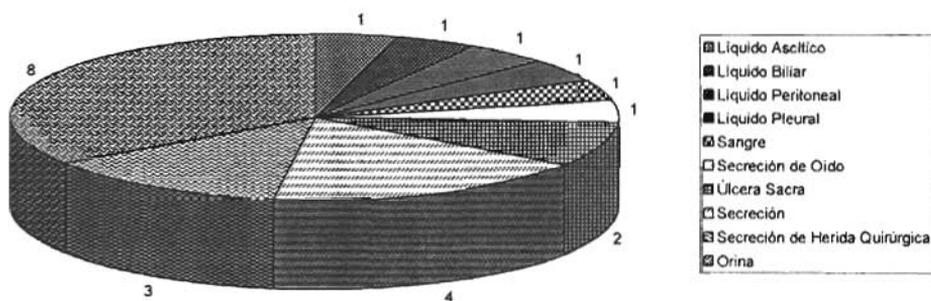
Servicio Hospitalario de Origen de Cepas de la Clona 2



**Gráfica 5.** Cantidad de muestras recibidas de cada servicio hospitalario de los cuales las cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> identificadas como pertenecientes a la Clona 2 fueron aisladas.

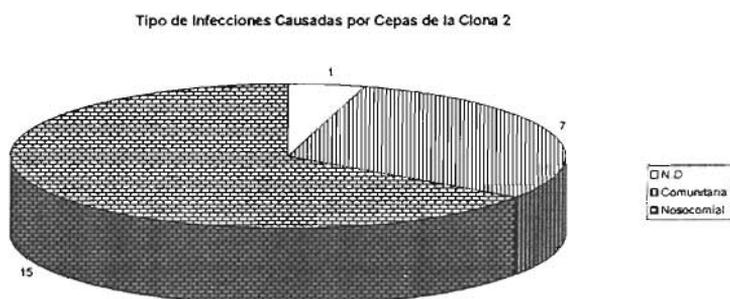
Al igual que en las muestras totales, la orina fue la muestra de la cual la mayor cantidad de las cepas de la Clona 2 fueron aisladas, seguida por secreciones y por secreciones de herida quirúrgica, sin embargo, también fueron aisladas de sangre, líquido pleural, peritoneal, biliar y ascítico, así como de secreción de oído y úlcera sacra (**Gráfica 6**).

Origen de la Muestra de Cepas de la Clona 2



**Gráfica 6.** Número de cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> pertenecientes a la Clona 2 aisladas de cada una de las diferentes muestras obtenidas.

De la misma manera, las cepas de la Clona 2 fueron causantes de infecciones nosocomiales principalmente, pero también hubo una buena cantidad de cepas aisladas en la comunidad, por lo cual se puede decir que posiblemente ésta sea una Clona que se encuentra ampliamente distribuida en la comunidad y que debido a eso fue posible su persistencia durante todo ese tiempo en el HCG. (**Gráfica 7**)



**Gráfica 7.** Tipo de infección causada por cada cepa perteneciente a la Clona 2.

Aunque se trataron de cepas que genéticamente fueron agrupadas en una misma clona, se observan diferencias en la susceptibilidad a algunos de los antibióticos probados, un ejemplo es la resistencia a las Cefalosporinas, ya que las primeras cepas aisladas resultaron resistentes a éstos antibióticos, pero las últimas son sensibles, pero no son el único grupo de antibióticos que presenta tales diferencias, los aminoglicósidos probados también son un claro ejemplo de dichas variaciones (**Tabla 18**). Esta diferencia puede deberse a la misma diferencia de plásmidos observada en estas cepas, aunque también podría deberse a algún tipo de mutaciones que de una u otra manera no afectan los perfiles de bandeos obtenidos por las técnicas empleadas para la genotipificación de éstas cepas.

**Tabla 18.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 2.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 2 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	23/23
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	21/23
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	12/23
	Ceftazidime	14/23
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	8/23
Carbapenem	Imipenem	0/23
Monobactam	Aztreonam	14/23
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarcilina - Ácido Clavulánico	18/23
Aminoglicósido	Estreptomicina	16/23
	Gentamicina	12/23
	Tobramicina	20/23
	Amikacina	3/23
Tetraciclina	Tetraciclina	23/23
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	18/23
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	23/23
	Gatifloxacino	23/23
	Levofloxacino	23/23
	Ofloxacino	23/23

### 5.6.2. CLONA 10:

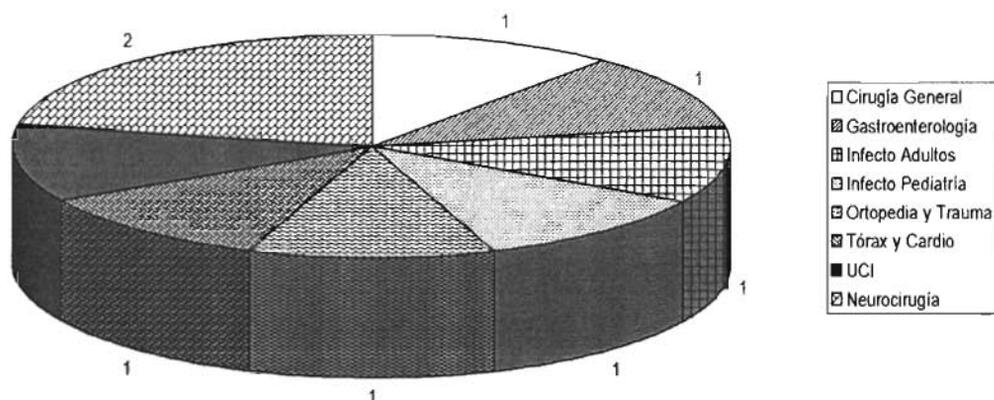
Fueron 9 las cepas aisladas que compartieron el mismo perfil de bandeo por PFGE y RAPD, agrupadas en la denominada Clona 10. En julio de 2002 fue la primera vez que se aisló esta Clona, dejando un periodo de 5 meses después de su primer aislamiento sin presentarse dentro de las cepas analizadas en este estudio. En enero de 2003 volvió a aislarse y se siguió aislando hasta abril de 2003. (**Tabla 19**)

**Tabla 19.** Cantidad de cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> de la Clona 10 aisladas por cada mes del estudio.

MES	# de Cepas de la Clona 10 Aisladas cada mes
Jul-02	2
Ago-02	-
Sep-02	-
Oct-02	-
Nov-02	-
Dic-02	-
Ene-03	1
Feb-03	1
Mar-03	3
Abr-03	2

Las 9 cepas fueron aisladas de 8 diferentes servicios hospitalarios (**Gráfica 8**), como Cirugía General, Gastroenterología, Infectología Adultos, Infectología Pediátrica, Ortopedia y Traumatología, Tórax y Cardiovascular, Unidad de Cuidados Intensivos y Neurocirugía.

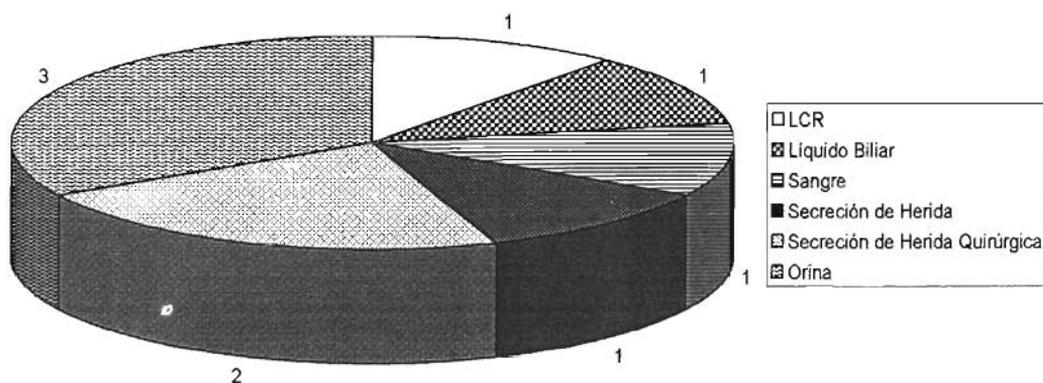
Servicio Hospitalario de Origen de Cepas de la Clona 10



**Gráfica 8.** Cantidad de muestras recibidas de cada servicio hospitalario de los cuales las cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> identificadas como pertenecientes a la Clona 10 fueron aisladas.

Únicamente 3 cepas fueron obtenidas de orina, el resto de las cepas se aislaron de líquido cefalorraquídeo, líquido biliar, sangre, secreción de herida y secreción de herida quirúrgica. (Gráfica 9)

Origen de la Muestra de Cepas de la Clona 10



**Gráfica 9.** Número de cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> pertenecientes a la Clona 10 aisladas de cada una de las diferentes muestras obtenidas.

Todas las cepas pertenecientes a esta clona fueron causantes de infecciones de tipo nosocomial.

Las cepas que forman parte de ésta clona presentan en general el mismo perfil de plásmidos, todas tienen al menos 8 plásmidos del mismo tamaño, aunque llegan a tener hasta 12 plásmidos.

El perfil de resistencia a los 18 antibióticos (Tabla 20) es prácticamente el mismo en todas las cepas, únicamente se ve diferencia en 2 antibióticos del grupo de los aminoglicósidos, como son la Tobramicina (ya que se encontró una cepa sensible) y la Amikacina (con 4 de las 9 cepas sensibles) y en el caso de la Tricarilina con Ácido Clavulánico, en donde la cepa que tuvo únicamente los 8 plásmidos resultó sensible.

**Tabla 20.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 10.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 10 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	9/9
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	9/9
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	9/9
	Ceftazidime	9/9
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	9/9
Carbapenem	Imipenem	0/9
Monobactam	Aztreonam	9/9
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	8/9
Aminoglicósido	Estreptomicina	9/9
	Gentamicina	9/9
	Tobramicina	8/9
	Amikacina	4/9
Tetraciclina	Tetraciclina	9/9
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	9/9
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	9/9
	Gatifloxacino	9/9
	Levofloxacino	9/9
	Ofloxacino	9/9

### 5.6.3. CLONA 21:

Las 3 cepas caracterizadas y agrupadas en esta Clona, fueron aisladas de la misma paciente, dos de ellas aisladas de secreción de herida quirúrgica, en el mes de abril de 2003, ambas determinadas como causantes de infección nosocomial. La otra cepa fue aislada 9 meses mas tarde, en enero de 2004 y se determinó que era la causante de una infección en vías urinarias de dicha paciente; en esta ocasión se trataba de una infección comunitaria, aunque causada por una cepa adquirida principalmente en el hospital. Al igual que lo observado con la Clona 2, los plásmidos de la cepa aislada inicialmente, son diferentes a los plásmidos de las otras cepas, aunque también se conserva un plásmido mayor a las 54 Kb que es común en las tres cepas pertenecientes a esta clona.

Al igual que la Clona 10, el perfil de resistencia (**Tabla 21**) observado en la Clona 21 es igual en las 3 cepas. Únicamente en el caso de la resistencia a Cefepime hay diferencia, debido posiblemente, a la pérdida de un plásmido que le confiere resistencia a la primera cepa aislada.

**Tabla 21.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 21.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 21 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	3/3
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	3/3
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	3/3
	Ceftazidime	3/3
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	1/3
Carbapenem	Imipenem	0/3
Monobactam	Aztreonam	3/3
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarcilina - Ácido Clavulánico	3/3
Aminoglicósido	Estreptomicina	3/3
	Gentamicina	3/3
	Tobramicina	3/3
	Amikacina	3/3
Tetraciclina	Tetraciclina	3/3
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	3/3
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	3/3
	Gatifloxacino	3/3
	Levofloxacino	3/3
	Ofloxacino	3/3

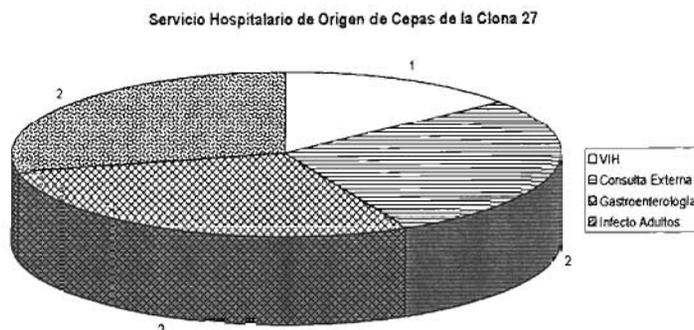
#### 5.6.4. CLONA 27:

De la Clona 27 se encontraron 7 cepas, aisladas a partir de septiembre de 2003 y hasta febrero de 2004. (Tabla 22)

**Tabla 22.** Cantidad de cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> de la Clona 27 aisladas por cada mes del estudio.

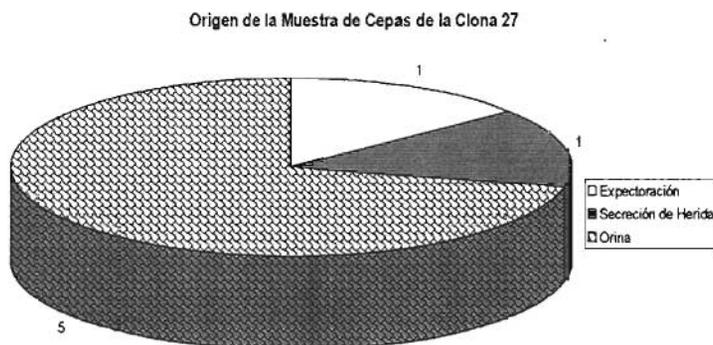
MES	# de Cepas de la Clona 27 Aisladas cada mes
Sep-03	2
Oct-03	-
Nov-03	-
Dic-03	-
Ene-04	2
Feb-04	3

Las cepas pertenecientes a esta clona fueron aisladas de 4 servicios hospitalarios del HCG, como Infectología Adultos, Gastroenterología, Consulta Externa y la unidad de VIH (Gráfica 10).



**Gráfica 10.** Cantidad de muestras recibidas de cada servicio hospitalario de los cuales las cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> identificadas como pertenecientes a la Clona 27 fueron aisladas.

La mayoría de las cepas fueron causantes de infecciones en vías urinarias y solo dos de ellas fueron aisladas de otro tipo de muestra (Gráfica 11).



**Gráfica 11.** Número de cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> pertenecientes a la Clona 27 aisladas de cada una de las diferentes muestras obtenidas.

De la misma manera, 5 de las cepas fueron causantes de infecciones comunitarias, solo una de las cepas provenientes de un urocultivo y la aislada de la secreción de herida causaron infecciones nosocomiales (Gráfica 12).



**Gráfica 12.** Tipo de infección causada por cada cepa perteneciente a la Clona 27.

Esta clona contó con un mínimo de 6 plásmidos que son iguales en las 7 cepas que la constituyen y llegan hasta un total de 12 plásmidos.

Las *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> pertenecientes a la clona 27 sí mostraron diferencia en cuanto a las susceptibilidades a algunos de los antibióticos probados (**Tabla 23**). Una sola cepa resultó resistente a las Cefalosporinas de 3<sup>a</sup> Generación y a Aztreonam. La misma cepa es la que tiene la mayor cantidad de plásmidos, por lo que, debido a éstos es que se observa resistencia a un mayor número de antibióticos.

**Tabla 23.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 27.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 27 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	7/7
Cefalosporina de 2 <sup>a</sup> Generación	Cefuroxime	5/7
Cefalosporina de 3 <sup>a</sup> Generación	Cefotaxime	1/7
	Ceftazidime	1/7
Cefalosporina de 4 <sup>a</sup> Generación	Cefepime	0/7
Carbapenem	Imipenem	0/7
Monobactam	Aztreonam	1/7
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	5/7
Aminoglicósido	Estreptomina	5/7
	Gentamicina	5/7
	Tobramicina	5/7
	Amikacina	0/7
Tetraciclina	Tetraciclina	5/7
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	5/7
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	7/7
	Gatifloxacino	7/7
	Levofloxacino	7/7
	Ofloxacino	7/7

**5.6.5. CLONA 30:**

Las 2 cepas pertenecientes a la denominada Clona 30 fueron aisladas en el mes de enero de 2004, pero ambas fueron aisladas de pacientes diferentes y en servicios hospitalarios diferentes. La primera cepa se aisló en el servicio de Cirugía General de Consulta externa, la cepa fue causante de una infección comunitaria en vías urinarias. La segunda cepa se aisló en Cirugía y Medicina Legal 14 días mas tarde, de una secreción de herida. Se determinó que esta infección fue adquirida en el hospital.

Los plásmidos encontrados en ambas cepas fueron los mismos (5 plásmidos en cada cepa), por lo que, la diferencia de susceptibilidad a los diferentes antibióticos (Tabla 24), podría deberse a mutaciones de tipo puntual en los mismos plásmidos o bien en el genoma de las bacterias que forman parte de ésta clona.

**Tabla 24.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 30.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 30 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	1/2
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	2/2
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	1/2
	Ceftazidime	1/2
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	0/2
Carbapenem	Imipenem	0/2
Monobactam	Aztreonam	0/2
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	1/2
Aminoglicósido	Estreptomicina	2/2
	Gentamicina	1/2
	Tobramicina	1/2
	Amikacina	0/2
Tetraciclina	Tetraciclina	2/2
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	1/2
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	2/2
	Gatifloxacino	2/2
	Levofloxacino	2/2
	Ofloxacino	2/2

**5.6.6. CLONA 32:**

2 cepas de este estudio fueron agrupadas en esta Clona. Ambas cepas fueron aisladas en el mes de enero de 2004, en el servicio de Consulta Externa. Aunque fueron aisladas de diferentes pacientes, ambas estaban causando una infección en vías urinarias y fueron adquiridas en la comunidad.

Aunque las dos cepas tuvieron el mismo número de plásmidos, los tamaños de unos de los más pequeños diferían entre los de una cepa y la otra. Aquí se observaron también diferencias de susceptibilidad entre una cepa y la otra, como puede observarse en las Cefalosporinas de 3ª y 4ª Generación, así como con el Aztreonam y la Tricarilina – Ácido Clavulánico (**Tabla 25**).

**Tabla 25.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 32.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 32 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	2/2
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	2/2
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	1/2
	Ceftazidime	1/2
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	1/2
Carbapenem	Imipenem	0/2
Monobactam	Aztreonam	1/2
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	1/2
Aminoglicósido	Estreptomina	2/2
	Gentamicina	2/2
	Tobramicina	2/2
	Amikacina	0/2
Tetraciclina	Tetraciclina	2/2
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	2/2
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	2/2
	Gatifloxacino	2/2
	Levofloxacino	2/2
	Ofloxacino	2/2

## 5.6.7. CLONA 35:

En esta clona se agruparon a 2 cepas, una aislada en enero de 2004 y la otra en marzo de 2004. Ambas causaba infecciones comunitarias, una de ellas fue aislada de semen y la segunda de líquido peritoneal, así mismo, una fue aislada en el servicio de Consulta Externa y la otra de Medicina Interna.

Una de las cepas incluidas en esta clona tuvo 7 plásmidos y la otra, contenía 2 plásmidos más. Aquí se observó diferencia de susceptibilidad a algunos antibióticos, como 3 de los aminoglicósidos probados (Tabla 26), siendo la cepa resistente a éstos antibióticos también la cepa resistente a la Ampicilina y a la Tricarilina – Ácido Clavulánico.

**Tabla 26.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 35.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 35 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	1/2
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	2/2
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	0/2
	Ceftazidime	0/2
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	0/2
Carbapenem	Imipenem	0/2
Monobactam	Aztreonam	0/2
$\beta$ -Lactámico + Inhibidor de $\beta$ -Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	1/2
Aminoglicósido	Estreptomina	1/2
	Gentamicina	1/2
	Tobramicina	1/2
	Amikacina	0/2
Tetraciclina	Tetraciclina	1/2
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	1/2
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	2/2
	Gatifloxacino	2/2
	Levofloxacino	2/2
	Ofloxacino	2/2

**5.6.8. CLONA 36:**

En enero de 2004 fue la primera vez que una cepa de esta clona fue aislada, inicialmente en un paciente que adquirió una infección en el hospital debido a un catéter que le fue colocado, la cepa fue aislada en el servicio de Infectología Adultos. 5 días más tarde en el mismo mes, la misma clona fue aislada de una paciente con infección en vías urinarias. La infección fue adquirida en la comunidad y la cepa fue aislada en el servicio de Hematología Consulta Externa. La última cepa agrupada en esta clona fue aislada de la secreción de una pierna de un paciente. La infección fue adquirida en la comunidad y aislada en el servicio de Consulta Externa del HCG en febrero del mismo año.

Una de las cepas identificadas como pertenecientes a la Clona 36 tuvo 7 plásmidos, pero no fue posible aislar los plásmidos de las otras dos cepas, ya que a la hora de realizar el corrimiento electroforético se observaba que dichos plásmidos se degradaban. Se observó gran variabilidad en cuanto al perfil de Susceptibilidad a algunos antibióticos (Tabla 27). La cepa que aparece como resistente a las Cefalosporinas de 3ª y 4ª Generación es la misma que presenta resistencia al Monobactam probado y a la Tricarilina-Ácido Clavulánico.

**Tabla 27.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 36.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 36 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	2/3
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	3/3
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	1/3
	Ceftazidime	1/3
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	1/3
Carbapenem	Imipenem	0/3
Monobactam	Aztreonam	1/3
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	1/3
Aminoglicósido	Estreptomicina	3/3
	Gentamicina	2/3
	Tobramicina	3/3
	Amikacina	0/3
Tetraciclina	Tetraciclina	2/3
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	1/3
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	3/3
	Gatifloxacino	3/3
	Levofloxacino	3/3
	Ofloxacino	3/3

**5.6.9. CLONA 37:**

La Clona 3 se presentó únicamente en enero de 2004 y fueron 3 cepas las aisladas y colocadas en este grupo. La primera cepa se aisló de una secreción presentada en una paciente en el servicio de Tórax y Cardiovascular y la infección fue adquirida en la comunidad. Cuatro días más tarde, se aisló otra cepa en el Servicio de Consulta Externa, causante de una infección en vías urinarias adquirida en el HCG. La otra cepa de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> fue aislada de la secreción vaginal de una paciente en el servicio de Ginecología. Ésta cepa se encontró que estaba colonizando la vagina de dicha paciente.

Como en la Clona 36, al aislar los plásmidos de dos de las cepas éstos se degradaban, por lo cual no fue posible determinar cuántos plásmidos tenían éstas. La cepa de la que se pudieron aislar los plásmidos tuvo 7 plásmidos de diferentes tamaños. Esas tres cepas tuvieron diferencia en el perfil de resistencia a antibióticos únicamente con dos de los aminoglicósidos (**Tabla 28**), como fueron a Gentamicina y Tobramicina, siendo la misma cepa susceptible a Gentamicina fue también susceptible a Tobramicina.

**Tabla 28.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 37.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 37 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	3/3
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	3/3
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	0/3
	Ceftazidime	0/3
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	0/3
Carbapenem	Imipenem	0/3
Monobactam	Aztreonam	0/3
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarcilina - Ácido Clavulánico	3/3
Aminoglicósido	Estreptomina	3/3
	Gentamicina	2/3
	Tobramicina	2/3
	Amikacina	0/3
Tetraciclina	Tetraciclina	3/3
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	3/3
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	3/3
	Gatifloxacino	3/3
	Levofloxacino	3/3
	Ofloxacino	3/3

**5.6.10. CLONA 53:**

Fueron 2 las cepas que se encontraron pertenecían a esta clona, ambas aisladas en marzo de 2004 con solo un día de diferencia entre el aislamiento de una y otra. La primera fue aislada en el servicio de Nefrología del HCG de una secreción obtenida de un paciente. No se determinó si ésta infección fue de origen nosocomial o comunitaria. De la orina de una paciente del servicio de Uroginecología fue aislada la segunda cepa perteneciente a este clona. La infección fue adquirida dentro del HCG.

Las cepas agrupadas en esta clona tuvieron 10 plásmidos de diferente tamaño, aunque solamente compartieron los dos plásmidos de mayor tamaño. Las diferencias encontradas en el patrón de susceptibilidad a antibióticos fue mínima (**Tabla 29**). La cepa que resultó resistente a la Cefalosporina de 2ª Generación probada fue sensible a Gentamicina.

**Tabla 29.** Resistencia de las cepas que se encuentran agrupadas dentro de la Clona 53.

TIPO DE ANTIBIÓTICO	NOMBRE	NÚMERO DE CEPAS DE LA CLONA 53 RESISTENTES
Aminopenicilina	Ampicilina	2/2
Cefalosporina de 2ª Generación	Cefuroxime	1/2
Cefalosporina de 3ª Generación	Cefotaxime	0/2
	Ceftazidime	0/2
Cefalosporina de 4ª Generación	Cefepime	0/2
Carbapenem	Imipenem	0/2
Monobactam	Aztreonam	0/2
β-Lactámico + Inhibidor de β-Lactamasas	Tricarilina - Ácido Clavulánico	2/2
Aminoglicósido	Estreptomina	2/2
	Gentamicina	1/2
	Tobramicina	2/2
	Amikacina	0/2
Tetraciclina	Tetraciclina	2/2
Inhibidor de Folato	Trimetoprim – Sulfametoxazol	2/2
Fluoroquinolona	Ciprofloxacino	2/2
	Gatifloxacino	2/2
	Levofloxacino	2/2
	Ofloxacino	2/2

## 6. ANÁLISIS DE RESULTADOS:

### 6.1. RESISTENCIA A LAS CUATRO FLUOROQUINOLONAS PRBADAS:

Algo importante que se observó en este estudio es el hecho de que 104 de las cepas incluidas en el estudio que fueron resistentes a ciprofloxacino fueron también resistentes o con valores intermedios a otras fluoroquinolonas levofloxacino, ofloxacino y gatifloxacino. Solamente una cepa CIP<sup>R</sup> mostró ser sensible a una fluoroquinolona de 3<sup>a</sup> generación, como fue gatifloxacino pero esta misma cepa se colocó como intermedio con las otras dos fluoroquinolonas empleadas. Esto da una idea de los posibles mecanismos de resistencia, a este grupo de antibióticos, con los cuales cuentan las cepas de este estudio. Al tener diferente afinidad cada una de dichas fluoroquinolonas por los blancos de éstos antibióticos (33, 41, 61), se cree menos probable que éstas cepas tengan una mutación en la Girasa A (91, 101) y mas bien estén involucradas mutaciones en ciertos genes reguladores de la expresión de bombas de flujo (52), las propias bombas de flujo (58, 59, 74) o bien algunas porinas (33, 91), sin embargo, esto es algo que debe elucidarse con estudios posteriores.

### 6.2. *Escherichia coli* MULTI RESISTENTE A ANTIBIÓTICOS (MAR o MDR):

La resistencia a varios agentes antimicrobianos no relacionados estructuralmente, como son las tetraciclinas, aminoglicósidos, cefalosporinas, fluoroquinolonas y monobactámicos es un fenotipo característico de los microorganismos denominados multi resistentes a antibióticos (2, 27, 37, 68, 75, 76, 79, 81). La detección de esta característica en las cepas analizadas es algo que resulta de gran importancia debido al serio problema que esto implica en el tratamiento de infecciones bacterianas (100).

El observar este fenotipo apoyaría la hipótesis que se plantea al hacer responsable a la sobreexpresión de las bombas de flujo, como es AcrAB, de la resistencia a las fluoroquinolonas, ya que se sabe que dicha bomba juega un papel importante en la multi resistencia a antibióticos por mutaciones en reguladores de este grupo de genes (27, 37, 58, 64, 68, 69, 89, 100), sin embargo, esto debe comprobarse posteriormente.

### 6.3. TÉCNICAS DE DIFERENCIACIÓN CLONAL:

Al realizar la diferenciación clonal de las cepas de *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> por PFGE se tuvieron problemas con 19 de dichas cepas, ya que en los geles aparecía únicamente un barrido, posiblemente debido a las endonucleasas presentes en éstas, que digieren el ADN de la bacteria durante el mismo procedimiento para la realización de ésta técnica, sin permitir entonces observar los cortes realizados posteriormente por la enzima *Xba*I. A pesar de que la técnica de electroforesis por campos pulsados es considerada como estándar de oro (8, 16, 23, 42, 60, 84, 98), también debemos considerar que es una técnica que se lleva mucho tiempo y que debido a su complejidad, solo puede manejarse un bajo número de muestras cada vez que éste se lleva a cabo; además de que se necesita equipo especializado para los corrimientos

de los geles y por lo tanto es complicado que se lleve a cabo en cualquier laboratorio siendo, por la misma razón, un procedimiento caro. Por estas razones, fue necesario buscar otra alternativa para establecer la huella digital genómica de estas cepas. Así mismo en la actualidad en epidemiología molecular el análisis de genotipificación debe realizarse con al menos dos técnicas diferentes.

El método empleado (RAPD) es considerado como una buena opción, por contar con el equipo necesario para realizar esta técnica en el laboratorio de Infectología y Microbiología Clínica de la unidad de Medicina Experimental en el que se realizó el estudio, porque la inversión de tiempo necesaria para llevar a cabo dicha técnica es mucho menor que el necesario para la elaboración de la técnica de PFGE y la cantidad de muestras que es posible manejar es también mucho mayor que las de la electroforesis por campos pulsados, por lo cual, la técnica de RAPD resulta ser mucho más económica que la de PFGE; sin embargo, según los resultados obtenidos de las tres diferentes condiciones estandarizadas para este trabajo, una sola técnica de RAPD no es suficiente para obtener un buen poder de discriminación. Mediante la aplicación de las tres condiciones de RAPD fue posible realizar una diferenciación clonal similar a la obtenida por campos pulsados. Como se ha descrito en la literatura esta técnica puede ser de utilidad pero es menos sensible y sobre todo específica de PFGE.

La técnica de electroforesis en gel por campos pulsados parece tener una desventaja al no permitir el análisis de algunas cepas debido a la degradación repetitiva del ADN bacteriano. Estos problemas no son mencionados en la bibliografía, que dice que la técnica de PFGE tiene la propiedad de tipificar a todas las cepas al igual que RAPD (86, 87). En nuestro estudio la técnica de electroforesis por campos pulsados tuvo un poder de tipificación menor al obtenido por RAPD ya que con este último todas las cepas pudieron ser tipificadas, sin embargo fue evidente que en las cepas que si fueron tipificadas por PFGE la reproducibilidad de los resultados es mayor que con RAPD. Este problema se ha reportado previamente en la literatura (23, 86). Por este motivo, fue necesario introducir un control de reproducibilidad y un control negativo cada vez que se realizó una corrida. En este caso, no se observaron este tipo de problemas, pero una sola condición de trabajo con esta técnica no es suficiente para poder realizar una buena diferenciación clonal. Debido a esto y lo previamente reportado por Kostyal *et. al.*, McLellan *et. al.*, Struelens *et. al.*, Tenover *et. al.* y Yu *et. al.*, (42, 60, 84, 87, 98) la técnica de electroforesis por campos pulsados sigue siendo la mejor técnica de diferenciación genética de cepas de *Escherichia coli*.

#### **6.4. PREVALENCIA CLONAL:**

La determinación de 59 diferentes clonas nos permite definir que el incremento de cepas de *Escherichia coli* resistentes a FQ's no se debe a diseminación clonal cruzada sino parece ser un problema de infecciones endógenas.

Las 59 clonas identificadas no parecen estar relacionadas específicamente con el tipo de muestra, ya que en un mismo tipo de muestra (como puede ser orina)

se aislaron cepas pertenecientes a diferentes clonas. Solamente en el caso de las muestras de úlcera sacra se tiene la misma clona 2, pero esta clona se pudo observar en otras muestras como secreción de herida, líquido pleural, biliar, ascítico, peritoneal, sangre, secreción de herida, otro tipo de secreciones y orina. Por lo que podemos decir que esta clona no infecta sitios específicos en el organismo.

Al encontrarse cepas de la misma clona en diferentes servicios, causando infecciones nosocomiales exclusivamente, como se observa de manera importante en la clona 10, indica el paso de esta clona de un servicio a otro por diseminación cruzada, sin embargo la presencia de este fenómeno es muy bajo.

En el caso de la clona 2, que también se encuentra ampliamente distribuida en varios servicios hospitalarios, debido a su identificación como causante de infecciones tanto nosocomiales como comunitarias, se puede decir que la persistencia de la misma dentro del HCG no es debida a diseminación cruzada, sino a que está ampliamente distribuida en la comunidad. Esta característica la hace sumamente importante ya que si dicha clona forma parte de la flora normal en las personas que habitan en Guadalajara, el uso de fluoroquinolonas, tetraciclinas, algunos aminoglicósidos, monobactámicos y cefalosporinas de 2ª y 3ª generación como tratamiento contra infecciones causadas por esta clona u otros microorganismos, podría estar seleccionándola y posiblemente favoreciendo su diseminación en la comunidad y la probabilidad de que sea la causante de nuevas infecciones, haciendo cada vez mas complicado el tratamiento de las mismas.

### 7. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de las *Escherichia coli* CIP<sup>R</sup> seleccionadas para este estudio provienen en su mayoría de infecciones en vías urinarias y de origen nosocomial.
2. Existe resistencia cruzada de 104 *E.coli* CIP<sup>R</sup> analizadas a otras tres FQ's incluyendo aquellas conocidas como más estables.
3. La cepa que fue descrita como sensible a gatifloxacino fue catalogada como intermedio para las otras dos fluoroquinolonas empleadas.
4. Las cepas analizadas presentan gran resistencia a otros grupos de antibióticos, entre los que destacan las cefalosporinas, tetraciclinas y los aminoglucósidos, por lo que caen dentro del grupo de microorganismos MDR.
5. Todas las cepas CIP<sup>R</sup> fueron sensibles al Carbapenem probado.
6. Existió una buena correlación para definición de clonas entre la técnica de PFGE y RAPD.
7. La técnica de PFGE mostró tener mayor poder de discriminación que la Amplificación Aleatoria de ADN.
8. La capacidad de tipificación de la técnica de RAPD resultó ser mayor que para la electroforesis en gel por campos pulsados.
9. La determinación de 59 diferentes clonas nos permite definir que el incremento de *Escherichia coli* resistentes a FQ's no se debe a diseminación clonal cruzada sino parece ser un problema de infecciones endógenas.
10. La clona 2 parece estar presente ampliamente en la comunidad.
11. El análisis de plásmidos de algunas de estas clonas demuestra de 1 a 19 diferentes plásmidos y todas ellas comparten uno de aproximadamente 54Kb.
12. Se muestra claramente que el problema de resistencia a este grupo de antibióticos ya no es exclusivo de los hospitales, sino también de la comunidad, en la cual va aumentando cada vez más la cantidad de cepas resistentes.

**APÉNDICE I****Soluciones y Reactivos**CALDO LB:

Para cada litro de agua tridestilada se agregaron:

10g de Cloruro de Sodio de Sigma  
10g de Bacto Triptona de Difco  
5g de Extracto de Levadura de Difco

Una vez disueltos los componentes de este medio, se esterilizaron por autoclave.

Soluciones Empleadas Para la Técnica de Electroforesis por Campos Pulsados

BUFFER PIV:

Tris 1M, Cloruro de Sodio 1M, pH 7.6

Para 20 mL de este buffer, se pesaron 2.4228 g de Tris de Invitrogen Life Technologies y 1.1688 g de Cloruro de Sodio de Sigma. Ambos componentes se colocaron en un tubo de plástico de tapa de rosca y se agregaron 18 mL de agua desionizada. Una vez que se disolvieron los componentes, se ajustó el pH a 7.6 con ácido clorhídrico concentrado, usando un equipo medidor de pH, corriente y temperatura (pH/mV/°C meter) de OAKTON. Se completó el volumen a 20 mL con agua desionizada.

BUFFER TE 1x

Tris 5 mM, Na<sub>2</sub>EDTA 5 mM, Fenilmetilsulfonilfluorido 1mM, pH 7.5

Para cada litro de TE 1X, se pesaron 0.6057 g de Tris de Invitrogen Life Technologies, 1.8610 g de Na<sub>2</sub>EDTA de Sigma y 0.1742 g de Fenilmetilsulfonilfluorido de Sigma. Se colocaron estos componentes en un matraz de 1 L y se agregó 800 mL de agua tridestilada. Con la ayuda de un agitador magnético con placa de calentamiento (Hot plate Stirrer, de LAB TECH), se disolvieron éstos componentes para después de dejar enfriar y ajustar el pH a 7.5 con ácido clorhídrico concentrado, usando un equipo medidor de pH, corriente y temperatura (pH/mV/°C meter) de OAKTON. La solución se colocó en un matraz volumétrico de 1 L y se llevó al aforo con agua tridestilada y se guardó en un frasco de vidrio con tapón de rosca.

BUFFER TE 0.5x

Para cada litro de éste buffer, se tomaron 500 mL del buffer TE 1X previamente preparado, se colocaron en un frasco de vidrio con tapón de rosca y se llevó a 1 L con 500 mL de agua tridestilada.

AGAROSA DE BAJO PUNTO DE FUSIÓN PARA LA FORMACIÓN DE LOS BLOQUES

Para 50 mL de esta agarosa, se pesaron 0.50 g de agarosa Sea Kem Gold y se colocaron en un frasco de vidrio con tapón de rosca. Se adicionaron 47.0 mL de Buffer TE 1X y se mezcló gentilmente para dispersar la agarosa. Se introdujo en el horno de microondas agitando gentilmente después de cada 10 s., hasta disolver la agarosa completamente. El frasco se colocó en un baño maría a 50°C por 5 min y se adicionaron 2.5 mL de una solución de Dodecil Sulfato de Sodio de Sigma (SDS) al 20%, se mezcló y colocó la tapa al frasco para guardarlo para su uso. Cada vez que se usaba debía ser fundida nuevamente la agarosa mediante la ayuda del horno de microondas.

BUFFER DE LISIS:

Tris 1M, Cloruro de Sodio 1M, Na<sub>2</sub>EDTA 100Mm, Brij 58 al 0.5%, Ácido Desoxicólico al 0.2%, Lauril Sulfato de Sodio al 0.5% y Ribonucleasa A a 50 µg/mL pH 7.6

Para 20 mL de este buffer, se pesaron 2.4228 g de Tris de Invitrogen Life Technologies y 1.1688 g de Cloruro de Sodio de Sigma, 0.7444 g de Na<sub>2</sub>EDTA de Sigma, 0.1g de Brij 58 de Sigma, 0.04 g de Ácido Desoxicólico de Sigma, 0.1 g de Lauril Sulfato de Sodio, de Sigma y 0.001g de Ribonucleasa A de Sigma. El Tris, Cloruro de Sodio y el EDTA se colocaron en un tubo de plástico de tapa de rosca y se disolvieron en 18 mL de agua desionizada. Posteriormente se agregaron los detergentes y agitando suavemente se disolvieron. El pH se ajustó a 7.6 con ácido clorhídrico concentrado, usando un equipo medidor de pH, corriente y temperatura (pH/mV/°C meter) de OAKTON. Se completó el volumen a 20 mL con agua desionizada y se agregó la Ribonucleasa A, agitando suavemente hasta disolver completamente.

BUFFER ESP:

Na<sub>2</sub>EDTA 0.4M, Lauril Sulfato de Sodio al 0.1%, Proteinasa K 0.5 mg/mL, pH 9 – 9.5

Para 20 mL de este buffer, se pesaron 2.9776 g de Na<sub>2</sub>EDTA de Sigma, 0.02g de Lauril sulfato de sodio de Sigma y 0.01 g de Proteinasa K de Roche. A 17 mL de agua desionizada colocados en un tubo de plástico con rosca, se le añadieron alrededor de 2 hojuelas de Hidróxido de Sodio. Una vez disuelto éste, se agregó el EDTA y se agitó hasta disolver completamente. El Lauril Sulfato de Sodio se añadió y con movimientos suaves se agitó para disolverlo. El pH se ajustó a de 9 – 9.5 con pedazos de hojuelas de Hidróxido de Sodio, usando un equipo medidor de pH, corriente y temperatura (pH/mV/°C meter) de OAKTON. Se completó el volumen a 20 mL con agua desionizada y se agregó la Proteinasa K, agitando suavemente hasta disolver completamente.

*BUFFER TBE 10x (para PFGE, RAPD y Plásmidos)*

Tris 0.89M, Na<sub>2</sub>EDTA 0.25M, Ácido Bórico 0.89M, pH 8.3

Para cada litro de Buffer TBE 10X, se pesaron 108.0 g de Tris de Invitrogen Life Technologies, 9.3 g de Na<sub>2</sub>EDTA y 55.0 g de Ácido Bórico de Sigma. Se disolvieron en 750 mL de agua tridestilada en un matraz mediante la ayuda de un agitador magnético con placa de calentamiento (Hot plate Stirrer, de LAB TECH). Después de dejar enfriar se corroboró que el pH fuera de 8.3, usando un equipo medidor de pH, corriente y temperatura (pH/mV/°C meter) de OAKTON. La solución se pasó a un matraz volumétrico de 1 L para llevarla al aforo con agua tridestilada. Ésta última se colocó en un frasco de vidrio con tapón de rosca para someterlo a esterilización por autoclave.

*BUFFER TBE 1X*

Para cada litro de éste buffer, se tomaron 100 mL del buffer TBE 10X previamente preparado, se colocaron en un frasco de vidrio con tapón de rosca y se llevó a 1 L con 900 mL de agua tridestilada.

*BUFFER TBE 0.5X*

Para cada litro de éste buffer, se tomaron 50 mL del buffer TBE 10X previamente preparado, se colocaron en un frasco de vidrio con tapón de rosca y se llevó a 1 L con 950 mL de agua tridestilada.

*SOLUCIÓN I PARA EXTRACCIÓN DE PLÁSMIDOS*

Para 10 mL de ésta solución, se agregaron 1mL de glucosa de Sigma 0.5M, 1mL de EDTA de Sigma 0.1M y 2.5 mL de Tris de Invitrogen Life Technologies 0.1M pH 8.0, llevando al aforo con agua destilada.

*SOLUCIÓN II PARA EXTRACCIÓN DE PLÁSMIDOS*

Cada 10 mL de solución II, contenían 2mL de NaOH de Sigma 1N preparada en plástico y 1mL de SDS de Sigma al 10%. Se llevó al aforo con agua destilada.

*SOLUCIÓN III PARA EXTRACCIÓN DE PLÁSMIDOS*

Para preparar 50 mL de ésta solución, se pesaron 82.03 g de Acetato de sodio de Sigma, para tener una concentración final 3.0 M y se llevó a pH 4.8 usando ácido clorhídrico concentrado. El pH se midió usando un equipo medidor de pH, corriente y temperatura (pH/mV/°C meter) de OAKTON.

*BROMURO DE ETIDIO PARA TINCIÓN DE GELES*

Para cada litro de ésta solución, se agregaron 5 gotas de la solución de Bromuro de Etidio de BIO-RAD de una concentración de 10 mg/mL.

*RNasa 200 µg/mL PARA EXTRACCIÓN DE PLÁSMIDOS*

Se pesaron 50 mg de Ribonucleasa A de Sigma y se disolvieron en 5 mL de una solución de Tris de Invitrogen Life Technologies 10 mM pH 7.5 y NaCl de Sigma 15 mM. Se sometieron a 98°C en un Thermomixer de EPPENDORF por 15 min y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. La solución obtenida tiene una concentración final de 10 mg/mL de RNasa A. De ésta, se tomaron 0.5 mL para colocarlos en 24.5 mL de agua destilada y tener así una concentración final de 200 µg/mL. La solución final fue colocada en tubos Eppendorf de 1.5 mL y almacenada a -20°C en un refrigerador Nieto Modelo CVC15 hasta su uso.

*BUFFER DE CORRIMIENTO 10X (para RAPD y Plásmidos)*

Cada 10 mL de éste buffer contienen 25 mg de Azul de Bromofenol de Sigma, 25 mg de Cianol Xyleno FF de Sigma y 2.0 g de Glicerol. Se llevó al aforo con agua destilada. El volumen de buffer empleado para correr cada muestra fue el necesario para lograr una concentración 1X final del mismo.

APÉNDICE II

Datos Generales de las 105 Cepas Analizadas:

UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	
029-02	12490N	Marco Rangel Cruz	15 años	Urocultivo	08/10/2001	Infecto Pediatría	Nosocomial	
030-02	13149N	Alberto Mercado Carrillo	55 años	Líquido ascítico	22/02/2002	Gastroenterología	Nosocomial	⊗
031-02	13158N	Sergio Díaz Plascencia	2 años	Secreción de oído	25/02/2002	UCIP	Nosocomial	
032-02	14134N	Francisco Antonio Robles Camarena	1 año	Urocultivo	01/06/2002	Infecto Pediatría	Nosocomial	
033-02	14144N	Martín Jiménez Torres	26 años	Urocultivo	03/06/2002	Consulta Externa Urología	Nosocomial	
034-02	14173N	Guadalupe Macías Vega	23 años	Úlcera Sacra	29/05/2002	Neurocirugía	Nosocomial	
035-02	14177N	Ofelia Zepeda Castellanos	64 años	Urocultivo	02/06/2002	Infecto Adultos	Comunitaria	
036-02	14179N	María Guadalupe Arrendón	42 años	Urocultivo	10/06/2002	Infecto Adultos	Nosocomial	
037-02	14205N	Candelaria Celis Curiel	37 años	Sangre	07/06/2002	Cirugía General	Nosocomial	
038-02	14268N	Baudelio Huerta Flors	55 años	Secreción de herida de pierna	17/06/2002	Nefrología	Nosocomial	
039-02	14339N	Josefina Rodríguez Zarate	79 años	Sangre	02/07/2002	Gastroenterología	Nosocomial	
040-02	14389N	Teresa Manríquez Torres	68 años	Sangre	02/07/2002	Tórax y Cardiovascular	Nosocomial	⊗
041-02	14415N	Marco Antonio Nuñez Barajas	23 años	Urocultivo	25/07/2002	Infecto Adultos	Nosocomial	⊗
043-02	14561N	Alicia Ramírez Carmona	72 años	Urocultivo	05/08/2002	Medicina Interna	Comunitaria	
045-02	14630N	José Guadalupe Ramírez Rodríguez	85 años	Urocultivo	27/08/2002	Cirugía General	Nosocomial	
047-02	14911N	Petra Toscano Quezada	71 años	Secreción de herida	06/10/2002	UCI	Comunitaria	
048-02	15115N	Roberto González Escobar	35 años	Secreción de herida quirúrgica	06/11/2002	Infecto Adultos	Nosocomial	
050-02	15319N	Margarita Cabezas Higareda	65 años	Henda quirúrgica	09/12/2002	Tórax y Cardiovascular	Nosocomial	
051-02	15320N	Alejandro Medina Moreno	28 años	Sangre	03/12/2002	Gastroenterología	Nosocomial	
052-02	15322N	María Ríos Ponce	65 años	Urocultivo	16/12/2002	Cirugía General	Nosocomial	
053-02	15483N	María Guadalupe Torres Hernández	1 año	Urocultivo	29/01/2003	Medicina Pediátrica	Nosocomial	
054-02	15484N	Carmen Luna Carrera	51 años	Drene bilis	27/01/2003	UCI	Nosocomial	
055-02	15505N	Paulina Burgos Castro	5 meses	Urocultivo	04/02/2003	Infecto Pediatría	Nosocomial	
056-02	15904N	Edelmira García Guzmán	65 años	Secreción de herida en abdomen	14/02/2003	Cirugía General	Nosocomial	
057-02	15933N	María de la Luz Vargas Ramírez	31 años	Líquido biliar	18/02/2003	UCI	Comunitaria	⊗
058-02	16083N	Aurelio de la Cruz López	42 años	Secreción de herida quirúrgica	04/03/2003	Neurocirugía	Nosocomial	

UME	No REF GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN
059-02	16042N	Gabriel Mateo Méndez	38 años	Secreción de herida en muslo	03/03/2003	Tórax y Cardiovascular	Comunitaria
060-02	16044N	Aurelio de la Cruz López	42 años	Líquido cefalorraquídeo	04/03/2003	Neurocirugía	Nosocomial
061-02	16139N	Tranquilino Nogal Escobedo	90 años	Secreción de herida	24/03/2003	Urología	Nosocomial
062-02	16159N	Jorge Luis Aguayo Hernández	1 año	Urocultivo	28/03/2003	Infecto Pediatría	Nosocomial
063-02	16182N	Martha Ceja Hernández	52 años	Urocultivo	14/04/2003	Infecto Adultos	Nosocomial
064-02	16185N	Félix Amado Calderos Agular	35 años	Urocultivo	21/04/2003	Unidad HIV	Nosocomial
065-02	16192N	Julio César Mercado Núñez	16 años	Secreción de herida quirúrgica	31/03/2003	Cirugía Medicina Legal	Nosocomial
066-02	16196N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Secreción de herida quirúrgica	01/04/2003	Cirugía General	Nosocomial
067-02	16203N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Secreción de herida quirúrgica	04/04/2003	Cirugía General	Nosocomial
068-02	16228N	Arturo Sánchez Romero	56 años	Urocultivo	09/04/2003	Gastroenterología	Nosocomial
069-02	16231N	Guillermo Ortega Guerra	48 años	Secreción de amputación transtibial	14/04/2003	Ortopedia y Traumatología	Nosocomial
070-02	16234N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Secreción de herida quirúrgica	14/04/2003	Cirugía General	Nosocomial
071-02	16269N	José Luis Aguilar Ortiz	49 años	Secreción de herida quirúrgica	27/04/2003	Cirugía General	Nosocomial
074-02	16474N	Jorge Enrique Arreola Estrada	41 años	Secreción de glúteo	23/06/2003	Dermatología	Nosocomial
076-02	16497N	Aurelia Camarena Navarro	43 años	Catéter central	30/06/2003	Neurología	Nosocomial
078-02	16618N	María Asunción Gómez García	89 años	Urocultivo	05/08/2003	Infecto Adultos	Nosocomial
079-02	16621N	Pedro Cisnero Briones	32 años	Secreción de úlcera sacra	07/08/2003	Unidad HIV	Nosocomial
081-02	16641N	Albino Pérez Saldaña	42 años	Secreción	14/07/2003	Cirugía Medicina Legal	Nosocomial
082-02	16671N	Magdalena López Santa Cruz	59 años	Urocultivo	30/07/2003	Uroginecología	Nosocomial
083-02	16744N	Francisco Gómez Gómez	72 años	Secreción de herida quirúrgica	23/08/2003	UCI	Nosocomial
084-02	16745N	Javier Ramírez Alegria	26 años	Líquido pleural	22/08/2003	UCI	Nosocomial
085-02	16754N	María Victoria Gutiérrez Rodríguez	77 años	Urocultivo	23/08/2003	Hematología	Nosocomial
086-02	16976N	Pedro Sánchez Enriquez	19 años	Líquido pleural	04/10/2003	UCI	Nosocomial
087-02	17077N	Micaela Escamilla Veloz	62 años	Urocultivo	29/09/2003	Gastroenterología	Nosocomial
088-02	17079N	Aurora Morroy Salinas	52 años	Urocultivo	09/09/2003	Uroginecología	Comunitaria

APÉNDICE II

UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN
089-02	17080N	Lucía Caballero Salto	58 años	Urocultivo	30/09/2003	Gastroenterología	Comunitaria
137-02	17366N	Juán Manuel Navarro	26 años	Líquido Peritoneal	14/01/2004	Consulta Externa HIV	Comunitaria
138-02	17367N	Tomás Topete Peña	42 años	Líquido Peritoneal	13/01/2004	Gastroenterología	Comunitaria
139-02	17382N	Gabriel Torres Torres	63 años	Secreción de herida	21/01/2004	Cirugía Medicina Legal	Nosocomial
140-02	17406N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Urocultivo	06/01/2004	Cirugía General Cons. Ext.	Comunitaria
141-02	17407N	Gloria Espinoza Ramírez	42 años	Urocultivo	06/01/2004	Consulta Externa	Comunitaria
142-02	17414N	Teresa Linueta Orozco	38 años	Urocultivo	08/01/2004	Consulta Externa	Comunitaria
143-02	17415N	Victor Hugo Medina Jasso	19 años	Urocultivo	08/01/2004	Consulta Externa	Comunitaria
145-02	17441N	Irene Clemente Margarta	28 años	Urocultivo	26/01/2004	Hemato Cons. Ext.	Comunitaria
146-02	17445N	Francisco González	42 años	Urocultivo	29/01/2004	Uro. Cons. Ext.	Comunitaria
147-02	17479N	María del Refugio Zamudio Torres	80 años	Secreción de pierna	02/02/2004	Consulta Externa	Comunitaria
148-02	17505N	Hortensia del Rosario	32 años	Urocultivo	07/01/2004	Cirugía General Cons. Ext.	Comunitaria
149-02	17506N	María Campos Pérez	75 años	Urocultivo	14/01/2004	Ginecología	Nosocomial
150-02	17508N	Olivia Ochoa de la Cruz	30 años	Urocultivo	15/01/2004	Uro. Cons Ext.	Comunitaria
151-02	17509N	Antonio Rojas Hernández	35 años	Semen	19/01/2004	Uro. Cons Ext.	Comunitaria
152-02	17510N	Juana Pérez Torres	26 años	Catéter	21/01/2004	Infecto Adultos	Nosocomial
153-02	17511N	Socorro Delgadillo Saucedo	28 años	Urocultivo	22/01/2004	Transplante C. Ext.	Comunitaria
154-02	17512N	María Dolores Ávila Chávez	53 años	Secreción	22/01/2004	Torax y Cardiovascular	Comunitaria
155-02	17513N	Roberto Andrade Limón	76 años	Urocultivo	26/01/2004	Consulta Externa	Nosocomial
156-02	17514N	María de Jesús Romero Cabrera	45 años	Urocultivo	28/01/2004	Cons. Ext. Gastro	Comunitaria
157-02	17515N	Norma Hernández Hernández	25 años	Secreción Vaginal	29/01/2004	Ginecología	Comunitaria
158-02	17516N	José Ascencio Martínez	26 años	Urocultivo	29/01/2004	Neurocirugía	Comunitaria
159-02	17517N	Lidia Navarro Bulgara	80 años	Urocultivo	02/02/2004	Infecto Adultos	Nosocomial
160-02	17518N	Reyes Ramírez Jiménez	44 años	Urocultivo	09/02/2004	Infecto Adultos	Nosocomial
298-02	17563N	José Covarrubias Flores	73 años	Urocultivo	19/02/2004	Infecto Adultos	Comunitaria
299-02	17568N	Ma. De la Cruz Ramírez López	33 años	Urocultivo	19/02/2004	Infecto Adultos	Comunitaria
300-02	17571N	Jorge Ávila Gómez	50 años	Expectoración	27/02/2004	Unidad HIV	Comunitaria
301-02	17572N	Telesforo Núñez Reyes	61 años	Secreción de Herida	26/02/2004	Infecto Adultos	Nosocomial
302-02	17585N	L. Pérez Plascencia		Urocultivo	08/02/2004	Urología	N. D.
303-02	17586N	Diego Amaurí Galindo Gutiérrez	9 meses	Urocultivo	09/02/2004	Infecto Pediatría	Comunitaria
304-02	17591N	P. N. Serrano		Urocultivo	11/02/2004	Ginecología	N. D.
305-02	17595N	Porfiria Ibarra Castañeda	63 años	Urocultivo	15/02/2004	Gastroenterología	Nosocomial
306-02	17598N	Ma. Del Refugio González	56 años	Urocultivo	09/02/2004	Ginecología	Comunitaria

APÉNDICE II

UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	
307-02	17600N	Ana María Díaz López	73 años	Urocultivo	16/02/2004	Torax y Cardiovascular	Comunitaria	☺
308-02	17613N	Teresa Vaca Alcazar	68 años	Urocultivo	23/02/2004	Oncología	Comunitaria	
309-02	17635N	Rosa Elvira González Gutiérrez	48 años	Secreción Abdominal	28/02/2004	UCI/Med. Legal	Nosocomial	☺
310-02	17639N	Gregorio Vázquez Rodríguez	63 años	Líquido Peritoneal	02/03/2004	Medicina Interna	Comunitaria	
311-02	17642N	Domitilo Rosales García	75 años	Urocultivo	08/03/2004	Oncología	Nosocomial	☺
312-02	17683N	Omar Tellez Bañuelos	28 años	Sec. Biopsia	22/04/2004	Infecto Adultos	Comunitaria	
313-02	17688N	Daniel López León	33 años	Pus	02/03/2004	Infecto Adultos	Comunitaria	
316-02	17701N	Guadalupe Madrigal Flores	58 años	Urocultivo	29/03/2004	Unidad HIV	Comunitaria	
317-02	17705N	Alberto Arias Méndez	64 años	Expectoración	11/04/2004	Infecto Adultos	Nosocomial	
318-02	17718N	Isabel Lucero García Reyes	18 años	Secreción de Herida	27/02/2004	Cons. Ext. Ortopedia y Trauma	Comunitaria	
319-09	17725N	Rosa M. López Corona	30 años	Urocultivo	02/03/2004	Cons. Ext. Empleados	Comunitaria	
320-02	17733N	Ma. Socorro Delgadillo Saucedo	12 años	Urocultivo	09/03/2004	Transplantes	Comunitaria	
322-02	17750N	Diana Luz López Arreola	52 años	Líquido biliar	10/03/2004	Transplantes	Comunitaria	
323-02	17762N	Miguel Valenzuela Lozano	80 años	Urocultivo	16/03/2004	Cons. Ext. Urología	Comunitaria	
324-02	17777N	M. Rentería Vázquez		Secreción	22/03/2004	Nefrología	N. D.	
325-02	17785N	Ma. De la Luz Ramirez Flores	62 años	Urocultivo	23/03/2004	Uroginecología	Nosocomial	
326-02	17786N	Quirino Cruz Franco	46 años	Urocultivo	28/03/2004	Gastroenterología	Comunitaria	
327-02	17787N	Ma. Elena Blanco Flores	53 años	Urocultivo	29/03/2004	Uroginecología	Comunitaria	
328-02	17795N	Antonio Trujillo Domínguez	64 años	Secreción	30/03/2004	Ortopedia y Traumatología	Comunitaria	
329-02	17798N	Humberto Canales Sordía	63 años	Urocultivo	31/03/2004	Ginecología	Nosocomial	
330-02	17799N	Gloria Grivel Monclada	48 años	Líquido biliar	02/04/2004	Transplantes	Nosocomial	

N. D.: No Determinada

☺: Defunción

APÉNDICE III

Susceptibilidad de las 105 Cepas Analizadas a los 18 Diferentes Antibióticos Probados:

UME	AMP <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	CIP <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	GAT <sup>a</sup>
029-02	6 (R)>46	21 (S) 3.7	30 (S)< 1.7	25 (S) 2.7	7 (R)> 19	30 (S) 0.60	18 (I)> 8.0	32 (S)< 0.59	11 (R) 4.9
030-02	7 (R)>46	20 (S) 5.1	18 (I) 18	13 (R) 41	9 (R)> 19	16 (I) 19	12 (R)> 8.0	27 (S) 1.5	14 (R) 2.7
031-02	6 (R)>46	21 (S) 3.7	19 (I) 15	14 (R) 33	8 (R)> 19	16 (I) 19	11 (R)> 8.0	28 (S) 1.2	12 (R) 4.0
032-02	7 (R)>46	12 (R) 6.1	7 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	10 (R) 84	7 (R)> 8.0	15 (I) 18	7 (R)> 6.0
033-02	7 (R)>46	6 (R)> 155	7 (R)> 58	11 (R) 64	6 (R)> 19	15 (I) 24	8 (R)> 8.0	19 (S) 8.0	6 (R)> 6.0
034-02	6 (R)>46	19 (S) 6.9	19 (I) 15	16 (I) 21	7 (R)> 19	20 (I) 7.1	14 (R)> 8.0	28 (S) 1.2	9 (R)> 6.0
035-02	7 (R)>46	22 (S) 2.7	22 (S) 8.0	12 (R) 51	7 (R)> 19	17 (I) 15	11 (R)> 8.0	28 (S) 1.2	6 (R)> 6.0
036-02	7 (R)>46	22 (S) 2.7	25 (S) 4.5	17 (I) 17	12 (R)> 19	16 (I) 19	11 (R)> 8.0	30 (S) 0.81	15 (I) 2.2
037-02	6 (R)>46	21 (S) 3.7	15 (R) 32	7 (R)> 126	7 (R)> 19	11 (R) 66	7 (R)> 8.0	27 (S) 1.5	11 (R) 4.9
038-02	6 (R)>46	24 (S) 1.5	6 (R)> 58	6 (R)> 126	6 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	13 (R) 28	13 (R) 3.3
039-02	7 (R)>46	22 (S) 2.7	22 (S) 8.0	14 (R) 33	6 (R)> 19	15 (I) 24	9 (R)> 8.0	27 (S) 1.5	12 (R) 4.0
040-02	7 (R)>46	16 (I) 18	9 (R)> 58	13 (R) 41	6 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	12 (R) 34	7 (R)> 6.0
041-02	6 (R)>46	15 (I) 24	11 (R)> 58	13 (R) 41	7 (R)> 19	6 (R)> 138	6 (R)> 8.0	15 (I) 18	6 (R)> 6.0
043-02	7 (R)>46	22 (S) 2.7	15 (R) 26	14 (R) 33	7 (R)> 19	16 (I) 19	11 (R)> 8.0	23 (S) 3.5	11 (R) 4.9
045-02	7 (R)>46	21 (S) 3.7	10 (R)> 58	11 (R) 64	6 (R)> 19	7 (R)> 138	7 (R)> 8.0	12 (R) 34	10 (R)> 6.0
047-02	6 (R)>46	19 (S) 6.9	9 (I) 15	13 (R) 41	6 (R)> 19	18 (I) 12	14 (R)> 8.0	31 (S) 0.66	7 (R)> 6.0
048-02	7 (R)>46	24 (S) 1.5	24 (S) 5.4	15 (I) 26	7 (R)> 19	15 (I) 24	14 (R)> 8.0	33 (S)< 0.54	10 (R)> 6.0
050-02	6 (R)>46	20 (S) 5.1	17 (I) 22	11 (R) 64	10 (R)> 19	17 (I) 15	9 (R)> 8.0	26 (S) 1.9	12 (R) 4.0
051-02	6 (R)>46	16 (I) 18	17 (I) 22	6 (R)> 126	6 (R)> 19	14 (R) 31	7 (R)> 8.0	21 (S) 5.3	9 (R)> 6.0
052-02	6 (R)>46	16 (I) 18	13 (R) 47	14 (R) 33	6 (R)> 19	14 (R) 31	11 (R)> 8.0	24 (S) 2.8	6 (R)> 6.0
053-02	7 (R)>46	22 (S) 2.7	10 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	6 (R)> 138	7 (R)> 8.0	25 (S) 2.3	12 (R) 4.0
054-02	7 (R)>46	7 (R)> 155	6 (R)> 58	7 (R)> 126	7 (R)> 19	6 (R)> 138	7 (R)> 8.0	11 (R) 42	6 (R)> 6.0
055-02	6 (R)>46	19 (S) 6.9	10 (R)> 58	11 (R) 64	6 (R)> 19	6 (R)> 138	6 (R)> 8.0	11 (R) 42	6 (R)> 6.0
056-02	6 (R)>46	18 (S) 9.5	11 (R)> 58	15 (I) 26	7 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	12 (R) 34	7 (R)> 6.0
057-02	6 (R)>46	17 (S) 13	10 (R)> 58	6 (R)> 126	7 (R)> 19	6 (R)> 138	7 (R)> 8.0	13 (R) 28	6 (R)> 6.0
058-02	7 (R)>46	19 (S) 6.9	7 (R)> 58	9 (R) 101	6 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	10 (R) 52	7 (R)> 6.0
059-02	6 (R)>46	6 (R)> 155	7 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	11 (R) 66	7 (R)> 8.0	24 (S) 2.8	6 (R)> 6.0
060-02	6 (R)>46	18 (S) 9.5	6 (R)> 58	9 (R) 101	7 (R)> 19	6 (R)> 138	7 (R)> 8.0	11 (R) 42	6 (R)> 6.0
061-02	6 (R)>46	23 (S) 2.0	19 (I) 15	9 (R) 101	6 (R)> 19	14 (R) 31	8 (R)> 8.0	27 (S) 1.5	7 (R)> 6.0
062-02	6 (R)>46	19 (S) 6.9	11 (R)> 58	15 (I) 26	6 (R)> 19	6 (R)> 138	6 (R)> 8.0	13 (R) 28	6 (R)> 6.0
063-02	6 (R)>46	22 (S) 2.7	21 (I) 9.8	12 (R) 51	7 (R)> 19	19 (I) 9.1	11 (R)> 8.0	29 (S) 1.0	10 (R)> 6.0
064-02	7 (R)>46	24 (S) 1.5	16 (I) 26	11 (R) 64	6 (R)> 19	17 (I) 15	11 (R)> 8.0	29 (S) 1.0	7 (R)> 6.0
065-02	7 (R)>46	17 (S) 13	7 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	6 (R)> 79	7 (R)> 6.0
066-02	6 (R)>46	14 (R) 33	7 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	6 (R)> 138	6 (R)> 8.0	15 (I) 18	6 (R)> 6.0
067-02	7 (R)>46	13 (R) 45	9 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	9 (R) 108	7 (R)> 8.0	18 (S) 9.8	10 (R)> 6.0
068-02	7 (R)>46	16 (I) 18	11 (R)> 58	15 (I) 26	6 (R)> 19	6 (R)> 138	7 (R)> 8.0	14 (R) 23	10 (R)> 6.0
069-02	6 (R)>46	18 (S) 9.5	11 (R)> 58	14 (R) 33	7 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	11 (R) 42	7 (R)> 6.0
070-02	6 (R)>46	15 (I) 24	7 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	7 (R)> 138	7 (R)> 8.0	6 (R)> 79	6 (R)> 6.0
071-02	6 (R)>46	17 (S) 13	7 (R)> 58	7 (R)> 126	6 (R)> 19	21 (S) 5.5	12 (R)> 8.0	24 (S) 2.8	6 (R)> 6.0
074-02	7 (R)>46	19 (S) 6.9	13 (R) 47	12 (R) 51	7 (R)> 19	7 (R)> 138	7 (R)> 8.0	11 (R) 42	7 (R)> 6.0
076-02	6 (R)>46	23 (S) 2.0	19 (I) 15	6 (R)> 126	6 (R)> 19	11 (R) 66	6 (R)> 8.0	28 (S) 1.2	7 (R)> 6.0
078-02	6 (R)>46	15 (I) 24	20 (I) 12	12 (R) 51	6 (R)> 19	11 (R) 66	7 (R)> 8.0	25 (S) 2.3	6 (R)> 6.0
079-02	7 (R)>46	18 (S) 9.5	9 (R)> 58	11 (R) 64	6 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	9 (R) 64	6 (R)> 6.0
081-02	7 (R)>46	16 (I) 18	6 (R)> 58	12 (R) 51	7 (R)> 19	6 (R)> 138	6 (R)> 8.0	10 (R) 52	6 (R)> 6.0
082-02	7 (R)>46	18 (S) 9.5	9 (R)> 58	10 (R) 80	7 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	12 (R) 34	7 (R)> 6.0
083-02	6 (R)>46	17 (S) 13	7 (R)> 58	14 (R) 33	6 (R)> 19	7 (R)> 138	7 (R)> 8.0	13 (R) 28	7 (R)> 6.0

APÉNDICE III

UME	AMP <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	CIP <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	GAT <sup>a</sup>
084-02	7 (R)>46	15 (I) 24	8 (R)> 58	13 (R) 41	7 (R)> 19	9 (R) 108	7 (R)> 8.0	12 (R) 34	6 (R)> 6.0
085-02	6 (R)>46	18 (S) 9.5	15 (R) 32	12 (R) 51	7 (R)> 19	27 (S) 1.3	16 (I)> 8.0	24 (S) 2.8	7 (R)> 6.0
086-02	7 (R)>46	20 (S) 5.1	19 (I) 15	12 (R) 51	11 (R)> 19	19 (I) 9.1	14 (R)> 8.0	29 (S) 1.0	15 (I) 2.2
087-02	7 (R)>46	22 (S) 2.7	29 (S) 2.0	25 (S) 2.7	6 (R)> 19	28 (S) 0.98	15 (I)> 8.0	30 (S) 0.81	7 (R)> 6.0
088-02	7 (R)>46	17 (S) 13	28 (S) 2.5	25 (S) 2.7	6 (R)> 19	27 (S) 1.3	16 (I)> 8.0	27 (S) 1.5	7 (R)> 6.0
089-02	6 (R)>46	18 (S) 9.5	29 (S) 2.0	25 (S) 2.7	7 (R)> 19	29 (S) 0.77	19 (I) 6.3	29 (S) 1.0	14 (R) 2.7
137-02	6 (R)>48	23 (S) 2.0	22 (S) 8.0	14 (R) 48	6 (R)> 20	19 (I) 10	7 (R)> 8.0	27 (S) 2.0	6 (R)> 6.0
138-02	6 (R)>46	19 (S) 8.0	52 (S)<2.0	28 (S) 2.0	6 (R)> 20	31 (S) 0.50	21 (I) 4.0	30 (S) 1.0	9 (R)> 6.0
139-02	7 (R)>46	24 (S) 2.0	22 (S) 8.0	16 (I) 24	7 (R)> 20	22 (I) 6.0	17 (I)> 8.0	32 (S)< 1.0	10 (R)> 6.0
140-02	7 (R)>46	15 (I) 24	7 (R)> 64	6 (R)> 126	6 (R)> 20	11 (R) 96	6 (R)> 8.0	19 (S) 8.0	10 (R)> 6.0
141-02	7 (R)>46	14 (R) 48	24 (S) 6.0	16 (I) 24	7 (R)> 20	14 (R) 32	12 (R)> 8.0	35 (S)< 1.0	13 (R) 4.0
142-02	20 (S) 2.4	22 (S) 2.7	32 (S)< 1.7	30 (S) 0.88	7 (R)> 19	32 (S) 0.37	24 (S) 2.0	33 (S)< 0.59	11 (R) 4.9
143-02	9 (R)>46	22 (S) 2.7	9 (R)> 58	14 (R) 33	6 (R)> 19	7 (R)> 138	6 (R)> 8.0	16 (I) 15	6 (R)> 6.0
145-02	6 (R)>46	21 (S) 3.7	10 (R)> 58	14 (R) 33	6 (R)> 19	6 (R)> 138	6 (R)> 8.0	13 (R) 28	8 (R)> 6.0
146-02	6 (R)>46	20 (S) 5.1	30 (S)< 1.7	25 (S) 2.7	6 (R)> 19	27 (S) 1.3	21 (I) 4.0	29 (S) 1.0	6 (R)> 6.0
147-02	15 (I) 7.5	20 (S) 5.1	32 (S)< 1.7	32 (S)< 0.56	6 (R)> 19	30 (S) 0.60	21 (I) 4.0	31 (S) 0.66	9 (R)> 6.0
148-02	17 (S) 4.8	23 (S) 2.0	30 (S)< 1.7	29 (S) 1.1	7 (R)> 19	30 (S) 0.60	21 (I) 4.0	31 (S) 0.66	6 (R)> 6.0
149-02	6 (R)>46	18 (S) 9.5	30 (S)< 1.7	26 (S) 2.2	6 (R)> 19	29 (S) 0.77	20 (I) 5.0	27 (S) 1.5	6 (R)> 6.0
150-02	6 (R)>46	20 (S) 5.1	29 (S) 2.0	28 (S) 1.4	12 (R) 14	30 (S) 0.60	21 (I) 4.0	30 (S) 0.81	15 (I) 2.2
151-02	18 (S) 3.8	23 (S) 2.0	34 (S)< 1.7	30 (S) 0.88	6 (R)> 19	30 (S) 0.60	20 (I) 5.0	35 (S)< 0.59	6 (R)> 6.0
152-02	17 (S) 4.8	23 (S) 2.0	35 (S)< 1.7	29 (S) 1.1	6 (R)> 19	31 (S) 0.47	20 (I) 5.0	34 (S)< 0.59	8 (R)> 6.0
153-02	15 (I) 7.5	20 (S) 5.1	28 (S) 2.5	27 (S) 1.7	6 (R)> 19	29 (S) 0.77	19 (I) 6.3	30 (S) 0.81	6 (R)> 6.0
154-02	6 (R)>46	24 (S) 1.5	31 (S)< 1.7	26 (S) 2.2	6 (R)> 19	31 (S) 0.47	18 (I)> 8.0	32 (S)< 0.5	8 (R)> 6.0
155-02	8 (R)>46	22 (S) 2.7	32 (S)< 1.7	27 (S) 1.7	6 (R)> 19	31 (S) 0.47	21 (I) 4.0	32 (S)< 0.5	6 (R)> 6.0
156-02	6 (R)>46	21 (S) 3.7	31 (S)< 1.7	28 (S) 1.4	6 (R)> 19	30 (S) 0.60	20 (I) 5.0	32 (S)< 0.5	13 (R) 3.3
157-02	6 (R)>46	22 (S) 2.7	30 (S)< 1.7	26 (S) 2.2	6 (R)> 19	30 (S) 0.60	20 (I) 5.0	30 (S) 0.81	6 (R)> 6.0
158-02	6 (R)>48	19 (S) 8.0	28 (S) 4.0	24 (S) 4.0	7 (R)> 20	24 (S) 4.0	9 (R)> 8.0	29 (S) 1.0	6 (R)> 6.0
159-02	15 (I) 8.0	20 (S) 6.0	30 (S)< 2.0	24 (S) 4.0	7 (R)> 20	27 (S) 2.0	18 (I)> 8.0	28 (S) 2.0	7 (R)> 6.0
160-02	6 (R)>48	22 (S) 4.0	30 (S)< 2.0	27 (S) 2.0	6 (R)> 20	30 (S) 1.0	21 (I) 4.0	31 (S) 1.0	9 (R)> 6.0
298-02	7 (R)>48	23 (S) 2.0	29 (S) 2.0	32 (S)< 1.0	6 (R)> 20	33 (S)< 0.50	22 (S) 2.0	34 (S)< 1.0	14 (R) 4.0
299-02	6 (R)>48	25 (S) 2.0	22 (S) 8.0	22 (S) 6.0	6 (R)> 20	22 (I) 6.0	14 (R)> 8.0	32 (S)< 1.0	6 (R)> 6.0
300-02	6 (R)>48	26 (S)< 1.0	15 (R) 32	6 (R)> 128	6 (R)> 20	12 (R) 64	6 (R)> 8.0	24 (S) 4.0	6 (R)> 6.0
301-02	6 (R)>48	23 (S) 2.0	32 (S)< 2.0	29 (S) 2.0	8 (R)> 20	33 (S)< 0.50	25 (S) 2.0	34 (S) 1.0	15 (I) 4.0
302-02	7 (R)>48	24 (S) 2.0	25 (S) 6.0	30 (S) 1.0	7 (R)> 20	28 (S) 1.0	19 (I) 8.0	32 (S)< 1.0	7 (R)> 6.0
303-02	7 (R)>48	23 (S) 2.0	30 (S)< 2.0	30 (S) 1.0	7 (R)> 20	32 (S) 0.50	21 (I) 4.0	29 (S) 1.0	12 (R) 4.0
304-02	7 (R)>48	25 (S) 2.0	31 (S)< 2.0	29 (S) 2.0	6 (R)> 20	32 (S) 0.50	22 (I) 4.0	32 (S)< 1.0	12 (R) 4.0
305-02	7 (R)>48	22 (S) 4.0	6 (R)> 64	9 (R) 128	6 (R)> 20	7 (R)> 256	7 (R)> 8.0	13 (R) 32	7 (R)> 6.0
306-02	7 (R)>48	19 (S) 8.0	6 (R)> 64	7 (R)> 128	6 (R)> 20	7 (R)> 256	8 (R)> 8.0	11 (R) 48	9 (R)> 6.0
307-02	13 (R) 12	22 (S) 4.0	28 (S) 4.0	26 (S) 4.0	6 (R)> 20	28 (S) 1.0	20 (I) 6.0	27 (S) 2.0	9 (R)> 6.0
308-02	6 (R)>48	22 (S) 4.0	27 (S) 4.0	28 (S) 2.0	7 (R)> 20	29 (S) 1.0	19 (I) 8.0	29 (S) 1.0	8 (R)> 6.0
309-02	6 (R)>48	24 (S) 2.0	29 (S) 2.0	26 (S) 4.0	7 (R)> 20	28 (S) 2.0	16 (I)> 8.0	23 (S) 4.0	15 (I) 4.0
310-02	6 (R)>48	23 (S) 2.0	33 (S)< 2.0	28 (S) 2.0	6 (R)> 20	31 (S) 0.50	21 (I) 4.0	34 (S)< 1.0	8 (R)> 6.0
311-02	20 (S) 4.0	24 (S) 2.0	32 (S)< 2.0	28 (S) 2.0	6 (R)> 20	32 (S) 0.50	19 (I) 8.0	32 (S)< 1.0	6 (R)> 6.0
312-02	7 (R)>48	22 (S) 4.0	29 (S) 2.0	28 (S) 2.0	6 (R)> 20	30 (S) 1.0	18 (I)> 8.0	27 (S) 2.0	7 (R)> 6.0
313-02	6 (R)>48	19 (S) 8.0	29 (S) 2.0	27 (S) 2.0	6 (R)> 20	28 (S) 1.0	16 (I)> 8.0	23 (S) 4.0	12 (R) 4.0
316-02	6 (R)>48	24 (S) 2.0	28 (S) 4.0	28 (S) 2.0	14 (R) 18	31 (S) 0.50	27 (S) 1.0	37 (S)< 1.0	22 (S) 1.0
317-02	19 (S) 4.0	23 (S) 2.0	31 (S)< 2.0	30 (S) 1.0	6 (R)> 20	32 (S) 0.50	26 (S) 2.0	34 (S)< 1.0	12 (R) 4.0
318-02	6 (R)>48	21 (S) 4.0	32 (S)< 2.0	30 (S) 1.0	6 (R)> 20	33 (S)< 0.50	21 (I) 4.0	30 (S) 1.0	12 (R) 4.0
319-09	6 (R)>48	21 (S) 4.0	30 (S)< 2.0	26 (S) 4.0	6 (R)> 20	29 (S) 1.0	22 (I) 4.0	31 (S) 1.0	11 (R) 6.0
320-02	6 (R)>48	27 (S)< 1.0	17 (I) 24	16 (I) 24	9 (R)> 20	20 (I) 8.0	11 (R)> 8.0	24 (S) 4.0	14 (R) 4.0
322-02	6 (R)>48	24 (S) 2.0	20 (I) 12	15 (I) 32	6 (R)> 20	19 (I) 10	11 (R)> 8.0	30 (S) 1.0	6 (R)> 6.0

UME	AMP <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	CIP <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	GAT <sup>a</sup>
323-02	6 (R)>48	25 (S) 2.0	19 (I) 16	19 (S) 12	6 (R)> 20	24 (S) 4.0	16 (I)> 8.0	33 (S)< 1.0	6 (R)> 6.0
324-02	6 (R)>48	23 (S) 2.0	31 (S)< 2.0	28 (S) 2.0	14 (R) 18	32 (S) 0.50	25 (S) 2.0	34 (S)< 1.0	14 (R) 4.0
325-02	6 (R)>48	20 (S) 6.0	35 (S)< 2.0	31 (S) 1.0	6 (R)> 20	34 (S)< 0.50	22 (I) 4.0	29 (S) 1.0	10 (R)> 6.0
326-02	6 (R)>48	23 (S) 2.0	33 (S)< 2.0	28 (S) 2.0	6 (R)> 20	32 (S) 0.50	22 (I) 4.0	33 (S)< 1.0	6 (R)> 6.0
327-02	6 (R)>48	24 (S) 2.0	32 (S)< 2.0	31 (S) 1.0	10 (R) 14	34 (S)< 0.50	25 (S) 2.0	35 (S)< 1.0	13 (R) 4.0
328-02	6 (R)>48	27 (S)< 1.0	36 (S)< 2.0	32 (S)< 1.0	6 (R)> 20	34 (S)< 0.50	23 (S) 4.0	37 (S)< 1.0	8 (R)> 6.0
329-02	6 (R)>48	24 (S) 2.0	30 (S)< 2.0	32 (S)< 1.0	6 (R)> 20	32 (S) 0.50	25 (S) 2.0	33 (S)< 1.0	10 (R)> 6.0
330-02	6 (R)>48	22 (S) 4.0	19 (I) 16	15 (I) 32	6 (R)> 20	19 (I) 10	12 (R)> 8.0	28 (S) 2.0	6 (R)> 6.0

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

UME	GEN <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>	STR <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>
029-02	18 (S) 2.6	28 (S) < 0.56	10 (R) 10	6 (R) > 16	17 (S) 6.3	6 (R) > 239	6 (R) > 33	18 (I) 32	11 (R) 18
030-02	18 (S) 2.6	24 (S) 1.2	10 (R) 10	6 (R) > 16	15 (S) 11	27 (S) < 4.1	6 (R) > 33	13 (R) 86	8 (R) > 42
031-02	16 (S) 45	25 (S) 1.0	11 (R) 8.0	6 (R) > 16	15 (S) 11	20 (S) 16	6 (R) > 33	13 (R) 86	7 (R) > 42
032-02	7 (R) > 41	21 (S) 2.1	10 (R) 10	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	13 (R) 86	20 (S) 1.4
033-02	6 (R) > 41	25 (S) 1.0	8 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	13 (R) 86	6 (R) > 42
034-02	20 (S) 1.5	25 (S) 1.0	8 (R) > 16	6 (R) > 16	15 (S) 11	6 (R) > 239	6 (R) > 33	21 (S) 18	15 (S) 5.8
035-02	21 (S) 1.1	25 (S) 1.0	9 (R) 12	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	20 (S) 22	22 (S) 0.80
036-02	20 (S) 1.5	27 (S) 0.68	16 (I) 2.6	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	23 (S) 12	19 (S) 1.9
037-02	19 (S) 2.0	24 (S) 1.2	10 (R) 10	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	6 (R) > 232	19 (S) 1.9
038-02	24 (S) 0.50	27 (S) 0.68	11 (R) 8.0	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	6 (R) > 232	22 (S) 0.80
039-02	20 (S) 1.5	27 (S) 0.68	11 (R) 8.0	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	15 (I) 58	17 (S) 3.3
040-02	7 (R) > 41	28 (S) < 0.56	6 (R) > 16	7 (R) 13	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	6 (R) > 42
041-02	6 (R) > 41	31 (S) < 0.56	8 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	6 (R) > 232	6 (R) > 42
043-02	20 (S) 1.5	23 (S) 1.5	8 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	6 (R) > 232	19 (S) 1.9
045-02	10 (R) 24	31 (S) < 0.56	10 (R) 10	6 (R) > 16	6 (R) > 90	10 (R) 152	6 (R) > 33	10 (R) 156	10 (R) 24
047-02	21 (S) 1.1	27 (S) 0.68	10 (R) 10	6 (R) > 16	11 (R) 37	6 (R) > 239	6 (R) > 33	11 (R) 128	12 (R) 14
048-02	6 (R) > 41	27 (S) 0.68	10 (R) 10	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	13 (R) 86	12 (R) 14
050-02	19 (S) 2.0	24 (S) 1.2	14 (I) 41	6 (R) > 16	15 (S) 11	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	12 (R) 14
051-02	6 (R) > 41	24 (S) 1.2	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	6 (R) > 232	10 (R) 24
052-02	12 (R) 14	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	6 (R) > 232	6 (R) > 42
053-02	9 (R) 31	23 (S) 1.5	11 (R) 8.0	8 (R) 10	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	6 (R) > 42
054-02	6 (R) > 41	28 (S) < 0.56	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	6 (R) > 42
055-02	13 (I) 10	30 (S) < 0.56	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	22 (S) 14	15 (S) 5.8
056-02	6 (R) > 41	28 (S) < 0.56	8 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	11 (R) 128	6 (R) > 42
057-02	6 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	10 (R) 50	6 (R) > 239	6 (R) > 33	11 (R) 128	6 (R) > 42
058-02	6 (R) > 41	24 (S) 1.2	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	6 (R) > 42
059-02	7 (R) > 41	24 (S) 1.2	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	6 (R) > 42
060-02	6 (R) > 41	23 (S) 1.5	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	10 (R) 156	6 (R) > 42
061-02	19 (S) 2.0	25 (S) 1.0	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	14 (R) 71	18 (S) 2.5
062-02	7 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	14 (R) 71	6 (R) > 42
063-02	22 (S) 0.87	26 (S) 0.83	9 (R) 12	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	13 (R) 86	18 (S) 2.5
064-02	22 (S) 0.87	26 (S) 0.83	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	13 (R) 86	19 (S) 1.9
065-02	7 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	18 (S) 25	6 (R) > 33	13 (R) 86	6 (R) > 42
066-02	6 (R) > 41	22 (S) 1.8	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	11 (R) 128	6 (R) > 42
067-02	6 (R) > 41	27 (S) 0.68	10 (R) 10	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	12 (R) 105	6 (R) > 42
068-02	8 (R) > 41	26 (S) 0.83	8 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	15 (I) 58	18 (S) 2.5
069-02	7 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	20 (S) 22	9 (R) 32
070-02	18 (S) 2.6	23 (S) 1.5	6 (R) > 16	6 (R) > 16	8 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	11 (R) 128	7 (R) > 42
071-02	19 (S) 2.0	28 (S) < 0.56	8 (R) > 16	6 (R) > 16	10 (R) 50	6 (R) > 239	6 (R) > 33	22 (S) 14	11 (R) 18
074-02	6 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	7 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	14 (R) 71	6 (R) > 42
076-02	9 (R) 31	29 (S) < 0.56	6 (R) > 16	6 (R) > 16	7 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	18 (I) 32	18 (S) 2.5
078-02	10 (R) 24	25 (S) 1.0	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	13 (R) 86	6 (R) > 42
079-02	7 (R) > 41	30 (S) < 0.56	6 (R) > 16	6 (R) > 16	10 (R) 50	6 (R) > 239	17 (I) 13	18 (I) 32	6 (R) > 42
081-02	6 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	15 (I) 58	6 (R) > 42
082-02	7 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	15 (S) 11	25 (S) 5.1	6 (R) > 33	18 (I) 32	6 (R) > 42
083-02	6 (R) > 41	29 (S) < 0.56	6 (R) > 16	6 (R) > 16	11 (R) 37	7 (R) > 239	6 (R) > 33	17 (I) 39	6 (R) > 42
084-02	6 (R) > 41	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	10 (R) 50	6 (R) > 239	6 (R) > 33	12 (R) 105	6 (R) > 42
085-02	20 (S) 1.5	26 (S) 0.83	6 (R) > 16	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	15 (I) 58	7 (R) > 42
088-02	21 (S) 1.1	24 (S) 1.2	15 (I) 3.3	6 (R) > 16	6 (R) > 90	6 (R) > 239	6 (R) > 33	17 (I) 39	21 (S) 1.1
087-02	18 (S) 2.6	27 (S) 0.68	6 (R) > 16	6 (R) > 16	15 (S) 11	21 (S) 13	19 (S) 7.7	20 (S) 22	20 (S) 1.4

UME	GEN <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>	STR <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>
088-02	14 (I) 7.9	26 (S) 0.83	6 (R)> 16	6 (R)> 16	10 (R) 50	18 (S) 25	6 (R)> 33	15 (I) 58	6 (R)> 42
089-02	7 (R)> 41	30 (S)< 0.56	10 (R) 10	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	20 (S) 22	12 (R) 14
137-02	23 (S) 1.0	28 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	14 (R) 96	22 (S) 1.0
138-02	18 (S) 4.0	31 (S)< 1.0	7 (R)> 16	6 (R)> 16	11 (R) 48	6 (R)> 256	6 (R)> 48	13 (R) 96	11 (R) 20
139-02	12 (R) 16	28 (S)< 1.0	7 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	18 (I) 32	11 (R) 20
140-02	8 (R)> 48	28 (S)< 1.0	9 (R) 12	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	11 (R) 128	9 (R) 32
141-02	6 (R)> 48	30 (S)< 1.0	8 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	16 (I) 48	6 (R)> 48
142-02	23 (S) 0.66	29 (S)< 0.56	7 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	27 (S) 5.4	21 (S) 1.1
143-02	6 (R)> 41	35 (S)< 0.56	6 (R)> 18	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	11 (R) 128	10 (R) 24
145-02	14 (I) 7.9	32 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	15 (I) 58	13 (I) 10
146-02	6 (R)> 41	25 (S) 1.0	8 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	17 (I) 39	12 (R) 14
147-02	13 (I) 10	33 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 90	27 (S)< 4.1	27 (S) 1.1	26 (S) 6.6	11 (R) 18
148-02	23 (S) 0.66	32 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 90	27 (S)< 4.1	6 (R)> 33	26 (S) 6.6	20 (S) 1.4
149-02	20 (S) 1.5	30 (S)< 0.56	6 (R)> 18	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	8 (R)> 33	10 (R) 156	11 (R) 18
150-02	22 (S) 0.87	30 (S)< 0.56	15 (I) 3.3	11 (R) 5.4	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	16 (I) 48	29 (S) 1.9
151-02	23 (S) 0.66	32 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	15 (S) 11	29 (S)< 4.1	20 (S) 6.0	26 (S) 6.6	20 (S) 1.4
152-02	15 (S) 6.0	35 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 90	29 (S)< 4.1	6 (R)> 33	28 (S)< 4.4	11 (R) 18
153-02	6 (R)> 41	28 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	7 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	23 (S) 12	12 (R) 14
154-02	24 (S) 0.5	33 (S)< 0.56	6 (R)> 18	6 (R)> 16	9 (R) 67	6 (R)> 239	6 (R)> 33	14 (R) 71	21 (S) 1.1
155-02	6 (R)> 41	30 (S)< 0.56	6 (R)> 18	6 (R)> 16	10 (R) 50	6 (R)> 239	6 (R)> 33	15 (I) 58	13 (I) 10
156-02	6 (R)> 41	31 (S)< 0.56	9 (R) 12	6 (R)> 16	6 (R)> 90	6 (R)> 239	6 (R)> 33	18 (I) 32	11 (R) 18
157-02	9 (R) 31	28 (S)< 0.56	6 (R)> 16	6 (R)> 16	12 (I) 28	6 (R)> 239	6 (R)> 33	15 (I) 58	13 (I) 10
158-02	19 (S) 2.0	35 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	14 (I) 16	6 (R)> 256	6 (R)> 48	15 (I) 64	22 (S) 1.0
159-02	16 (S) 6.0	32 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	17 (I) 48	15 (S) 6.0
160-02	19 (S) 2.0	30 (S)< 1.0	8 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	12 (R) 128	22 (S) 1.0
298-02	22 (S) 1.0	33 (S)< 1.0	8 (R)> 16	8 (R)> 16	16 (S) 10	26 (S)< 6.0	22 (S) 4.0	19 (I) 32	20 (S) 2.0
299-02	6 (R)> 48	34 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	15 (I) 64	13 (I) 10
300-02	6 (R)> 48	27 (S) 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	6 (R)> 256	13 (I) 10
301-02	7 (R)> 48	32 (S)< 1.0	13 (R) 6.0	7 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	15 (I) 64	6 (R)> 48
302-02	7 (R)> 48	33 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	18 (I) 32	7 (R)> 48
303-02	22 (S) 1.0	33 (S)< 1.0	11 (R) 8.0	6 (R)> 16	18 (S) 6.0	6 (R)> 256	6 (R)> 48	17 (I) 48	12 (R) 16
304-02	14 (I) 8.0	32 (S)< 1.0	11 (R) 8.0	10 (R) 8.0	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	14 (R) 96	6 (R)> 48
305-02	17 (S) 4.0	33 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	11 (R) 128	12 (R) 16
306-02	6 (R)> 48	31 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	17 (S) 8.0	6 (R)> 256	6 (R)> 48	11 (R) 128	6 (R)> 48
307-02	18 (S) 4.0	32 (S)< 1.0	7 (R)> 16	6 (R)> 16	16 (S) 10	6 (R)> 256	6 (R)> 48	22 (S) 16	6 (R)> 48
308-02	22 (S) 1.0	31 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	8 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	9 (R) 256	22 (S) 1.0
309-02	19 (S) 2.0	31 (S)< 1.0	8 (R)> 16	6 (R)> 16	7 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	9 (R) 256	15 (S) 6.0
310-02	6 (R)> 48	30 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	18 (I) 32	6 (R)> 48
311-02	25 (S) 0.5	30 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	27 (S) 6.0	20 (S) 2.0
312-02	7 (R)> 48	32 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	20 (S) 16	6 (R)> 48	15 (I) 64	15 (S) 6.0
313-02	10 (R) 24	35 (S)< 1.0	7 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	10 (R) 256	21 (S) 2.0
316-02	23 (S) 1.0	31 (S)< 1.0	16 (I) 4.0	15 (I) 4.0	6 (R)> 96	6 (R)> 256	7 (R)> 48	23 (S) 12	6 (R)> 48
317-02	23 (S) 1.0	32 (S)< 1.0	9 (R) 12	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	26 (S) 8.0	21 (S) 2.0
318-02	19 (S) 2.0	35 (S)< 1.0	7 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	12 (R) 128	10 (R) 24
319-09	24 (S) 0.5	33 (S)< 1.0	9 (R) 12	6 (R)> 16	8 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	17 (I) 48	12 (R) 16
320-02	25 (S) 0.5	27 (S) 1.0	13 (R) 6.0	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	8 (R)> 256	22 (S) 1.0
322-02	22 (S) 1.0	29 (S) 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	15 (I) 64	20 (S) 2.0
323-02	22 (S) 1.0	30 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	15 (I) 64	22 (S) 1.0
324-02	14 (I) 8.0	32 (S)< 1.0	12 (R) 8.0	7 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	16 (I) 48	10 (R) 24
325-02	22 (S) 1.0	35 (S)< 1.0	9 (R) 12	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	18 (I) 32	10 (R) 24
326-02	22 (S) 1.0	33 (S)< 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	22 (S) 10	6 (R)> 48	17 (I) 48	21 (S) 2.0

UME	GEN <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>	STR <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>
327-02	6 (R)> 48	35 (S)< 1.0	11 (R) 8.0	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	22 (S) 16	14 (I) 8.0
328-02	23 (S) 1.0	33 (S)< 1.0	11 (R) 8.0	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	22 (S) 16	23 (S) 1.0
329-02	10 (R) 24	30 (S)< 1.0	10 (R) 10	6 (R)> 16	16 (S) 10	6 (R)> 256	6 (R)> 48	23 (S) 12	19 (S) 2.0
330-02	19 (S) 2.0	26 (S) 1.0	6 (R)> 16	6 (R)> 16	6 (R)> 96	6 (R)> 256	6 (R)> 48	20 (S) 24	18 (S) 2.0

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacin, OFX: Ofloxacin, STR: Estreptomycin, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetracycline, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramycin

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

UME	CIP <sup>b</sup>	UME	CIP <sup>b</sup>	UME	CIP <sup>b</sup>
029-02	(R)> 32	071-02	(R)> 32	299-02	(R)> 32
030-02	(R)> 32	074-02	(R)> 32	300-02	(R)> 32
031-02	(R)> 32	076-02	(R)> 32	301-02	(R)> 32
032-02	(R)> 32	078-02	(R)> 32	302-02	(R)> 32
033-02	(R)> 32	079-02	(R)> 32	303-02	(R)> 32
034-02	(R)> 32	081-02	(R)> 32	304-02	(R)> 32
035-02	(R)> 32	082-02	(R)> 32	305-02	(R)> 32
036-02	(R)> 32	083-02	(R)> 32	306-02	(R)> 32
037-02	(R)> 32	084-02	(R)> 32	307-02	(R)> 32
038-02	(R)> 32	085-02	(R)> 32	308-02	(R)> 32
039-02	(R)> 32	086-02	(R)> 32	309-02	(R)> 32
040-02	(R)> 32	087-02	(R)> 32	310-02	(R)> 32
041-02	(R)> 32	088-02	(R)> 32	311-02	(R)> 32
043-02	(R)> 32	089-02	(R)> 32	312-02	(R)> 32
045-02	(R)> 32	137-02	(R)> 32	313-02	(R)> 32
047-02	(R)> 32	138-02	(R)> 32	316-02	(R)> 32
048-02	(R)> 32	139-02	(R)> 32	317-02	(R)> 32
050-02	(R)> 32	140-02	(R)> 32	318-02	(R)> 32
051-02	(R)> 32	141-02	(R)> 32	319-09	(R)> 32
052-02	(R)> 32	142-02	(R)> 32	320-02	(R)> 32
053-02	(R)> 32	143-02	(R)> 32	322-02	(R)> 32
054-02	(R)> 32	145-02	(R)> 32	323-02	(R)> 32
055-02	(R)> 32	146-02	(R)> 32	324-02	(R) 6
056-02	(R)> 32	147-02	(R)> 32	325-02	(R)> 32
057-02	(R)> 32	148-02	(R)> 32	326-02	(R)> 32
058-02	(R)> 32	149-02	(R)> 32	327-02	(R)> 32
059-02	(R)> 32	150-02	(R)> 32	328-02	(R)> 32
060-02	(R)> 32	151-02	(R)> 32	329-02	(R)> 32
061-02	(R)> 32	152-02	(R)> 32	330-02	(R)> 32
062-02	(R)> 32	153-02	(R)> 32		
063-02	(R)> 32	154-02	(R)> 32		
064-02	(R)> 32	155-02	(R)> 32		
065-02	(R)> 32	156-02	(R)> 32		
066-02	(R)> 32	157-02	(R)> 32		
067-02	(R)> 32	158-02	(R)> 32		
068-02	(R)> 32	159-02	(R)> 32		
069-02	(R)> 32	160-02	(R)> 32		
070-02	(R)> 32	298-02	(R)> 32		

(Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

CIP: Ciprofloxacino

b: Datos obtenidos por E-Test.

APÉNDICE IV

Datos Generales de las Cepas Agrupadas en las 8 Clonas con Mayor Frecuencia:

Clona 2							
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN
030-02	13149N	Alberto Mercado Carrillo	55 años	Líquido ascítico	22/02/2002	Gastroenterología	Nosocomial
031-02	13158N	Sergio Díaz Plascencia	2 años	Secreción de oído	25/02/2002	UCIP	Nosocomial
034-02	14173N	Guadalupe Macías Vega	23 años	Úlcera Sacra	29/05/2002	Neurocirugía	Nosocomial
051-02	15320N	Alejandro Medina Moreno	28 años	Sangre	03/12/2002	Gastroenterología	Nosocomial
057-02	15933N	María de la Luz Vargas Ramírez	31 años	Líquido biliar	18/02/2003	UCI	Comunitaria
065-02	16192N	Julio César Mercado Núñez	16 años	Secreción de herida quirúrgica	31/03/2003	Cirugía Medicina Legal	Nosocomial
071-02	16269N	José Luis Aguilar Ortiz	49 años	Secreción de herida quirúrgica	27/04/2003	Cirugía General	Nosocomial
074-02	16474N	Jorge Enrique Arreola Estrada	41 años	Secreción de glúteo	23/06/2003	Dermatología	Nosocomial
079-02	16621N	Pedro Cisneros Briones	32 años	Secreción de úlcera sacra	07/08/2003	Unidad HIV	Nosocomial
081-02	16641N	Albino Pérez Saldaña	42 años	Secreción	14/07/2003	Cirugía Medicina Legal	Nosocomial
082-02	16671N	Magdalena López Santa Cruz	59 años	Urocultivo	30/07/2003	Uroginecología	Nosocomial
083-02	16744N	Francisco Gómez Gómez	72 años	Secreción de herida quirúrgica	23/08/2003	UCI	Nosocomial
084-02	16745N	Javier Ramírez Alegría	26 años	Líquido pleural	22/08/2003	UCI	Nosocomial
085-02	16754N	María Victoria Gutiérrez Rodríguez	77 años	Urocultivo	23/08/2003	Hematología	Nosocomial
088-02	17079N	Aurora Monroy Salinas	52 años	Urocultivo	09/09/2003	Uroginecología	Comunitaria
138-02	17367N	Tomás Topete Peña	42 años	Líquido Peritoneal	13/01/2004	Gastroenterología	Comunitaria
149-02	17506N	María Campos Pérez	75 años	Urocultivo	14/01/2004	Ginecología	Nosocomial
303-02	17586N	Diego Amaurí Galindo Gutiérrez	9 meses	Urocultivo	09/02/2004	Infecto Pediatría	Comunitaria
304-02	17591N	P. N. Serrano	N. D.	Urocultivo	11/02/2004	Ginecología	N. D.
307-02	17600N	Ana María Díaz López	73 años	Urocultivo	16/02/2004	Torax y Cardiovascular	Comunitaria
318-02	17718N	Isabel Lucero García Reyes	18 años	Secreción de Herida	27/02/2004	Cons Ext. Ortopedia y Trauma	Comunitaria
328-02	17795N	Antonio Trujillo Domínguez	64 años	Secreción	30/03/2004	Ortopedia y Traumatología	Comunitaria
329-02	17798N	Humberto Canales Sordía	63 años	Urocultivo	31/03/2004	Ginecología	Nosocomial

⊙: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 10								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	⊗
040-02	14389N	Teresa Manríquez Torres	68 años	Sangre	02/07/2002	Tórax y Cardiovascular	Nosocomial	⊗
041-02	14415N	Marco Antonio Núñez Barajas	23 años	Urocultivo	25/07/2002	Infecto Adultos	Nosocomial	⊗
054-02	15484N	Carmen Luna Carrera	51 años	Drene bitis	27/01/2003	UCI	Nosocomial	
056-02	15904N	Edelmira García Guzmán	65 años	Secreción de herida en abdomen	14/02/2003	Cirugia General	Nosocomial	
058-02	16083N	Aurelio de la Cruz López	42 años	Secreción de herida quirúrgica	04/03/2003	Neurocirugia	Nosocomial	
060-02	16044N	Aurelio de la Cruz López	42 años	Líquido cefalorraquídeo	04/03/2003	Neurocirugia	Nosocomial	
062-02	16159N	Jorge Luis Aguayo Hernández	1 año	Urocultivo	28/03/2003	Infecto Pediatría	Nosocomial	
068-02	16228N	Arturo Sánchez Romero	56 años	Urocultivo	09/04/2003	Gastroenterología	Nosocomial	⊗
069-02	16231N	Guillermo Ortega Guerra	48 años	Secreción de amputación transbital	14/04/2003	Ortopedia y Traumatología	Nosocomial	

⊗: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 21								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	⊗
066-02	16196N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Secreción de herida quirúrgica	01/04/2003	Cirugia General	Nosocomial	
067-02	16203N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Secreción de herida quirúrgica	04/04/2003	Cirugia General	Nosocomial	
140-02	17406N	Ana María Salazar Alcalá	53 años	Urocultivo	06/01/2004	Cirugia General Cons. Ext.	Comunitaria	

⊗: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 27								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	☺
087-02	17077N	Micaela Escamilla Veloz	62 años	Urocultivo	29/09/2003	Gastroenterología	Nosocomial	
089-02	17080N	Lucía Caballero Salto	58 años	Urocultivo	30/09/2003	Gastroenterología	Comunitaria	
146-02	17445N	Francisco González	42 años	Urocultivo	29/01/2004	Uro. Cons. Ext.	Comunitaria	
156-02	17514N	María de Jesús Romero Cabrera	45 años	Urocultivo	28/01/2004	Cons. Ext. Gastro	Comunitaria	
298-02	17563N	José Covarrubias Flores	73 años	Urocultivo	19/02/2004	Infecto Adultos	Comunitaria	
300-02	17571N	Jorge Ávila Gómez	50 años	Expectoración	27/02/2004	Unidad HIV	Comunitaria	
301-02	17572N	Telesforo Núñez Reyes	61 años	Secreción de Herida	26/02/2004	Infecto Adultos	Nosocomial	

☺: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 30								
UME	No REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO O (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	☺
148-02	17505N	Hortensia del Rosario	32 años	Urocultivo	07/01/2004	Cirugía General Cons. Ext.	Comunitaria	
139-02	17382N	Gabriel Torres Torres	63 años	Secreción de herida	21/01/2004	Cirugía Medicina Legal	Nosocomial	

☺: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 32								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	☺
143-02	17415N	Victor Hugo Medina Jasso	19 años	Urocultivo	08/01/2004	Consulta Externa	Comunitaria	
153-02	17511N	Socorro Delgadillo Saucedo	28 años	Urocultivo	22/01/2004	Transplante C. Ext.	Comunitaria	

☺: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 35								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	⊙
151-02	17509N	Antonio Rojas Hernández	35 años	Semen	19/01/2004	Uro. Cons. Ext.	Comunitaria	
310-02	17639N	Gregorio Vázquez Rodríguez	63 años	Líquido Peritoneal	02/03/2004	Medicina Interna	Comunitaria	

⊙: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 36								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	⊙
152-02	17510N	Juana Pérez Torres	26 años	Catéter	21/01/2004	Infecto Adultos	Nosocomial	
145-02	17441N	Irene Clemente Margarita	28 años	Urocultivo	26/01/2004	Hemato Cons. Ext.	Comunitaria	
147-02	17479N	María del Refugio Zamudio Torres	80 años	Secreción de pierna	02/02/2004	Consulta Externa	Comunitaria	

⊙: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 37								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	⊙
154-02	17512N	María Dolores Ávila Chávez	53 años	Secreción	22/01/2004	Torax y Cardiovascular	Comunitaria	
155-02	17513N	Roberto Andrade Limón	76 años	Urocultivo	26/01/2004	Consulta Externa	Nosocomial	
157-02	17515N	Norma Hernández Hernández	25 años	Secreción Vaginal	29/01/2004	Ginecología	Comunitaria	

⊙: Defunción

N. D.: No Determinado

Clona 53								
UME	No. REF. GUAD	NOMBRE DE PACIENTE	EDAD DE PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	FECHA DE AISLAMIENTO (dd-mm-año)	SERVICIO HOSPITALARIO	TIPO DE INFECCIÓN	⊙
324-02	17777N	M. Rentería Vázquez	N. D.	Secreción	22/03/2004	Nefrología	N. D.	
325-02	17785N	Ma. De la Luz Ramírez Flores	62 años	Urocultivo	23/03/2004	Uroginecología	Nosocomial	

⊙: Defunción

N. D.: No Determinado

APÉNDICE V

Susceptibilidad de las Cepas Agrupadas en las 8 Clonas con Mayor Frecuencia a los 18 Antibióticos Empleados:

Clona 2:

Clona 2								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
030-02	7 (R)>46	12 (R)> 8.0	16 (I) 19	13 (R) 41	27 (S) 1.5	24 (S) 1.2	18 (I) 18	13 (R) 86
031-02	6 (R)>46	11 (R)> 8.0	16 (I) 19	14 (R) 33	28 (S) 1.2	25 (S) 1.0	19 (I) 15	13 (R) 86
034-02	6 (R)>46	14 (R)> 8.0	20 (I) 7.1	16 (I) 21	28 (S) 1.2	25 (S) 1.0	19 (I) 15	21 (S) 18
051-02	6 (R)>46	7 (R)> 8.0	14 (R) 31	6 (R)> 126	21 (S) 5.3	24 (S) 1.2	17 (I) 22	8 (R)>232
057-02	6 (R)>46	7 (R)> 8.0	6 (R)> 138	6 (R)> 126	13 (R) 28	27 (S) 0.68	10 (R)> 58	11 (R) 128
065-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	7 (R)> 126	6 (R)> 79	27 (S) 0.68	7 (R)> 58	13 (R) 86
071-02	8 (R)>46	12 (R)> 8.0	21 (S) 5.5	7 (R)> 126	24 (S) 2.8	28 (S)< 0.56	7 (R)> 58	22 (S) 14
074-02	7 (R)>46	7 (R)> 8.0	7 (R)> 138	12 (R) 51	11 (R) 42	27 (S) 0.68	13 (R) 47	14 (R) 71
079-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	11 (R) 64	9 (R) 64	30 (S)< 0.56	9 (R)> 58	18 (I) 32
081-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	6 (R)> 138	12 (R) 51	10 (R) 52	27 (S) 0.68	6 (R)> 58	15 (I) 58
082-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	10 (R) 80	12 (R) 34	27 (S) 0.68	9 (R)> 58	18 (I) 32
083-02	6 (R)>46	7 (R)> 8.0	7 (R)> 138	14 (R) 33	13 (R) 28	29 (S)< 0.56	7 (R)> 58	17 (I) 39
084-02	7 (R)>46	7 (R)> 8.0	9 (R) 108	13 (R) 41	12 (R) 34	27 (S) 0.68	8 (R)> 58	12 (R) 105
085-02	6 (R)>46	16 (I)> 8.0	27 (S) 1.3	12 (R) 51	24 (S) 2.8	26 (S) 0.83	15 (R) 32	15 (I) 58
088-02	7 (R)>46	16 (I)> 8.0	27 (S) 1.3	25 (S) 2.7	27 (S) 1.5	26 (S) 0.83	28 (S) 2.5	15 (I) 58
138-02	6 (R)>46	21 (I) 4.0	31 (S) 0.50	28 (S) 2.0	30 (S) 1.0	31 (S)< 1.0	52 (S)<2.0	13 (R) 96
149-02	6 (R)>46	20 (I) 5.0	29 (S) 0.77	26 (S) 2.2	27 (S) 1.5	30 (S)< 0.58	30 (S)< 1.7	10 (R) 156
303-02	7 (R)>48	21 (I) 4.0	32 (S) 0.50	30 (S) 1.0	29 (S) 1.0	33 (S)< 1.0	30 (S)< 2.0	17 (I) 48
304-02	7 (R)>48	22 (I) 4.0	32 (S) 0.50	29 (S) 2.0	32 (S)< 1.0	32 (S)< 1.0	31 (S)< 2.0	14 (R) 96
307-02	13 (R) 12	20 (I) 6.0	28 (S) 1.0	26 (S) 4.0	27 (S) 2.0	32 (S)< 1.0	28 (S) 4.0	22 (S) 16
318-02	6 (R)>48	21 (I) 4.0	33 (S)< 0.50	30 (S) 1.0	30 (S) 1.0	35 (S)< 1.0	32 (S)< 2.0	12 (R) 128
328-02	6 (R)>48	23 (S) 4.0	34 (S)< 0.50	32 (S)< 1.0	37 (S)< 1.0	33 (S)< 1.0	36 (S)< 2.0	22 (S) 16
329-02	6 (R)>48	25 (S) 2.0	32 (S) 0.50	32 (S)< 1.0	33 (S)< 1.0	30 (S)< 1.0	30 (S)< 2.0	23 (S) 12

Clona 2								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
030-02	15 (S) 11	18 (S) 2.6	8 (R)> 42	20 (S) 5.1	6 (R)> 33	27 (S)< 4.1	(R)> 32	14 (R) 2.7
031-02	15 (S) 11	16 (S) 4.5	7 (R)> 42	21 (S) 3.7	6 (R)> 33	20 (S) 16	(R)> 32	12 (R) 4.0
034-02	15 (S) 11	20 (S) 1.5	15 (S) 5.8	19 (S) 6.9	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	9 (R)> 6.0
051-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	10 (R) 24	16 (I) 18	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	9 (R)> 6.0
057-02	10 (R) 50	6 (R)> 41	6 (R)> 42	17 (S) 13	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 8.0
065-02	6 (R)> 90	7 (R)> 41	6 (R)> 42	17 (S) 13	6 (R)> 33	18 (S) 25	(R)> 32	7 (R)> 6.0
071-02	10 (R) 50	19 (S) 2.0	11 (R) 18	17 (S) 13	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
074-02	7 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	19 (S) 6.9	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0
079-02	10 (R) 50	7 (R)> 41	6 (R)> 42	18 (S) 9.5	17 (I) 13	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
081-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	16 (I) 18	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
082-02	15 (S) 11	7 (R)> 41	6 (R)> 42	18 (S) 9.5	6 (R)> 33	25 (S) 5.1	(R)> 32	7 (R)> 6.0
083-02	11 (R) 37	6 (R)> 41	6 (R)> 42	17 (S) 13	6 (R)> 33	7 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0
084-02	10 (R) 50	6 (R)> 41	6 (R)> 42	15 (I) 24	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
085-02	6 (R)> 90	20 (S) 1.5	7 (R)> 42	18 (S) 9.5	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0

UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
088-02	10 (R) 50	14 (I) 7.9	6 (R)> 42	17 (S) 13	6 (R)> 33	18 (S) 25	(R)> 32	7 (R)> 6.0
138-02	11 (R) 48	18 (S) 4.0	11 (R) 20	19 (S) 8.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	9 (R)> 6.0
149-02	6 (R)> 90	20 (S) 1.5	11 (R) 18	18 (S) 9.5	8 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
303-02	18 (S) 6.0	22 (S) 1.0	12 (R) 16	23 (S) 2.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	12 (R) 4.0
304-02	6 (R)> 96	14 (I) 8.0	6 (R)> 48	25 (S) 2.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	12 (R) 4.0
307-02	16 (S) 10	18 (S) 4.0	6 (R)> 48	22 (S) 4.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	9 (R)> 6.0
318-02	6 (R)> 96	19 (S) 2.0	10 (R) 24	21 (S) 4.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	12 (R) 4.0
328-02	6 (R)> 96	23 (S) 1.0	23 (S) 1.0	27 (S)< 1.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	8 (R)> 6.0
329-02	16 (S) 10	10 (R) 24	19 (S) 2.0	24 (S) 2.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	10 (R)> 6.0

Clona 2		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
030-02	10 (R) 10	6 (R)> 16
031-02	11 (R) 8.0	6 (R)> 16
034-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
051-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
057-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
065-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
071-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
074-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
079-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
081-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
082-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
083-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
084-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
085-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
088-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
138-02	7 (R)> 16	6 (R)> 16
149-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
303-02	11 (R) 8.0	6 (R)> 16
304-02	11 (R) 8.0	10 (R) 8.0
307-02	7 (R)> 16	6 (R)> 16
318-02	7 (R)> 16	6 (R)> 16
328-02	11 (R) 8.0	6 (R)> 16
329-02	10 (R) 10	6 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina, IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomicina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

**Clona 10:**

Clona 10								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
040-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	13 (R) 41	12 (R) 34	28 (S)< 0.56	9 (R)> 58	10 (R) 156
041-02	6 (R)>46	6 (R)> 8.0	6 (R)> 138	13 (R) 41	15 (I) 18	31 (S)< 0.56	11 (R)> 58	6 (R)> 232
054-02	7 (R)>46	7 (R)> 8.0	6 (R)> 138	7 (R)> 126	11 (R) 42	28 (S)< 0.56	6 (R)> 58	10 (R) 156
056-02	6 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	15 (I) 26	12 (R) 34	28 (S)< 0.56	11 (R)> 58	11 (R) 128
058-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	9 (R) 101	10 (R) 52	24 (S) 1.2	7 (R)> 58	10 (R) 156
060-02	6 (R)>46	7 (R)> 8.0	6 (R)> 138	9 (R) 101	11 (R) 42	23 (S) 1.5	6 (R)> 58	10 (R) 156
062-02	6 (R)>46	6 (R)> 8.0	6 (R)> 138	15 (I) 26	13 (R) 28	27 (S) 0.68	11 (R)> 58	14 (R) 71
068-02	7 (R)>46	7 (R)> 8.0	6 (R)> 138	15 (I) 26	14 (R) 23	26 (S) 0.83	11 (R)> 58	15 (I) 58
069-02	6 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	14 (R) 33	11 (R) 42	27 (S) 0.68	11 (R)> 58	20 (S) 22

Clona 10								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
040-02	6 (R)> 90	7 (R)> 41	6 (R)> 42	16 (I) 18	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0
041-02	8 (R)> 90	8 (R)> 41	6 (R)> 42	15 (I) 24	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
054-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	7 (R)> 155	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
056-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	18 (S) 9.5	8 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0
058-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	19 (S) 6.9	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0
060-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	18 (S) 9.5	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
062-02	6 (R)> 90	7 (R)> 41	6 (R)> 42	19 (S) 6.9	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
068-02	6 (R)> 90	8 (R)> 41	18 (S) 2.5	16 (I) 18	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	10 (R)> 6.0
069-02	6 (R)> 90	7 (R)> 41	9 (R) 32	18 (S) 9.5	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	7 (R)> 6.0

Clona 10		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
040-02	6 (R)> 16	7 (R) 13
041-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
054-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
056-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
058-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
060-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
062-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
068-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
069-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL.

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

Clona 21:

Clona 21								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
066-02	6 (R)>46	6 (R)> 8.0	6 (R)> 138	7 (R)> 126	15 (I) 18	22 (S) 1.8	7 (R)> 58	11 (R) 128
067-02	7 (R)>46	7 (R)> 8.0	9 (R) 108	7 (R)> 126	18 (S) 9.8	27 (S) 0.68	9 (R)> 58	12 (R) 105
140-02	7 (R)>46	6 (R)> 8.0	11 (R) 96	6 (R)> 126	19 (S) 8.0	28 (S)< 1.0	7 (R)> 64	11 (R) 128

Clona 21								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
066-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	14 (R) 33	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
067-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	6 (R)> 42	13 (R) 45	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	10 (R)> 6.0
140-02	6 (R)> 96	8 (R)> 48	9 (R) 32	15 (I) 24	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	10 (R)> 6.0

Clona 21		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
066-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
067-02	10 (R) 10	6 (R)> 16
140-02	9 (R) 12	6 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomicina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

Clona 27:

Clona 27								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
087-02	7 (R)>46	15 (I)> 8.0	28 (S) 0 98	25 (S) 2.7	30 (S) 0.81	27 (S) 0.68	29 (S) 2.0	20 (S) 22
089-02	6 (R)>46	19 (I) 6.3	29 (S) 0 77	25 (S) 2.7	29 (S) 1.0	30 (S)< 0.56	29 (S) 2.0	20 (S) 22
146-02	6 (R)>46	21 (I) 4.0	27 (S) 1 3	25 (S) 2.7	29 (S) 1.0	25 (S) 1.0	30 (S)< 1.7	17 (I) 39
156-02	6 (R)>46	20 (I) 5.0	30 (S) 0 60	28 (S) 1.4	32 (S)< 0.5	31 (S)< 0.56	31 (S)< 1.7	18 (I) 32
298-02	7 (R)>48	22 (S) 2.0	33 (S)< 0.50	32 (S)< 1.0	34 (S)< 1.0	33 (S)< 1.0	29 (S) 2.0	19 (I) 32
300-02	6 (R)>48	6 (R)> 8.0	12 (R) 64	6 (R)> 128	24 (S) 4.0	27 (S) 1.0	15 (R) 32	6 (R)> 256
301-02	6 (R)>48	25 (S) 2.0	33 (S)< 0.50	29 (S) 2.0	34 (S)< 1.0	32 (S)< 1.0	32 (S)< 2.0	15 (I) 64

Clona 27								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
087-02	15 (S) 11	18 (S) 2.6	20 (S) 1.4	22 (S) 2.7	19 (S) 7.7	21 (S) 13	(R)> 32	7 (R)> 6.0
089-02	6 (R)> 90	7 (R)> 41	12 (R) 14	18 (S) 9.5	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	14 (R) 2.7
146-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	12 (R) 14	20 (S) 5.1	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
156-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	11 (R) 18	21 (S) 3.7	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	13 (R) 3.3
298-02	16 (S) 10	22 (S) 1.0	20 (S) 2.0	23 (S) 2.0	22 (S) 4.0	26 (S)< 6.0	(R)> 32	14 (R) 4.0
300-02	6 (R)> 96	6 (R)> 48	13 (I) 10	26 (S)< 1.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	6 (R)> 6.0
301-02	6 (R)> 96	7 (R)> 48	6 (R)> 48	23 (S) 2.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	15 (I) 4.0

Clona 27		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
087-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
089-02	10 (R) 10	6 (R)> 16
146-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
156-02	9 (R) 12	6 (R)> 16
298-02	8 (R)> 16	6 (R)> 16
300-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
301-02	13 (R) 6.0	7 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

**Clona 30:**

Clona 30								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
148-02	17 (S) 4.8	21 (I) 4.0	30 (S) 0.60	29 (S) 1.1	31 (S) 0.66	32 (S) < 0.56	30 (S) < 1.7	26 (S) 6.6
139-02	7 (R) > 46	17 (I) > 8.0	22 (I) 6.0	16 (I) 24	32 (S) < 1.0	28 (S) < 1.0	22 (S) 8.0	18 (I) 32

Clona 30								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
148-02	6 (R) > 90	23 (S) 0.66	20 (S) 1.4	23 (S) 2.0	6 (R) > 33	27 (S) < 4.1	(R) > 32	6 (R) > 6.0
139-02	6 (R) > 96	12 (R) 16	11 (R) 20	24 (S) 2.0	6 (R) > 48	6 (R) > 256	(R) > 32	10 (R) > 6.0

Clona 30		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
148-02	6 (R) > 16	6 (R) > 16
139-02	7 (R) > 16	6 (R) > 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Cefotaxidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

**Clona 32:**

Clona 32								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
143-02	9 (R)>46	6 (R)> 8.0	7 (R)> 138	14 (R) 33	16 (I) 15	35 (S)< 0.56	9 (R)> 58	11 (R) 128
153-02	15 (I) 7.5	19 (I) 6.3	29 (S) 0.77	27 (S) 1.7	30 (S) 0.81	28 (S)< 0.56	28 (S) 2.5	23 (S) 12

Clona 32								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
143-02	6 (R)> 90	6 (R)> 41	10 (R) 24	22 (S) 2.7	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
153-02	7 (R)> 90	6 (R)> 41	12 (R) 14	20 (S) 5.1	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0

Clona 32		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
143-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
153-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomicina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

**Clona 35:**

Clona 35								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
151-02	18 (S) 3.8	20 (I) 5.0	30 (S) 0.60	30 (S) 0.88	35 (S) < 0.59	32 (S) < 0.56	34 (S) < 1.7	26 (S) 6.6
310-02	6 (R) > 48	21 (I) 4.0	31 (S) 0.50	28 (S) 2.0	34 (S) < 1.0	30 (S) < 1.0	33 (S) < 2.0	18 (I) 32

Clona 35								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
151-02	15 (S) 11	23 (S) 0.66	20 (S) 1.4	23 (S) 2.0	20 (S) 6.0	29 (S) < 4.1	(R) > 32	6 (R) > 6.0
310-02	6 (R) > 96	6 (R) > 48	6 (R) > 48	23 (S) 2.0	6 (R) > 48	6 (R) > 256	(R) > 32	8 (R) > 6.0

Clona 35		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
151-02	6 (R) > 16	6 (R) > 16
310-02	6 (R) > 16	6 (R) > 16

- Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomicina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarclina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

**Clona 36:**

Clona 36								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
152-02	17 (S) 4.8	20 (I) 5.0	31 (S) 0.47	29 (S) 1.1	34 (S) < 0.59	35 (S) < 0.56	35 (S) < 1 7	28 (S) < 4 4
145-02	6 (R) > 46	6 (R) > 8.0	6 (R) > 138	14 (R) 33	13 (R) 28	32 (S) < 0.56	10 (R) > 58	15 (I) 58
147-02	15 (I) 7.5	21 (I) 4 0	30 (S) 0.60	32 (S) < 0.56	31 (S) 0.66	33 (S) < 0.56	32 (S) < 1 7	26 (S) 6.6

Clona 36								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>b</sup>
152-02	6 (R) > 90	15 (S) 6.0	11 (R) 18	23 (S) 2.0	6 (R) > 33	29 (S) < 4.1	(R) > 32	8 (R) > 6.0
145-02	6 (R) > 90	14 (I) 7.9	13 (I) 10	21 (S) 3.7	6 (R) > 33	6 (R) > 239	(R) > 32	8 (R) > 6.0
147-02	6 (R) > 90	13 (I) 10	11 (R) 18	20 (S) 5.1	27 (S) 1.1	27 (S) < 4.1	(R) > 32	9 (R) > 6.0

Clona 36		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
152-02	6 (R) > 16	6 (R) > 16
145-02	6 (R) > 16	6 (R) > 16
147-02	6 (R) > 16	6 (R) > 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

Clona 37:

Clona 37								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
154-02	6 (R)>46	18 (I)> 8.0	31 (S) 0.47	26 (S) 2.2	32 (S)< 0.5	33 (S)< 0.56	31 (S)< 1.7	14 (R) 71
155-02	6 (R)>46	21 (I) 4.0	31 (S) 0.47	27 (S) 1.7	32 (S)< 0.5	30 (S)< 0.56	32 (S)< 1.7	15 (I) 58
157-02	6 (R)>46	20 (I) 5.0	30 (S) 0.60	26 (S) 2.2	30 (S) 0.81	28 (S)< 0.56	30 (S)< 1.7	15 (I) 58

Clona 37								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
154-02	9 (R) 67	24 (S) 0.5	21 (S) 1.1	24 (S) 1.5	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	8 (R)> 6.0
155-02	10 (R) 50	6 (R)> 41	13 (I) 10	22 (S) 2.7	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0
157-02	12 (I) 28	9 (R) 31	13 (I) 10	22 (S) 2.7	6 (R)> 33	6 (R)> 239	(R)> 32	6 (R)> 6.0

Clona 37		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
154-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
155-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16
157-02	6 (R)> 16	6 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarclina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.

b: Datos obtenidos por E-Test.

**Clona 53:**

Clona 53								
UME	AMP <sup>a</sup>	CXM <sup>a</sup>	CTX <sup>a</sup>	CAZ <sup>a</sup>	FEP <sup>a</sup>	IPM <sup>a</sup>	ATM <sup>a</sup>	TIM <sup>a</sup>
324-02	6 (R)>48	25 (S) 2.0	32 (S) 0.50	28 (S) 2.0	34 (S)< 1.0	32 (S)< 1.0	31 (S)< 2.0	16 (I) 48
325-02	6 (R)>48	22 (I) 4.0	34 (S)< 0.50	31 (S) 1.0	29 (S) 1.0	35 (S)< 1.0	35 (S)< 2.0	18 (I) 32

Clona 53								
UME	STR <sup>a</sup>	GEN <sup>a</sup>	TOB <sup>a</sup>	AMK <sup>a</sup>	TET <sup>a</sup>	SXT <sup>a</sup>	CIP <sup>b</sup>	GAT <sup>a</sup>
324-02	6 (R)> 96	14 (I) 8.0	10 (R) 24	23 (S) 2.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R) 6	14 (R) 4.0
325-02	6 (R)> 96	22 (S) 1.0	10 (R) 24	20 (S) 6.0	6 (R)> 48	6 (R)> 256	(R)> 32	10 (R)> 6.0

Clona 53		
UME	LVX <sup>a</sup>	OFX <sup>a</sup>
324-02	12 (R) 8.0	7 (R)> 16
325-02	9 (R) 12	6 (R)> 16

Halo de inhibición en mm, (Sensible, Intermedio o Resistente), MIC en µg/mL

AMP: Ampicilina, AMK: Amikacina, ATM: Aztreonam, CAZ: Ceftazidima, CIP: Ciprofloxacino, CTX: Cefotaxima, CXM: Cefuroxima, FEP: Cefepima, GAT: Gatifloxacino, GEN: Gentamicina IPM: Imipenem, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, STR: Estreptomicina, SXT: Trimetoprim-sulfametoxazol, TET: Tetraciclina, TIM: Tricarilina-ácido clavulánico, TOB: Tobramicina

- a: Datos obtenidos por método de difusión en placa de Sensidiscos.
- b: Datos obtenidos por E-Test.

- 1 Alcamo E. I., **Microbiology**, 2003, 1ª Edición, McGraw-Hill, USA.
- 2 Alekshun M. N., Levy S. B., 1997, **Minireview, Regulation of Chromosomally Mediated Multiple Antibiotic Resistance: the *mar* Regulon**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Oct. 41:2067 – 2075.
- 3 Almer L. S., Hoffrage J. B., Keller E. L., Flamm R. K., Shortridge V. D., 2004, **In Vitro and Bactericidal Activities of ABTT-492, a Novel Fluoroquinolone, against Gram-Positive and Gram-Negative Organisms**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48:2771 – 2777.
- 4 Alós J. I., 2003, **Quinolonas**, *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 5:261 – 268.
- 5 Arpin C., Dubois V., Coulange L., André C., Fischer I., Noury P., Grobost F., Brochet J. P., Jullin J., Dutilh B., Larrivet G., Lagrange I., Quentin C., 2003, **Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Community and Private Health Care Centers**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47:3506 – 3514.
- 6 Aslam M., Greer G. G., Nattress F. M., Gill C. O., McMullen L. M., 2004, **Genotypic Analysis of *Escherichia coli* Recovered from Product and Equipment at a Beef-Packing Plant**, *Journal of Applied Microbiology*, 1 – 9.
- 7 Baucheron S., Tyler S., Boyd D., Mulvey M. R., Chaslus-Dancla E., Cloeckaert A., 2004, **AcrAB-TolC Directs Efflux-Mediated Multidrug Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48:3729 – 3735.
- 8 Belkum A., Struelens M., Visser A., Verburgh H., Tibayrenc M., 2001, **Role of Genomic Typing in Taxonomy, Evolutionary Genetics and Microbial Epidemiology**, *Clinical Microbiology Reviews*, 14:547 – 560.
- 9 Beutin L., Geier D., Zimmermann S., Aleksic S., Gillespie H. A., Whittam T. S., 1997, **Epidemiological Relatedness and Clonal Types of Natural Populations of *Escherichia coli* Strains Producing Shiga Toxins in Separate Populations of Cattle and Sheep**, *Applied and Environmental Microbiology*, 63:2175 – 2180.
- 10 Boccia D., Pantosti A., D'Ancona F., Giannitelli S., Monaco M., Salmaso S., 2002, **Resistencias Antimicrobianas en Italia: Resultados Preliminares del Proyecto AR-ISS**, *Eurosurveillance Monthly Archives*, 7:87 – 93.
- 11 Boyd E. F., Hartl D. L., 1998, **Chromosomal Regions Specific to Pathogenic Isolates of *Escherichia coli* Have a Phylogenetically Clustered Distribution**, *Journal of Bacteriology*, 180:1159 – 1165.
- 12 Brock R., 2001, **Biología de los Microorganismos**, 2a Edición, Editorial Interamericana, México..
- 13 Chen Chang-Rung, Malik M., Snyder M., Drlica K., 1996, **DNA Gyrase and Topoisomerase IV on the Bacterial Chromosome: Quinolone-Induced DNA**

- Cleavage, *Journal of Molecular Biology*, 258:627 – 237.
- 14 Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E., 2000, **Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group**, *Applied and Environmental Microbiology*, 66:4555 – 4558.
  - 15 Critchlow S. E., Maxwell A., 1996, **DNA Cleavage Is Not Required for the Binding of Quinolone Drugs to the DNA Gyrase-DNA Complex**, *Biochemistry*, 35:7387 – 7393.
  - 16 Davis M. A., Hancock D. D., Besser T. E., Call D. R., 2003, **Evaluation of Pulsed-Field Gel Electrophoresis as a Tool for Determining the Degree of Genetic Relatedness between Strains of *Escherichia coli* O157:H7**, *Journal of Clinical Microbiology*, 41:1843 – 1849.
  - 17 Denyer S. P., Maillard J. Y., 2002, **Cellular Impermeability and Uptake of Biocides and Antibiotics in Gram-negative Bacteria**, *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 92:35s – 45s.
  - 18 Drlica K., 1999, **Mechanism of Fluoroquinolone Action**, *Microbiology*, 2:504 – 508.
  - 19 Drlica K., Zhao X., 1997, **DNA Gyrase, Topoisomerase IV, and the 4-Quinolones**, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61:377 – 392.
  - 20 Edelstein M., Pimkiń M., Palagin I., Edelstein I., Strachounski L., 2003, **Prevalence and Molecular Epidemiology of CTX-M Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian Hospitals**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47:3724 – 3732.
  - 21 Ferraro M. J., Wikler M. A., Craig W. A., Dudley M. N., Eliopoulos G. M., Hecht D. W., Hindler J., Reller B., Sheldon A. T., Swenson J. M., Tenover F. C., Testa R. T., Weinstein M. P., 2004, **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard**, 8a Edición, NCCLS, Vol. 23, No. 1, 2004.
  - 22 **Fluoroquinolones**, Thomson MICROMEDEX, USP DI, 2002  
[www.uspdqi.org/pubs/monographs/fluoroquinolones.pdf](http://www.uspdqi.org/pubs/monographs/fluoroquinolones.pdf)
  - 23 Foxman B., Riley L., 2001, **Molecular Epidemiology: Focus on Infection**, *American Journal of Epidemiology*, 153:1135 – 1141.
  - 24 Gautom R. K., 1997, **Rapid Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocol for Typing of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Gram-Negative Organisms in 1 Day**, *Journal of Clinical Microbiology*, 35:2977 – 2980.
  - 25 Gilbert D. N., Kohlhepp S. J., Slama K. A., Grunkemeier G., Lewis G., DwoOrkin R. J., Slaughter S. E., Leggett J. E., 2001, **Phenotypic Resistance of *Staphylococcus aureus*, Selected *Enterobacteriaceae*, and *Pseudomonas aeruginosa* after Single and Multiple In Vitro Exposures to Ciprofloxacin, Levofloxacin, and Trovafloxacin**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,

- 45:883 – 892.
- 26 Gilbert D. N., Moellering R. C., Eliopoulos G. M., Sande M. A., 2004, **The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2004**, 34<sup>º</sup> Edición, Antimicrobial Therapy Inc., USA.
  - 27 Giraud E., Cloeckert A., Kerboeuf D., Chaslus-Dancla E., 2000, **Evidence for Active Efflux as the Primary Mechanism of Resistance to Ciprofloxacin in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 44:1223 – 1228.
  - 28 Gladwin M., Trattler B., 1999, **Clinical Microbiology Made Ridiculously Simple**, 1<sup>ª</sup> Edición, McGraw-Hill, USA.
  - 29 Greenwood D., 1995 **Antimicrobial Chemotherapy**, 3a Edición, Oxford University Press, USA.
  - 30 Grkovic S., Brown M. H., Skurray R. A., 2002 **Regulation of Bacterial Drug Export Systems**, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66:671 – 701.
  - 31 Hayashi N., Nakata Y., Yazaki A., 2004, **New Findings on the Structure-Phototoxicity Relationship and Photostability of Fluoroquinolones with Various Substituents at Position 1**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48:799 – 803.
  - 32 Hocquet D., Bertrand X., Köhler T., Talon D., Plésiat P., 2003, **Genetic and Phenotypic Variations of a Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Epidemic Clone**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:1887 – 1894.
  - 33 Hooper D. C., Rubinstein E., 2003, **Quinolone Antimicrobial Agents**, 3<sup>ª</sup> Edición, ASM Press, USA.
  - 34 Hopwood D. A., Chater K. E., 1989, **Genetics of Bacterial Diversity**, Academic Press Inc., USA.
  - 35 Jacoby G. A., Chow N., Waites K. B., 2003, **Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:559 – 562.
  - 36 Janoir C., Podglajen I., Kitzis M.-D., Poyart C., Gutmann L., 1999, **In vitro Exchange of Fluoroquinolone Resistance Determinants between *Streptococcus pneumoniae* and Viridans Streptococci and Genomic Organization of the *parE-parC* Region in *S. mitis***, Journal of Infectious Diseases, 180:555 – 558.
  - 37 Jellen-Ritter A. S., Kern W. V., 2001, **Enhanced Expression of the Multidrug Efflux Pumps AcrAB and AcrEF Associated with Insertion Element Transposition in *Escherichia coli* Mutants Selected with a Fluoroquinolone**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45:1467 – 1472.
  - 38 Johnson J. R., Murray A. C., Gajewski A., Sullivan M., Snippes P., Kuskowski M. A., Smith K., 2003, **Isolation and Molecular Characterization of Nalidixic Acid-**

- Resistant Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* from Retail Chicken Products**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:2161 – 2168.
- 39 Johnson J., O'Bryan T. T., 2000, **Improved Repetitive-Element PCR Fingerprinting for Resolving Pathogenic and Nonpathogenic Phylogenetic Groups within *Escherichia coli***, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 7:265 – 273.
- 40 Joklik W. K., Willet H. P., Amos B., 1993, **Zinsser Microbiología**, 18a Edición, Editorial Panamericana, Argentina.
- 41 King D. E., Malone R., Liley S. H., 2000, **New Classification and Update on the Quinolone Antibiotics**, American Family Physician [www.aafp.org/afp/20000501/2741.html](http://www.aafp.org/afp/20000501/2741.html).
- 42 Kostyal D. A., Camp C. J., 2001, **Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE), a Molecular Tool for Monitoring Nosocomial Infections**, The Guthrie Journal, 70:15 – 21.
- 43 Koutsolioutsou A., Martins E. A., White D. G., Levy S. B., Demple B., 2001, **A *soxRS*-Constitutive Mutation Contributing to Antibiotic Resistance in a Clinical Isolate of *Salmonella enterica* (Serovar Typhimurium)**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45:38 – 43.
- 44 Kudva I. T., Griffin R. W., Murray M., Hohn M., Perna N. T., Barrett T., Calderwood S. B., 2004, **Insertions, Deletions, and Single-Nucleotide Polymorphisms at Rare Restriction Enzyme Sites Enhance Discriminatory Power of Polymorphic Amplified Typing Sequences, a Novel Strain Typing System for *Escherichia coli* O157:H7**, Journal of Clinical Microbiology, 42:2388 – 2397.
- 45 Leatherbarrow A. J. H., Hart C. A., Kemp R., Williams N. J., Ridley A., Sharma M., Diggle P. J., Wright E. J., Sutherst J., French N. P., 2004, **Genotypic and Antibiotic Susceptibility Characteristics of a *Campylobacter coli* Population Isolated from Dairy Farmland in the United Kingdom**, Applied and Environmental Microbiology, 70:822 – 830.
- 46 Lépori L. R., 2004, **MiniAtlas Infectología**, 1ª Edición, Base de Datos.
- 47 Levine C., Hiasa H., Mariani K. J., 1998, **DNA Gyrase and Topoisomerase IV: Biochemical Activities, Physiological Roles During Chromosome Replication, and Drug Sensitivities**, Biochimica et Biophysica Acta, 1400:29 – 43.
- 48 Lim D. V., 1999, **Microbiology**, 1a Edición, West Publishing Company, USA.
- 49 Lindgren K. P., Karlsson A., Hughes D., 2003, **Mutation Rate and Evolution of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Patients with Urinary Tract Infections**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:3222 – 3232.
- 50 Loxdale H. D., Lushai G., 1998, **Review Article, Molecular Markers in**

- Entomology, Bulletin of Entomological Research, 88:577 – 600.
- 51 Ma Dzwokai, Cook D. N., Alberti M., Pon N. G., Nikaido H., Hearst J. E., 1993, **Molecular Cloning and Characterization of *acrA* and *acrE* Genes of *Escherichia coli***, Journal of Bacteriology, 175:6299 – 6313.
  - 52 Ma Dzwokai., Alberti M., Lynch C., Nikaido H., Hearst J. E., 1996, **The Local Repressor AcrR Plays a Modulating Role in the Regulation of *acrAB* Genes of *Escherichia coli* by Global Stress Signals**, Molecular Microbiology, 19:101 – 112.
  - 53 Mandell, Douglas, Bennett, 2000, **Principles and Practice of Infectious Diseases**, 5a Edición, Churchill Livingstone, USA.
  - 54 Martínez-Martínez L., Pascual A., Jacoby G. A., 1998, **Quinolone Resistance from a Transferable Plasmid**, The Lancet, 351:797 – 799.
  - 55 Maseda H., Sawada I., Saito K., Uchiyama H., Nakae T., Nombra N., 2004, **Enhancement of the *mexAB-oprM* Efflux Pump Expression by a Quorum-Sensing Autoinducer and Its Cancellation by a Regulator, MexT, of the *mexEF-oprN* Efflux Pump Operon in *Pseudomonas aeruginosa***, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48:1320 – 1328.
  - 56 Maslow J. N., Lautenbach E., Glaze T., Bilker W., Johnson J. R., 2004, **Colonization with Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* among Nursing Home Residents and Its Relationship to Fluoroquinolone Resistance**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48:3618 – 3620.
  - 57 Maurin M., Abergel C., Raoult D., 2001, **DNA Gyrase-Mediated Natural Resistance to Fluoroquinolones in *Ehrlichia spp.***, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45:2098 – 2105.
  - 58 Mazzariol A., Tokue Y., Kanegawa T. M., Cornaglia G., Nikaido H., 2000, **High-Level Fluoroquinolone-Resistant Clinical Isolates of *Escherichia coli* Overproduce Multidrug Efflux Protein AcrA**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 44:3441 – 3443.
  - 59 Mazzariol A., Zuliani J., Cornaglia G., Rossolini G. M., Fontana R., 2002, **AcrAB Efflux System: Expression and Contribution to Fluoroquinolone Resistance in *Klebsiella spp.***, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46:3984 – 3986.
  - 60 McLellan S. L., Daniels A. D., Salmore A. K., 2003, **Genetic Characterization of *Escherichia coli* Populations from Host Sources of Fecal Pollution by Using DNA Fingerprinting**, Applied and Environmental Microbiology, 69:2587 – 2594.
  - 61 Morejón M., Salud R., 2003, **Actualización en Quinolonas**, Revista Electrónica de Biomedicina, 1:170 – 178.
  - 62 Murray P. R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Tenover F. C., Tenover P. C., 2003, **Manual of Clinical Microbiology**, 8a Edición, ASM Press, USA.

- 63 Nakano M., Deguchi T., Kawamura T., Yasuda M., Kimura M., Okano Y., Kawada Y., 1997, **Mutations in the *gyrA* and *parC* Genes in Fluoroquinolone-Resistant Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa***, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41:2289 – 2291.
- 64 Nikaido H., 1996, **Multidrug Efflux Pumps of Gram-Negative Bacteria**, *Journal of Bacteriology*, 178:5853 – 5859.
- 65 Noller A. C., McEllistrem M. C., Pacheco A. G. F., Boxrud D. J., Harrison L. H., 2003, **Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Distinguishes Outbreak and Sporadic *Escherichia coli* O157:H7 Isolates**, *Journal of Clinical Microbiology*, 41:5389 – 5397.
- 66 **Nuevas Fluoroquinolonas**, 1999, *Boletín Terapéutico ANDALUZ*, 15.
- 67 Oethinger M., Kem W. V., Jellen-Ritter A. J., McMurry L. M., Levy S. B., 2000, **Ineffectiveness of Topoisomerase Mutations in Mediating Clinically Significant Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* in the Absence of the AcrAB Efflux Pump**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:10 – 13.
- 68 Oethinger M., Podglajen I., Kem W. V., Levy S. B., 1998, **Overexpression of the *marA* or *soxS* Regulatory Gene in Clinical Topoisomerase Mutants of *Escherichia coli***, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42:2089 – 2094.
- 69 Okusu H., Ma D., Nijaido H., 1996, **AcrAB Efflux Pump Plays a Major Role in the Antibiotic Resistance Phenotype of *Escherichia coli* Multiple-Antibiotic-Resistance (Mar) Mutants**, *Journal of Bacteriology*, 178:306 – 308.
- 70 Oliphant C. M., Green G. M., 2002, **Quinolones: A Comprehensive Review**, *American Family Physician*, [www.aafp.org/afp/20020201/455.html](http://www.aafp.org/afp/20020201/455.html).
- 71 Pereyre S., Renaudin H., Bébéar C., Bébéar C. M., 2004, **In Vitro Activities of the Newer Quinolones Garenoxacin, Gatifloxacin and Gemifloxacin against Human Mycoplasmas**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48:3165 – 3168.
- 72 Peric M., Jacobs M. R., Appelbaum P. C., 2004, **Antianaerobic Activity of a Novel Fluoroquinolone, WCK 771, Compared to Those of Nine Other Agents**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48:3188 – 3192.
- 73 Pestova E., Millichap J. J., Noskin G. A., Peterson L. R., 2000, **Intracellular Targets of Moxifloxacin: a Comparison with Other Fluoroquinolones**, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45:583 – 590.
- 74 Poole K., 2000, **Efflux-Mediated Resistance to Fluoroquinolones in Gram-Negative Bacteria**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:2233 – 2241.
- 75 Pradel E., Pages J.-M., 2002, **The AcrAB-ToIC Efflux Pump Contributes to Multidrug Resistance in the Nosocomial Pathogen *Enterobacter aerogenes***, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:2640 – 2643.
- 76 Putman M., Van Veen H. W., Konings W. N., 2000, **Molecular Properties of**

- Bacterial Multidrug Transporters**, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64:672 – 693.
- 77 Ramirez J. A., Morrissey I., Ambler J. E., 2003, **Manual Clínico de Infecciones Graves y Fluoroquinolonas**, Science Press, México.
- 78 Rosenberg E. Y., Bertenthal D., Nilles M. L., Bertrand K. P., Nikaido H., 2003, **Bile Salts and Fatty Acids Induce the Expression of *Escherichia coli* AcrAB Multidrug Efflux Pump Through Their Interaction With Rob Regulatory Protein**, *Molecular Microbiology*, 48:1609 – 1619.
- 79 Sáenz Y., Briñas L., Domínguez E., Ruiz J., Zarzaza M., Vila J., Torres C., Notes, 2004, **Mechanisms of Resistance in Multiple-Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Strains of Human, Animal and Food Origins**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48:3996 – 4001.
- 80 Sahn D. F., Critchley I. A., Kelly L. J., Karlowy J. A., Mayfield D. C., Thornsberry C., Mauriz Y. R., Kahn J., 2001, **Evaluation of Current Activities of Fluoroquinolones against Gram-Negative Bacilli Using Centralized In Vitro Testing and Electronic Surveillance**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45:267 – 274.
- 81 Sánchez D. P., Revisión, 2003, **Sistemas MDR y Resistencia a los Antimicrobianos**, *Revisión Española de Quimioterapia*, 16:172 – 187.
- 82 Scheld M. W., 2003, **Maintaining Fluoroquinolone Class Efficacy: Review of Influencing Factors**, *Emerging Infectious Diseases*, 9:1 – 9.
- 83 Schneiders T., Amyes S. G. B., Levy S. B., 2003, **Role of AcrR and RamA in Fluoroquinolone Resistance in Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Singapore**, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47:2831 – 2837.
- 84 Struelens M. J., 1998, **Molecular Epidemiologic Typing Systems of Bacterial Pathogens: Current Issues and Perspectives**, *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, Río de Janeiro, 93:581 – 585.
- 85 Taylor M., Reide P., 1999, **Lo esencial en Farmacología**, 1ª Edición, Harcourt Brace, España.
- 86 Tenover F. C., Arbeit R. D., Goering R. V., 1997, **How to Select and Interpret Molecular Strain Typing Methods for Epidemiological Studies of Bacterial Infections: A Review for Healthcare Epidemiologists**, *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 18: 426 – 439.
- 87 Tenover F. C., Arbeit R. D., Goering R. V., Mickelsen P. A., Murray B. E., Persing D. H., Swaminathan B., 1995, **Guest Commentary, Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing**, *Journal of Clinical Microbiology*, 33:2233 – 2239.
- 88 **The Quinolones**,

[www.courses.ahc.umn.edu/pharmacy/6124/remmel\\_notes/quinolones.pdf](http://www.courses.ahc.umn.edu/pharmacy/6124/remmel_notes/quinolones.pdf)

- 89 Van Bambeke F., Balzi E., Tulkens P. M., 2000, **Antibiotic Efflux Pumps (Comentary)**, Biochemical Pharmacology.
- 90 Vila J., Simon K., Ruíz J., Horcajada J. P., Velasco M., Barranco M., Moreno A., Mensa J., 2002, **Are Quinolone-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* Less Virulent?**, Journal of Infectious Diseases, 186:1039 – 1042.
- 91 Vincent A., 2003, **The Quinolones**, 2ª Edición, Academic Press, USA.
- 92 Wang H., Dzink-Fox J. I., Chen M., Levy S. B., 2001, **Genetic Characterization of Highly Fluoroquinolone-Resistant Clinical *Escherichia coli* Strains from China: Role of *acrR* Mutations**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45:1515 – 1521.
- 93 Wang M., 2003, **Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in Clinical Isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:2242 – 2248.
- 94 Wang M., Sahm D. F., Jacoby G. A., Hooper D. C., 2004, **Emerging Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Associated with the *qnr* Gene in *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates in the United States**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48:1295 – 1299.
- 95 Watt S., Lanotte P., Mereghetti L., Moulin-Schouleur M., Picard B., Quentin R., 2003, ***Escherichia coli* Strains from Pregnant Women and Neonates: Intraspecies Genetic Distribution and Prevalence of Virulence Factors**, Journal of Clinical Microbiology, 41:1929 – 1935.
- 96 Weigel L. M., Anderson G. J., Racklam R. R., Tenover F. C., 2001, **Genetic Analyses of Mutations Contributing to Fluoroquinolone Resistance in Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae***, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45:3517 – 3523.
- 97 White D. G., Piddock L. J. V., Maurer J. J., Zhao S., Ricci V., Thayer S. G., 2000, **Characterization of Fluoroquinolone Resistance among Veterinary Isolates of Avian *Escherichia coli***, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 44:2897 – 2899.
- 98 Yu, L., Jones R. N., Hollis R., Messer S. A., Biedenbach D. J., Deshpande L.M., Pfaller M.A., 2002, **Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing, Fluoroquinolone-Resistant Isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan**, Journal of Clinical Microbiology, 40:4666-4669.
- 99 Zaidi M. B., Zamora E., Diaz P., Tollefson L., Fedorka-Cray P. J., Headrick M. L., 2003, **Risk Factors for Fecal Quinolone-Resistant *Escherichia coli* in Mexican Children**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47:1999 – 2001.
- 100 Zgurskaya H. I., Nikaido H., 2000, **Multidrug Resistance Mechanism: Drug Efflux Across two Membranes**, Molecular Microbiology, 37:219 – 225.

- 101 Zhao X., Xu C., Domagala J., Drlica K., 1997, **DNA Topoisomerase Targets of the Fluoroquinolones: a Strategy for Avoiding Bacterial Resistance**, *Microbiology*, 94:13991 – 13996.
- 102 Zhou J., Dong Y., Zhao X., Lee S., Amin A., Ramaswamy S., Domagala J., Musser J. M., Drlica K., 2000, **Selection of Antibiotic-Resistant Bacterial Mutants: Allelic Diversity among Fluoroquinolone-Resistant Mutations**, *Journal of Infectious Diseases*, 182:517 – 525.