



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Frecuencia bacteriana y fenotipos involucrados en las Infecciones Asociadas a la Atención A La Salud (I.A.A.S.) en un hospital de tercer nivel, en un periodo de dos años (2016-2017)

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
Licenciado en Bioquímica Diagnóstica

PRESENTA:

ADRIÁN GARCÍA CARBAJAL

ASESORA EXTERNA:

Q.F.B. REYNA FLORES CIMA

ASESORA INTERNA:

M. EN C. ANA LAURA VÁZQUEZ MARTÍNEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2019



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Frecuencia bacteriana y fenotipos involucrados en las Infecciones Asociadas a la Atención a la Salud (I.A.A.S.) en un hospital de tercer nivel, en un periodo de dos años (2016-2017).**

Que presenta el pasante: **Adrián García Carbajal**

Con número de cuenta: 311229552 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de Mayo de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
VOCAL	QFB. Verónica Ruiz Solorio	
SECRETARIO	M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero	
1er. SUPLENTE	QFB. Laura Gricelda Martínez Méndez	
2do. SUPLENTE	QFB. David Ladislao Sánchez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## *Dedicatoria*

*A mi madre, Patricia por estar siempre y ser mi apoyo incondicional para cada decisión que he tomado en mi vida, así como por ser un ejemplo a seguir por el coraje y la determinación y por todo el amor que siempre me has brindado. Te estaré infinitamente agradecido.*

*A mi padre, Andrés, por todos los consejos y el apoyo brindado a lo largo de mi vida, por todo el cariño y apoyo brindado.*

*A mi hermano, Andrés, por el apoyo que me has brindado desde siempre y fungir como figura paterna y por el apoyo a mis decisiones, siendo ejemplo de determinación, así como por el cariño brindado.*

*A mi hermano, Alejandro, por haber estado presente y haberme apoyado y guiado para llegar hasta donde he llegado ahora.*

*“Los que sueñan de día son conscientes de muchas cosas que escapan a los que sueñan sólo de noche.”*

*-Edgar Allan Poe, escritor y poeta.*

## **Agradecimientos**

A mis padres, Patricia y Andrés por haber estado presentes a lo largo de mi vida académica y en esos momentos más difíciles en que más los necesité durante la universidad. A mis hermanos Andrés y Alejandro por los consejos que me dieron para diversas situaciones por las que pasé, así como por haber un gran apoyo para que yo pudiera terminar mis estudios. A mis dos muy queridas mascotas.

A la UNAM por haberme formado como universitario desde el bachillerato en la ENP donde inicié mi camino por esta universidad hasta mis estudios superiores en la FES Cuautitlán siendo esta mi *alma mater* con la que estaré eternamente agradecido y haré lo que esté en mis manos para poner en alto el nombre de mi universidad y mi campus, así como de mi carrera.

A la Maestra Ana Laura Vázquez Martínez por todo el apoyo brindado. Sin su apoyo y consejos este trabajo no hubiera sido posible. Agradezco infinitamente su confianza y su empatía.

A la Química Reyna Flores Cima, por la confianza brindada para la realización del trabajo y por haberme aceptado en el laboratorio de bacter. A todo el personal del laboratorio por haberme enseñado tanto y haberme guiado a lo largo de mi estancia.

A todos mis amigos que hice en la universidad; Monse, Josué, Lexy, Liz, Irving, Jaqueline, Zoe y Ari que se convirtieron en cómplices, compañeros, y un enorme apoyo para mí durante este tiempo que pasamos juntos compartiendo mil momentos, pudiendo llegarlos a considerar como hermanos con los que espero seguir compartiendo momentos durante toda mi vida.

A la Dra. Berenice Gómez Zaleta, profesora de la FESC por todos sus consejos, su guía y la confianza brindada.

A mis profesores de la FES Cuautitlán por sus enseñanzas que ahora forjan el inicio de mi vida como profesionista.

A mis amigos Paola, Edith y Joaquín por seguir presentes en mi vida y por sus consejos y apoyo de diversas formas, así como por alentarme en la elaboración de mi tesis.

A mis sinodales; Q.F.B. Verónica Ruíz Solorio, M. en C. Raquel Tapia Romero, Q.F.B. Laura Gricelda Martínez y el Q.F.B. David Ladislao Sánchez, por darse el tiempo de leer este trabajo y darme sus consejos para mejorarlo.

# ÍNDICE

Abreviaturas.....	10
1. Resumen.....	12
2. Marco teórico.....	14
2.1 Infecciones asociadas a la atención de la salud (I.A.A.S.) .....	14
2.1.1. ¿Qué son las I.A.A.S? .....	14
2.1.2. Factores de riesgo para contraer una I.A.A.S.....	16
2.1.2.1. El agente patógeno .....	16
2.1.2.2. Vulnerabilidad de los pacientes.....	16
2.1.2.3. Ambiente .....	17
2.1.2.4. Resistencia bacteriana .....	19
2.1.2.5. Infecciones frecuentes.....	19
2.1.2.6. Antecedentes en México .....	21
2.2 Epidemiología .....	22
2.2.1 Estudios epidemiológicos.....	22
2.2.2. Antecedentes .....	24
2.2.3. Epidemiología de las I.A.A.S. ....	24
2.2.4. Vigilancia epidemiológica .....	25
2.2.5. Panorama mundial de las I.A.A.S. ....	26
2.2.6. Panorama general de la frecuencia bacteriana en el IMSS (2013) .....	27
2.2.7. De la multirresistencia a antibióticos .....	29
2.2.7.1 Antecedentes en México de resistencia a antibióticos .....	29
2.2.7.2. Antecedentes de aportaciones a fenotipos identificados en México .....	30
2.2.7.3. Antecedentes de principales patógenos en México .....	32
2.2.8 Norma oficial mexicana NOM-017-SSA2-1994, para la vigilancia epidemiológica.....	33
2.3 Vigilancia, alertas y planes de acción ante las I.A.A.S. y la resistencia antimicrobiana.....	33
2.3.1 La OMS (Organización Mundial de la Salud), principal órgano de vigilancia mundial.....	34
2.3.2 Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos.....	35
2.3.3. En la Organización Panamericana de la Salud .....	38
2.3.4. En el IMSS (Instituto Mexicano del Seguro Social) .....	39
2.3.5. La DGE (Dirección General de Epidemiología) y el SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica) .....	40
2.3.5.1. DGE .....	40
2.3.5.2. SINAVE .....	41
2.3.6. Programa de Optimización de uso de Antimicrobianos en Hospitales.....	44
2.3.6.1. Monitorización de las resistencias .....	45
2.3.6.2. El papel del laboratorio de microbiología .....	46
2.4. Bacterias aisladas con mayor frecuencia en las I.A.A.S .....	48
2.4.1. Panorama mundial de la prevalencia de bacterias aisladas con mayor frecuencia.....	49
2.5. Generalidades de las bacterias.....	51
2.5.1. Morfología.....	52
2.5.2 Taxonomía.....	53
2.5.2.1. Sistema de clasificación fenotípica .....	53
2.5.2.2. Sistema de clasificación genotípica .....	55

2.5.3 Estructura bacteriana .....	56
2.5.4 Reproducción bacteriana .....	62
2.5.5 Genética bacteriana .....	63
2.5.5.1. Expresión genética .....	63
2.5.5.2. Transferencia horizontal de genes (HGT) .....	64
2.5.5.3. Recombinación genética en procariotas.....	65
2.6 Mecanismos de resistencia bacteriana .....	66
2.6.1. Clases de resistencia.....	68
2.6.2. Bases genéticas de la resistencia bacteriana .....	69
2.6.3. Bases mecánicas de la resistencia bacteriana .....	69
2.6.4. Modificación de la molécula de antibiótico .....	71
2.6.4.1. Alteración química del antibiótico .....	71
2.6.4.2. Destrucción de la molécula del antibiótico .....	73
2.6.4.2.1. $\beta$ -Lactamasas .....	73
2.6.5. Disminución de la penetración de antibióticos y el eflujo .....	76
2.6.6. Cambios en el sitio Diana .....	79
2.6.6.1. Protección del sitio Diana .....	79
2.6.6.2. Modificación del sitio Diana.....	79
2.6.6.2.1. Mutación del sitio Diana .....	80
2.6.6.2.2. Alteración enzimática del sitio Diana .....	80
2.6.6.2.3. Reemplazo completo o derivación del sitio Diana .....	81
2.6.7. Resistencia debido a las adaptaciones celulares globales .....	83
2.7. Métodos para la detección de resistencia bacteriana.....	84
2.7.1. Genómica .....	85
2.7.2. Métodos fenotípicos para la detección de resistencia en bacterias Gram Negativas ..	86
2.7.2.1. Detección fenotípica de betalactamasas resistentes a los inhibidores .....	87
2.7.2.2. Detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido.....	87
2.7.2.3. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC.....	90
2.7.2.4. Detección fenotípica de carbapenemasas .....	91
2.7.2.5. Detección fenotípica de la resistencia a quinolonas .....	94
2.7.2.6. Resistencia a aminoglucósidos .....	95
2.7.3. Métodos fenotípicos para la detección de resistencia en bacterias grampositivas .....	95
2.7.3.1. Detección fenotípica de resistencia por producción de betalactamasas .....	95
2.7.3.2. Detección fenotípica de resistencia a la oxacilina .....	97
2.7.3.3. Detección fenotípica de resistencia tipo BORSA .....	98
2.7.3.4. Detección fenotípica de la resistencia a los macrólidos, lincosamidas y	
estreptograminas B .....	99
2.7.3.5. Detección fenotípica de resistencia a los aminoglucósidos .....	100
2.7.3.6. Detección fenotípica de la resistencia a la mupirocina .....	101
2.7.3.7. Detección fenotípica de la resistencia al linezolid .....	101
2.7.3.8. Resistencia de alto nivel a la gentamicina y a la estreptomina.....	101
2.7.3.9. Detección fenotípica de la resistencia de alto nivel a la gentamicina y a la	
estreptomina .....	102
2.7.3.10. Detección fenotípica de la resistencia a los glucopéptidos .....	102
2.8. Métodos convencionales para evaluar sensibilidad/ resistencia.....	103

2.8.1. Concentración Mínima Inhibitoria .....	104
2.8.2. Lectura interpretada del antibiograma .....	106
2.8.2.1. Limitaciones en la lectura e interpretación del antibiograma.....	109
2.9. Antibióticos.....	110
2.9.1. Antibióticos sintéticos .....	111
2.9.2. Antibióticos naturales .....	112
2.9.3. Objetivos de los principales grupos de antibióticos .....	114
2.9.3.1. Biosíntesis de la pared celular .....	114
2.9.3.2. Integridad de la membrana celular.....	115
2.9.3.3. Biosíntesis de proteínas .....	115
2.9.3.4. Metabolismo de DNA y RNA.....	116
2.9.3.5. Biosíntesis de folato.....	116
2.9.4. Seguridad en la utilización de antimicrobianos .....	116
2.10. Expectativas y pronósticos a nivel nacional y mundial.....	118
2.10.1. De la resistencia bacteriana .....	120
3. Justificación .....	123
4. Objetivos .....	123
5. Hipótesis.....	124
6. Metodología .....	124
7. Resultados y Análisis .....	126
8. Conclusiones.....	179
10. Referencias.....	180

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Factores de riesgo de principales infecciones asociadas a la atención en salud .....	18
Tabla 2. Clasificación de estudios epidemiológicos .....	23
Tabla 3. Plan de implementación del GLASS .....	38
Tabla 4. Prevalencia en Estados Unidos de microorganismos más frecuentemente aislado en un año .....	49
Tabla 5. Prevalencia puntual de microorganismos más frecuentemente asociados a una infección intrahospitalaria en la Unión Europea .....	50
Tabla 6. Prevalencia de microorganismos aislados en infecciones intrahospitalarias en un estudio realizado por la SSA en 2011 en México .....	50
Tabla 7. Antibióticos naturales en uso clínico humano .....	113
Tabla 8. Resultados de incidencia total en 2016 y 2017 .....	126
Tabla 9. Porcentajes de fenotipos principales de resistencia en 2016 y 2017 .....	150



# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales microorganismos aislados en las infecciones nosocomiales de las unidades médicas del Instituto Mexicano del Seguro Social en el 2013 2016 .....	28
Figura 2. Pasos recomendados para la planificación, la recopilación de datos, el análisis, la interpretación, la comunicación y la evaluación de la vigilancia .....	35
Figura 3. Países participantes del sistema mundial de vigilancia epidemiológica, hasta diciembre 2017 .....	37
Figura. 4 VITEK® 2 bioMérieux. Equipo para identificación y sensibilidad de los microorganismos	46
Figura. 5 Méodo de Kirby-Bauer de suceptibilidad por difusión de disco en agar .....	47
Figura 6. Estructura general de una bacteria .....	51
Figura 7. Formas y agrupaciones de las bacterias .....	52
Figura 8. Pared bacteriana de acuerdo a la tinción de Gram .....	53
Figura 9. Crecimiento de <i>Clostridium sp.</i> Cultivo en Agar sangre en anaerobiosis .....	54
Figura 10. Tarjetas VITEK® 2 AST .....	55
Figura 11. Estructura general de una célula procariota .....	56
Figura 12. Diferencia estructural entre la pared de las Gram positivas y las Gram negativas .....	60
Figura 13. Tinción de Ziehl Neelsen .....	61
Figura 14. Curva de crecimiento bacteriano en relación tiempo/ UFC viables .....	63
Figura 15. Mecanismos de recombinación en bacterias .....	66
Figura 16. Representación de diferentes tipos de enzimas modificadoras de aminoglucósidos y su nomenclatura .....	72
Figura 17. Representación esquemática de $\beta$ - lactamásas .....	75
Figura 18. Representación de diferentes bombas de eflujo en bacterias Gram positivas y Gram negativas .....	78
Figura 19. E- test. Reactivo para ensayo de resistencia a antimicrobianos .....	85
Figura 20. Discos con antibiótico y discos con combinaciones antibiótico + inhibidor de beta-lactamasas .....	88
Figura 21. Medio cromogénico para identificación de bacterias con BLEE. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> .....	89
Figura 22. Test de Hodge modificado .....	92
Figura 23. Cepa problema de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> con resultado de carbapenemasa presente .....	93
Figura 24. Identificación fenotípica de <i>Enterobacteriaceae</i> productores de carbapenemasas .....	94
Figura 25. Prueba de Nitrocefín .....	96
Fig. 26. Imagen de D- Test (+) en SARM .....	100
Figura 27. Evaluación de un antibiótico mediante el método de dilución en tubo, que permite determinar la Concentración Mínima Inhubitoria (CMI) .....	105
Figura 28. Protocolo a seguir para lectura e interpretación del antibiograma .....	107
Figura 29. Clases de antibióticos sintéticos .....	112
Figura 30. Dianas de las principales familias de antibióticos .....	114
Figura 31 Cartel de Resistencia a Antibióticos .....	119

# ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Aislamiento de bacterias Gram Positivas en 2016 y 2017 de pacientes hospitalizados	127
Gráfica 2. Aislamiento de bacterias Gram Negativas en 2016 y 2017 de pacientes hospitalizados	128
Gráfica 3. Incidencia bacteriana total por servicio hospitalario	129
Gráfica 4. Incidencia de bacterias Gram Positivas por servicio Hospitalario	130
Gráfica 5. Incidencia de bacterias Gram Negativas por servicio Hospitalario	130
Gráfica 6. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Enterococcus faecalis</i>	132
Gráfica 7. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Enterococcus faecium</i>	133
Gráfica 8. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Staphylococcus aureus</i>	133
Gráfica 9. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	134
Gráfica 10. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Acinetobacter baumannii complex</i>	135
Gráfica 11. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Enterobacter cloacae complex</i>	135
Gráfica 12. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Escherichia coli</i>	136
Gráfica 13. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i>	136
Gráfica 14. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Proteus mirabilis</i>	137
Gráfica 15. Incidencia por Servicio Hospitalario de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	137
Gráfica 16. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones de Herida	139
Gráfica 17. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones del Tracto Urinario	139
Gráfica 18. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones de Vías Respiratorias.	140
Gráfica 19. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Bacteriemias	140
Gráfica 20. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Sistema Nervioso Central	141
Gráfica 21. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones del Tracto Genital	141
Gráfica 22. Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones de órganos y Espacios	142
Gráfica 23. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Herida	143
Gráfica 24. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Tracto Urinario	144
Gráfica 25. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Vías Respiratorias	145
Gráfica 26. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Bacteriemias	146
Gráfica 27. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Sistema Nervioso Central	147
Gráfica 28. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Tracto Genital	148
Gráfica 29. Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de órganos y Espacios	149
Gráfica 30. Fenotipos de resistencia en bacterias Gram Positivas y Gram Negativas aisladas en 2016	150
Gráfica 31. Fenotipos de resistencia en bacterias Gram Positivas y Gram Negativas aisladas en 2017	151
Gráfica 32. Porcentaje de sensibilidad de <i>Enterococcus faecalis</i> en 2016 y 2017	154
Gráfica 33. Porcentaje de sensibilidad de <i>Enterococcus faecium</i> en 2016 y 2017	154
Gráfica 34. Porcentaje de sensibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> en 2016 y 2017	156
Gráfica 35. Porcentaje de sensibilidad de <i>Staphylococcus epidermidis</i> en 2016 y 2017	158
Gráfica 36. Porcentaje de sensibilidad de <i>Acinetobacter baumannii complex</i> en 2016 y 2017	160
Gráfica 37. Porcentaje de sensibilidad de <i>Enterobacter cloacae complex</i> en 2016 y 2017	162
Gráfica 38. Porcentaje de sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> en 2016 y 2017	164
Gráfica 39. Porcentaje de sensibilidad de <i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> en 2016 y 2017	165
Gráfica 40. Porcentaje de sensibilidad de <i>Proteus mirabilis</i> en 2016 y 2017	167

Gráfica 41. Porcentaje de sensibilidad de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 2016 y 2017 .....	168
Gráfica 42. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Enterococcus faecalis</i> en 2016 y 2017 .....	170
Gráfica 43. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Enterococcus faecium</i> en 2016 y 2017 .....	170
Gráfica 44. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 2016 y 2017 ...	171
Gráfica 45. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Staphylococcus epidermidis</i> en 2016 y 2017 .....	172
Gráfica 46. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Acinetobacter baumannii complex</i> en 2016 y 2017 .....	173
Gráfica 47. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Enterobacter cloacae complex</i> en 2016 y 2017 .....	174
Gráfica 48. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Escherichia coli</i> en 2016 y 2017 .....	175
Gráfica 49. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> en 2016 y 2017 .....	176
Gráfica 50. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Proteus mirabilis</i> en 2016 y 2017 .....	178
Gráfica 51. Porcentaje de fenotipos de resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 2016 y 2017 .....	178

# Abreviaturas

**BLEE:** Betalactamasas de Espectro Extendido

**BORSA:** *Staphylococcus aureus* resiste a la oxacilina en el límite (por sus siglas en inglés *Borderline oxacillin-resistant Staphylococcus aureus*)

**CAESAR:** Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos en Asia Central y Europa Oriental (por sus siglas en inglés *Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance*)

**CDC:** Centro para el Control y Prevención de enfermedades (Por sus siglas en inglés *Center for Disease Control and Prevention*)

**CLSI:** Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (por sus siglas en inglés *Clinical & Laboratory Standards Institute*)

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria

**CMN:** Centro Médico Nacional

**CODECIN:** Comité Para la Detección de Infecciones Nosocomiales

**CONAVE:** Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica

**CVE:** Coordinación de Vigilancia Epidemiológica

**DGE:** Dirección General de Epidemiología

**DNA :** Ácido Desoxirribonucleico (por sus siglas en inglés *Desoxyribonucleic acid*)

**EARS-Net:** Red Europea de Vigilancia de la Resistencia a los antimicrobianos (por sus siglas en

inglés *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*)

**ESKAPE:** Por la primera letra de cada género (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella spp., Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa y Enterobacter spp*)

**EUCAST:** Comité Europeo de Estudios de Suceptibilidad Antimicrobiana (por sus siglas en inglés *European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing*)

**GLASS:** Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (por sus siglas en inglés *Global Antimicrobial Resistance Surveillance System*)

**I.A.A.S.:** Infecciones Asociadas a la Atención a la Salud

**IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social

**INCMNSZ:** Instituto Nacional de Ciencias Médicas Salvador Zubirán

**InDRE:** Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

**INSP:** Instituto Nacional de Salud Pública

**ISSSTE:** Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado

**ITS:** Infecciones del Torrente Sanguíneo

**KPC:** Carbapenemasa de *Klebsiella pneumoniae* (por sus siglas en inglés *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*)

**MBL:** Metallo beta lactamasa

**NOM:** Norma Oficial Mexicana  
**OMS:** Organización Mundial de la Salud  
**ONU:** Organización de las Naciones Unidas  
**OPS:** Organización Panamericana de la Salud  
**PBP:** Proteína de unión a la penicilina (por sus siglas en inglés *Penicilin binding protein*)  
**PROA:** Programas de Optimización del uso de Antimicrobianos  
**ReLAVRA:** Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos  
**RHOVE:** Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica

**RNA:** Ácido ribonucleico (por sus siglas en inglés *Ribonucleica cid*)  
**rRNA:** Ácido ribonucleico ribosomal (por sus siglas en inglés *ribosomal ribonucleica cid*)  
**SARM:** *Staphylococcus aureus resistente a la metilina*  
**SINAVE:** Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica  
**SNS:** Sistema Nacional de Salud  
**SSA:** Secretaría de Salud  
**UCI:** Unidad de Cuidados Intensivos  
**UMAE:** Unidad Médica de Alta Especialidad  
**UTR:** Unidad de Transplante Renal  
**UVEH:** **Unidad** de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria

# I. Resumen

Desde principios del siglo XX, en México se han manifestado cambios trascendentes en el comportamiento epidemiológico de las enfermedades, esto aunado a los cambios ambientales, demográficos, económicos, sociales, culturales y los avances en el campo de la atención a la salud que han ido transformando las características del país y han influido en el perfil epidemiológico, así como las características relacionadas con la presencia de enfermedad o muerte en la población mexicana (Soto, G., Moreno, L. y Pahua, D., 2016). Los datos epidemiológicos son de suma importancia pues con estos podemos hacer análisis retrospectivos y estudios en la población para analizar el comportamiento de las enfermedades. En el caso de este trabajo, compete el estudio de las enfermedades infecciosas asociadas a microorganismos relacionados a las I.A.A.S.

En la actualidad, la resistencia bacteriana a los antimicrobianos se ha convertido en un grave problema de salud pública, pues no solo ha alcanzado proporciones globales, sino que también cada vez son más las bacterias que expresan diferentes tipos de resistencia a varias familias de antibióticos, fenómeno que se conoce como multirresistencia, lo cual ocasiona dificultades para el tratamiento, aumenta la morbilidad, la mortalidad y los costos de la atención en salud (Saldarriaga, E., Echeverría, E. y Ospina, S., 2015). La desinformación en la población mexicana que nos ha llevado a la automedicación; la falta de protocolos para el seguimiento en la medicación de los pacientes con enfermedades infecciosas; la prescripción arbitraria de antibióticos por algunos médicos y la administración de antibióticos en la industria ganadera son las principales causas para que las bacterias adquieran esta resistencia a los antimicrobianos.

Debido a la alta concentración bacteriana y al uso constante de antibióticos, el ambiente hospitalario se convierte en un lugar propicio para el surgimiento de la resistencia, por lo tanto, no es extraño encontrar cepas endémicas multirresistentes en los hospitales. Generalmente, las infecciones asociadas a la atención en salud (I.A.A.S.) son producidas por bacterias resistentes a los antimicrobianos y se ha demostrado que estas aumentan la

morbimortalidad, con un riesgo 3 veces mayor que en las I.A.A.S. causadas por bacterias multisensibles (Saldarriaga, E., et. al., 2015). Las infecciones asociadas a la atención en salud (I.A.A.S.) constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad de los pacientes. El personal de atención en salud debe involucrarse activamente en el diagnóstico, vigilancia y manejo temprano de las I.A.A.S., a fin de reducir el riesgo de complicaciones evitables (Unahalekhaka, A., 2014).

Al existir un número enorme de especies patógenas, se ha propuesto estudiar un grupo específico que genera mayor resistencia y se encuentra en mayor proporción en los hospitales. Este grupo se ha denominado grupo ESKAPE por la primera letra de cada género: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y la E de la familia de enterobacterias (Modificado de Arias, R., Rosado, U., Vargas, A y Grajales, C., 2016).

Estas bacterias presentan distintos mecanismos de resistencia, que con el tiempo han ido creciendo, y dadas las características de bacterias Gram negativas y Gram positivas, se pueden transmitir de unas cepas a otras, volviéndolas de salvajes a resistentes.

Es por este grave problema que la OMS (Organización Mundial de la Salud) da alertas cada vez más frecuentes sobre la resistencia que las bacterias presentan a antimicrobianos en todo el mundo. Es por ello que se crea en 2015 en la 68<sup>a</sup> asamblea mundial de la salud el “Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos” cuya meta es implementar un plan a mediano y largo plazo sobre los protocolos a seguir en cada país para el control epidemiológico sobre los fenotipos microbianos de resistencia. En México desde hace ya unos años en distintos hospitales, se han estado implementando los PROA (Programas de Optimización del uso de Antimicrobianos) para llevar un seguimiento de las terapias antibióticas de los pacientes y para evitar que la resistencia siga creciendo. Todo esto apoyados con la coordinación de la Secretaría de Salud a través de sus diferentes órganos como lo son el INSP (Instituto Nacional de Salud Pública), InDRE (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos) y apoyados con los RHOVE (Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica) y del SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica).

El presente trabajo evalúa la frecuencia de aislamientos microbianos y los fenotipos asociados a IAAS en el periodo de 2016-2017, para evaluar un PROA implementado en 2016 en la UMAE (Unidad Médica de Alta Especialidad) HECMNSXXI.

## II. Marco Teórico

### 2.1 Infecciones asociadas a la atención de la salud (I.A.A.S.)

Las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad de los pacientes. El personal de atención en salud debe involucrarse activamente en el diagnóstico, vigilancia y manejo temprano de las IAAS, a fin de reducir el riesgo de complicaciones evitables (Unahalekhaka, A., 2014). La labor del Bioquímico Diagnósta como del resto de personal de salud en el ámbito clínico y hospitalario es darse a la tarea de llevar un seguimiento en la frecuencia con que las I.A.A.S. se presentan en la unidad médica donde labora, y esto llevarlo a una base de datos, para un control epidemiológico por los sistemas de salud.

#### 2.1.1. ¿Qué son las I.A.A.S?

Las I.A.A.S., antes conocidas como infecciones nosocomiales, se definen como infecciones asociadas a la atención en salud, cualquiera sea su contexto (por ejemplo, en hospitales, centros para hospitalizaciones prolongadas, instalaciones comunitarias / ambulatorias o instancias de cuidado en el hogar o centros comunitarios). Una I.A.A.S. es una infección localizada o sistémica que se desencadena a partir de una reacción adversa a la presencia de uno o varios agente(s) infeccioso(s) o sus toxina(s), sin que haya evidencia de su presencia previa a la admisión en el centro de atención en salud respectivo. Generalmente, se considera que una infección corresponde a una I.A.A.S. si se manifiesta



al menos 48 horas después de la admisión al centro hospitalario o bien 48 horas posteriores a su alta (Modificado de Unahalekhaka, A., 2014).

Las infecciones asociadas con la atención de la salud son un serio problema de salud pública a escala mundial pero con mayor prevalencia en los países emergentes en comparación con países europeos o Estados Unidos. El contagio hospitalario se comenzó a tener en cuenta a partir de la mitad del siglo XIX por el Dr. Ignacio Felipe Semmelweis, quien consiguió disminuir la tasa de mortalidad por sepsis puerperal en Alemania; posteriormente Louis Pasteur publicó la hipótesis microbiana y Joseph Lister considerado el pionero en la antisepsia y prevención en las infecciones asociadas con la atención de la salud extendió la práctica quirúrgica higiénica al resto de las especialidades médicas (Galván, M., 2017).

Las infecciones asociadas con la atención de la salud son consecuencia directa de la atención integral a pacientes hospitalizados, relacionadas con múltiples factores de riesgo; la adquisición de patógenos hospitalarios dependen del hospedador, el ambiente y los patógenos. Para ello se requiere de un reservorio (hospedador, personal hospitalario, ambiente y fómites); una fuente de infección (medio, pacientes y personal); la diseminación del microorganismo, la cual puede ser a través del aire como es (tuberculosis pulmonar, varicela o influenza); un vehículo común (soluciones y medicamentos contaminados) y el contacto (manos del personal, equipo médico contaminado como es el estetoscopio, la bata, la corbata, etcétera) son una pesada carga para el paciente y para el sistema de salud pública. (Galván, M., 2017).

Una encuesta de prevalencia realizada bajo los auspicios de la OMS en 55 hospitales de 14 países representativos de 4 Regiones de la OMS (a saber, Europa, el Mediterráneo Oriental, el Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental) mostró que un promedio de 8,7% de los pacientes hospitalizados presentaba I.A.A.S (OMS, 2002).

Las I.A.A.S. más frecuentes son las de heridas quirúrgicas, las vías urinarias y las vías respiratorias inferiores. En el estudio de la OMS y en otros se ha demostrado también que la máxima prevalencia de infecciones nosocomiales ocurre en unidades de cuidados

intensivos y en pabellones quirúrgicos y ortopédicos de atención de enfermedades agudas. Las tasas de prevalencia de infección son mayores en pacientes con mayor vulnerabilidad por causa de edad avanzada, enfermedad subyacente o quimioterapia (OMS, 2002).

## 2.1.2. Factores de riesgo para contraer una I.A.A.S.

### 2.1.2.1. El agente patógeno

Una gran cantidad de bacterias, virus, hongos y parásitos diferentes pueden causar infecciones. Las infecciones pueden ser causadas por un microorganismo contraído de otra persona en el hospital (infección cruzada) o por la propia microbiota del paciente (infección endógena). La infección por algunos microorganismos puede ser transmitida por un objeto inanimado o por sustancias recién contaminadas provenientes de otro foco humano de infección (infección ambiental) (OMS, 2002).

Hay 2 tipos principales de bacterias que causan IAAS: cocos Gram-positivos (Por ej. *Staphylococcus* y *Streptococcus*) y bacilos Gram-negativos (Por ejemplo, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Klebsiella*) (Unahalekhaka, A., 2014).

### 2.1.2.2. Vulnerabilidad de los pacientes

Los factores de importancia para los pacientes que influyen en la posibilidad de contraer una infección comprenden la edad, el estado de inmunidad, cualquier enfermedad subyacente y las intervenciones diagnósticas y terapéuticas. En las épocas extremas de la vida – la infancia y la vejez – suele disminuir la resistencia a la infección. Los pacientes con enfermedad crónica, como tumores malignos, leucemia, diabetes mellitus, insuficiencia renal o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) tienen una mayor vulnerabilidad a las infecciones por agentes patógenos oportunistas. La malnutrición también presenta un riesgo. Muchos procedimientos diagnósticos y terapéuticos modernos, como quimioterapias biopsias, exámenes endoscópicos, cateterización, intubación/respiración

mecánica y procedimientos quirúrgicos y de succión aumentan el riesgo de infección (OMS, 2002).

### 2.1.2.3. Ambiente

Los establecimientos de atención de salud son un entorno donde se congregan las personas infectadas y las expuestas a un mayor riesgo de infección. Los pacientes hospitalizados que tienen infección o son portadores de microorganismos patógenos son focos potenciales de infección para los demás pacientes y para el personal de salud. Los pacientes que se infectan en el hospital constituyen otro foco de infección. Las condiciones de hacinamiento dentro del hospital, el traslado frecuente de pacientes de una unidad a otra y la concentración de pacientes muy vulnerables a infección en un pabellón (por ejemplo, de recién nacidos, pacientes quemados, cuidados intensivos) contribuyen a la manifestación de infecciones (OMS, 2002) así como el personal enfermo (o portadores sanos) al igual que los visitantes.

Tabla 1 Factores de riesgo de principales infecciones asociadas a la atención en salud (Unahalekhaka, A., 2014).

Sitio de infección	Factores de riesgo
Infección de tracto urinario	Sexo femenino Severidad de la enfermedad Cateterización de tracto urinario Roturas en el sistema cerrado Edad avanzada
Neumonía	Enfermedad subyacente (estado mental alterado, diabetes, alcoholismo) Malnutrición Severidad de la enfermedad Antihistamínicos H2, antiácidos Intubación, ventilación mecánica, equipamiento para terapias respiratorias, traqueotomía
Primaria de flujo sanguíneo	Edades extremas Severidad de la enfermedad Enfermedad subyacente, inmunosupresión, quemaduras Dispositivos intravasculares
Sitio quirúrgico	Edad avanzada Severidad de la enfermedad Afeitado preoperatorio Clasificación de la herida Tipo de procedimiento Prótesis

#### 2.1.2.4. Resistencia bacteriana

El uso generalizado de antimicrobianos para tratamiento o profilaxis (incluso de aplicación tópica) es el principal factor determinante de resistencia. En algunos casos, dichos productos son menos eficaces por causa de resistencia. Con la mayor intensificación del uso de un agente antimicrobiano, a la larga surgirán bacterias resistentes a ese producto, que pueden propagarse en el establecimiento de atención de salud (OMS, 2002).

Debido a la alta concentración bacteriana y al uso constante de antibióticos, el ambiente hospitalario se convierte en un lugar propicio para el surgimiento de la resistencia, por lo tanto, no es extraño encontrar cepas endémicas multirresistentes en los hospitales. Generalmente, las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) son producidas por bacterias resistentes a los antimicrobianos y se ha demostrado que estas aumentan la morbimortalidad, con un riesgo 3 veces mayor que en las IAAS causadas por bacterias multisensibles (Saldarriaga, E., Echeverria, E. y Ospina, S., 2015).

#### 2.1.2.5. Infecciones frecuentes

Hay cuatro tipos principales de IAAS, todas asociadas a procedimientos invasivos o quirúrgicos. Ellos son:

1. Infección de tracto urinario asociada al uso de catéter (ITU-CA)
2. Neumonía asociada al uso de ventilador (NAV)
3. Infección de sitio quirúrgico (ISQ)
4. Infección del torrente sanguíneo asociada al uso de catéter (ITS-CVC)

(Unahalekhaka, A., 2014).

##### Infecciones del tracto urinario

Esta es la infección más común; 80% de las infecciones son ocasionadas por el uso de una sonda vesical permanente. Las infecciones urinarias causan menos morbilidad que otras infecciones nosocomiales pero, a veces, pueden ocasionar bacteriemia y la muerte. Las infecciones suelen definirse según criterios microbiológicos: cultivo cuantitativo de orina

con resultados positivos ( $\geq 10^5$  microorganismos/mL, con aislamiento de 2 especies microbianas, como máximo). Las bacterias causantes provienen de la microbiota intestinal, ya sea normal (*Escherichia coli*) o contraída en el hospital (*Klebsiella* multirresistente) (OMS, 2002).

### Infecciones contraídas por una cirugía

Las infecciones del sitio de una intervención quirúrgica también son frecuentes: la incidencia varía de 0,5 a 15% según el tipo de operación y el estado subyacente del paciente. Representan un problema grave que limita los beneficios potenciales de las intervenciones quirúrgicas. Tienen un enorme efecto en los costos de hospitalización y en la duración de la estadía postoperatoria (OMS, 2002).

### Neumonía intrahospitalaria

La neumonía intrahospitalaria ocurre en diferentes grupos de pacientes. Los más importantes son los pacientes conectados a respiradores en unidades de cuidados intensivos, donde la tasa de incidencia de neumonía es de 3% por día. Hay una alta tasa de letalidad por neumonía relacionada con el uso de respirador, aunque es difícil determinar el riesgo atribuible porque la comorbilidad de los pacientes es tan elevada. Los microorganismos colonizan el estómago, las vías respiratorias superiores y los bronquios y causan infección de los pulmones (neumonía): con frecuencia son endógenos (aparato digestivo o nariz y garganta), pero pueden ser exógenos, a menudo provenientes del equipo respiratorio contaminado (OMS, 2002).

### Infecciones en torrente sanguíneo (Bacteriemias)

Estas infecciones representan una pequeña proporción de las I.A.A.S. (aproximadamente 5%), pero la tasa de mortalidad es alta y asciende a más de 50% en el caso de algunos microorganismos. La incidencia aumenta, particularmente en el caso de ciertos microorganismos como *Staphylococcus* coagulasa negativos y *Candida spp.* multirresistentes. La infección puede ocurrir en el sitio de entrada a la piel del dispositivo

intravascular o en la vía subcutánea del catéter (infección del túnel). Los microorganismos colonizadores del catéter dentro del vaso pueden producir bacteriemia sin infección externa visible. La microbiota cutánea permanente o transitoria es el foco de infección. Los principales factores de riesgo son la duración de la cateterización, el grado de asepsia en el momento de la inserción y el cuidado continuo del catéter (OMS, 2002).

### 2.1.2.6. Antecedentes en México

Se ha señalado que los términos infecciones nosocomiales deben comprender infecciones que ocurren en pacientes tratados en cualquier establecimiento de atención de salud. Las infecciones contraídas por el personal o por visitantes al hospital o a otro establecimiento de esa índole también pueden considerarse infecciones nosocomiales (OMS, 2002).

Desde mediados de los años ochenta, en México, el control de infecciones nosocomiales se formaliza a partir del programa establecido en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) que se extiende a los otros institutos nacionales de salud y desde donde surge la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE). Fue en el INCMNSZ donde se elaboró el primer manual de control para su aplicación nacional, y donde surgió la primera propuesta de creación de una Norma Oficial Mexicana sobre control de infecciones. A finales de 1989, la OPS(Organización Panamericana de la Salud) conjuntamente con la Sociedad de Epidemiología Hospitalaria de Estados Unidos de América, realizó una conferencia regional sobre la prevención y el control de las infecciones nosocomiales. Los objetivos de dicha conferencia fueron formulados para estimular la implementación de mecanismos para retomar la preparación de normas e instrumentos homogéneos sobre la prevención y control de infecciones nosocomiales. El objetivo fundamental por el cual se instituyó la prevención y el control de las infecciones nosocomiales fue garantizar la calidad de la atención médica (NOM-045-SSA2-2005).

## 2.2 Epidemiología

La epidemiología es el estudio de la dinámica de ocurrencia, distribución y determinantes de eventos asociados a la salud, en poblaciones específicas. Esta disciplina define la relación de una enfermedad con la población en riesgo e involucra la determinación, análisis e interpretación de tasas (Unahalekhaka, A., 2014).

### 2.2.1 Estudios epidemiológicos

Los estudios epidemiológicos pueden dividirse en experimentales y de observación. Los estudios de observación se dividen en descriptivos y analíticos. Un estudio descriptivo detalla la ocurrencia de una enfermedad en una población, y generalmente es el primer paso en una investigación epidemiológica (Unahalekhaka, A., 2014). Por otro lado un estudio analítico examina y prueba las relaciones posibles entre una enfermedad y sus causas. Los estudios de caso-control se usan para investigar las causas de una enfermedad, especialmente las patologías raras. A tal efecto, este tipo de estudio compara la causa posible entre diferentes casos (personas con la enfermedad) y controles (personas que no presentan la patología). Se trata de un estudio retrospectivo; su diseño recorre el camino inverso, desde el resultado a la posible exposición o factores causales. Los estudios de caso-control son frecuentes al momento de estudiar un brote (Unahalekhaka, A., 2014).

Un estudio transversal, a menudo llamado estudio de prevalencia, mide la prevalencia de una enfermedad. Las mediciones de exposición y efecto se realizan al mismo tiempo. Los estudios transversales arrojan datos útiles para evaluar las necesidades de una población en el ámbito de la salud (Unahalekhaka, A., 2014).

En un estudio de cohorte, se analiza un grupo de personas (o cohorte), ninguna de las cuales presenta el resultado de interés. Al entrar al estudio, los miembros de la cohorte son clasificados según las características o exposición que pudieran relacionarlos con el resultado en estudio. Posteriormente y a lo largo del tiempo, se analizarán grupos con y



sin ciertas exposiciones o características, a fin de comparar los resultados (Unahalekhaka, A., 2014).

Un estudio experimental o de intervención implica un esfuerzo activo por cambiar, vía tratamiento, uno de los determinantes de una enfermedad, tales como una exposición o comportamiento, o su evolución habitual. Estos estudios suelen usar pruebas controladas aleatorias (PCA) y sus sujetos son pacientes. Los estudios de campo y en la comunidad son diseños experimentales en los que participan individuos sanos y comunidades, respectivamente. Los efectos de una intervención se miden a través de la comparación de resultados en un grupo experimental versus los registrados en un grupo de control. En ambos casos, las intervenciones son definidas mediante un estricto protocolo, y las consideraciones éticas son de máxima importancia en el diseño del estudio (Unahalekhaka, A., 2014).

Tabla 2. Clasificación de estudios epidemiológicos (Unahalekhaka, A., 2014).

Tipo de estudio	Nombre alternativo	Unidad de estudio
<b>Estudios de observación</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Estudios descriptivos</b></li> <li>• <b>Estudios analíticos</b></li> <li>• <b>Ecológico</b></li> <li>• <b>Transversal</b></li> <li>• <b>Caso- control</b></li> <li>• <b>Cohorte</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Correlacional</li> <li>• De prevalencia</li> <li>• Caso- referencia</li> <li>• Seguimiento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Población</li> <li>• Individuos</li> <li>• Individuos</li> <li>• Individuos</li> </ul>
<b>Estudios experimentales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Pruebas controladas aleatorias</b></li> <li>• <b>Pruebas de campo</b></li> <li>• <b>Pruebas en la comunidad</b></li> </ul>	<b>Estudios de intervención</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pruebas clínicas</li> <li>• Estudios de intervención en la comunidad</li> </ul>	<b>Pacientes</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pacientes</li> <li>• Personas sanas</li> <li>• Comunidades</li> </ul>

## 2.2.2. Antecedentes

Desde principios del siglo XX, en México se han manifestado cambios trascendentes en el comportamiento epidemiológico de las enfermedades, esto aunado a los cambios ambientales, demográficos, económicos, sociales, culturales y los avances en el campo de la atención a la salud que han ido transformando las características del país y han influido en el perfil epidemiológico, así como las características relacionadas con la presencia de enfermedad o muerte en la población mexicana (Soto, G., Moreno, L. y Pahua, D., 2016).

Hasta el año 2014, las principales causas de morbilidad han sido las enfermedades infecciosas, los tres primeros lugares como causa de morbilidad los han ocupado:

- Las infecciones respiratorias agudas
- Las infecciones intestinales por otros organismos
- Las mal definidas y
- La infección de vías urinarias

(Soto, G., Moreno, L. y Pahua, D., 2016).

## 2.2.3. Epidemiología de las I.A.A.S.

La epidemiología de IAAS explica la ocurrencia de este tipo de infecciones entre pacientes que concurren a un centro de atención en salud, y la magnitud del problema en su contexto. Incluye datos acerca de la distribución de IAAS por tipo de paciente, patógeno causante, unidad de tratamiento y período de tiempo. Estos datos ayudan a comprender la problemática de IAAS en un determinado establecimiento y resultan muy útiles para definir estrategias preventivas (Unahalekhaka, A., 2014).

La prevalencia de las infecciones asociadas con la atención de la salud en el mundo es variable; en países europeos se reportan cifras de 3 a 6% mientras que en México hay reportes que van de 5 hasta 19%. Se debe de tener en cuenta que las infecciones

asociadas con la atención de la salud no se distribuyen de manera homogénea en un hospital, ya que en las unidades de cuidados intensivos el riesgo de presentarlas es 5 a 10 veces mayor en comparación con otras zonas del hospital; esto se debe a que ahí los pacientes necesitan, por lo general, estancias hospitalarias prolongadas y múltiples dispositivos médicos invasivos (catéteres, sondas, tubos endotraqueales) incrementando con esto la morbilidad, la mortalidad y los costos médicos (Galván, M., 2017).

Las IAAS se presentan tanto en países desarrollados como en naciones en desarrollo; cada día, aproximadamente 1,4 millones de pacientes adquieren una IAAS. Las morbilidades más altas se dan entre pacientes hospitalizados en Unidades de Cuidado Intensivo (UCI). La neumonía e infecciones del torrente sanguíneo presentan el mayor número de muertes asociadas a IAAS. Las tasas más altas de infecciones por 1.000 pacientes/día se registraron en las UCIs, seguidas de unidades de neonatología de alto riesgo y unidades de neonatología convencionales (Unahalekhaka, A., 2014).

#### 2.2.4. Vigilancia epidemiológica

Uno de los métodos epidemiológicos más efectivos es la vigilancia. Los resultados del estudio del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) acerca de la eficacia del control de infecciones nosocomiales (Estudio SENIC por sus siglas en inglés de *Study of the Efficacy of Nosocomial Infection Control*,) recomendó la aplicación de tres importantes medidas para la prevención efectiva de IAAS: vigilancia, medidas de control y designación de un profesional/enfermero(a) encargado del control de infecciones, y de un epidemiólogo clínico (Unahalekhaka, A., 2014).

La vigilancia en IAAS es la observación sistemática, activa y permanente de la ocurrencia y distribución de IAAS, y de los eventos o condiciones que aumentan el riesgo de que se produzca una IAAS. Esta información permite a los centros de atención en salud centrar sus esfuerzos en los problemas y riesgos más serios de IAAS, obtener el apoyo del personal y entregar retroalimentación acerca del resultado de cambios preventivos (Unahalekhaka, A., 2014).

La información aportada por la vigilancia epidemiológica puede usarse para:

- Elaborar tasas de infección endémicas de línea de base
- Identificar epidemias
- Aportar datos acerca de la ocurrencia de IAAS
- Evaluar la eficacia de las medidas de control
- Reforzar prácticas adecuadas de prevención y cuidado del paciente
- Como argumento de defensa en casos legales
- Para estudios comparativos
- Resolución de problemas, investigación, y para
- Planificar y medir el impacto de la implementación de las recomendaciones (Unahalekhaka, A., 2014).

## 2.2.5. Panorama mundial de las I.A.A.S.

En Francia, la prevalencia de IAAS entre pacientes fue de 5% en 2006. Las IAAS más comunes fueron la infección de tracto urinario (30,3%), neumonía (14,7%), infección de sitio quirúrgico (14,2%) e infecciones de la piel y membrana mucosa (10,2%). En promedio, una IAAS implicó una estadía de 4 a 5 días adicionales en el hospital. En 2004 y 2005, murieron cerca de 9.000 pacientes con una IAAS declarada, por año (Unahalekhaka, A., 2014).

En Italia, 6,7% de los pacientes desarrolló una IAAS, lo que equivale a entre 450.000 y 700.000 pacientes desde el 2000 a la fecha; aproximadamente Fallecieron entre 4.500 a 7.000 pacientes con una IAAS declarada. En el Reino Unido, la tasa estimada de IAAS para ese mismo período fue de 8,2%. En Suiza, un estudio nacional reveló una tasa de infección de 7,2% en 2004. En Finlandia, se estimó que un 8,5% de los pacientes desarrolló una IAAS en 2005. Entre enero de 2003 y diciembre de 2008, el International Nosocomial Infection Control Consortium (Consortio internacional de control de Infecciones nosocomiales) realizó un estudio de vigilancia de IAAS en países en desarrollo que incorporó los datos recogidos en 173 UCIs ubicadas en América Latina, Asia, África y Europa. En total, la

investigación incluyó los casos de 155.358 pacientes hospitalizados. La tasa agregada de infecciones del torrente sanguíneo (ITS) asociadas a catéter venoso central (CVC) fue de 7,6 ITS-CVC por cada 1.000 días de CVC. Esta tasa es casi tres veces mayor que la registrada en UCIs de Estados Unidos. La tasa total de neumonía asociada a ventilación mecánica (NAV) también fue más alta: 13,6 NAV versus 3,3 por cada 1.000 días/ventilador, respectivamente. La tasa de infección de tracto urinario asociada al uso de catéter (ITU-CA) fue de 6,3 ITU-CA versus 3,3 por cada 1.000 días/catéter, respectivamente (Unahalekhaka, A., 2014).

## 2.2.6. Panorama general de la frecuencia bacteriana en el IMSS (2013)

Se estudiaron 48,377 resultados de cultivos nosocomiales; de estos 13,207 (27.3 %) correspondieron a UMAE y 35,170 (72.6 %) a unidades médicas de segundo nivel. El microorganismo más frecuentemente aislado fue la *Escherichia coli* con 8192 (16.9 %), seguido del grupo de los *Staphylococcus* coagulasa-negativos con 6771 (14 %) y la *Pseudomonas aeruginosa* 5275 (19.9 %). Al comparar entre las unidades de segundo nivel y las unidades de tercer nivel se pueden apreciar muy ligeras diferencias, como es el hecho de que la *Pseudomonas aeruginosa* es más frecuente en las UMAE que en hospitales de segundo nivel. Otra diferencia observada es el hecho que el *Acinetobacter spp.* es más frecuente en las UMAE que en los hospitales de segundo nivel y la *Candida albicans* es un microorganismo más frecuentemente aislado en los hospitales de segundo nivel que en las UMAE (Arias, R., Rosado, U., Vargas, A y Grajales, C., 2016).

	Unidades médicas del IMSS		Unidades médicas de segundo nivel		UMAE	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>Escherichia coli</i>	8192	16.9	6282	17.9	1910	14.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4725	9.8	3534	10.0	1191	9.0
<i>Staphylococcus coagulasa-negativos</i>	6771	14.0	4899	13.9	1872	14.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3122	6.5	2118	6.0	1004	7.6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	371	0.8	268	0.8	103	0.8
<i>Acinetobacter spp.</i>	1437	3.0	690	2.0	747	5.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5275	10.9	3721	10.6	1554	11.8
<i>Enterobacter cloacae</i>	1696	3.5	1158	3.3	538	4.1
<i>Candida albicans</i>	3115	6.4	2499	7.1	616	4.7
Otros	13673	28.3	10001	28.4	3672	27.8
Total	48377	100	35170	100	13207	100

UMAE = unidad médica de alta especialidad

Figura 1. Principales microorganismos aislados en las infecciones nosocomiales de las unidades médicas del Instituto Mexicano del Seguro Social en el 2013 (Modificado de Arias, R., et al., 2016).

Estos datos nos sirven para conocer un panorama muy general de la frecuencia de aislamientos bacterianos en las unidades del IMSS. En este caso nos enfocamos en las UMAE, pues en este estudio realizado fue hecho en la UMAE de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Incluso al ser una UMAE, habrá diferencias marcadas pues cada unidad de alta especialidad es distinta en cuanto al tipo de pacientes que recibe.

Este estudio ofreció un panorama de los principales microorganismos aislados en las infecciones nosocomiales de todos los hospitales del IMSS. Al ser el IMSS un instituto que otorga atención a la salud a casi la mitad de la población mexicana, se puede decir que este estudio se puede acercar a un comportamiento nacional de la etiología de las infecciones nosocomiales. Se observó una diferencia respecto a una alta frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa*, la cual puede deberse a que en México se tiene el mayor consumo de antibióticos registrado en Latinoamérica, lo cual favorece la selección natural de bacterias más resistentes en los hospitales, como la *Pseudomonas aeruginosa* (Arias, R., et al., 2016).

## 2.2.7. De la multirresistencia a antibióticos

La investigación sobre la resistencia bacteriana a los antibióticos en México se centró inicialmente en las infecciones gastrointestinales, aunque también se ha enfocado en la generación de reportes y en la descripción de los mecanismos de resistencia en aislamientos provenientes principalmente de muestras de pacientes con infecciones hospitalarias, así como de brotes, endemias o de patógenos persistentes. Se cuenta, igualmente, con un panorama general de la resistencia en las infecciones comunitarias más frecuentes en nuestro país, como son las de las vías respiratorias (Rodríguez, E., et al., 2014).

### 2.2.7.1 Antecedentes en México de resistencia a antibióticos

En 1973 apareció la primera publicación de investigadores mexicanos relacionada con la resistencia a los antibióticos en bacterias que pueden causar cuadros diarreicos o síndromes de fiebre entérica (fiebre tifoidea); en ella los autores analizaron la resistencia a los antimicrobianos de *Salmonella typhi*, patógeno responsable durante 1972 de miles de casos durante una epidemia de fiebre tifoidea que afectó principalmente los estados centrales de la República Mexicana. En 452 de 493 (91,7 %) cepas de *Salmonella typhi* analizadas se encontró resistencia a cloranfenicol, tetraciclina, estreptomina y a las sulfas (Rodríguez, E., et al., 2014).

En 1987 se inició la investigación de la resistencia a los antimicrobianos en un patógeno entérico frecuente, *Escherichia coli* enterotoxigénica. En estos aislamientos pediátricos se encontró resistencia a la ampicilina, la tetraciclina, la estreptomina y la kanamicina. El patrón de resistencia siguió reportándose hasta una de las últimas publicaciones del 2005, en la cual cepas de *E. coli* productoras de diarrea mostraban sensibilidad únicamente a ciprofloxacina y cefotaxima. Las dos primeras publicaciones tuvieron relevancia clínica al alertar, una sobre la resistencia a cloranfenicol, y la otra, a ampicilina, antibióticos estos que para la década de los setenta (cloranfenicol) y para la década de los ochenta

(ampicilina) se utilizaban frecuentemente como la terapia de elección en cuadros de infecciones entéricas (Rodríguez, E., et al., 2014).

En el 2007 y el 2009 se reportó el surgimiento y la diseminación de un patógeno entérico multirresistente, *Salmonella typhimurium*, por la producción de una betalactamasa de tipo AmpC (Rodríguez, E., et al., 2014).

Las infecciones causadas por organismos multi-drogoresistentes están asociadas con un incremento de la mortalidad comparada con aquellas causadas por bacterias susceptibles, lo que conlleva una importante carga económica. Además, acorde a un reporte reciente, se estima que la resistencia bacteriana causará alrededor de 300 millones de muertes prematuras para el año 2050, con una pérdida de \$100 trillones de dólares para la economía mundial (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Esta situación se ve agravada por los escasos de una línea de antibióticos, resultando en la emergencia de infecciones que son casi intratables y dejando a los médicos sin alternativas para el tratamiento de pacientes infectados.

## 2.2.7.2. Antecedentes de aportaciones a fenotipos identificados en México

### Productoras de BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido)

La resistencia bacteriana a los antibióticos mediada por la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), que inactivan la actividad de las cefalosporinas de tercera generación, constituyó en México uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia en el entorno hospitalario y en los casos de brotes, lo que incentivó la investigación sobre los mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos en las BLEE. Desde el final de la década de los noventa se han descrito pruebas para inferir la producción de BLEE en el laboratorio de microbiología clínica, específicamente la resistencia en enterobacterias aisladas entre 1991 y 1993 a la cefotaxima (89 % resultó resistente) y a la ceftazidima (100 % resultó resistente), así como la identificación de variantes de las betalactamasas de tipo



SHV, que es el tipo de BLEE más comúnmente identificado en México. En el 2000 se describió una nueva BLEE en *E. coli*, la TLA-1. . En el 2001 se describió *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE como un patógeno pediátrico importante; en este primer reporte se identificaron aislamientos provenientes de un brote ocurrido en 1996 como productores de BLEE de tipo SHV-5 (Rodríguez, E., et al., 2014).

Entre el 2004 y el 2008 la situación causada por las bacterias productoras de BLEE se describió en muchos hospitales mexicanos, en los que se presentaron bacteriemias e infecciones urinarias por *K. pneumoniae* productoras de SHV-5 y TLA-1. Se informó, asimismo, de la diseminación hospitalaria de un clon de *K. pneumoniae* productora de BLEE SHV-5 y TEM-1 y de los plásmidos responsables de la diseminación, de *Serratia marcescens* productora de SHV-5, que causó un brote en 1999, e igualmente de la evolución durante 10 años de *K. pneumoniae* productoras de diferentes BLEE, principalmente SHV-5, en un hospital especializado de adultos en la ciudad de México (Rodríguez, E., et al., 2014).

A partir de 2009, la investigación relacionada con la resistencia bacteriana a los antibióticos mediada por diferentes BLEE se expandió hasta incluir descripciones de los plásmidos y transposones que codifican para SHV-5 en *Enterobacter cloacae*, responsable entonces de un brote hospitalario, y, asimismo, se describió la localización del gen que codifica para TLA-1 y el lugar de su inserción secuencial; las especies bacterianas productoras de BLEE más frecuentemente aisladas en ocho hospitales mexicanos fueron *K. pneumoniae* (56 %), *E. cloacae* (29 %) y *E. coli* (15 %) productoras de BLEE de tipo SHV (84 %), TLA-1 (11 %) y CTX-M (5 %) (33-35). También se describió la presencia de un plásmido con genes que codifican para resistencia a quinolonas en bacterias productoras de BLEE y la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en un hospital de tercer nivel en Monterrey, donde la CTX-M-15 fue la BLEE más frecuentemente encontrada; asimismo, se observó la producción de BLEE de tipo GES en un estudio multicéntrico nacional (Rodríguez, E., et al., 2014).

### 2.2.7.3. Antecedentes de principales patógenos en México

En México, los mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* se han venido describiendo desde 1986; en tales reportes se dio cuenta de la sensibilidad en aislamientos provenientes de un hospital en Morelia, en los cuales se hallaron los genes IMP-15 y IMP-18, que codifican para la producción de dos metalobetactamasas, y de la producción simultánea de diferentes tipos de BLEE, incluida la GES-5 en asociación con VIM-2 y VIM-11. Otra publicación informa del hallazgo en aislamientos provenientes de la Ciudad de México de los genes IMP-15 y VIM-2. Asimismo, en un paciente con fibrosis quística se encontró *P. aeruginosa* productoras de las betalactamasas OXA 141 (Rodríguez, E., et al., 2014).

Las publicaciones relacionadas con la resistencia de un patógeno comunitario como lo es *Streptococcus pneumoniae* se iniciaron en 1998, cuando se demostró que el microorganismo había comenzado a presentar resistencia creciente a la penicilina y a otros antibióticos betalactámicos; la investigación continuó con el análisis de 350 aislamientos de *S. pneumoniae* recolectados entre 1995 y 2001, los cuales demostraron resistencia a la penicilina, en general, y algunos, resistencia compartida a penicilina y a cefalosporinas, macrólidos, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol y tetraciclinas, tal como lo describe una publicación de 2013 en la que se analizan, además de la resistencia, el tipo de enfermedad que provoca esta bacteria y sus serotipos (Rodríguez, E., et al., 2014).

Otro patógeno de gran importancia para México ha sido *S. aureus* recuperado generalmente de aislamientos hospitalarios. Se ha descrito la evolución de un clon resistente a la meticilina, denominado M, en un hospital pediátrico de la Ciudad de México y cómo dicho clon fue reemplazado por el llamado clon Nueva York-Japón; por otra parte, también se describió el clon predominante resistente a meticilina (Nueva York-Japón) encontrado en un hospital de Guadalajara, el cual causó infecciones

principalmente en pacientes adultos de servicios quirúrgicos como el de ortopedia, así como la resistencia del llamado clon USA 300 en nuestro país (Rodríguez, E., et al., 2014).

Son muchas las contribuciones de los investigadores mexicanos a las redes internacionales que recopilan información y reportan sobre la resistencia bacteriana, tales como aquellas que reportan sobre la evolución de la resistencia en *Haemophilus influenzae*, la bacteriemia por *Salmonella spp.*, los patógenos respiratorios o la resistencia a linezolid (Rodríguez, E., et al., 2014).

### 2.2.8 Norma oficial mexicana NOM-017-SSA2-1994, para la vigilancia epidemiológica.

En nuestro país, la vigilancia epidemiológica es un sistema que recolecta información sobre los diversos eventos de interés médico epidemiológico, capaz de analizar la información y proporcionar un panorama sólido que permita iniciar, profundizar o rectificar acciones de prevención y control. La información respecto a los daños y riesgos para la salud representa un insumo importante de la vigilancia epidemiológica. La Norma Oficial Mexicana para la vigilancia epidemiológica establece los padecimientos y riesgos que están sujetos a notificación e investigación, así como la frecuencia con que éstas deben realizarse, de acuerdo con su trascendencia (NOM-017-SSA2-1994.)

## 2.3 Vigilancia, alertas y planes de acción ante las I.A.A.S. y la resistencia antimicrobiana

Existen numerosos organismos encargados de la vigilancia epidemiológica, que en los últimos años han tomado mayor importancia y por lo cual han surgido más en todo el mundo, pues el problema de la resistencia los antimicrobianos es de carácter mundial.

### 2.3.1 La OMS (Organización Mundial de la Salud) como principal órgano de vigilancia mundial

Siendo la OMS el organismo de la ONU (Organización de las Naciones Unidas) encargado de monitorear, promover y gestionar políticas en materia de salud a nivel mundial, le corresponde a este la vigilancia en la frecuencia con que se presentan enfermedades (infecciones intrahospitalarias en este caso), y cómo cada país elabora protocolos y políticas para llevar un control de estas y buscar disminuir su frecuencia. Ofrece una serie de protocolos que se van actualizando conforme a las necesidades de cada zona, pero en generalidades aplicables destacan las siguientes:

La tasa de incidencia de infecciones nosocomiales en los pacientes de un establecimiento determinado es un indicador de la calidad y seguridad de la atención. La institución de un proceso de vigilancia para supervisar esa tasa es un primer paso indispensable para puntualizar los problemas y prioridades locales y evaluar la eficacia de la actividad de control de infecciones. La vigilancia, en sí, es un proceso eficaz para reducir la frecuencia de infecciones (OMS, 2002).

Los objetivos específicos de un programa de vigilancia son los siguientes:

- Hacer que el personal clínico y otros trabajadores del hospital (incluso los administradores) estén más conscientes de las infecciones nosocomiales y la resistencia a los antimicrobianos, de manera que aprecien la necesidad de acción preventiva.
- Vigilar las tendencias: incidencia y distribución de las infecciones, prevalencia y, donde sea posible, incidencia ajustada según el riesgo con el fin de hacer comparaciones intra e interhospitalarias.
- Señalar la necesidad de crear programas de prevención nuevos e intensificados y evaluar el efecto de las medidas de prevención.

- Señalar los posibles puntos en que se puede mejorar la atención de los pacientes y la necesidad de efectuar otros estudios epidemiológicos (por ejemplo, análisis de los factores de riesgo).

Una importante función del hospital consiste en asegurarse de tener un sistema de vigilancia válido. Debe haber objetivos específicos (para unidades, servicios, pacientes, zonas de atención específicas) y períodos de vigilancia definidos para todos los asociados: por ejemplo, el personal de las unidades clínicas y del laboratorio, el médico o el personal de enfermería especializado en control de infecciones, el director y el administrador (OMS, 2002).

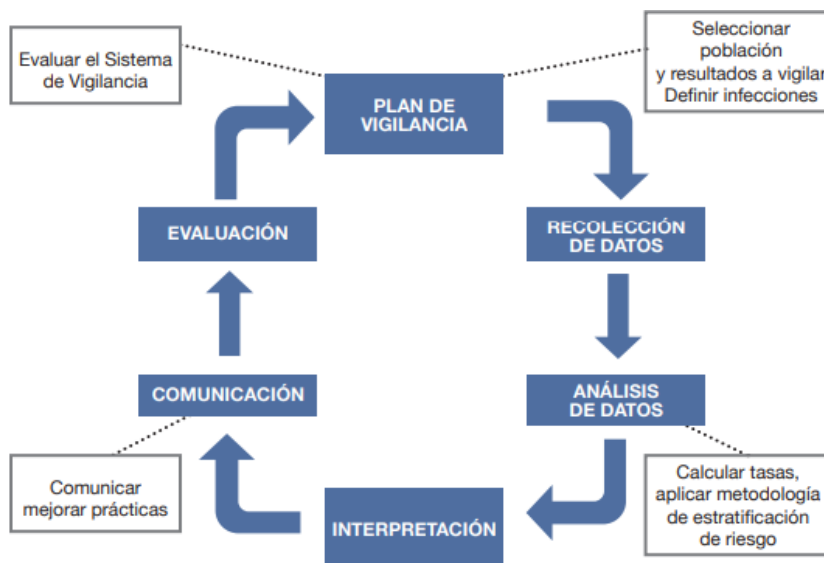


Figura 2. Pasos recomendados para la planificación, la recopilación de datos, el análisis, la interpretación, la comunicación y la evaluación de la vigilancia (OPS, 2012)

### 2.3.2 Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos

En mayo de 2015 la 68.ª Asamblea Mundial de la Salud adoptó el Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, que materializa el consenso mundial acerca del grave peligro que entrañan estas resistencias para la salud humana. Uno de los cinco objetivos estratégicos enunciados en el Plan de acción mundial es el de “reforzar los

conocimientos a través de la vigilancia y la investigación”. La vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos es el punto de partida para determinar la carga que suponen estas resistencias y aportar la información necesaria para pasar a la acción en apoyo de estrategias locales, nacionales y mundiales (OMS, 2017).

Además programas de vigilancia regionales, como el de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en Asia Central y Europa Oriental (CAESAR), la red europea de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (EARS-Net) o la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA), con los que se viene siguiendo de cerca las resistencias bacterianas en determinadas zonas geográficas (OMS, 2017).

Pese a que estos programas han resultado eficaces para ir reuniendo datos a lo largo de muchos años, quedan todavía importantes lagunas en la vigilancia de muchos patógenos bacterianos que son causa de frecuentes infecciones humanas. Estas carencias, sumadas a la falta de normas comunes en cuanto a métodos, intercambio de datos y coordinación a escala local, nacional, regional y mundial, están agravando los esfuerzos por generar un acervo de datos coherentes de alcance mundial que permita observar y analizar globalmente la aparición de resistencias y las tendencias al respecto en todo el mundo (OMS, 2017).

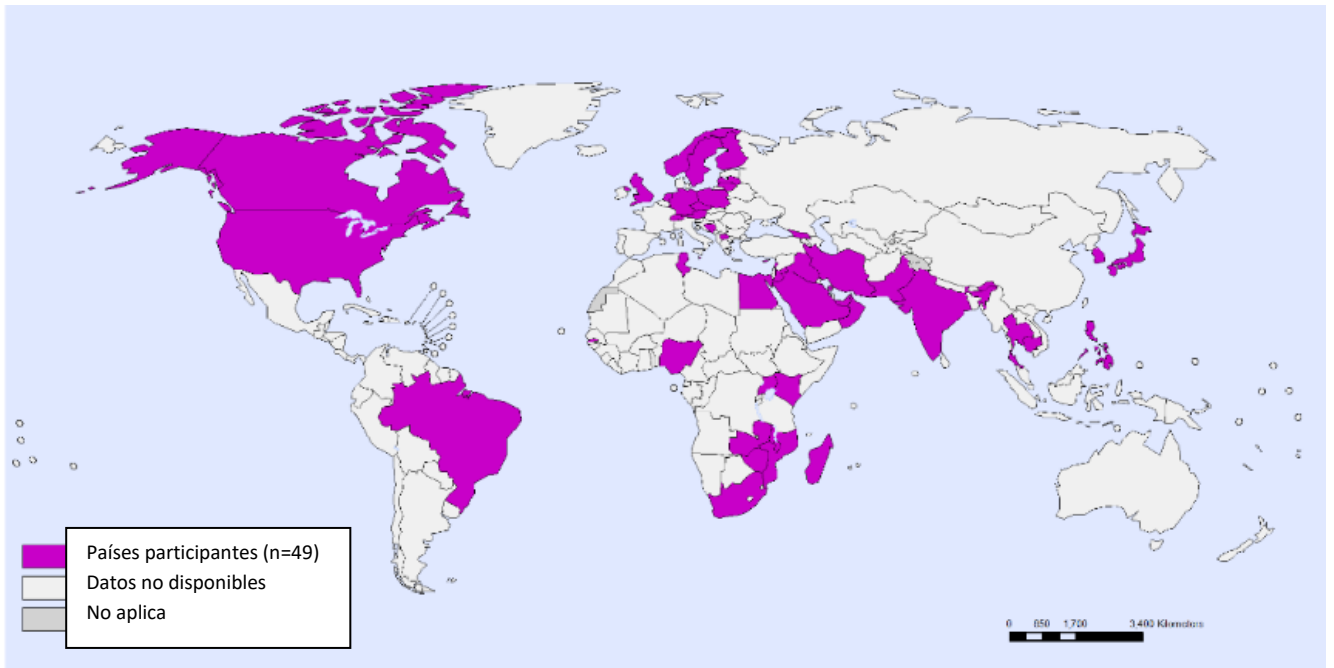


Figura 3. Países participantes del sistema mundial de vigilancia epidemiológica, hasta diciembre 2017 (Modificado de OMS, 2017).

La creación del Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (GLASS, por sus siglas en inglés) responde al objetivo de apoyar la aplicación del Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, con la idea de que su implementación esté ligada a los planes de acción nacionales en la materia. Mediante el GLASS se aspira a hacer posible la obtención, análisis e intercambio entre países de datos normalizados, comparables y validados sobre la resistencia a los antimicrobianos, con los cuales fundamentar los procesos decisorios, impulsar las actividades locales, nacionales y regionales y aportar la base empírica necesaria para adoptar medidas y realizar labores de sensibilización (OMS, 2017).

Tabla 3. Plan de implementación del GLASS (OMS, 2017).

Año	Metas
2015	<p>Preparar el manual, crear un dispositivo informático central y elaborar planes de apoyo a la implementación del GLASS.</p> <p>Establecer un dispositivo de colaboración internacional con centros colaboradores de la OMS, redes nacionales y regionales y otros laboratorios e instituciones para que la OMS pueda ayudar a los países a implementar el GLASS.</p> <p>Poner en marcha la incorporación de países al GLASS.</p>
2016	<p>Empezar a reunir datos de referencia procedentes de los Estados Miembros de la OMS sobre infecciones humanas resistentes a los antibacterianos.</p> <p>Elaborar un informe sobre la marcha de la implementación del GLASS.</p> <p>Objetivo: lograr una cota de participación del 15% de los Estados Miembros.</p>
2017	<p>Consolidar la obtención de datos de referencia de los Estados Miembros de la OMS sobre infecciones humanas resistentes a los antibacterianos.</p> <p>Conferir mayor capacidad a la plataforma a fin de establecer relaciones con otros sistemas de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (p.ej. en sanidad animal, agricultura o uso y consumo de antibióticos).</p> <p>Llevar la cota de participación de Estados Miembros a un 20%.</p>
2018	<p>Elaborar un informe sobre la resistencia a los antimicrobianos en el ámbito de la salud humana por regiones y a escala mundial.</p> <p>Estudiar la viabilidad de instituir la localización de casos mediante vigilancia de síndromes clínicos en determinados puntos de vigilancia.</p> <p>Llevar la cota de participación de Estados Miembros a un 30%.</p>
2019	<p>Examinar las enseñanzas extraídas de la primera fase de implementación para determinar la ulterior evolución del GLASS.</p> <p>Llevar la cota de participación de Estados Miembros a un 40%.</p>

### 2.3.3. En la Organización Panamericana de la Salud (OPS)

La Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) en 1996 con el apoyo de la Organización Panamericana de la Salud con el fin de obtener datos microbiológicos fidedignos, oportunos y reproducibles para mejorar la atención del paciente y de fortalecer la vigilancia mediante programas de garantía de calidad sostenibles. En su etapa inicial, ReLAVRA se enfocó en la vigilancia de la resistencia en los agentes patógenos adquiridos en la comunidad y en el medio hospitalario, pero a partir del año 2000 ésta se extendió a patógenos nosocomiales y de la comunidad (OPS, 2018)



ReLAVRA responde a una filosofía de colaboración y realiza su trabajo en una estructura horizontal con principios estandarizados. Como parte de sus funciones, ReLAVRA provee información clave para elegir el tratamiento empírico de las infecciones y diseñar estrategias locales y regionales de utilización de antimicrobianos. Desde el punto de vista operativo el quehacer de ReLAVRA se realiza con base en una estructura horizontal con principios estandarizados (OPS, 2018).

A nivel central y con el apoyo de la Organización Panamericana de Salud se cuenta con el apoyo de un Grupo Técnico Asesor encargado de mantener y gestionar la comunicación directa con los laboratorios. Este grupo, entre otros, también asesora a los países en temas emergentes; tales como, evaluación de nuevas drogas para el tratamiento de infecciones graves, utilidad y limitaciones de los métodos fenotípicos para detección de resistencia, etc. (OPS, 2018).

#### **2.3.4. En el IMSS (Instituto Mexicano del Seguro Social)**

En este Instituto se tiene normada la presencia en cada Hospital de una UVEH (Unidad de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria), la cual consta de por lo menos un médico epidemiólogo y una enfermera especialista en salud pública; dependiendo del tamaño del hospital, la indicación de la cantidad de miembros de la UVEH aumenta. Esta unidad detecta las infecciones nosocomiales y elabora un informe final para concentrarlo en el nivel normativo de la CVE (Coordinación de Vigilancia Epidemiológica). En este informe se registra la cantidad de microorganismos aislados, cuya concentración final es presentada. El IMSS cuenta con un total de 197 hospitales de segundo nivel, divididos en 127 hospitales generales de zona, 26 hospitales regionales de zona, 35 hospitales generales de subzona, y nueve hospitales de ginecología/pediatría, al igual que 25 unidades médicas de alta especialidad (UMAE) y un hospital de infectología como unidades de tercer nivel. En las UMAE existe un hospital monotemático de oncología, uno de infectología, dos de alta especialidad en niños, dos de cardiología, 10 de alta especialidad en adultos, cinco de alta especialidad en ginecoobstetricia, cinco de traumatología y ortopedia y un hospital general de 523 camas censables y 232 no censables. En casi todas las unidades médicas se

cuenta con un servicio de bacteriología que realiza la identificación y sensibilidad de los microorganismos mediante el sistema automatizado VITEK (Arias, R., et al., 2016).

## 2.3.5. La DGE (Dirección General de Epidemiología) y el SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica)

### 2.3.5.1. DGE

En la actualidad, la vigilancia epidemiológica es un ejercicio técnico, científico y de vinculación que integra a múltiples fuentes de información; mediante el análisis, estima y predice escenarios relevantes para la conducción de las políticas en salud. Asimismo, va más allá al integrar la información generada por otras dependencias o fuentes dentro y fuera del sector salud, esta integración permite representaciones más sofisticadas sobre la salud y la enfermedad, sobre sus determinantes y sobre las relaciones de estos con los desenlaces de salud y los contextos en que ocurren (Secretaría de Salud 2014).

Entre otros elementos, la actual vigilancia epidemiológica de la Dirección General de Epidemiología (DGE) toma en cuenta la información sobre la cobertura y calidad de los servicios de salud, sobre la vigilancia sanitaria nacional e internacional, sobre los estilos de vida y sobre sus determinantes estructurales. La vigilancia epidemiológica destaca el análisis de la información y enfatiza la estimación, predicción y proyección de casos como herramientas fundamentales para la acción dirigida (Secretaría de Salud 2014).

En la actualidad la DGE, unidad administrativa dependiente de la Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud de la Secretaría de Salud, es responsable de conducir las políticas y estrategias en materia de vigilancia epidemiológica, diagnóstico y referencia de laboratorio, investigación epidemiológica, capacitación y desarrollo técnico en epidemiología y salud pública; mediante el establecimiento de mecanismos de concertación, coordinación y colaboración con organismos y/o instituciones públicas, privadas y/o sociales tanto nacionales como internacionales, para la ejecución conjunta de acciones e intercambio de información, con el fin de orientar las intervenciones de

prevención, control de enfermedades y promoción de la salud, así como la evaluación de su impacto en beneficio de la población mexicana y de la salud pública internacional (Secretaría de Salud 2014).

### 2.3.5.2. SINAVE

En la década de 1990, los subsistemas de vigilancia epidemiológica del país homologaron sus procedimientos y se integraron en el SINAVE, logrando la operación entre las instituciones del sector salud y las entidades federativas. En el año de 1995 se creó el Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica (CONAVE), lo que significó un paso acertado hacia la construcción de un sistema de vigilancia más eficiente, coherente y homogéneo a nivel nacional (Secretaría de Salud 2014).

La Secretaría de Salud es el órgano normativo y rector del SINAVE, y funge como el recopilador de toda la información generada por éste. La coordinación de dichas funciones se ejerce por conducto de la Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, de conformidad con las disposiciones aplicables y las atribuciones conferidas en el Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, en coordinación con los diferentes sectores del Sistema Nacional de Salud (NOM-017-SSA2-1994.),

Las acciones de vigilancia epidemiológica se apoyan en el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, SINAVE, el cual se concibe como el conjunto de relaciones formales y funcionales, en el cual participan coordinadamente las instituciones del Sistema Nacional de Salud, para llevar a cabo de manera oportuna y uniforme la vigilancia epidemiológica (NOM-017-SSA2-1994).

El SINAVE tiene por objeto obtener conocimientos oportunos, uniformes, completos y confiables referentes al proceso salud-enfermedad en la población, a partir de la información generada en los servicios de salud en el ámbito local, intermedio y estatal, o sus equivalentes institucionales, para ser utilizados en la planeación, capacitación, investigación y evaluación de los programas de prevención, control, eliminación y erradicación y, en su caso, de tratamiento y rehabilitación (NOM-017-SSA2-1994).

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica debe impulsar el desarrollo adecuado de la vigilancia epidemiológica en el país, que incluye:

- La creación de una instancia interinstitucional que fije las normas de vigilancia epidemiológica en el país, por lo que con base en el Acuerdo Secretarial número 130, la Secretaría de Salud creó el Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica, como una instancia permanente con el propósito de unificar y homologar criterios, procedimientos, y contenidos de la vigilancia epidemiológica en el país.

El CONAVE se integra por la Secretaría de Salud (SSA) como coordinadora del comité así como por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), el Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF), el Instituto Nacional Indigenista (INI), la Dirección General de Sanidad Militar (DGSM) de la Secretaría de la Defensa Nacional (SEDENA), la Dirección General de Sanidad Naval de la Secretaría de Marina y los Servicios Médicos de Petróleos Mexicanos (SMPEMEX)

- El establecimiento de un sistema homogéneo de información para todas las dependencias del Sector Salud.
- La vigilancia epidemiológica se apoya en la recopilación sistemática de la información epidemiológica generada por el SNS y otras instancias comunitarias, para su procesamiento, análisis, interpretación, difusión y utilización.
- Dentro del Acuerdo Secretarial No. 130 y como parte de la responsabilidad compartida entre las instituciones de salud, se establecen las bases para el convenio de creación del Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE), signado por los titulares de la SSA, el IMSS y el ISSSTE. En este convenio se asienta que las instituciones firmantes manejarán homogéneamente los padecimientos sujetos a vigilancia epidemiológica, con los mismos formatos de recolección de información; que el flujo de la información será horizontal, y que la responsabilidad de su análisis y utilización es común. Las

demás instituciones del Sector Salud se han adherido al convenio (NOM-017-SSA2-1994).

La vigilancia epidemiológica de infecciones nosocomiales deberá realizarse a través de un sistema que unifique criterios para la recopilación dinámica, sistemática y continua de la información generada por cada unidad de atención médica para su procesamiento, análisis, interpretación, difusión y utilización en la resolución de problemas epidemiológicos y de operación por los niveles técnico-administrativos en las distintas instituciones de salud conforme se establezca en la normatividad aplicable (NOM-045-SSA2-2005).

La vigilancia epidemiológica de infecciones nosocomiales considera los subcomponentes de información, supervisión, evaluación, coordinación, capacitación en servicio e investigación, como base para su funcionamiento operativo adecuado dentro del sistema de vigilancia epidemiológica de las infecciones nosocomiales (NOM-045-SSA2-2005).

La RHOVE (Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica) se debe entender como el componente del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) que comprende un conjunto de servicios, recursos, normas y procedimientos integrados en una estructura de organización que facilita la sistematización de las actividades de vigilancia epidemiológica hospitalaria, incluyendo la de las infecciones nosocomiales (NOM-045-SSA2-2005).

La información epidemiológica generada por la RHOVE tendrá uso clínico, epidemiológico, estadístico y de salud pública. Su manejo observará los principios de confidencialidad para proteger la identidad individual de los pacientes (NOM-045-SSA2-2005).

El CODECIN (Comité para la detección de Infecciones Nosocomiales) será el responsable del establecimiento y aplicación de medidas de vigilancia, prevención y control de las infecciones nosocomiales, así como de su seguimiento (NOM-045-SSA2-2005).

La unidad hospitalaria deberá realizar acciones específicas de prevención y control de infecciones nosocomiales, para lo cual deberá contar con programas de capacitación y

educación continua para el personal y la población usuaria, enfocados específicamente a disminuir los riesgos en los procedimientos realizados con mayor frecuencia. La instalación y permanencia de cualquier dispositivo o medio invasivo en el paciente deberá ser evaluado por los médicos tratantes y en su caso por la UVEH (Unidad de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria), diariamente, limitando su permanencia sólo al tiempo indispensable (NOM-045-SSA2-2005).

### 2.3.6. Programa de Optimización de uso de Antimicrobianos en Hospitales

La actual complejidad en el manejo de las enfermedades infecciosas y del aumento de las resistencias hace imprescindible el establecimiento de Programas de Optimización del uso de Antimicrobianos en los hospitales (PROA).

Es importante resaltar que el uso apropiado de antimicrobianos no solo es necesario en aras de un beneficio ecológico (prolongación de la vida útil de los antibióticos) sino que, fundamentalmente, contribuye a mejorar el pronóstico de los pacientes que los necesitan. Además, la optimización de los tratamientos antibióticos debe minimizar la probabilidad de aparición de eventos adversos relacionados con su uso. Los antimicrobianos son uno de los medicamentos más utilizados en el hospital (entre el 25 y el 41% de los pacientes hospitalizados son tratados con antibióticos y aproximadamente el 60% de los pacientes recibe al menos una dosis durante su ingreso) y, aunque habitualmente seguros, no están exentos de efectos adversos potencialmente graves (Rodríguez, J, et al., 2012)

Por estos motivos nacieron hace años los programas institucionales de optimización de tratamientos antimicrobianos, que en inglés se denominan más frecuentemente *antimicrobial stewardship programs*.

El término *stewardship*, que se refiere a la responsabilidad de cuidar u organizar algo que no es propio, no tiene una traducción literal al castellano aplicable para esta acepción, lo que motiva probablemente que en nuestro idioma no exista un término mayoritariamente aceptado para describir este tipo de actividades. Son numerosas las intervenciones que

pueden plantearse con la intención de mejorar el uso de los antimicrobianos en los hospitales, habiendo sido evaluada su eficacia de forma sistemática (Rodríguez, J, et al., 2012).

Los PROA han sido definidos como la expresión de un esfuerzo mantenido de una institución sanitaria por optimizar el uso de antimicrobianos en pacientes hospitalizados con la intención de: *a)* mejorar los resultados clínicos de los pacientes con infecciones; *b)* minimizar los efectos adversos asociados a la utilización de antimicrobianos (incluyendo aquí la aparición y diseminación de resistencias); y *c)* garantizar la utilización de tratamientos coste-eficaces. Por tanto, son programas de mejora de calidad. Para su éxito, es imprescindible que los PROA se constituyan como programas institucionales en los hospitales y que sean liderados por los profesionales con el mayor reconocimiento científico-técnico en el uso de antimicrobianos y en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades infecciosas (Rodríguez, J, et al., 2012).

### 2.3.6.1. Monitorización de las resistencias

La monitorización de las resistencias deber ser un elemento obligatorio en cualquier institución hospitalaria ya que resulta imprescindible para el establecimiento de guías locales de tratamiento empírico (Rodríguez, J, et al., 2012).

Tampoco resulta sencillo decidir qué y cómo monitorizar. Los puntos de corte habitualmente utilizados (los establecidos por el *Clinical Laboratory Standard Institute* [CLSI] y por *European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing* [EUCAST]) para definir las bacterias resistentes se encuentran alejados de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) modales que presentan las poblaciones salvajes carentes de mecanismos de resistencia. Por esta razón solo podrían inferirse mecanismos de resistencia de alto nivel, excluyendo los de bajo nivel de resistencia que en numerosas ocasiones preceden a los de mayor nivel. Como alternativa es posible emplear los llamados puntos de corte epidemiológicos (*epidemiological cut-off* o ECOFF) y que separan las poblaciones salvajes de aquellas que presentan cualquier mecanismo de resistencia, incluidos los de bajo nivel de expresión (Rodríguez, J, et al., 2012).

### 2.3.6.2. El papel del laboratorio de microbiología

El laboratorio de microbiología clínica tiene un papel crítico en el uso adecuado de antimicrobianos ya que proporciona la identificación de los patógenos implicados en el proceso infeccioso y realiza las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos de los mismos. Esta información es muy valiosa para optimizar el tratamiento antimicrobiano individual ya que guía la elección del mismo y permite el desescalamiento, pero además se puede utilizar como estrategia para evitar el uso de antimicrobianos de amplio espectro y favorecer el uso de otros también activos pero con menor impacto ecológico. Por otra parte, esta información sirve de ayuda en el control de la infección mediante la vigilancia de microorganismos resistentes (Rodríguez, J, et al., 2012).



Figura. 4 VITEK® 2 bioMérieux. Equipo para identificación y sensibilidad de los microorganismos (Biomérieux, S/A)

Otra de las importantes aportaciones del laboratorio de microbiología al control de la infección es la aplicación de técnicas moleculares que permiten la identificación de patógenos difíciles de cultivar, evitando potencialmente prolongados tratamientos antimicrobianos empíricos de amplio espectro y que son de gran ayuda para la investigación de brotes (Rodríguez, J, et al., 2012).



Puesto que la información incluida en el antibiograma es de gran utilidad para las estrategias de mejora en el uso de antibióticos, es necesario que la determinación de sensibilidad a antimicrobianos, su interpretación y su informe se basen en normas estandarizadas y desarrolladas por diferentes comités nacionales o internacionales como el CLSI o el EUCAST. Del mismo modo, también se deben estandarizar los métodos para detectar fenotipos de resistencia nuevos o emergentes y para ello los laboratorios deben estar adscritos a programas de control de calidad. La realización de pruebas de determinación de sensibilidad a antimicrobianos debe establecer prioridades en cuanto a los antimicrobianos a estudiar, según el microorganismo y la unidad hospitalaria de que se trate: estudio de un número variable pero que permita la inferencia adecuada de mecanismos de resistencia, determinación de su actividad cualitativamente (categorización clínica de sensible, resistente u otras) o cuantitativamente (valor de la CMI). Por otra parte, el laboratorio debe realizar un antibiograma interpretado para anticipar mecanismos de resistencia difíciles de detectar y evitar la utilización inadecuada de antimicrobianos (Rodríguez, J, et al., 2012).

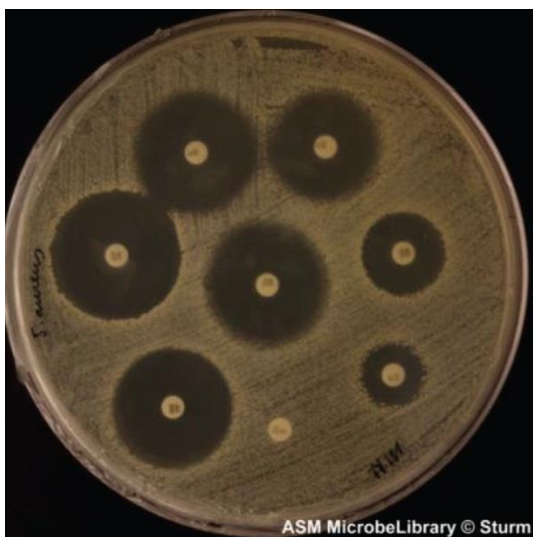


Figura. 5 Método de Kirby-Bauer de susceptibilidad por difusión de disco en agar. Test de *S. aureus* coagulasa negativo en agar Mueller-Hinton con sensidiscos de diferentes antimicrobianos (Weiman S, 2015)

La optimización mediante reducción del espectro («des-escalamiento» o *streamlining*) consiste en la administración inicial de tratamiento empírico de amplio espectro con la intención de cubrir todos los posibles patógenos, seguido de un ajuste del tratamiento estrechando el espectro antibiótico una vez conocido el agente etiológico. Obviamente, es esencial la toma de cultivos antes del inicio de la antibioterapia para después poder ajustar el tratamiento. Con frecuencia los clínicos son muy reacios a reducir el espectro antibiótico en un paciente en situación crítica: «si el paciente va bien prefiero no modificar el tratamiento» o «si la evolución no es buena no voy a reducir el tratamiento antibiótico» son argumentos por todos conocidos. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que es una estrategia segura y que puede llevarse a cabo en el día a día (Rodríguez, J, et al., 2012).

## 2.4. Bacterias aisladas con mayor frecuencia en las I.A.A.S

Las infecciones asociadas a la atención a la salud (IAAS) son un problema de salud global que aumenta los costos de atención y facilita la generación selectiva de microorganismos multidrogosresistentes. Al existir un número enorme de especies patógenas, se ha propuesto estudiar un grupo específico que genera mayor resistencia y se encuentra en mayor proporción en los hospitales. Este grupo se ha denominado grupo ESKAPE por la primera letra de cada especie relacionadas a éstas:

- La E proviene del *Enterococcus faecium*, cuya relevancia viene de la resistencia a la vancomicina.
- La S viene de *Staphylococcus aureus*, que es un microorganismo resistente a la meticilina. La oxacilina y la meticilina son penicilinas semisintéticas que son estables a la beta-lactamasa estafilocócica, gracias a la ubicación estratégica de ciertas cadenas laterales en la molécula. La resistencia a estos antibióticos marcadores identifica resistencia cruzada a los betalactámicos.
- La K proviene de *Klebsiella*, cuya producción de betalactamasas de espectro extendido y de carbapenemasas genera una gran preocupación, pues la

transmisión de resistencias puede hacerse a través de plásmidos entre distintas especies.

- La A proviene de *Acinetobacter baumannii*, cuya multiresistencia a antibióticos genera un reto en las recomendaciones internacionales de tratamiento.
- La P viene de *Pseudomonas aeruginosa*, cuya resistencia a carbapenems y a quinolonas genera gran preocupación en una neumonía asociada a ventilador con esta etiología.
- La E se refiere a las enterobacterias. En este grupo está la *Escherichia coli* y la *Morganella morganii* entre otros.

(Arias, R., et al., 2016).

### 2.4.1. Panorama mundial de la prevalencia de bacterias aisladas con mayor frecuencia.

La prevalencia de estos microorganismos y sus resistencias han sido estudiadas en países como Estados Unidos o comunidades como la Unión Europea.

Tabla 4 Prevalencia en Estados Unidos de microorganismos más frecuentemente aislado en un año (Modificado de Arias, R., et al., 2016).

Microorganismo	Número de aislamientos
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	12 635 aislamientos (15.6 %)
<b><i>Escherichia coli</i></b>	9351 (11.5 %)
<b><i>Staphylococcus coagulasa-negativos</i></b>	9261 (11.4 %)
<b><i>Klebsiella (pneumoniae/oxytoca)</i></b>	6470 (8.0 %)
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	6111 (7.5 %)
<b><i>Enterococcus faecalis</i></b>	5484 (6.8 %)
<b><i>Candida albicans</i></b>	4275 (5.3 %)
<b><i>Enterococcus faecium</i></b>	3314 (4.1 %),
<b><i>Acinetobacter baumannii</i></b>	1490 (1.8%)

Tabla 5. Prevalencia puntual de microorganismos más frecuentemente asociados a una infección intrahospitalaria en la Unión Europea (Modificado de Arias, R., et al., 2016).

Microorganismo	Número de aislamientos
<i>Escherichia coli</i>	177 (15.2%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	141 (12.1 %)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	121 (11.2 %)
los <i>Staphylococcus coagulasa-negativos</i>	97 (8.3 %)
<i>Klebsiella spp</i>	94 (8.1 %)
<i>Candida spp</i>	56 (4.8 %)
<i>Enterobacter spp.</i>	49 (4.2 %)
<i>Acinetobacter spp.</i>	49 (4.2 %)

Tabla 6. Prevalencia de microorganismos aislados en infecciones intrahospitalarias en un estudio realizado por la SSA en 2011 en México n=914 (Modificado de Arias, R., et al., 2016).

Microorganismo	Porcentaje de aislamientos
<i>Enterobacter spp. (38 %),</i>	38 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	13%
<i>Pseudomonas spp</i>	13%
<i>Staphylococcus coagulasa negativos</i>	8%
<i>Acinetobacter spp</i>	7%
<i>Enterococcus spp.</i>	6%
<i>Candida spp.</i>	5%

## 2.5. Generalidades de las bacterias

Las bacterias pertenecen al grupo de organismos considerados como procariontes, carecen de un núcleo limitado por una membrana y de mitocondrias entre otras características. Sin embargo, tienen una estructura superficial compleja que rodea a la membrana celular y le da rigidez, por lo que se le denomina “pared celular bacteriana”. Su membrana proporciona una barrera osmótica y de transporte activo que mantiene las concentraciones de iones apropiadas evitando su rotura con los cambios de iones (Castro, A., 2014). La composición de la pared celular es responsable de características en las bacterias que son útiles y determinantes para su taxonomía, clasificación y entendimiento de la fisiopatogenia.

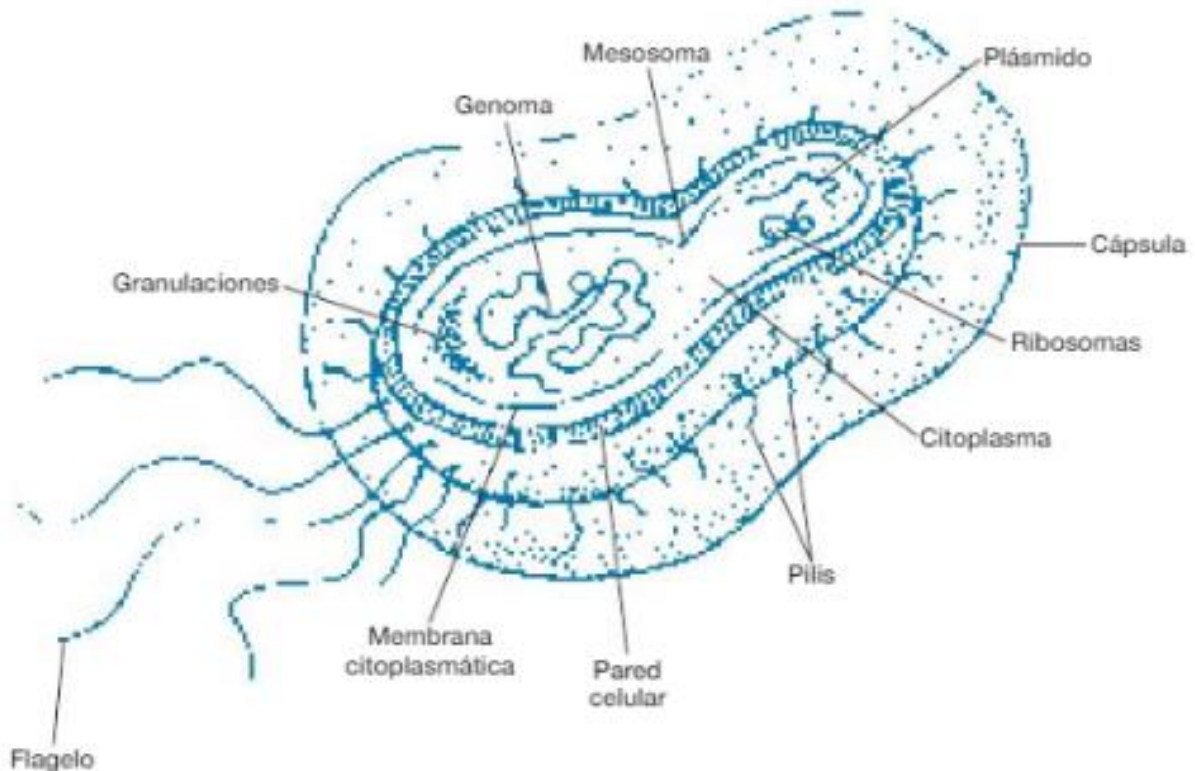


Figura 6. Estructura general de una bacteria (Romero, R., 2007)

## 2.5.1. Morfología

Al microscopio óptico se pueden distinguir tres formas principales de bacterias; unas esféricas de 0.5 a 1  $\mu$  m, denominadas “cocos” (del griego y latín “baya”); otras cilíndricas denominadas “bacilos” (en latín “bastón”) y unas espirales de 1 a 100  $\mu$  m, denominadas “espiroquetas”. Los cocos, dependiendo de los planos de división que tengan y la separación que se logre entre cada célula, pueden aparecer al microscopio formando cadenas (estreptococos), racimos (estafilococos), pares (diplococos), tétradas, sarcinas (formas cúbicas). Los bacilos en general no forman agrupaciones, pero su tamaño puede variar describiéndose como bacilos cortos o cocobacilos, delgados y alargados en forma fusiforme, en forma curva, descritos como vibriones y formas helicoidales (Castro, A., 2014).

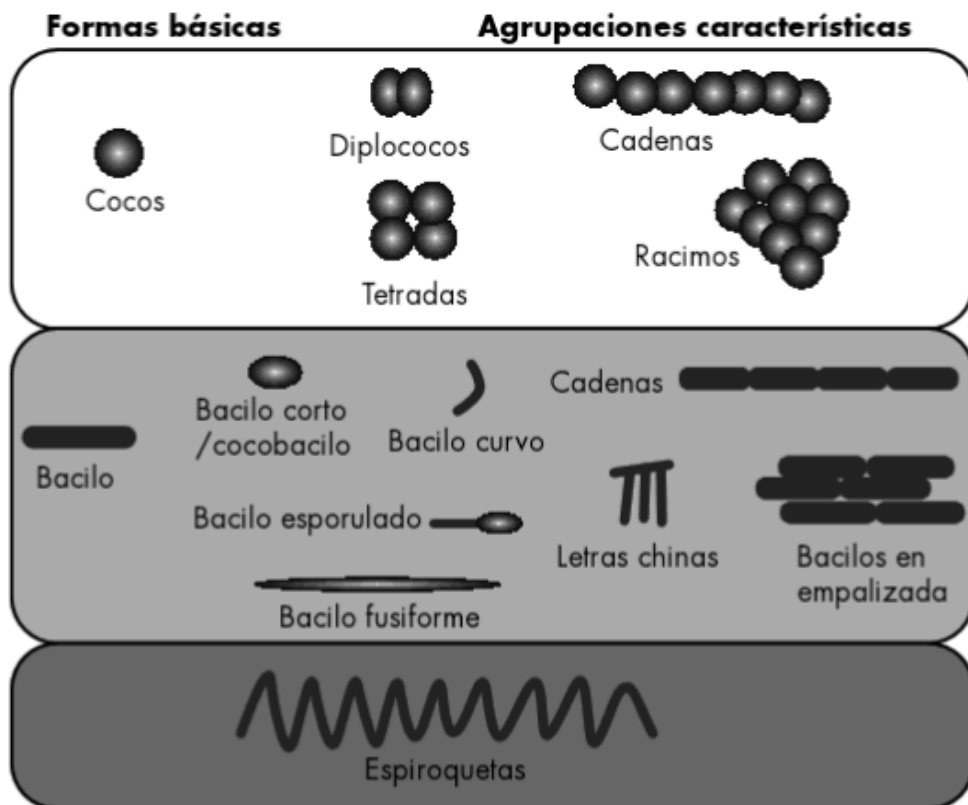


Figura 7. Formas y agrupaciones de las bacterias (Modificado de Castro, A., 2014).

## 2.5.2. Taxonomía

La clasificación inicial de las bacterias se basó en su morfología y pruebas bioquímicas. Esta forma ha sido complementada con el análisis de las secuencias de DNA O rRNA.

### 2.5.2.1. Sistemas de clasificación fenotípica.

Utilización de técnicas tradicionales en microbiología que incluyen:

1) Análisis de la morfología y tinción de Gram. Esta técnica de identificación se ha mantenido a lo largo del tiempo, fue descrita desde 1884 por Hans Christian Gram, permite una rápida clasificación de la mayoría de las bacterias en dos grandes grupos: grampositivas y gramnegativas, de acuerdo a la afinidad que tengan a los colorantes utilizados, cuyo resultado está relacionado con la estructura de la pared celular bacteriana que las distingue (Castro, A., 2014).

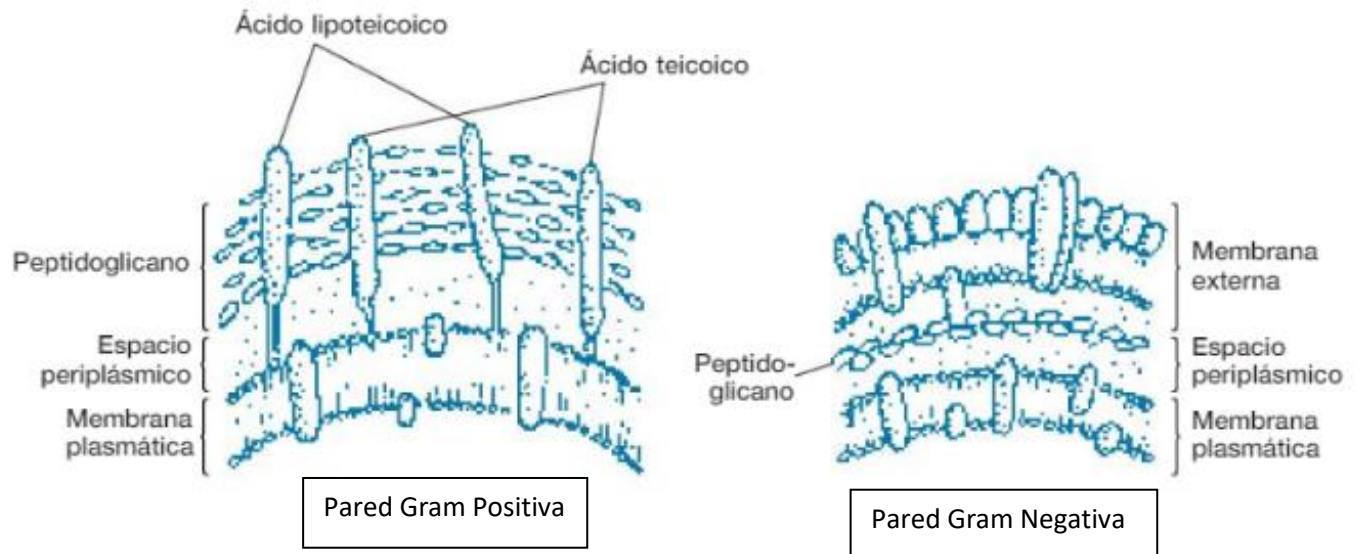


Figura 8. Pared bacteriana de acuerdo a la tinción de Gram. (Modificado de Romero, R., 2007)

2) Requerimientos atmosféricos para su crecimiento. Se refiere a las condiciones atmosféricas (requerimiento de oxígeno) en las cuales una bacteria puede crecer. De esta manera se tienen bacterias aerobias (atmósfera normal), anaerobias (ausencia de oxígeno) y microaerófilas (baja concentración de oxígeno e incremento de CO<sub>2</sub>) (Castro, A., 2014).

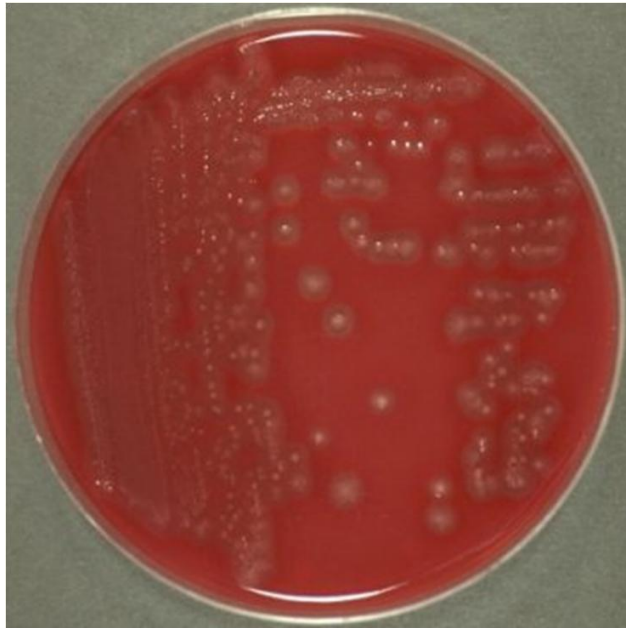


Figura 9. Crecimiento de *Clostridium sp.* Cultivo en Agar sangre en anaerobiosis. Se observan grandes colonias en expansión el primer día de cultivo. (Fundación io, S/A)

3) Reacción bioquímica. Tiene su fundamento en la evaluación de las capacidades metabólicas demostradas por la utilización o rompimiento de diversos sustratos como carbohidratos, lípidos y proteínas, entre otros (Castro, A., 2014).





Figura 10. Tarjetas VITEK® 2 AST. Utilizada para ensayo de susceptibilidad de antimicrobianos e identificación bacteriana. (Biomérieux, S/A)

4) Reacciones serológicas. Se realizan utilizando anticuerpos específicos que reconocen estructuras superficiales en las bacterias (en especial proteínas y carbohidratos) que ayudan a identificar a nivel clínico antígenos superficiales que identifican alguna especie en particular o bien determinan serogrupos y serotipos entre una especie determinada (Castro, A., 2014).

#### 2.5.2.2. Sistemas de clasificación genotípica.

Utilización de técnicas muy diversas basadas en el análisis del material genético de la bacteria, entre ellas se incluyen:

1) Árbol filogenético universal. Comprende la clasificación de todos los seres vivos divididos en tres grupos *bacteria*, *archaea* y *eucarya*; con base en la comparación de las secuencias de nucleótidos de un gen altamente conservado entre los seres vivos como el gen que codifica para la subunidad 16S del RNA ribosómico (Castro, A., 2014).

2) Análisis de secuencia de RNA ribosómico. El diagnóstico clínico molecular se utiliza para la identificación de patógenos, establecimiento de terapias adecuadas y para la identificación de bacterias no cultivables (Castro, A., 2014).

3) Subtipificación molecular. Utilizada cuando se requiere establecer diferencias entre cepas de la misma especie; por ejemplo, en brotes intrahospitalarios donde es importante identificar la clona responsable de la infección. Esta identificación se puede realizar por patrones bioquímicos o por patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos (Castro, A., 2014).

### 2.5.3. Estructura bacteriana

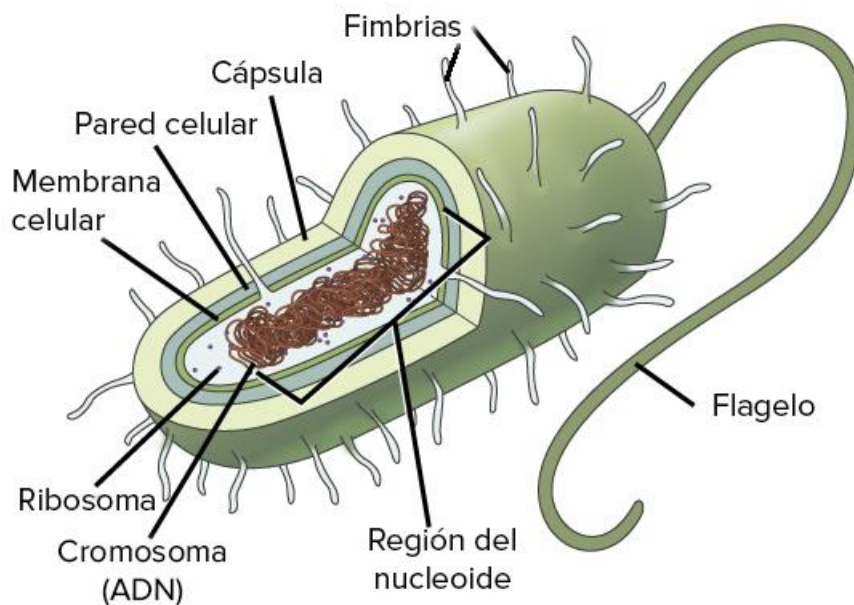


Figura 11. Esta figura muestra la estructura general de una célula procariota. (Biology, S/A)

Se muestra a continuación una lista con todos los componentes bacterianos. Cabe aclarar que no todos se encuentran en la misma bacteria (Castro, A., 2014).

Membrana citoplasmática. Estructura delgada compuesta de una bicapa de fosfolípidos con proteínas intercaladas, sirve de barrera selectiva para la entrada y salida a la bacteria de nutrientes y sustancias de desecho (Castro, A., 2014).

Citoplasma. Es una masa gelatinosa que contiene proteínas, aminoácidos, carbohidratos, nucleótidos, sales, vitaminas e iones disueltos. Contiene ribosomas, cuerpos de inclusión, el cromosoma bacteriano y plásmidos. Representa el lugar donde se desarrollan las reacciones bioquímicas involucradas en el crecimiento y metabolismo bacteriano (Castro, A., 2014).

Ribosomas. Responsables de la síntesis de proteínas y del aspecto granular de una bacteria observada al microscopio electrónico, compuestos por dos subunidades 50S y 30S que en conjunto tienen un coeficiente de sedimentación 70S (Castro, A., 2014).

Cuerpos de inclusión. Estructuras citoplasmáticas que se encuentran en algunas bacterias y consisten de gránulos de almacenamiento de nutrientes (carbón, nitrógeno, azufre y fósforo) (Castro, A., 2014).

Cromosoma bacteriano. Las bacterias no tienen un núcleo definido como las células eucariotas, por lo general el cromosoma bacteriano es una sola molécula circular de DNA de doble cadena que contiene toda la información genética de la bacteria. El nucleóide carece de membrana y representa un área en el citoplasma donde el DNA se agrega y no hay ribosomas (Castro, A., 2014).

Plásmidos. son elementos extracromosomales compuestos de DNA de doble cadena circular, tienen replicación autónoma (o sea independiente del cromosoma bacteriano). Son más pequeños que éste y no son esenciales para el crecimiento de la bacteria. Su importancia en la patogénesis bacteriana radica en que pueden transferirse en procesos de recombinación a otras bacterias y muchos de ellos contienen genes que codifican para resistencia a antibióticos (Castro, A., 2014).

*Pilis* o fimbrias. Son estructuras externas muy delgadas y numerosas en forma de “pelo” que se encuentran en la superficie de varias bacterias en especial gramnegativas. Los *pilis* representan un polímero de la proteína denominada pilina, son más cortos y rígidos que los flagelos. Los *pilis* o fimbrias pueden ser cortos y abundantes e intervenir en los procesos de adherencia a las células epiteliales ayudando a la colonización. Otro tipo de

*pilis* más largos y escasos intervienen en la transferencia de material genético durante el proceso de conjugación bacteriana (*pilis* sexuales), además estas estructuras pueden servir de receptores para varios bacteriófagos (Castro, A., 2014).

Flagelos. Son los organelos encargados de la locomoción de las bacterias en los diferentes ambientes, en especial los acuosos. Considerada como una nanomáquina, la bacteria utiliza para su construcción cerca de 40 genes y está compuesta por tres partes: filamento, gancho y cuerpo basal (Castro, A., 2014).

Cápsula. Algunas bacterias forman una capa más externa que las recubre. Dicha capa está formada por polisacáridos o polisacáridos con polipéptidos empaquetados, dando una apariencia rígida, cuando esta estructura no está empaquetada y no muestra una organización se le denomina glucocaliz o slime. Cada una de ellas participa en la patogénesis bacteriana de diferente forma. La cápsula está adherida a la pared celular, es gruesa llegando a tener un espesor de 10  $\mu$  m. Representa un factor de virulencia para las bacterias, ya que evaden la fagocitosis y la respuesta inmune (Castro, A., 2014).

Endosporas. Representan la forma en la que algunas bacterias sobreviven a condiciones desfavorables en el medio, constituyen una fuente de contaminación y transmisión (Castro, A., 2014).

Pared celular. Representa una de las estructuras más características de la bacteria, ya que le da forma y rigidez, protegiéndola de la lisis osmótica. Se localiza después de la membrana celular, está formada por el peptidoglucano, también denominado mureína. Su estructura básica está representada por la unión alternada de .N- acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM) unida mediante enlaces  $\beta$  1-4 formando una cadena. El ácido murámico posee un péptido formado con varios aminoácidos como L-alanina, D-alanina, ácido D-glutámico y L-lisina o ácido diaminopimélico (Castro, A., 2014).

Cada cadena de N- acetilglucosamina y ácido N- acetilmurámico se une en capas mediante los aminoácidos entre los NAM de cada cadena. Estas uniones de transpepidación y transcarboxilación son fundamentales para dar estructura y rigidez a la pared, la llevan a

cabo enzimas localizadas en la membrana bacteriana las cuales representan el blanco de los antibióticos  $\beta$  - lactámicos como las penicilinas y cefalosporinas. La unión de los péptidos del NAM se da en el caso de las bacterias gramnegativas entre la D. alanina y el ácido diaminopimérico mientras que en las grampositivas la unión entre la D- alanina y la L- lisina es a través de un puente de cinco clicinas (pentaglicina) (Castro, A., 2014).

Pared celular en las bacterias Gram Positivas . Las bacterias denominadas grampositivas (por la afinidad a la tinción de Gram) cuentan con una pared celular grande (~ 25 nm) intercalada en el peptidoglicano, se pueden encontrar componentes únicos de bacterias grampositivas como son ácido teicoico (polímeros de glicerol o ribitol unidos a grupos fosfato) y ácido lipoteicoico (ácido teicoico unido a lípidos desde la membrana celular). Estas estructuras de carga negativa le confieren parte de la carga negativa superficial de la bacteria, además estimulan la respuesta inmune y sirven de adhesinas para algunas bacterias (Castro, A., 2014).

Pared celular en las bacterias Gram negativas. En contraste, la pared celular de las Gram negativas es muy pequeña ( ~ 3 nm) esta capa delgada de peptidoglicana permite la presencia de un espacio periplásmico importante, ya que hacia el exterior, las bacterias Gram negativas cuentan con una distintiva membrana externa (Castro, A., 2014).

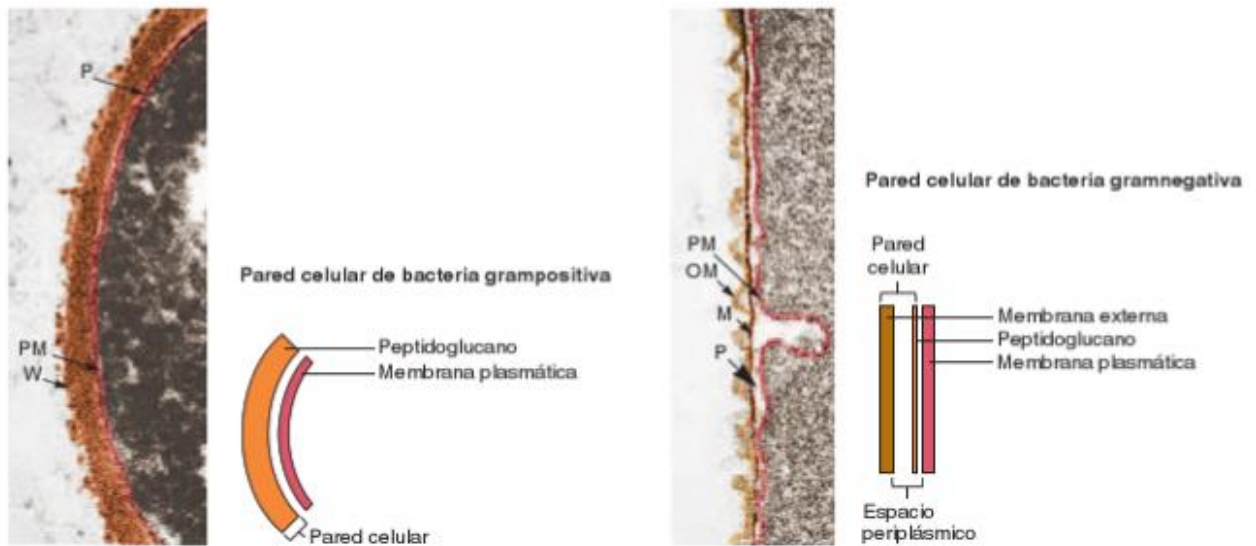


Figura 12. Diferencia estructural entre la pared de las Gram positivas y las Gram negativas. Pared celular de bacterias grampositivas y gramnegativas. La envoltura de la bacteria grampositiva corresponde a *Bacillus licheniformis* ( izquierda ) y la micrografía de la bacteria gramnegativa corresponde a *Aquaspirillum serpens* ( derecha ). PM, membrana plasmática; M: peptidoglucano o capa de mureína; OM, membrana externa; P, espacio periplásmico; W, pared de peptidoglucano de la bacteria grampositiva. (Modificado de Brooks, G., Carroll, K. y Bute, J., 2014)

Pared celular en las bacterias ácido-alcohol resistente. Todas las bacterias de interés médico pueden diferenciarse mediante la tinción de Gram basadas en las diferencias de la pared celular de estos grupos de bacterias; sin embargo, existe un grupo de bacterias cuyos componentes de la pared celular son únicos y no permiten su coloración con las tinciones tradicionales. El género *Mycobacterium* es el más representativo por su interés clínico. En la compleja pared de *Mycobacterium* se encuentran: arabinogalactanos unidos a la peptidoglucana; lipoarabinomananos anclados desde la membrana celular; ácidos micólicos en una capa encima de la peptidoglucana y por último, una capa final ( ~ 10 nm) rica en lípidos (ácidos grasos largos y ramificados) y altamente hidrofóbica con glucolípidos como el dimicolato de trealosa (factor cuerda). Esta última capa de lípidos favorece una impermeabilidad a los colorantes hidrofílicos y la mayoría de los antimicrobianos tradicionales. Por lo que para observar este tipo de bacterias se realiza

una tinción especial denominada ácido alcohol resistente (de Ziehl- Neelsen) (Castro, A., 2014).

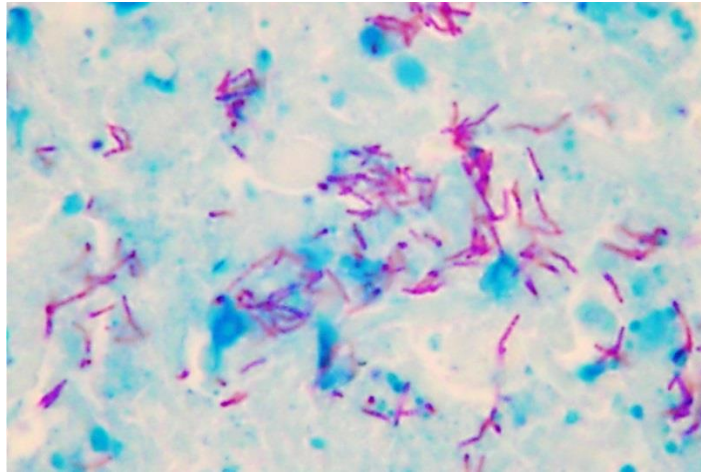


Figura 13. Tinción de Ziehl Neelsen. Las bacterias que resisten la decoloración son de color rojo, sobre un color azul (que lo provee el colorante de contraste Azul de metileno). (Prácticas de microbiología, 2016)

Membrana externa de las bacterias Gram negativas. La capa exterior de las bacterias Gram negativas (  $\sim 7.5$  nm) está compuesta por una bicapa de lípidos unida al peptidoglicano por la lipoproteína de Braun. Hacia la capa interna está formada por fosfolípidos (similar a la membrana celular) y hacia el exterior por el lípido A del lipopolisacárido (LPS). Intercaladas en la membrana externa se encuentran las proteínas hidrofóbicas denominadas “proteínas de membrana externa” (OMP), si las proteínas forman canales y permiten el paso de sustancias y moléculas hidrofílicas de bajo peso molecular hacia el interior y exterior de la bacteria se denominan “porinas”. Entre la membrana externa y la celular existe una región denominada espacio periplásmico, en él, se encuentran: enzimas digestivas, proteínas de transporte de sustratos (fijadoras), quimiorreceptores y además pueden acumular enzimas involucradas en la resistencia a antibióticos como aminoglucósidos y  $\beta$  –lactámicos (Castro, A., 2014).

Lipopolisacárido (LPS). El lipopolisacárido, conocido también como endotoxina bacteriana, es un componente único en las bacterias gramnegativas y forma parte de la membrana

externa. Está formado de tres partes: 1) lípido A, consta de glucolípidos, unidos a ácidos grasos y grupos fosfato, esta molécula se conserva entre la mayoría de los gramnegativos y es la estructura que tiene la actividad tóxica, ocasiona fiebre y choque cuando se libera a la circulación sanguínea o tubo digestivo durante una infección; 2) núcleo o core, contiene oligosacáridos unidos al lípido A como la heptosa y el ácido 3 deoxi-D-manucosónico (conocido como KDO “keto-deoxyoctulosonato”) es inmunógeno y común para algunos géneros de bacterias; 3) polisacárico (cadena “O”), también conocido como antígeno somáticos “O”, lo compone una cadena larga de carbohidratos en repetición, de 4 a 7 azúcares por unidad y entre 50 a 100 unidades (Castro, A., 2014).

Lipooligosacaridos (LOS). Representa una variante del LPS y a diferencia de éste, el LOS no tiene cadenas “O” en repetición y posee cadenas variables de oligosacáridos, estas ramificaciones son designadas cadenas alfa, beta o gamma (Castro, A., 2014).

#### 2.5.4. Reproducción bacteriana

Las bacterias se reproducen de manera asexual por fisión binaria. La célula original se divide en dos células hijas, en el proceso la bacteria se alarga al doble, el cromosoma se replica de manera semiconservativa y se genera una invaginación de la membrana y pared celular que origina una división en la mitad de la célula formando un tabique y así lograr la separación de las células. Al intervalo que transcurre desde una fisión binaria a otra se denomina “tiempo de generación” (Castro, A., 2014).

Curva de crecimiento bacteriano. Consta de cuatro fases; 1) inicial o latencia; 2) exponencial o logarítmica; 3) estacionaria y 4) declive o muerte



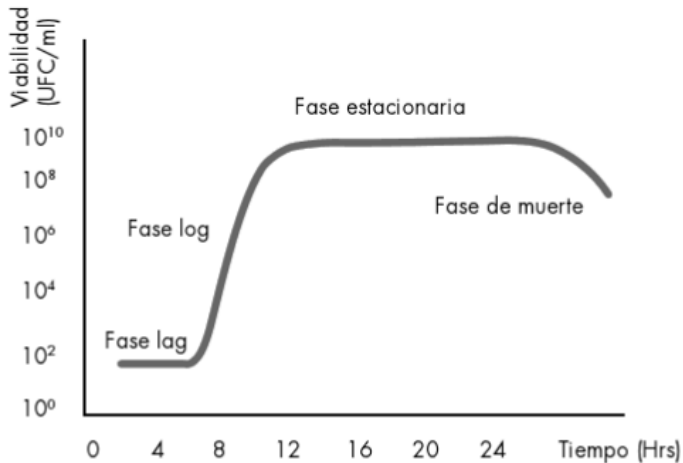


Figura 14. Curva de crecimiento bacteriano en relación tiempo/ UFC viables (Modificado de Castro, A., 2014).

## 2.5.5. Genética bacteriana

El genoma bacteriano es la colección total de genes que posee la bacteria, tanto a nivel cromosomal como en elementos genéticos extracromosomales. El cromosoma de una bacteria típica, por ejemplo, *Escherichia coli* es una sola molécula de DNA de doble cadena circular que contiene alrededor de cinco millones de pares de bases (5 000 kilobases) y una longitud de 1.3 mm (cerca de 1 000 veces el diámetro de la célula). Comparando el material genético que tiene el hombre, el cual contiene 46 cromosomas (44 son autosomas y dos cromosomas sexuales) (Castro, A., 2014).

### 2.5.5.1. Expresión genética

En las células procariotas la información genética se expresa por la síntesis de RNA (RNAs) y proteínas específicas, donde se transcribe y traduce directamente la información, es decir mientras se está formando el mRNA, éste es captado por el ribosoma para ser traducido (Castro, A., 2014).

### 2.5.5.2. Transferencia horizontal de genes (HGT)

La adquisición de material de ADN extraño a través de HGT es uno de los impulsores más importantes de la evolución bacteriana y, con frecuencia, es responsable del desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos. La mayoría de los agentes antimicrobianos utilizados en la práctica clínica son (o se derivan de) productos que se encuentran naturalmente en el medio ambiente (principalmente suelo). Las bacterias que comparten el ambiente con estas moléculas albergan determinantes genéticos intrínsecos de la resistencia y existe evidencia sólida que sugiere que dicha "resistome ambiental" es una fuente prolífica para la adquisición de genes de resistencia a antibióticos en bacterias clínicamente relevantes. Además, este intercambio genético ha sido implicado en la diseminación de la resistencia a muchos antibióticos de uso frecuente (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Clásicamente, las bacterias adquieren material genético externo a través de tres estrategias principales:

- transformación (incorporación de ADN desnudo),
- transducción (mediado por bacteriófagos) y,
- conjugación ("sexo" bacteriano a través de *pilis*).

La transformación es quizás el tipo más simple de HGT, pero solo un puñado de especies bacterianas clínicamente relevantes son capaces de incorporar "naturalmente" ADN desnudo para desarrollar resistencia. La aparición de resistencia en el entorno hospitalario a menudo implica la conjugación, un método muy eficaz de transferencia génica que implica el contacto célula a célula y es probable que se produzca a altas tasas en el tracto gastrointestinal de los seres humanos bajo tratamiento con antibióticos. Como regla general, la conjugación utiliza elementos genéticos móviles (MGE) como vehículos para compartir información genética valiosa, aunque la transferencia directa del cromosoma al cromosoma también se ha caracterizado bien. Los MGE más importantes son los plásmidos y los transposones, que desempeñan un papel crucial en el desarrollo y la diseminación de la resistencia a

los antimicrobianos entre los organismos clínicamente relevantes (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Finalmente, uno de los mecanismos más eficientes para acumular genes de resistencia a los antimicrobianos está representado por los integrones, que son sistemas de recombinación específicos del sitio, capaces de reclutar marcos abiertos de lectura en forma de casetes de genes móviles. Los integrones proporcionan un mecanismo eficiente y bastante simple para la adición de nuevos genes en los cromosomas bacterianos, junto con la maquinaria necesaria para garantizar su expresión; una estrategia robusta de intercambio genético y uno de los principales impulsores de la evolución bacteriana (Munita, J., & Arias, C., 2016).

### 2.5.5.3. Recombinación genética en procariontas

La interacción genética entre organismos capacita su genoma para evolucionar mucho más rápido que por sólo mutaciones. La recombinación genética es el proceso que da lugar a un nuevo cromosoma recombinante con un genotipo diferente, este proceso de intercambio involucra la transferencia de información genética de una célula donadora a una receptora, dando como resultado la sustitución de alelos receptores por alelos donadores o bien, la adición de elementos genéticos del donador al genoma receptor. Muchas bacterias, en especial las patógenas, pueden intercambiar información genética que puede expresarse con un cambio en el fenotipo de la célula (Castro, A., 2014).

La **transformación** es el proceso por el cual fragmentos de DNA liberados por una bacteria donadora, son captados por una bacteria receptora. La recombinación se da entre moléculas de DNA transformante y el cromosoma de la célula receptora. Para que se dé una transformación activa, los fragmentos de DNA deben ser por lo menos de 500 nucleótidos (Castro, A., 2014).

En la **transducción**, la transferencia de material genético va estar dada por el bacteriofago del donador a la célula receptora, estos funcionan como vectores (Castro, A., 2014).

La **conjugación** se caracteriza por un contacto estrecho entre la bacteria donadora y la receptora, similar a un apareamiento, de esta manera se establece un puente citoplasmático entre ellas para la transferencia de una parte o todo el genoma donador a la célula receptora. La capacidad de donación está determinada por plásmidos conjugativos llamados plásmidos fértiles en las bacterias gramnegativas (Castro, A., 2014).

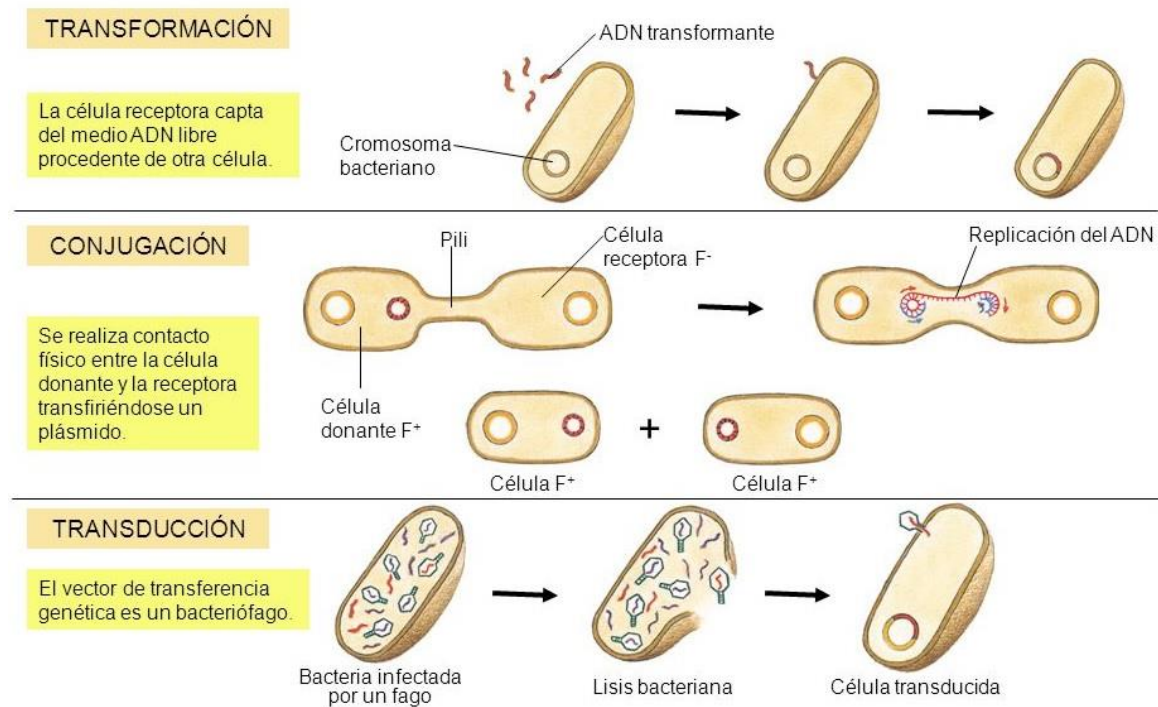


Figura 15. Mecanismos de recombinación en bacterias (Modificado de Sánchez, D., 2015)

## 2.6. Mecanismos de resistencia bacteriana

La resistencia antimicrobiana es la capacidad de un microorganismo de resistir los efectos de un antibiótico y, una vez que se genera esta resistencia, la información genética de las bacterias pueden transmitirse a los nuevos genes a través de transferencia horizontal (entre individuos) por intercambio de plásmidos. Hay que recordar que las bacterias pueden ser resistentes intrínsecamente a uno o más agentes antimicrobianos, cuya resistencia pueden adquirirla entre otras por, mutaciones de novo o por adaptaciones

metabólicas al fármaco; por lo tanto, la resistencia antimicrobiana es considerada un problema de salud pública trascendente (Galván, M., 2017).

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema de salud mundial que se encuentra en constante evolución. De manera frecuente se reportan nuevos mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos, tanto en bacterias Gram negativas como en bacterias Gram positivas (Rodríguez, E., et al., 2014).

En la actualidad, muchos microorganismos han adquirido resistencia a diferentes antimicrobianos y, en algunos casos, a casi todos. Las bacterias resistentes pueden causar mayor morbilidad y muerte, particularmente de pacientes con enfermedades subyacentes graves o con inmunodeficiencia. La resistencia a los antimicrobianos es un problema para la comunidad y para los establecimientos de atención de salud, pero en los hospitales, la transmisión de bacterias se intensifica por causa de la alta vulnerabilidad de la población. La resistencia y su propagación entre las bacterias es generalmente el resultado de la presión selectiva ejercida por antibióticos (OMS, 2002).

Las bacterias resistentes se transmiten de un paciente a otro y los factores de resistencia se trasladan de una bacteria a otra y ambas cosas ocurren con más frecuencia en los establecimientos de atención de salud. El uso continuo de antimicrobianos aumenta la presión de selección, que favorece el surgimiento, la multiplicación y la propagación de cepas resistentes. Son factores contribuyentes a ello:

- El uso inapropiado e incontrolado de antimicrobianos
- La receta excesiva
- La administración de dosis subóptimas
- La poca duración del tratamiento y el
- Diagnóstico equivocado conducente a la selección inapropiada de medicamentos.

En los establecimientos de atención de salud, la propagación de microorganismos resistentes se facilita cuando no se observan prácticas óptimas de lavado de las manos, precauciones mediante colocación de barreras y limpieza del equipo.

Al surgimiento de resistencia también contribuye la administración de dosis insuficientes por la escasez de antibióticos, donde la falta de laboratorios de microbiología lleva a la receta empírica y donde la falta de otros agentes agrava el riesgo de fracaso terapéutico (OMS, 2002). La resistencia bacteriana es utilizada por algunos microorganismos como mecanismo de defensa; es un fenómeno que existía antes del descubrimiento de los antibióticos y de su uso, pero que con su introducción en el tratamiento de enfermedades infecciosas se ha intensificado debido al fenómeno denominado “presión selectiva” contra las bacterias, considerado como uno de los factores más importantes para la aparición y diseminación de la resistencia a los antibióticos (Rodríguez, E., et al., 2014).

### 2.6.1. Clases de resistencia

La resistencia bacteriana a los antibióticos que más preocupa a los médicos responsables del diagnóstico y tratamiento de una infección es la llamada resistencia adquirida, la cual ocurre en una bacteria inicialmente sensible a los antibióticos por cambios, por mutaciones o por la adquisición de genes de resistencia durante el fenómeno conocido como transferencia genética lateral, que es un proceso por medio del cual un organismo transfiere material genético a otra célula que no es descendiente. La resistencia bacteriana adquirida a los antibióticos puede ser de distintos tipos, dependiendo de la presión selectiva, las mutaciones o la transferencia de genes de resistencia (Rodríguez, E., et al., 2014).

Las definiciones de resistencia se clasifican según el número y la clase de antibióticos afectados.

- La multidrogoresistencia (Multiple Drug Resistance, MDR) se define como la ausencia de sensibilidad a, por lo menos, un fármaco en tres o más de las categorías de antibióticos
- La resistencia extrema (Extensively Drug-Resistant, XDR) se refiere a la ausencia de sensibilidad a, por lo menos, un agente en todas las categorías de antimicrobianos excepto en dos de ellas o menos y

- La resistencia a todos los antimicrobianos se define como resistencia a todas las categorías de antibióticos (Rodríguez, E., et al., 2014).

## 2.6.2. Bases genéticas de la resistencia bacteriana

Las bacterias tienen una notable plasticidad genética que les permite responder a una amplia gama de amenazas ambientales, incluida la presencia de moléculas de antibióticos que pueden poner en peligro su existencia. Como se mencionó, las bacterias que comparten el mismo nicho ecológico con los organismos productores de antimicrobianos han desarrollado mecanismos para resistir el efecto de la molécula de antibiótico y, en consecuencia, su resistencia intrínseca les permite subsistir en su presencia. Desde una perspectiva evolutiva, las bacterias utilizan dos estrategias genéticas principales para adaptarse al "ataque" de antibióticos,

- mutaciones en genes generalmente asociados con el mecanismo de acción del compuesto, y
- adquisición de ADN extraño que codifica determinantes de resistencia a través de transferencia horizontal de genes (HGT) (Munita, J., & Arias, C., 2016).

## 2.6.3. Bases mecánicas de la resistencia bacteriana

No es de extrañar que las bacterias hayan desarrollado sofisticados mecanismos de resistencia a los medicamentos para evitar la muerte por parte de las moléculas antimicrobianas, un proceso que probablemente se haya producido a lo largo de millones de años de evolución. Cabe destacar que la resistencia a una clase de antimicrobianos generalmente se puede lograr a través de múltiples vías bioquímicas, y una célula bacteriana puede ser capaz de utilizar un cuadro de mecanismos de resistencia para sobrevivir al efecto de un antibiótico (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Las especies bacterianas parecen haber desarrollado una preferencia por algunos mecanismos de resistencia sobre otros. Por ejemplo, el mecanismo predominante de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos en bacterias Gram negativas es la producción de  $\beta$ -

lactamasas, mientras que la resistencia a estos compuestos en organismos Gram-positivos se logra principalmente mediante modificaciones de su sitio diana, las proteínas fijadoras de penicilina (PBP). Se ha argumentado que este fenómeno probablemente se deba a diferencias importantes en la envoltura celular entre Gram-negativos y Gram-positivos. En el primero, la presencia de una membrana externa permite "controlar" la entrada de moléculas al espacio periplásmico. De hecho, la mayoría de los  $\beta$ -lactámicos requieren porinas específicas para llegar a los PBP, que se encuentran en la membrana interna. Por lo tanto, la célula bacteriana controla el acceso de estas moléculas al espacio periplásmico permitiendo la producción de  $\beta$ -lactamasas en concentraciones suficientes para inclinar la cinética a favor de la destrucción de la molécula de antibiótico. Por el contrario, esta ventaja de "compartimentación" está ausente en organismos Gram-positivos, aunque la producción de  $\beta$ -lactamasas también parece ser exitosa en ciertos escenarios (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Las bacterias son resistentes a los antibióticos debido a la expresión de diferentes mecanismos de resistencia. Según sean el grupo del antibiótico y la especie bacteriana, estos mecanismos se pueden agrupar en cuatro:

- a) modificación química o hidrólisis del antibiótico mediante la adenilación, acetilación, fosforilación o hidrólisis (esta última por  $\beta$ -lactamasas);
- b) modificación del sitio blanco de la bacteria debido a mutaciones espontáneas ocurridas en los genes que codifican al blanco de acción del antibiótico, como la ARN polimerasa, el ARN ribosomal 16S, las PBP y la ADN girasa;
- c) modificación de la permeabilidad de la membrana bacteriana debido a la sustitución de las proteínas de membrana externa (porinas) al modificar su calibre o polaridad interna; y
- d) expulsión del antibiótico debido a la sobreproducción de bombas de eflujo que impide el acceso del antibiótico al sitio blanco en la bacteria (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009).

A continuación se detallan más cada uno de los mecanismos



## 2.6.4. Modificación de la molécula de antibiótico

Una de las estrategias bacterianas más exitosas para hacer frente a la presencia de antibióticos es producir enzimas que inactivan el fármaco mediante la adición de moléculas químicas específicas al compuesto o que destruyen la molécula misma, lo que hace que el antibiótico no pueda interactuar con su objetivo (Munita, J., & Arias, C., 2016).

### 2.6.4.1. Alteración química del antibiótico

La producción de enzimas capaces de introducir cambios químicos a la molécula antimicrobiana es un mecanismo bien conocido de resistencia antibiótica adquirida en bacterias gram-negativas y gram-positivas. Curiosamente, la mayoría de los antibióticos afectados por estas modificaciones enzimáticas ejercen su mecanismo de acción mediante la inhibición de la síntesis de proteínas a nivel del ribosoma. Se han descrito muchos tipos de enzimas modificadoras, y las reacciones bioquímicas más frecuentes que catalizan incluyen i) acetilación (aminoglucósidos, cloranfenicol, estreptograminas), ii) fosforilación (aminoglucósidos, cloranfenicol) y iii) adenilación (aminoglucósidos, lincosamidas). Independientemente de la reacción bioquímica, el efecto resultante a menudo se relaciona con el impedimento estérico que disminuye la afección del fármaco por su objetivo, que, a su vez, se refleja en CMI bacterianas más altas (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Uno de los mejores ejemplos de resistencia a través de la modificación del fármaco es la presencia de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME) que modifican covalentemente los grupos hidroxilo o amino de la molécula de aminoglucósido. Múltiples AME se han descrito hasta la fecha y se han convertido en el mecanismo predominante de resistencia a los aminoglucósidos en todo el mundo. Estas enzimas generalmente se albergan en MGE, pero los genes que codifican AME también se han encontrado como parte del cromosoma en ciertas especies bacterianas, como se observó con algunas aminoglucósido acetiltransferasas en *Providencia stuartii*, *E. faecium* y *S. marcescens*. La nomenclatura para clasificar los múltiples AME considera su actividad bioquímica

(acetiltransferasa [ACC], adeniltransferasa [ANT] o fosfotransferasa [APH]), el sitio de la modificación, que se representa con un número del 1 al 6 correspondiente al carbono particular en el anillo de azúcar y un apóstrofo simple o doble para simbolizar que la reacción se produce en el primer o en el segundo resto de azúcar, respectivamente. Además, cada vez que hay más de una enzima que cataliza exactamente la misma reacción, se usa un número romano para diferenciarlas (Munita, J., & Arias, C., 2016).

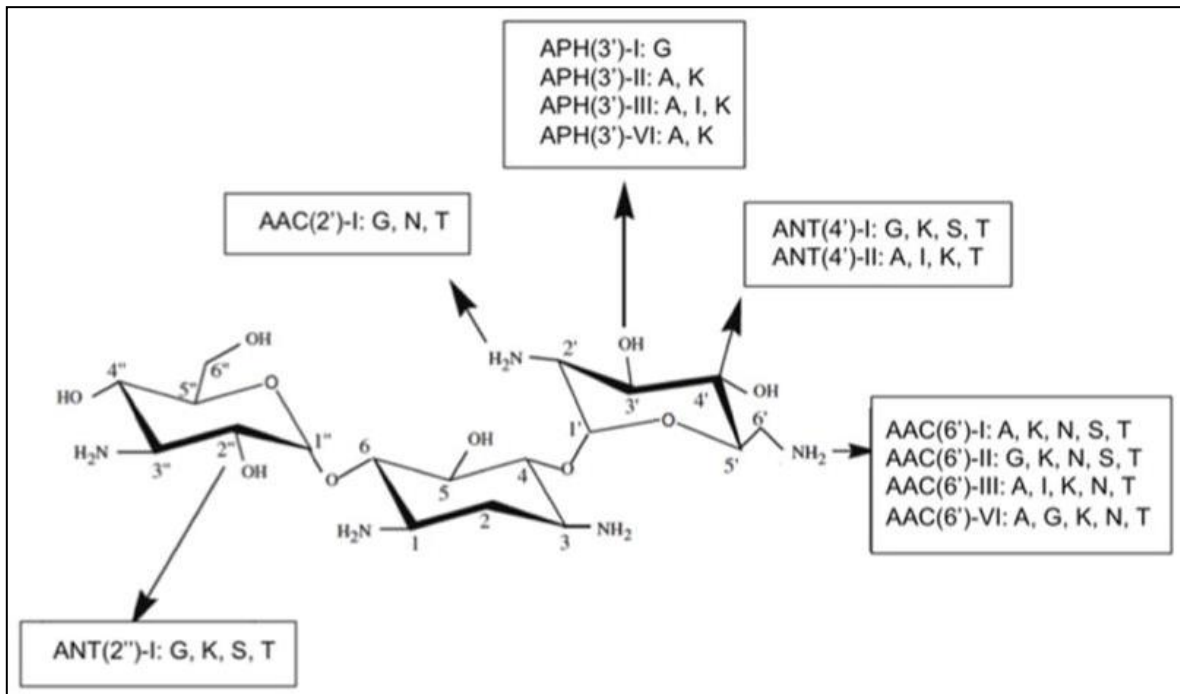


Figura 16. Representación de diferentes tipos de enzimas modificadoras de aminoglucósidos y su nomenclatura. Cada grupo de enzimas se identifica por su actividad bioquímica de la siguiente manera: acetiltransferasa (AAC), adeniltransferasa (ANT) y fosfotransferasa (APH). Luego, en el nombre de la enzima, un número algebraico entre paréntesis indica el número de carbono que se inactiva. El anillo del azúcar en el que tiene lugar la reacción está simbolizado por uno (primer resto de azúcar) o dos apóstrofes (segundo resto de azúcar). Los números romanos se usan para diferenciar distintas isoenzimas que actúan en el mismo sitio. No todas las enzimas existentes se muestran. A, amikacina; G, gentamicina; Yo, isepamicina; K, kanamicina; N, netilmicina; S, sisomicina; T, tobramicina. (Modificado de Munita, J., & Arias, C., 2016).

## 2.6.4.2. Destrucción de la molécula del antibiótico

El mecanismo principal de la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos se basa en la destrucción de estos compuestos por la acción de las  $\beta$ -lactamasas. Estas enzimas destruyen el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico, lo que hace que el antimicrobiano sea ineficaz (Munita, J., & Arias, C., 2016).

### 2.6.4.2.1. $\beta$ -Lactamasas

Las  $\beta$ -lactamasas se describieron por primera vez a principios de la década de 1940, un año antes de que se introdujera la penicilina en el mercado, sin embargo, hay evidencia de su existencia durante millones de años. Las infecciones causadas por *S. aureus* resistente a penicilina se volvieron clínicamente relevantes después de que la penicilina se hizo ampliamente disponible y se descubrió que el mecanismo de resistencia era una penicilinasas codificada por plásmido que se transmitía fácilmente entre cepas de *S. aureus*, lo que producía una diseminación rápida del rasgo de resistencia. Para superar este problema, se fabricaron nuevos compuestos de  $\beta$ -lactámicos con un espectro de actividad más amplio y una menor susceptibilidad a las penicilinasas (como la ampicilina). Sin embargo, durante la década de 1960 se encontró una nueva  $\beta$ -lactamasa codificada por plásmido capaz de hidrolizar la ampicilina entre gramnegativos (denominada TEM-1). A partir de entonces, el desarrollo de nuevas generaciones de  $\beta$ -lactámicos ha seguido sistemáticamente la rápida aparición de enzimas capaces de destruir cualquier nuevo compuesto que llegue al mercado, en un proceso que es un excelente ejemplo de evolución bacteriana adaptativa impulsada por antibióticos (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Los genes que codifican las  $\beta$ -lactamasas se denominan generalmente *bla*, seguido del nombre de la enzima específica (por ejemplo, *blaKPC*) y se han encontrado en el cromosoma o se han localizado en MGE como parte del genoma accesorio. Estos genes también se pueden encontrar formando parte de los integrones, una situación que facilita su diseminación. En términos de su expresión, la transcripción de estos genes puede ser

constitutiva o puede requerir una señal externa para inducir su producción (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Hasta la fecha, se han descrito más de 1,000 lactamasas diferentes y es probable que se sigan informando muchas más, como parte del proceso normal de evolución bacteriana. Se han propuesto dos esquemas principales de clasificación en un intento de agrupar esta gran cantidad de enzimas (Munita, J., & Arias, C., 2016).

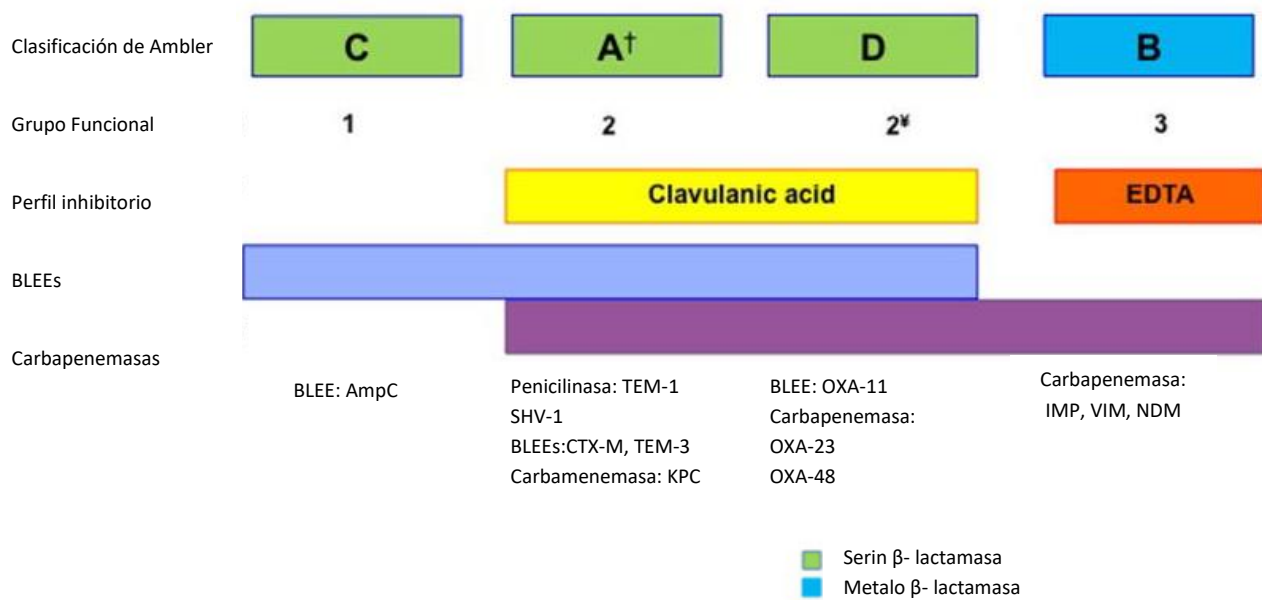
La clasificación de Ambler se basa en sus propiedades bioquímicas, estructura molecular y secuencia de aminoácidos, que se agrupan en cuatro clases, A, B, C y D (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009). Por otro lado, la clasificación de Bush-Jacoby divide  $\beta$ -lactamasas en 4 categorías (cada una con varios subgrupos) de acuerdo con su función bioquímica, basada principalmente en la especificidad del sustrato (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Dentro de la clase A existen dos familias principales de  $\beta$ -lactamasas denominadas TEM-1 (contracción de Temoniera, el nombre de un paciente de cuya bacteria resistente se aisló) y SHV-1 (sulphydryl variable, una descripción de propiedades bioquímicas de esta  $\beta$ -lactamasa) (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Estas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar sólo a penicilinas; empero, en virtud del uso de las cefalosporinas, se han seleccionado bacterias que contienen  $\beta$ -lactamasas mutadas en uno a tres residuos cercanos al sitio activo de la enzima con la capacidad de reconocer e hidrolizar a estos nuevos sustratos. Dichas enzimas se denominan  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009).

Por su parte, las  $\beta$ -lactamasas de la clase B poseen la propiedad de que, además de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas, hidrolizan también al grupo de los carbapenémicos. Estas enzimas requieren zinc para realizar la inactivación del antibiótico, por lo que se conocen como metalo- $\beta$ -lactamasas (M $\beta$ L). En esencia, existen cinco familias en este grupo de enzimas: VIM, IMP, GIM, SPM y SIM. Las dos primeras son las descritas de forma más amplia en el mundo e incluyen varios alelos, VIM-1 a VIM-22 e IMP-1 a IMP-24. Las otras tres familias, SPM-1 (Brasil), GIM-1 (Alemania) y SIM-1 (Australia), se han

reportado exclusivamente en su país de origen en aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. De modo adicional, las familias VIM e IMP se han informado también en enterobacterias como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009)



La clasificación molecular de las β-lactamasas sigue la clasificación de Ambler. También se muestra la correlación con el grupo funcional principal de la clasificación de Bush y Jacobi. Es de destacar que la última clasificación tiene varios subgrupos que no se muestran. Se proporcionan ejemplos representativos de cada grupo de enzimas.

† Las enzimas de clase A son las más diversas e incluyen penicilinasas, BLEE y carbapenemasas.

‡ Ambler clase D enzimas pertenecen al grupo funcional / subgrupo 2d.

\* Las enzimas de clase A que pertenecen al subgrupo 2br son resistentes a la inhibición del ácido clavulánico.

EDTA, ácido etilendiamínotetraacético;

BLEE, β-lactamasas de espectro extendido

Figura 17. Representación esquemática de β- lactamasas ( Modificado de Munita, J., & Arias, C., 2016)

Es importante tener en cuenta que ambas clasificaciones mencionadas anteriormente tienen advertencias y no se superponen por completo.

Otro grupo clínicamente relevante de enzimas son las carbapenemasas (un grupo diverso de β-lactamasas con la capacidad de hidrolizar carbapenems), los β-lactámicos más potentes disponibles en la práctica clínica. Estas enzimas se pueden dividir en serin carbapenemasas (Ambler clase A o D) y metalocarbapenemasas (enzimas Ambler clase B) (Munita, J., & Arias, C., 2016).

## 2.6.5. Disminución de la penetración de antibióticos y el eflujo

### Disminución de la permeabilidad

Muchos de los antibióticos utilizados en la práctica clínica tienen objetivos bacterianos intracelulares o, en el caso de bacterias gramnegativas, ubicados en la membrana citoplásmica (la membrana interna). Por lo tanto, el compuesto debe penetrar en la membrana externa y / o citoplásmica para ejercer su efecto antimicrobiano. Las bacterias han desarrollado mecanismos para evitar que el antibiótico alcance su objetivo intracelular o periplásmico al disminuir la absorción de la molécula antimicrobiana. Este mecanismo es particularmente importante en las bacterias gramnegativas (por la razón especificada anteriormente), lo que limita la afluencia de sustancias del medio externo. De hecho, la membrana externa actúa como la primera línea de defensa contra la penetración de múltiples compuestos tóxicos, incluidos varios agentes antimicrobianos. Las moléculas hidrofílicas tales como  $\beta$ -lactámicos, tetraciclinas y algunas fluoroquinolonas se ven especialmente afectadas por los cambios en la permeabilidad de la membrana externa ya que a menudo usan canales de difusión llenos de agua conocidos como porinas para atravesar esta barrera. El principal ejemplo de la eficacia de esta barrera natural es el hecho de que la vancomicina, un antibiótico glucopéptido, no es activo contra organismos gramnegativos debido a la falta de penetración a través de la membrana externa. Del mismo modo, la baja susceptibilidad innata de *Pseudomonas* y *Acinetobacter baumannii* a los  $\beta$ -lactámicos (en comparación con *Enterobacteriaceae*) puede explicarse, al menos en parte, a un número reducido y / o expresión diferencial de porinas (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Se han descrito varios tipos de porinas, y pueden clasificarse según su estructura (trimérica vs. monomérica), su selectividad y la regulación de su expresión. Entre las porinas mejor caracterizadas, las tres principales proteínas producidas por *E. coli* (conocidas como OmpF, OmpC y PhoE) y la *P. aeruginosa* OprD (también conocida como

proteína D2) son ejemplos clásicos de resistencia a antibióticos mediada por porinas. Las alteraciones de las porinas podrían lograrse mediante 3 procesos generales,

- un cambio en el tipo de porinas expresadas,
- un cambio en el nivel de expresión de porinas, y
- alteración de la función de porinas (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Es importante destacar que los cambios en la permeabilidad a través de cualquiera de estos mecanismos con frecuencia dan como resultado una resistencia de bajo nivel y a menudo se asocian con otros mecanismos de resistencia, como el aumento de la expresión de las bombas de eflujo (Munita, J., & Arias, C., 2016).

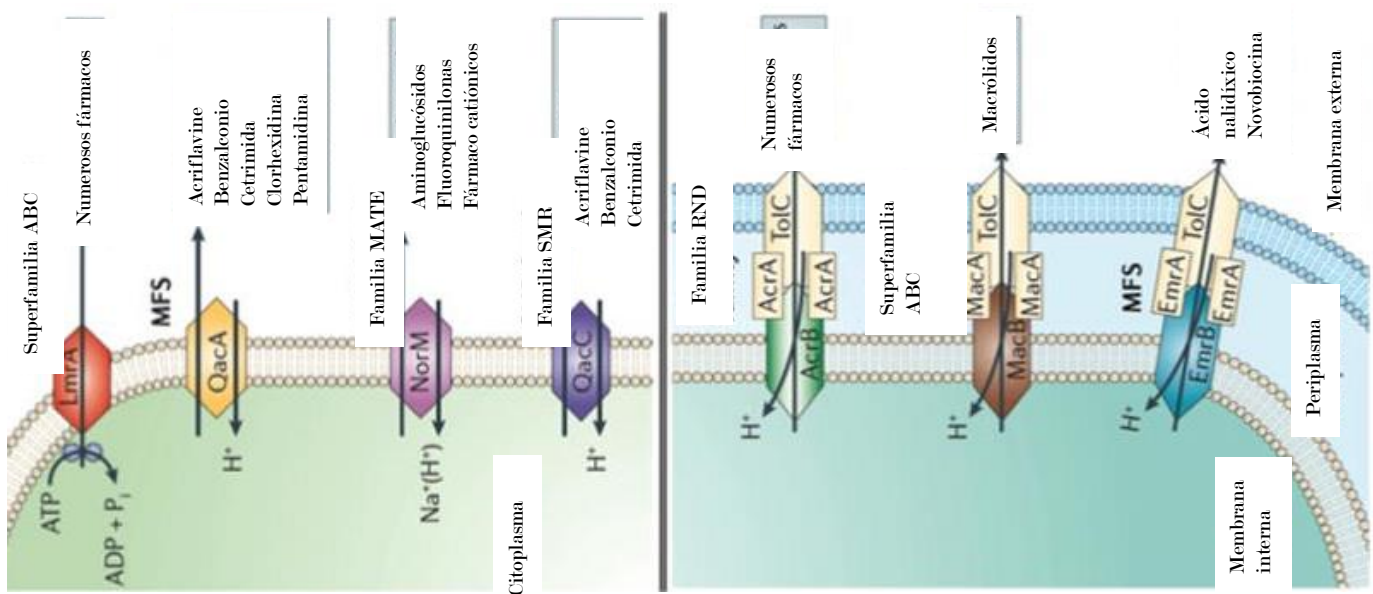
## Bombas de eflujo

La producción de maquinarias bacterianas complejas capaces de expulsar un compuesto tóxico fuera de la célula también puede dar lugar a resistencia antimicrobiana. La descripción de un sistema de eflujo capaz de bombear tetraciclina fuera del citoplasma de *E. coli* data de principios de los años ochenta y fue una de las primeras en describirse. Desde entonces, muchas clases de bombas de eflujo se han caracterizado en patógenos gram-negativos y gram-positivos. Estos sistemas pueden ser específicos del sustrato (para un antibiótico particular, como los determinantes de *tet* para genes de tetraciclina y *mef* para macrólidos en neumococos) o con una amplia especificidad de sustrato, que generalmente se encuentran en bacterias MDR. Este mecanismo de resistencia afecta a una amplia gama de clases de antimicrobianos, incluidos inhibidores de la síntesis proteica, fluoroquinolonas,  $\beta$ -lactámicos, carbapenémicos y polimixinas. Los genes que codifican las bombas de eflujo pueden localizarse en MGE (como se describió inicialmente para el gen *tet*) o en el cromosoma. De manera importante, las bombas codificadas cromosómicamente pueden explicar la resistencia inherente de algunas especies bacterianas a un antibiótico particular (por ejemplo, la resistencia intrínseca de *E. faecalis* a la estreptogramina A (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Hay 5 familias principales de bombas de eflujo, incluyendo:

- la superfamilia facilitadora principal (MFS),
- la pequeña familia de resistencia a múltiples fármacos (SMR),
- la familia de resistencia-nodulación-división celular (RND),
- la familia de casete de unión a ATP (ABC), y
- la familia de extrusión de compuestos múltiples y tóxicos (MATE).

Estas familias difieren en términos de conformación estructural, fuente de energía, rango de sustratos que pueden expulsar y en el tipo de organismos bacterianos en los que se distribuyen.



Se muestran las cinco principales familias de bombas de eflujo: superfamilia de casete de unión a ATP (ABC), la superfamilia facilitadora principal (MFS), la familia de extrusión de compuestos múltiples y tóxicos (MATE), la familia de resistencia a múltiples fármacos (SMR) y la resistencia familia de división de nodulación (RND).

Figura 18. Representación de diferentes bombas de eflujo en bacterias Gram positivas y Gram negativas (Modificada de Munita, J., & Arias, C., 2016).



## 2.6.6. Cambios en el sitio Diana

Una estrategia común para que las bacterias desarrollen resistencia a los antimicrobianos es evitar la acción del antibiótico al interferir con su sitio diana. Para lograr esto, las bacterias han desarrollado diferentes tácticas, que incluyen la protección del objetivo (evitando que el antibiótico llegue a su sitio de unión) y modificaciones del sitio diana que resultan en una disminución de la afinidad por la molécula de antibiótico (Munita, J., & Arias, C., 2016).

### 2.6.6.1. Protección del sitio Diana

Aunque algunos de los determinantes genéticos que codifican proteínas que median en la protección del objetivo se han encontrado en el cromosoma bacteriano, la mayoría de los genes clínicamente relevantes implicados en este mecanismo de resistencia son portados por MGE (Munita, J., & Arias, C., 2016).

### 2.6.6.2. Modificación del sitio Diana

La introducción de modificaciones en el sitio diana es uno de los mecanismos más comunes de resistencia a antibióticos en patógenos bacterianos que afectan a casi todas las familias de compuestos antimicrobianos. Estos cambios diana pueden consistir en

- mutaciones puntuales en los genes que codifican el sitio diana,
- alteraciones enzimáticas del sitio de unión (por ejemplo, adición de grupos metilo),
- reemplazo o derivación del objetivo original.

Como se mencionó, independientemente del tipo de cambio, el efecto final es siempre el mismo, una disminución en la afinidad del antibiótico por el sitio diana (Munita, J., & Arias, C., 2016).

#### 2.6.6.2.1. Mutación del sitio Diana

Uno de los ejemplos más clásicos de resistencia a mutaciones es el desarrollo de resistencia a la rifampicina (RIF). RIF es una rifamicina que bloquea la transcripción bacteriana mediante la inhibición de la ARN polimerasa dependiente de ADN, que es una enzima compleja con una estructura de subunidad  $\alpha 2\beta\beta'\sigma$ . Otro ejemplo bien caracterizado de resistencia a mutaciones implica el mecanismo de resistencia a fluoroquinolonas. Las fluoroquinolonas matan las bacterias al alterar la replicación del ADN a través de la inhibición de dos enzimas cruciales, la ADN girasa y la topoisomerasa IV (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Finalmente, otro buen ejemplo de resistencia a antibióticos que surge debido a cambios mutacionales es la resistencia a las oxazolidinonas (linezolid y tedizolid). Estos medicamentos son antibióticos bacteriostáticos sintéticos con amplia actividad grampositiva que ejercen su mecanismo a través de una interacción con el sitio A de ribosomas bacterianos. Tal interacción inhibe la síntesis de proteínas al interferir con el posicionamiento del aminoacil-ARNt. Linezolid es el antibiótico más utilizado de esta clase, ya que el tedizolid fue aprobado recientemente para uso clínico. Aunque la resistencia a linezolid sigue siendo un fenómeno poco común, se ha descrito bien en la mayoría de los grampositivos clínicamente relevantes. Los mecanismos más caracterizados de resistencia a linezolid incluyen mutaciones en genes que codifican el dominio V del rRNA 23S y / o las proteínas ribosómicas L3 y L4 (rplC y rplD, respectivamente) y la metilación de A2503 (numeración de E. coli) en el 23S rRNA mediado por la enzima Cfr (Munita, J., & Arias, C., 2016).

#### 2.6.6.2.2. Alteración enzimática del sitio Diana

Uno de los ejemplos mejor caracterizados de resistencia a través de la modificación enzimática del sitio diana es la metilación del ribosoma catalizado por una enzima codificada por los genes erm (metilación ribosómica de la eritromicina), que da como resultado resistencia a los macrólidos. Estas enzimas son capaces de mono- o dimetilar un

resto de adenina en la posición A2058 del dominio V del ARN 23r de la subunidad ribosómica 50S. Debido a este cambio bioquímico, la unión de la molécula antimicrobiana a su objetivo se ve afectada (Munita, J., & Arias, C., 2016).

#### 2.6.6.2.3. Reemplazo completo o derivación del sitio Diana

Usando esta estrategia, las bacterias son capaces de desarrollar nuevos dianas que cumplen funciones bioquímicas similares al diana original, pero que no son inhibidas por la molécula antimicrobiana. Los ejemplos clínicos más relevantes incluyen resistencia a la meticilina en *S. aureus* debido a la adquisición de una PBP exógena (PBP2a) y resistencia a la vancomicina en los enterococos mediante modificaciones de la estructura del peptidoglicano mediada por los grupos de genes *van*. Finalmente, otra ruta para evitar la acción antimicrobiana es "puentear" la ruta metabólica que inhiben al producir en exceso la diana antibiótica. Un ejemplo relevante de este mecanismo es la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX) (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Otro ejemplo importante de la estrategia de reemplazo y derivación para lograr resistencia está relacionado con la resistencia a la vancomicina. De manera similar a las  $\beta$ -lactamas, los glucopéptidos (es decir, vancomicina y teicoplanina) matan las bacterias al inhibir la síntesis de la pared celular. Sin embargo, a diferencia de los  $\beta$ -lactámicos, los glucopéptidos no interactúan directamente con los PBP. En cambio, se unen al terminal D-alanina-D-alanina (D-Ala-D-Ala) del resto pentapéptido de los precursores de peptidoglicano nacientes (lípidio II), evitando la reticulación mediada por PBP y dando como resultado la inhibición de la célula síntesis de pared. Se ha postulado que el efecto principal de la unión de vancomicina a los precursores que terminan en D-Ala-D-Ala que emerge del citoplasma es la alteración de la transglicosilación (presumiblemente debido a impedimento estérico) que impide un procesamiento adicional de la pared celular y conduce a bacterias muerte (Munita, J., & Arias, C., 2016).

La resistencia a la vancomicina es especialmente relevante en los enterococos (especialmente *E. faecium*) y generalmente va acompañada de la presencia de otros

determinantes de resistencia, lo que hace que el tratamiento de infecciones causadas por estos organismos sea un importante desafío clínico. La resistencia a la vancomicina en los enterococos implica la adquisición de un grupo de genes (clústeres de genes *van*) que codifican una maquinaria bioquímica que remodela la síntesis de peptidoglicano al:

- cambiar la última D-Ala por D-lactato (resistencia de alto nivel) o D-serina (resistencia de bajo nivel), y
- destruir los precursores de terminación D-Ala-D-Ala "normales" para evitar que la vancomicina se una a los precursores de la pared celular. El cambio de D-Ala para D-lactato elimina un único enlace de hidrógeno entre la molécula de vancomicina y su diana (resto D-Ala-D-Ala) disminuyendo la afinidad antibiótica por el precursor 1,000 veces (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Como se mencionó anteriormente, otra estrategia bien descrita de "derivación diana" es aumentar la producción del objetivo antimicrobiano con el objetivo de abrumar al antibiótico aumentando la cantidad de dianas disponibles. Uno de los mejores ejemplos de este mecanismo es el desarrollo de resistencia a TMP-SMX. Este medicamento perjudica la síntesis bacteriana de purinas y algunos aminoácidos importantes al alterar la producción de folato, explotando el hecho de que la mayoría de las bacterias no pueden incorporar folato de fuentes externas. Por lo tanto, las bacterias dependen de su propia maquinaria bioquímica para la síntesis de folato. La ruta sintética del folato implica dos enzimas principales, a saber:

- ácido dihidropterico sintasa (DHPS), que forma dihidrofolato a partir del ácido para-aminobenzoico (inhibido por SMX), y
- dihidrofolato reductasa (DHFR), que cataliza la formación de tetrahidrofolato de dihidrofolato (inhibido por TMP)

## 2.6.7. Resistencia debido a las adaptaciones celulares globales

A través de años de evolución, las bacterias han desarrollado mecanismos sofisticados para hacer frente a los factores estresantes y presiones ambientales con el fin de sobrevivir en los entornos más hostiles, incluido el cuerpo humano. Las bacterias necesitan competir por nutrientes y evitar el ataque de moléculas producidas por otros organismos rivales para ganar la "ventaja". Dentro de un hospedador particular, los organismos bacterianos son constantemente atacados por el sistema inmune del huésped y para establecerse en nichos biológicos particulares, es crucial que se adapten y hagan frente a estas situaciones estresantes. Por lo tanto, los patógenos bacterianos han ideado mecanismos muy complejos para evitar la alteración del proceso celular pivotal, como la síntesis de la pared celular y la homeostasis de la membrana. El desarrollo de resistencia a daptomicina (DAP) y vancomicina (bajo nivel en *S. aureus*) son los ejemplos más clínicamente relevantes de fenotipos de resistencia que son el resultado de una respuesta de adaptación celular global al ataque antibacteriano (Munita, J., & Arias, C., 2016).

DAP es un antibiótico lipopéptido relacionado con péptidos antimicrobianos catiónicos (CAMP) producidos por el sistema inmune innato que ejerce su efecto bactericida al alterar la homeostasis de la envoltura celular. La actividad bactericida de DAP requiere cuatro pasos importantes. En primer lugar, el DAP forma un complejo con calcio (lo que hace que la molécula tenga carga positiva) y, posteriormente, se dirige al objetivo CM mediante interacciones electrostáticas con la membrana celular normalmente cargada negativamente (CM). Es de destacar que la evidencia reciente sugiere que DAP se dirige principalmente al CM a nivel del septo de la división. En segundo lugar, una vez que las moléculas de antibiótico alcanzan el CM, inicialmente se oligomerizan en la valva externa del CM y, posteriormente, estos oligómeros de DAP alcanzan el prospecto de CM interno. La oligomerización de DAP en la valva externa del CM parece depender de la presencia del

fosfolípido fosfatidilglicerol (PG). Además, otro fosfolípido (cardiolipina, CL) parece jugar un papel importante en la translocación de oligómeros de DAP desde el exterior de la valva interna, pero su contribución no se entiende completamente. De hecho, existe evidencia que sugiere que la presencia de CL en altas concentraciones puede prevenir la translocación de oligómeros de DAP en la valva interna de la bicapa de fosfolípidos. En tercer lugar, una vez que los oligómeros de DAP alcanzan el prospecto interno del CM, organizan y forman estructuras transmembranales similares a poros que pueden alterar las propiedades fisicoquímicas del MC y promover la fuga de iones (por ejemplo, potasio) del citoplasma, causando importantes alteraciones electroquímicas. Finalmente, estas alteraciones estructurales y funcionales de CM conducen a la muerte bacteriana en ausencia de lisis celular por mecanismos que no se comprenden completamente (Munita, J., & Arias, C., 2016).

## 2.7. Métodos para la detección de resistencia bacteriana

Una detección oportuna de la resistencia a los antibióticos en las bacterias causantes de infecciones nosocomiales aporta información relevante para instituir un tratamiento adecuado y exitoso. En el campo de la microbiología se han desarrollado diferentes pruebas de laboratorio, como las tiras E-test, discos impregnados con antibiótico, medios cromogénicos, etc., para identificar de manera convencional el patrón de resistencia a los antibióticos, y los posibles mecanismos de resistencia, como la producción de BLEE en enterobacterias o M $\beta$ L (Metalobetalactamasas) en bacilos Gram negativos no fermentadores (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009)



Figura 19. E- test. Reactivo para ensayo de resistencia a antimicrobianos (Biomérieux, S/A)

### 2.7.1. Genómica

En relación con el empleo de métodos moleculares para detectar los mecanismos de resistencia, éstos se desarrollan mediante diferentes estrategias:

- a) Hibridación ADN-ADN con una sonda de ADN marcada con fluorescencia; la metodología consiste en la identificación de una secuencia específica de ADN (gen que codifica a una resistencia) mediante el reconocimiento de la secuencia homóloga en el ADN en varias muestras clínicas o bacterianas;
- b) Amplificación por PCR de un gen específico; esta técnica amplía en forma exponencial un gen específico de interés (p. ej.,  $\beta$ -lactamasas);
- c) Polimorfismo de fragmentos largos de restricción (RFLP), que se basa en el análisis del patrón de restricción de los fragmentos de ADN generados por una enzima de restricción que previamente se amplificaron por PCR; esta prueba puede detectar mutaciones puntuales en el ADN que alteren el número de sitios de restricción de la enzima empleada;

d) Secuenciación nucleotídica de ADN, que consiste en la identificación de la secuencia de las cuatro bases que componen el ADN mediante una síntesis de ADN *in vitro* (técnica de Sanger); esta secuencia puede utilizarse para inferir la secuencia de aminoácidos que componen a la proteína que codifica este ADN e identificar las posibles alteraciones (mutaciones) al compararse con el gen silvestre. En la actualidad se utilizan nucleótidos marcados con fluorescencia que permite una secuenciación de ADN automatizada y de alto rendimiento (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009).

Estas metodologías son muy útiles y se emplean en forma regular en laboratorios de biología molecular. Sin embargo, en fecha reciente se han desarrollado otras metodologías novedosas que aportan conocimientos nuevos al campo de la genómica y la proteómica. En el caso de la primera se han desarrollado metodologías que permiten determinar el número de copias de un gen en un genoma bacteriano, basado en PCR en tiempo real, “pirosecuenciación” (denominada así por la liberación de pirofosfato durante la reacción) y microarreglos del ADN empleado para obtener una pronta genotipificación de expresión de proteínas (p. ej.,  $\beta$ -lactamasas) y secuenciación. Con respecto a la proteómica, se ha utilizado la espectrometría de masas para identificar polimorfismos y genotipificación de diferentes proteínas en una sola muestra. En cuanto al área de la bioinformática, se ha desarrollado una gran cantidad de bases de datos con información biomédica y asimismo se han realizado programas computacionales empleados para establecer las vías de evolución de los genes que codifican a las  $\beta$ -lactamasas de distribución mundial (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009).

## 2.7.2. Métodos fenotípicos para la detección de mecanismos de resistencia en bacterias Gram Negativas

La detección de los mecanismos de resistencia en los microorganismos Gram Negativos tiene una gran repercusión clínica y epidemiológica, existiendo aún hoy en día una cierta discusión sobre cuál es la mejor técnica fenotípica para este fin, así como si se deben o no interpretar los resultados *in vitro* de sensibilidad.



### 2.7.2.1. Detección fenotípica de betalactamasas resistentes a los inhibidores

La detección de estas enzimas es factible solo en enterobacterias naturalmente sensibles a la asociación amoxicilina-ácido clavulánico. Por tanto, y debido a la superposición de mecanismos de resistencia, su presencia no puede detectarse fenotípicamente en las enterobacterias naturalmente resistentes a esta asociación como *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* o los bacilos gramnegativos no fermentadores (*P. aeruginosa*) portadores de betalactamasa tipo AmpC inducible. Así, para el resto de enterobacterias a partir de los antibiogramas realizados, bien por la técnica de disco-difusión o bien por la de microdilución, se puede sospechar la presencia de las enzimas IRT y OXA, aunque su confirmación definitiva debe ser realizada mediante técnicas moleculares dado que son varios los mecanismos que pueden dar patrones de resistencia similares (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011)

### 2.7.2.2. Detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido

La detección de las BLEE en el laboratorio no siempre es fácil, ya que depende de su expresión fenotípica y esto viene condicionado por la cantidad de enzima producida por la bacteria, y de la presencia o no de otros mecanismos de resistencia. Su detección se basa en la capacidad de estas enzimas de hidrolizar las cefalosporinas de tercera y cuarta generación y los monobactámicos, disminuyendo por tanto la sensibilidad de la bacteria a estos antibacterianos. Otra de las características de estas enzimas es que son inhibidas por el ácido clavulánico (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011)

Se han desarrollado diversas pruebas fenotípicas para la detección de BLEE, la mayoría basadas en la actividad inhibitoria del ácido clavulánico. Entre ellas destaca la técnica de disco-difusión en la que la presencia de una BLEE se sospecha no solo por la resistencia o

disminución de los halos de inhibición de algunos o todos los sustratos sino también por el efecto sinérgico producido entre las cefalosporinas de amplio espectro o los monobactámicos y el ácido clavulánico, cuando previamente se han situado de forma estratégica los discos (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

Otras técnicas basadas en el mismo principio son la utilización de discos combinados de cefalosporinas con ácido clavulánico y su variante en las técnicas de microdilución que permiten conocer las CMI de las cefalosporinas solas y en presencia de inhibidor. La técnica de difusión en gradiente (Etest) con tiras combinadas de cefalosporinas con y sin inhibidor es también de utilidad para la detección de BLEE (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

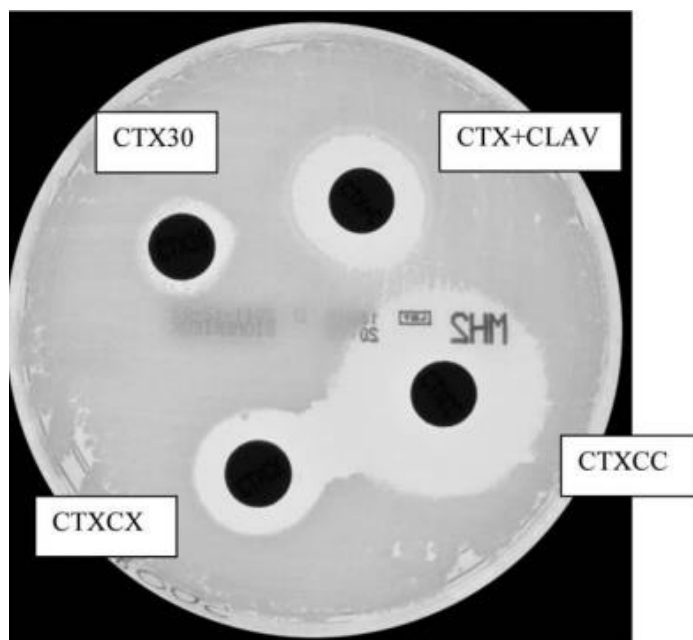


Figura 20. Discos con antibiótico y discos con combinaciones antibiótico + inhibidor de beta-lactamasas. CTX30: cefotaxima de 30 mg/L. CTX+CLAV: cefotaxina + clavulánico. CTXCX: cefotaxima + cloxacilina. CTXCC: cefotaxima + cloxacilina + clavulánico (Martín, A. & Ignacio, J., 2012)

Todas estas pruebas requieren como mínimo 48 horas desde que el producto patológico llega al laboratorio. Se han buscado nuevos métodos para acortar este tiempo por lo que

se han diseñado medios cromogénicos para el aislamiento selectivo y la identificación presuntiva de enterobacterias productoras de BLEE. Entre ellos se encuentra el ChromID ESBL (bioMérieux), Brilliance ESBL agar (Oxoid) y el CHROMagar™ ESBL (CHROMagar) (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

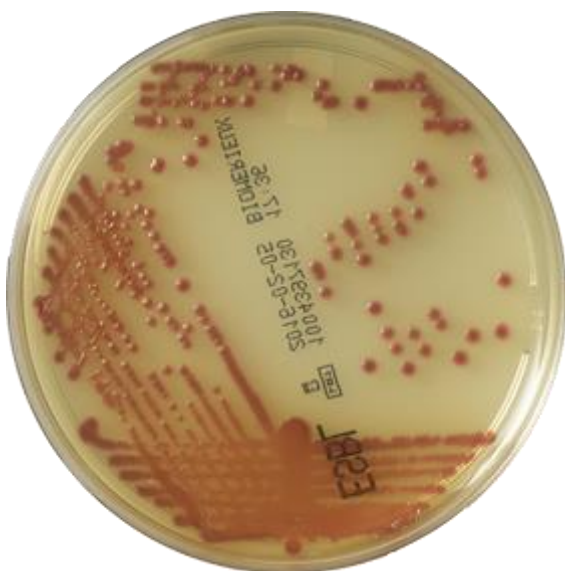


Figura 21. Medio cromogénico para identificación de bacterias con BLEE. Crecimiento de *Escherichia coli* (Modificado de Biomérieux, S/A)

El grado de hidrólisis frente a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y monobactámicos puede variar según el tipo de BLEE y el nivel de producción, pudiendo aparecer sensibles *in vitro* a algunos de estos antibacterianos. El CLSI antes del año 2010 recomendaba informar las cepas con fenotipo de BLEE como resistentes a penicilinas, cefalosporinas y aztreonam indistintamente del valor de la CMI o del halo de inhibición mientras que el EUCAST recomendaba interpretar como intermedio un resultado sensible y como resistente un resultado intermedio. En el año 2010 ambos comités modificaron los puntos de corte de las cefalosporinas y aztreonam basándose en estudios PK/PD y efectuaron una nueva recomendación consistente en informar la sensibilidad de los aislados con BLEE según los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad *in vitro* independientemente del mecanismo de resistencia (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

### 2.7.2.3. Detección fenotípica de betalactamasas tipo AmpC

Los métodos fenotípicos para la detección de AmpC plasmídicas son sencillos y económicos, pero solo resultan de utilidad en aislados que no tienen una AmpC cromosómica natural (*Kebsiella* spp., *S. enterica*, *P. mirabilis*) o que la expresan constitutivamente a muy bajo nivel, como ocurre en *E. coli*. La presencia de AmpC plasmídica debe sospecharse cuando estos aislados presenten un patrón de resistencias a betalactámicos (fenotipo AmpC) diferente al de su respectivo fenotipo salvaje o de resistencia natural, siendo los marcadores de mayor utilidad la sensibilidad intermedia o resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico y a algunas de las cefalosporinas de tercera generación (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

Los métodos fenotípicos más rentables por su eficacia, su sencillez y su bajo coste económico, son el método de sinergia de doble disco (usando discos de cloxacilina o ácido fenil-borónico y discos de cefotaxima y ceftazidima) y el método de discos combinados con inhibidores. Existen otros métodos fenotípicos bastante sensibles, pero son más caros que los anteriores (agar cefoxitina, Etest de cefotetán/cefotetán más cloxacilina). En el caso concreto de *E. coli*, la utilización del método de inducción de AmpC puede resultar útil en la detección de AmpC plasmídica puesto que un resultado positivo solo es posible si media la adquisición de una AmpC plasmídica inducible y descarta sin lugar a dudas la hiperproducción de la AmpC cromosómica, dado que ésta no es inducible. Se ha descrito otro método simple para diferenciar las AmpC plasmídicas de las AmpC cromosómicas que puede ser de utilidad. Los aislados productores de AmpC plasmídicas suelen presentar colonias dispersas por el borde de los halos de inhibición con discos de cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

Los métodos fenotípicos de detección de betalactamasas de tipo AmpC plasmídicas tienen varias limitaciones importantes que deben ser consideradas para poder realizar una interpretación fiable de los resultados obtenidos. Estos métodos aún no han sido estandarizados por ningún comité u organización de expertos (CLSI, EUCAST, CASFM).

#### 2.7.2.4. Detección fenotípica de carbapenemasas

Para la detección fenotípica de las carbapenemasas se debe tener en cuenta el perfil hidrolítico general que confiere cada una de sus clases y de manera específica cada una de las enzimas incluidas en estas clases, la posible inhibición por los diferentes inhibidores de betalactamasas, la epidemiología local y la identidad del microorganismo en el que se pretende detectar o inferir la producción de estas enzimas. En este último punto es esencial valorar la posible presencia de otros mecanismos de resistencia que puedan «enmascarar» el fenotipo que confieren las carbapenemasas, entre ellos la alteración de la permeabilidad, la presencia de bombas de expulsión, afectación de las PBP's o presencia simultánea de otras betalactamasas. En este sentido, no es igual la expresión de una carbapenemasa en *P. aeruginosa* o en *A. baumannii* que en *E. coli*, *K. pneumoniae* o en una cepa de *E. cloacae*. Cada una de estas especies tiene sus peculiaridades fenotípicas naturales que deben ser contemplada (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

Desde un punto de vista práctico y una vez observado en el antibiograma, la expresión de un fenotipo compatible con la presencia de una carbapenemasa, generalmente ilustrado por la sensibilidad disminuida o resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro y a alguno de los carbapenémicos, es importante verificar que existe un mecanismo de inactivación de los carbapenémicos. Se recomienda investigar este hecho en las cepas en las que los valores de CMI de los carbapenémicos se incrementan por encima de los correspondientes puntos de corte epidemiológicos (separan las poblaciones salvajes de aquellas que presentan mecanismos de resistencia). El método de referencia no siempre al alcance de todos los laboratorios, sería el ensayo espectrofotométrico, por lo que se han propuesto métodos biológicos (bioensayos) sencillos que permiten su detección. La prueba modificada de Hodge fue recomendada por vez primera por el CLSI en el año 2009 como test fenotípico de confirmación. Tiene una elevada sensibilidad, pero no sirve para la diferenciación del tipo de carbapenemasa (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

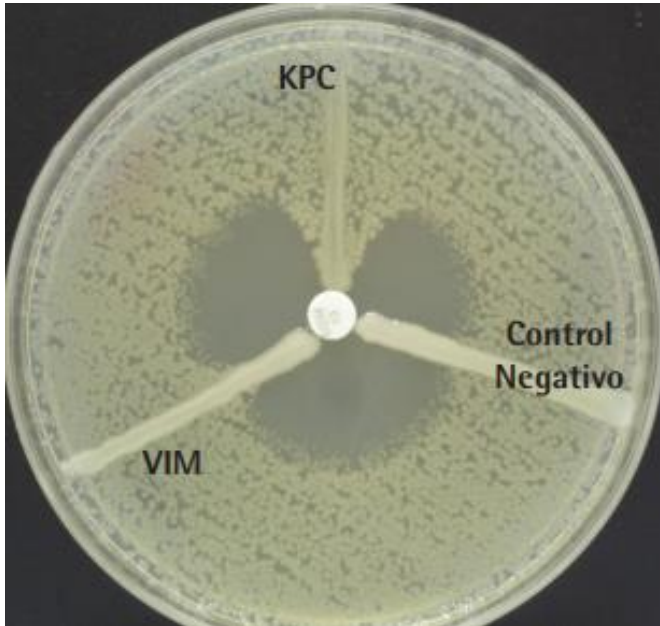


Figura 22. Test de Hodge modificado. Siembra de una bacteria sensible a carbapenemicos con un disco de meropenem + cloxacilina. Las estrías corresponden a una productora de carbapenemasas de tipo KPC, otra de tipo VIM y otra no productora de carbapenemasa. Se observa la inactivación del carbapenem por la extensión del crecimiento de la bacteria sensible cerca del disco del carbapenem y a lo largo de las estrías de las cepas productoras de la carbapenemasa (Modificado de Cercenado, E., 2015)

El test Carba NP (CNPt) es una prueba bioquímica de detección rápida (2 h) de producción de carbapenemasas en bacilos Gram Negativos. Está basado en la hidrólisis de imipenem por un lisado bacteriano, lo que es detectado por un cambio de pH, utilizando como indicador el rojo fenol, que vira de rojo a naranja/amarillo. Este test ha demostrado ser altamente sensible para la detección de carbapenemasas de *Klebsiella pneumoniae* (KPC) y metalobetalactamasas (MBL); sin embargo, presenta problemas para la detección de cepas productoras de OXA-48, con una sensibilidad que varía de 11-100%.



Figura 23. Cepa problema de *Pseudomonas aeruginosa* con resultado de carbapenemasa presente (Fuentes, J., 2017.)

Otra desventaja es el costo del tampón de extracción (B-PER II). El CLSI recomienda que cepas de enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. con CMI elevadas a carbapenémicos o con reducción de la zona de inhibición en método de difusión deben ser testeadas en búsqueda de carbapenemasas, ya sea por interés epidemiológico o de control de infecciones, utilizando el CNPt (Sakurada, A., 2016)

Una vez confirmado que la cepa problema produce una enzima que inactiva los carbapenémicos es preciso diferenciar el tipo de carbapenemasa.

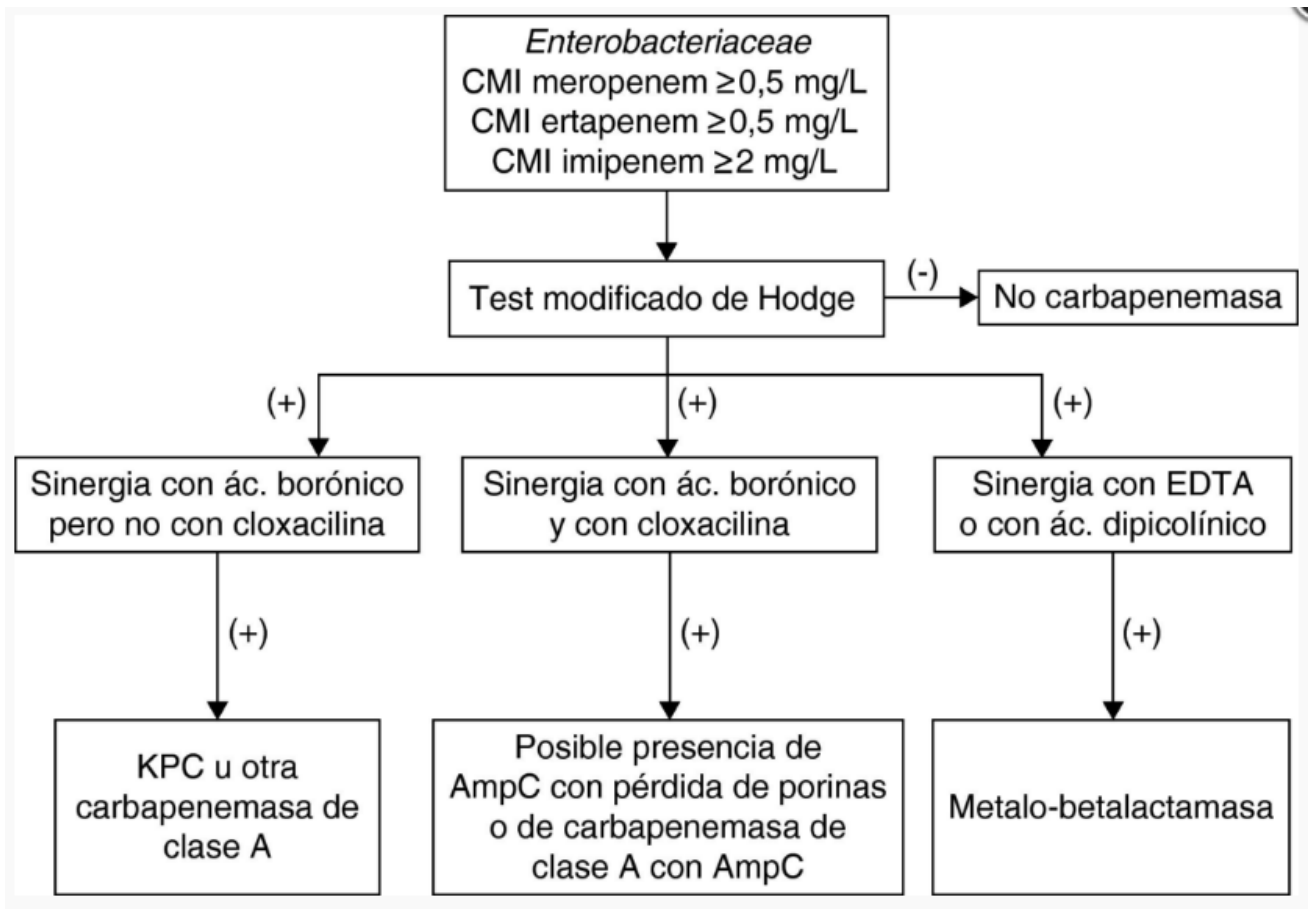


Figura 24. Identificación fenotípica de *Enterobacteriaceae* productores de carbapenemasas (Modificado de Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011)

Se deben realizar estas pruebas con cepas ATCC validándose con sus pruebas bioquímicas y de acuerdo a las guías de la CLSI.

### 2.7.2.5. Detección fenotípica de la resistencia a quinolonas

Los mecanismos cromosómicos de resistencia van apareciendo secuencialmente, y el uso de quinolonas es uno de los factores más importantes en la selección de aislados con resistencia de alto nivel a fluoroquinolonas. En cuanto a la detección de determinantes plasmídicos de resistencia, no existen marcadores fenotípicos claros para reconocerlos y su detección debe hacerse por métodos moleculares, no siempre accesibles. En los



últimos años se ha observado que algunas enterobacterias presentan sensibilidad disminuida a las fluoroquinolonas siendo sensibles a ácido nalidíxico, situación que en muchos casos se ha relacionado con la presencia de genes plasmídicos de resistencia a quinolonas (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011).

### 2.7.2.6. Resistencia a aminoglucósidos

Para la detección de los distintos fenotipos de resistencia adquiridos es importante una correcta elección de los aminoglucósidos en estudio. Puede hacerse un antibiograma completo, por ejemplo para el estudio epidemiológico de los genes de resistencia de las cepas, o bien un antibiograma reducido donde solo se incluya los aminoglucósidos de uso en terapéutica. Para el antibiograma completo se recomienda el estudio de la amikacina, estreptomina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina y tobramicina. El estudio de la estreptomina puede ser optativo, dado su reducido uso en clínica, sin embargo, en un estudio epidemiológico es el único marcador de la presencia de las enzimas APH (3'') y ANT (3'')-Ia. En cambio para el antibiograma reducido es suficiente el estudio de la amikacina, gentamicina y tobramicina (Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B, 2011)

## 2.7.3. Métodos fenotípicos para la detección de mecanismos de resistencia en bacterias Gram Positivas

### 2.7.3.1. Detección fenotípica de resistencia por producción de betalactamasas

Para la detección de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina por producción de betalactamasa es más adecuado utilizar un disco de 10 unidades de penicilina que un disco de 10µg de ampicilina. El resultado obtenido con este disco de penicilina se debe extrapolar a todas las penicilinas lábiles a la acción de la penicilinasas, como ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina y

piperacilina. Para la determinación de la CMI a las penicilinas se debe utilizar el medio de Mueller-Hinton, cuya concentración de cationes ( $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) debe estar ajustada en el caso de que se realice mediante el método de dilución en caldo; se requiere un inóculo equivalente al 0,5 de la escala de McFarland y entre 18-20 horas de incubación a 35-37°C. Cuando el halo de inhibición con el disco de penicilina de 10 unidades sea de  $\geq 29\text{mm}$  (sensible) o por dilución en caldo o en agar, la CMI de penicilina sea de  $\leq 0,12\text{mg/L}$  (sensible) se debe confirmar que el microorganismo es realmente sensible a las penicilinas; para ello, se realiza una prueba con la cefalosporina cromogénica nitrocefina utilizando las colonias crecidas en el borde del halo de inhibición de la penicilina ya que en estas, la producción de penicilinas ha sido inducida por la incubación previa en presencia del antimicrobiano. Esta prueba consiste en depositar con el asa parte de esas colonias sobre un disco impregnado con el nitrocefina que al hidrolizarse en presencia de la betalactamasa experimenta un cambio en su estructura dando un producto coloreado (naranja-rojo) (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011)



Figura 25. Prueba de Nitrocefina; resultado positivo a la izquierda y negativo a la derecha (Microbeonline, 2015).

La utilización de los discos de penicilina (10 U), cefotaxima, ceftriaxona y cefepima está desaconsejada para determinar la sensibilidad de *S. pneumoniae* frente a betalactámicos.

El cribado mediante difusión con discos de oxacilina (1µg) se considera el mejor método para detectar aquellas cepas con CMI de penicilina superiores a 0,06mg/L. La sensibilidad a la oxacilina implica sensibilidad a todos los betalactámicos. Para su determinación se debe realizar una suspensión bacteriana en medio líquido estéril a partir de 3-4 colonias aisladas, ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0,5 de la escala McFarland, inocular una placa de Mueller Hinton con sangre (MH-S) y colocar el disco mencionado. Tras una incubación durante 18-24 horas en la estufa de CO<sub>2</sub> a una temperatura de 35±2°C (o en jarras de incubación con atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> e incubación en estufa convencional) se procede a la lectura del halo de inhibición (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

Por su parte, la CMI por microdilución es el método de referencia y requiere el empleo de caldo de Mueller Hinton con concentración ajustada de cationes (Ca<sup>+2</sup> y Mg<sup>+2</sup>) y 5% de sangre lisada de caballo, un inóculo estándar (0,5 de la escala McFarland) e incubación de 20-24h a 35±2°C en atmósfera normal (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.2. Detección fenotípica de resistencia a la oxacilina

La resistencia a la meticilina en *Staphylococcus* se puede detectar en el laboratorio mediante la técnica de difusión con discos de oxacilina (1µg) y/o cefoxitina (30µg) o por dilución en caldo o en agar. Para ello se utiliza el medio de Mueller Hinton con el agregado de 2% de NaCl en el caso de realizar los métodos de dilución y además ajustado con cationes (Ca<sup>+2</sup> y Mg<sup>+2</sup>) en el caso de que se realice mediante el método de dilución en caldo. El inóculo empleado es el equivalente al 0,5 de la escala de McFarland y se requieren 24 horas completas de incubación en atmósfera aerobia a 35°C. La incubación a temperaturas superiores a 35°C puede impedir la detección de esta resistencia. Una cepa de *S. aureus* se considera resistente a la oxacilina cuando el halo de inhibición de la oxacilina es ≤10mm o cuando la CMI de oxacilina es ≥4mg/L. En el caso de los ECN (Estafilococos coagulasa negativos), una cepa se considera resistente a la oxacilina cuando

la CMI es  $\geq 0,5$  mg/L, excepto en *S. lugdunensis* que se considera resistente si la CMI de oxacilina es  $\geq 4$  mg/L (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

La cefoxitina es un marcador adecuado de la presencia de *mecA* ya que es un compuesto inductor más potente del sistema regulatorio de *mecA* que las penicilinas y por ello, al mejorar la expresión de este gen se mejora también la detección de la resistencia a la meticilina. La utilización del disco de cefoxitina es especialmente útil y de preferencia sobre el disco de oxacilina para detectar la resistencia a oxacilina mediada por el gen *mecA* en las cepas heterorresistentes y se debe utilizar siempre en cepas de ECN. Además, este disco no presenta problemas de estabilidad como la oxacilina durante su conservación (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.3. Detección fenotípica de resistencia tipo BORSA

Existen cepas de *S. aureus* que presentan resistencia de bajo nivel o *borderline* (en el límite) a la oxacilina (*borderline oxacillin-resistant Staphylococcus aureus*, BORSA) y se caracterizan por tener CMI de oxacilina en el punto de corte de resistencia (4 mg/L) o una dilución por encima de este. Estos aislados se dividen en dos grupos en función de la presencia o ausencia del gen *mecA*: si poseen el gen *mecA* son cepas heterorresistentes que producen la PBP2a (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

Las cepas BORSA *mecA* negativas son sensibles a la cefoxitina (halo  $\geq 22$  mm) mientras que las *mecA* positivas son resistentes a este antimicrobiano (halo  $\leq 21$  mm). Las cepas con resistencia intermedia a la oxacilina pero sensibles a la cefoxitina se deben informar como sensibles a la cefoxitina y nunca se debe informar una sensibilidad intermedia a la oxacilina. Del mismo modo, si se realiza la detección del gen *mecA* y/o de la PBP2a por técnicas moleculares y por técnicas de aglutinación con látex, respectivamente y los resultados son negativos, el aislamiento debe informarse como sensible a la oxacilina. Estas cepas *borderline mecA* negativas son sensibles a todos los betalactámicos (penicilinas antiestafilocócicas, cefalosporinas y carbapenemas). Por el contrario, las

cepas *mecA* positivas son resistentes a todos los betalactámicos (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011)

#### 2.7.3.4. Detección fenotípica de resistencia a los macrólidos, las lincosamidas y las estreptograminas B

Las diferentes expresiones fenotípicas de estas resistencias se pueden identificar en el laboratorio mediante el método de difusión con discos de eritromicina y clindamicina empleando el llamado D-test y por dilución en caldo utilizando una combinación de ambos antimicrobianos. Para la realización del D-test, se colocan un disco de eritromicina de 15µg y otro de clindamicina de 2µg separados a una distancia de 15 o 20mm sobre la superficie de la placa inoculada, siendo posibles los siguientes resultados:

- 1)** resistencia absoluta a la eritromicina y a la clindamicina sin achatamiento del halo de inhibición de la clindamicina (D-test negativo, **cMLS<sub>B</sub>**);
- 2)** resistencia a la eritromicina y sensibilidad a la clindamicina pero con un achatamiento del halo del disco de la clindamicina en la proximidad del de la eritromicina (D-test positivo, **iMLS<sub>B</sub>**), y
- 3)** resistencia a la eritromicina (y a los demás macrólidos de 14 y 15 átomos de carbono así como a las estreptograminas B) y sensibilidad a la clindamicina sin achatamiento del halo del disco de esta última (D-test negativo, **MS<sub>B</sub>**).



Fig. 26. Imagen de D- Test (+) en SARM. *D test (+)*: será positivo cuando tengamos distorsión del halo de inhibición alrededor del disco de clindamicina en la cara que enfrente al disco de Eritromicina (Montoya, I., Mira M., Álvarez, I., Cofre, J., Cohen, J., Donoso, G y Torres, J., 2009)

Los fenotipos de resistencia derivados de la inactivación de los antimicrobianos de estas tres familias son poco frecuentes. Se han descrito enzimas con actividad fosfotransferasa que inactivan a los macrólidos de 14 y de 15 átomos de carbono y nucleotidiltransferasas que inactivan exclusivamente las lincosamidas (enzimas Lnu) (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

#### 2.7.3.5. Detección fenotípica de resistencia a los aminoglucósidos

Cuando se requiere la confirmación de un fenotipo de resistencia a aminoglucósidos, esta se realiza por difusión con discos. Habitualmente se emplean discos de gentamicina, tobramicina, amicacina, kanamicina, netilmicina y estreptomina (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011)

La resistencia a gentamicina debe asociarse con resistencia a todos los aminoglucósidos de utilización clínica (la propia gentamicina, tobramicina, amicacina, netilmicina y además kanamicina, con la excepción de la estreptomina) y es debida a la actividad de la enzima bifuncional AAC(6')-APH(2'') (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.6. Detección fenotípica de la resistencia a la mupirocina

Aunque el CLSI no ha definido puntos de corte para interpretar la sensibilidad a la mupirocina, en su último documento establece las técnicas para la detección de cepas con resistencia a este compuesto. Para ello indica el uso del disco de 200µg y/o el empleo de un pocillo que contenga 256mg/L de mupirocina si se realiza microdilución (condiciones estándar de temperatura y tiempo de incubación). Cualquier tamaño de halo o falta de crecimiento en el pocillo indican ausencia de alto nivel de resistencia. El EUCAST plantea el uso del disco de 200µg y los puntos de corte de 30mm (S) y de 18mm (R), pero exclusivamente para aquellas cepas implicadas en procesos de colonización nasal que requieran descontaminación (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.7. Detección fenotípica de la resistencia al linezolid

El método más adecuado para detectar la resistencia al linezolid es la microdilución en caldo. Los resultados de CMI obtenidos por Etest son generalmente más bajos, principalmente cuando la resistencia está mediada por el gen *cfr* y las CMI pueden ser tan bajas como 1 o 2mg/L (rango sensible). El método de difusión con discos no detecta adecuadamente la resistencia al linezolid, excepto en los casos con alto nivel de resistencia (CMI>32mg/L) (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.8. Resistencia de alto nivel a la gentamicina y a la estreptomina

Los enterococos poseen resistencia intrínseca de bajo nivel a los aminoglucósidos, con CMI entre 4-64mg/L para la gentamicina y 16-256mg/L para la estreptomina (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.9. Detección fenotípica de la resistencia de alto nivel a la gentamicina y a la estreptomina

La detección de la RAN a la gentamicina y a la estreptomina en enterococo se puede realizar mediante las siguientes técnicas:

**1)** Difusión con discos de alta carga (gentamicina, 120µg; estreptomina, 300µg) en agar Mueller Hinton, con un inóculo equivalente al 0,5 de la escala de McFarland e incubación a 35°C durante 16-18h (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

En ocasiones, los resultados de la difusión con disco son poco concluyentes (halos de inhibición en el rango 7-9mm) lo cual requiere la confirmación mediante los siguientes métodos;

**2)** Microdilución en caldo o dilución en agar: se emplea el medio BHI al que se añaden 500mg/L de gentamicina o bien 1.000 o 2.000mg/L de estreptomina (microdilución en caldo o dilución en agar, respectivamente); tras una incubación durante 24 horas a 35° C cualquier tipo de crecimiento será indicativo de resistencia y por tanto de ausencia de posible sinergia con agentes activos sobre la pared celular;

**3)** Curvas de letalidad: permiten determinar la probabilidad de sinergia entre betalactámicos o glucopéptidos y aminoglucósidos. Es un método laborioso que no se realiza de rutina (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

### 2.7.3.10. Detección fenotípica de la resistencia a los glucopéptidos

La detección de los fenotipos VanA y VanM en el laboratorio es sencilla, sin embargo, existen algunos problemas para la detección de los otros fenotipos (VanB a VanN) por los bajos niveles de resistencia a la vancomicina que pueden conferir (a veces en la categoría de sensible). En estos casos es importante la detección del mecanismo de resistencia mediante técnicas moleculares como la PCR con cebadores específicos. Los métodos



fenotípicos que se emplean para detectar la resistencia a glucopéptidos en enterococos incluyen:

**1)** Difusión con discos en medio agar Mueller Hinton. Este método tiene bajo poder discriminatorio, sobre todo con los valores intermedios de CMI, 8-16mg/L y su realización debe evitarse siempre que sea posible. La lectura del antibiograma se debe hacer a las 24h completas de incubación y con luz transmitida, considerando como resistente la presencia de cualquier crecimiento o velo dentro del halo de inhibición. En caso de duda debe realizarse la determinación de las CMI de vancomicina y de teicoplanina mediante métodos de dilución o mediante Etest;

**2)** Microdilución y dilución en agar. Para ello se utiliza el medio Mueller Hinton con concentración ajustada de cationes ( $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ), un inóculo estándar (0,5 de la escala McFarland) e incubación de 24h a  $35\pm 2^\circ\text{C}$ ;

**3)** Método de cribado: el CLSI recomienda el uso de una placa de agar BHI con 6mg/L de vancomicina, un inóculo de  $10^5$ - $10^6$ UFC/depósito (1-10 $\mu\text{l}$  de un inóculo equivalente al 0,5 escala McFarland) y una incubación de 24h a  $35\pm 2^\circ\text{C}$ . La detección de más de 1 colonia, de un ligero o de un claro crecimiento son indicativos de resistencia a la vancomicina, y

**4)** Empleo de medios de agar cromogénico comercializados para el aislamiento selectivo de cepas de enterococo resistentes a la vancomicina que permiten realizar estudios de vigilancia epidemiológica (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011).

## 2.8. Métodos convencionales para evaluar la sensibilidad/ resistencia

El patrón de referencia para determinar cuál es el antibiótico de elección para un proceso infeccioso es el laboratorio, en el cual se realizan estudios *in vitro* al cultivar las bacterias en medios específicos donde se colocan diferentes sellos de antibióticos y dependiendo

de la eliminación de las bacterias a su alrededor, se conoce él o los antibióticos al que son sensibles o resistentes, a esto se le denomina antibiograma siendo el tiempo de 24 a 48 horas para este estudio (Galván, M., 2017).

La lectura interpretada del antibiograma es una práctica habitual en el laboratorio de microbiología como complemento de la interpretación o de la categorización clínica de los resultados de sensibilidad. Consiste en el reconocimiento fenotípico de los mecanismos de resistencia y permite, a partir de éste, la inferencia de fenotipo inicial. Asimismo, condiciona la modificación de las categorías clínicas y la deducción de los valores de sensibilidad de antimicrobianos no incluidos en el antibiograma.

El antibiograma tiene como objetivo evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o a varios antimicrobianos, y traducir, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. Las primeras pruebas de sensibilidad se realizaron en la década de 1920 del siglo pasado ligadas al propio descubrimiento de los antimicrobianos (Cantón, R. 2010).

### 2.8.1. Concentración Mínima Inhibitoria

Tal y como se conocen en la actualidad, basadas en la difusión o en el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI), no se generalizaron hasta bien entrada la década de 1960. Con posterioridad se identificaron las múltiples variables que afectaban a los resultados obtenidos, y comienzan a establecer durante las décadas de 1970 y de 1980 normas sobre las condiciones en las que debían realizarse los antibiogramas con el objetivo de asegurar su reproducibilidad. Asimismo, durante estos años se debaten los criterios que deben regir la interpretación de los resultados. Éstos hacen esencialmente referencia al análisis de las poblaciones microbianas en función de los valores de la CMI de los antimicrobianos, su relación con los mecanismos de resistencia, la Pk (farmacocinética) del antimicrobiano, en particular en el compartimento sérico, y la correlación entre el valor de la CMI y el posible éxito o fracaso terapéutico. Con estos objetivos se crean diferentes comités nacionales y otros con vocación internacional cuya misión principal es

establecer los denominados puntos de corte con que se diferencian las categorías clínicas de tratamiento (sensible, intermedio y resistente); han quedado definidas en función de la probabilidad del éxito o del fracaso terapéutico:

- Sensible: cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- Intermedio: cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- Resistente: cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el fracaso terapéutico (Cantón, R. 2010).

Los puntos de corte, bien en valores de halos de inhibición o de CMI, se utilizan para separar estas categorías. Tanto el CLSI como el grupo EUCAST establecen en los Estados Unidos y en Europa, respectivamente, estos puntos de corte y ambos comités tienen vocación internacional (Cantón, R. 2010).

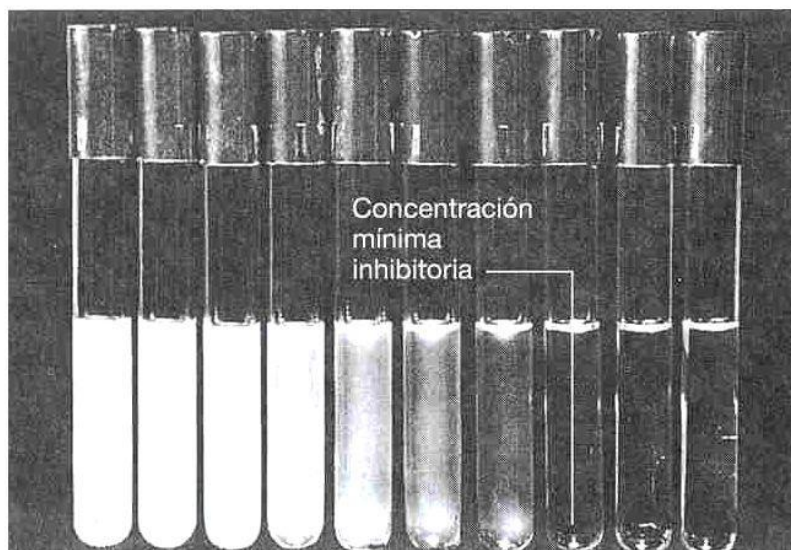


Figura 27. Evaluación de un antibiótico mediante el método de dilución en tubo, que permite determinar la Concentración Mínima Inhubitoria (CMI). Se prepara una serie de

tubos con concentraciones crecientes del antibiótico en el medio de cultivo; se inoculan todos los tubos y se incuban. El crecimiento (turbidez) tiene lugar en los tubos con concentraciones del antibiótico inferior a la CMI (Sin autor, 2016.)

## 2.8.2. Lectura interpretada del antibiograma

La lectura interpretada del antibiograma no debe confundirse con el proceso de interpretación de los resultados de las pruebas de sensibilidad. Este último consiste en la categorización clínica de los resultados, es decir, en la traducción por medio de los puntos de corte clínicos, los halos de inhibición o los valores de CMI en las categorías clínicas sensibles, intermedias o resistentes, definidas en el apartado anterior. Por el contrario, la lectura interpretada realiza un análisis fenotípico de los resultados de las pruebas de sensibilidad y se fundamenta en el conocimiento de los mecanismos de resistencia y en su expresión fenotípica. Su objetivo principal es evitar el posible fracaso terapéutico derivado del uso antimicrobiano cuando se expresan estos mecanismos de resistencia en la bacteria estudiada en el antibiograma. Esta actitud es complementaria a la categorización clínica. Microbiológicamente, con la lectura interpretada del antibiograma se facilita poder establecer su epidemiología con independencia de la propia caracterización fenotípica del mecanismo de resistencia. Este hecho redundará en una mejor información para una correcta utilización dirigida y empírica de los antimicrobianos, por lo que puede influir en un mejor control de la resistencia. Incluso trasciende a un valor de microbiología de salud pública. Durante el proceso de la lectura interpretada del antibiograma puede inferirse la sensibilidad de antibióticos no incluidos en el antibiograma (Cantón, R. 2010).

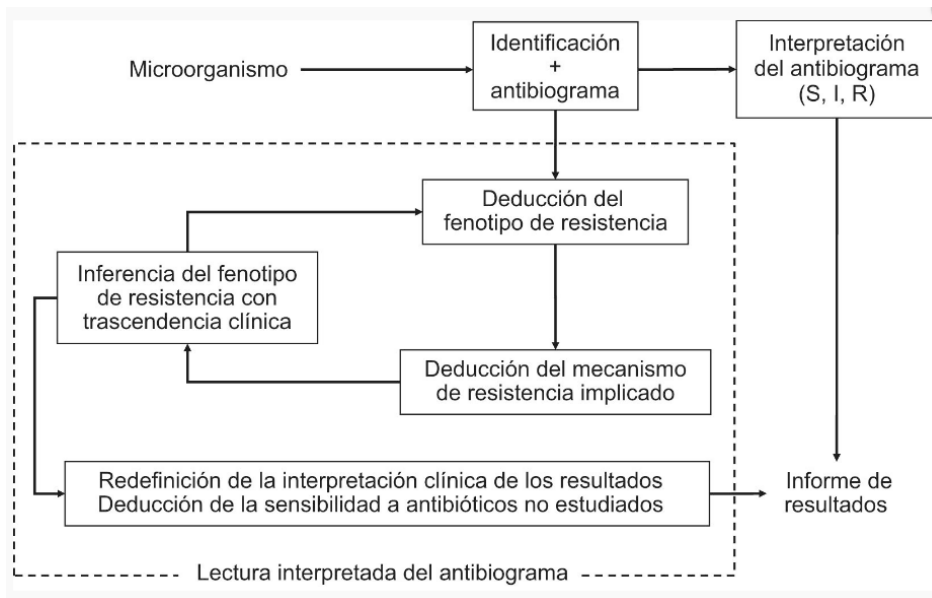


Figura 28. Protocolo a seguir para lectura e interpretación del antibiograma (Modificada de Cantón, R. 2010).

En la lectura interpretada del antibiograma debe procesarse la información en función de los fenotipos obtenidos con el objetivo final de la detección del mecanismo de resistencia. El fenotipo de sensibilidad o de resistencia se define como el conjunto de datos obtenidos en el antibiograma para antibióticos de la misma familia o relacionados por mecanismos de actuación comunes o mecanismos de resistencia compartidos (Cantón, R. 2010).

Se clasifican en habituales, raros e imposibles. Los primeros, fenotipos habituales, recogen los aislamientos con mecanismos de resistencia cuya presencia es epidemiológicamente normal en el medio donde se realiza el estudio de sensibilidad. Como ejemplo clásico incluiríamos la resistencia a la penicilina, la sensibilidad a la oxacilina en *S. aureus* por producción de penicilinasas, la resistencia al ácido nalidíxico en las enterobacterias por alteración de la subunidad GyrA de la topoisomerasa II o la resistencia a la eritromicina y clindamicina con sensibilidad a la estreptogramina A en *S. pneumoniae* por producción de una metilasa que afecta la afinidad de los macrólidos por el ribosoma. Al contrario de éstos, los fenotipos raros son consecuencia de la expresión de mecanismos de resistencia poco habituales, recientemente caracterizados o cuya dimensión epidemiológica es por el momento poco relevante en el área geográfica de estudio (Cantón, R. 2010).

Los denominados fenotipos imposibles son particularmente interesantes en el proceso de la lectura interpretada del antibiograma. No responden a mecanismos de resistencia conocidos y, en la mayoría de los casos, no se confirman con un nuevo estudio de sensibilidad y suelen representar problemas técnicos derivados de la realización de las pruebas de sensibilidad o fallos en la identificación del microorganismo en el que se realiza el estudio. No obstante, la reiteración de este fenotipo en bacterias correctamente identificadas puede suponer un nuevo mecanismo de resistencia. Ante esta situación, debe caracterizarse el mecanismo implicado y, en su caso, enviar el microorganismo a un centro de referencia. En este epígrafe también se deben incluir aquellos microorganismos con resistencias naturales que presenten en el antibiograma fenotipos sensibles a los antibióticos teóricamente afectados por estos mecanismos (Cantón, R. 2010).

El avance de la robótica y de la informática ha facilitado el desarrollo de aparatos automáticos o semiautomáticos para el estudio de la sensibilidad con el objetivo de simplificar el proceso. La mayoría de estos sistemas utilizan un sistema de microdilución que permite el cálculo del valor de la CMI, aunque también existen en el mercado sistemas que realizan la lectura de los halos de inhibición. Asimismo, suelen incluir programas informáticos, denominados expertos o lógicos-expertos, que además de categorizar los resultados en función de los valores de CMI o halos de inhibición, ofrecen información en la inferencia de los mecanismos de resistencia. Como se indicará más adelante, es esencial un buen diseño de los paneles (antimicrobianos y concentraciones) para cumplir con los objetivos de la lectura interpretada del antibiograma. También, los programas informáticos deben actualizarse con relativa periodicidad para incorporar los mecanismos de resistencia detectados recientemente y evitar que queden obsoletos en poco tiempo. Sería deseable que tuviesen en cuenta la epidemiología a nivel local. Hoy en día se han convertido en una parte esencial de los laboratorios de microbiología y aseguran una mayor calidad de los datos ofrecidos (Cantón, R. 2010).

Puesto que el análisis de los fenotipos de resistencia permite su clasificación en fenotipos habituales, raros e imposibles, es también imprescindible conocer cuál es la situación epidemiológica de los mecanismos de resistencia en el área geográfica en la que se esté

aplicando la lectura interpretada del antibiograma. Con esto puede mejorarse el reconocimiento de los mecanismos de resistencia habituales y la detección fenotípica de los nuevos (Cantón, R. 2010).

### 2.8.2.1. Limitaciones en la lectura e interpretación del antibiograma

La lectura interpretada del antibiograma requiere la aplicación de numerosos conocimientos que puede limitar su proceso. Estos conocimientos están fundamentalmente asociados a:

- i. la propia naturaleza de los mecanismos de resistencia, sus bases genéticas, expresión y epidemiología;
- ii. los antimicrobianos y su farmacología, incluidas la Pk, la Pd y la relación Pk/Pd, y
- iii. la relación entre la utilización clínica de los antimicrobianos y el posible éxito o fracaso terapéutico, sobre todo en las infecciones producidas por bacterias resistentes

Una de las limitaciones más importantes de la lectura interpretada del antibiograma deriva de la propia complejidad de los mecanismos de resistencia, sobre todo en aquellas bacterias multirresistentes que presentan varios mecanismos de resistencia. También esta limitación está motivada por la existencia de un mayor número de mecanismos que son capaces de afectar a un mismo antimicrobiano o a varios de la misma familia. Este fenómeno de multirresistencia también se ha denominado capitalismo genético, que incide en el hecho de que una bacteria resistente tiene mayor probabilidad de acumular mayor número de mecanismos de resistencia (Cantón, R. 2010).

Por otra parte, la presencia de mecanismos de resistencia intrínsecos puede enmascarar la adquisición de otros mecanismos, tal y como sucede en los bacilos gramnegativos no fermentadores (Cantón, R. 2010).

El conocimiento genético de los mecanismos asociados a la multirresistencia y la corresistencia (transposones, integrones, secuencias de inserción, procesos de conjugación y recombinación) puede explicar su fundamento, pero no da respuestas

interpretativas en el antibiograma. En un futuro, la aplicación de las técnicas moleculares podrá parcialmente resolver este problema, aunque debe recordarse que la presencia de un determinante de resistencia no implica por sí mismo su expresión y, por tanto, la resistencia fenotípica (Cantón, R. 2010).

## 2.9. Antibióticos

La palabra "antibiótico" deriva de dos palabras griegas clásicas, anti ("contra") y bios ("vida"). Por lo tanto, los antibióticos son en principio sustancias "contra la vida". De hecho, son moléculas de bajo peso molecular (típicamente <1.000 daltons) que son selectivamente contra la vida bacteriana, es decir, agentes antibacterianos (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016)

Los antibióticos están dirigidos a inhibir el crecimiento bacteriano a nivel de la replicación del ADN, la transcripción del ARN, síntesis de proteínas o pared celular, siendo esto posible mediante la inhibición de ciertas enzimas o estructuras bacterianas involucradas en estos procesos. El descubrimiento de los antibióticos en la primera mitad del siglo XX es considerado uno de los éxitos médicos más relevantes y propició que la humanidad pensara que ciertas enfermedades quedarían relegadas a un segundo plano; sin embargo, al pasar del tiempo ciertos grupos de antibióticos no actúan con la misma intensidad en comparación con épocas anteriores y además son muchos los microorganismos que han generado resistencia hacia ciertos grupos de agentes antimicrobianos; esta resistencia se puede deber a la conjunción de dos circunstancias, la primera se refiere a la capacidad de las bacterias para producir permanentemente cambios genéticos y la segunda se refiere al uso masivo e inadecuado de los antibióticos en algunas unidades médicas, por algunos profesionales de la salud y la sociedad en general (Galván, M., 2017).

Después del descubrimiento y de la amplia propagación del uso de las sulfonamidas y la penicilina a mediados del siglo XX, el período comprendido entre 1950 y 1970 fue la "edad de oro" de los descubrimientos de antimicrobianos. (OMS, 2002).



Históricamente, las infecciones bacterianas se han tratado empíricamente, en base a síntomas tales como infecciones del torrente sanguíneo (bacteriemias), piel e infecciones de tejidos blandos, neumonía, meningitis, infecciones intraabdominales, etc., más que en la identificación inicial del patógeno bacteriano causante. Esta falta de identificación de patógenos en el momento del tratamiento reforzó el deseo de desarrollar antibióticos de amplio espectro, para un conjunto diverso de patógenos potenciales (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

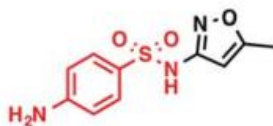
Dependiendo del objetivo en la bacteria y el modo de acción de un antibiótico dado, el efecto neto puede llevar a la muerte y se designa bactericida. Si la molécula inhibe el crecimiento y la proliferación pero no mata las bacterias, es bacteriostático

### 2.9.1. Antibióticos sintéticos

El enfoque de los productos químicos sintéticos para los antibióticos ha revelado tres clases moleculares distintas que están en uso actual como antibióticos.

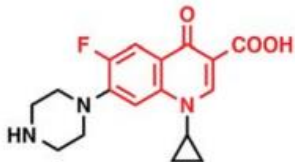
1. El primero de estos fueron las sulfonamidas, introducidas en la década de 1930. Las siguientes generaciones de sulfamidas aún se recetan 80 años después.
2. Las fluoroquinolonas comprenden la segunda clase de antibióticos sintéticos. Por ejemplo, el ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro disponible por vía oral utilizados, entre otros contextos, en infecciones del tracto urinario, infecciones del tracto respiratorio inferior, sinusitis y fiebre tifoidea.
3. La tercera clase derivada de novo de los marcos moleculares sintéticos son las oxazolidinonas, con linezolid como el antibiótico de primera generación en este grupo. Originalmente preparado y cribado como un agroquímico, el andamio de oxazolidinona ha demostrado ser potente para el bloqueo de la síntesis de proteínas bacterianas (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

Sulfonamidas



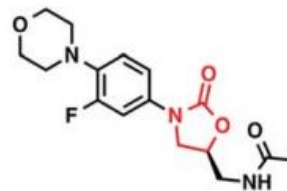
Sulfametoxazol

Fluoroquinolonas



Ciprofloxacino

Oxazolidinonas





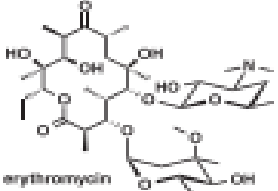
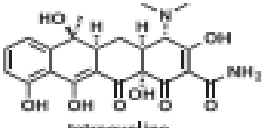
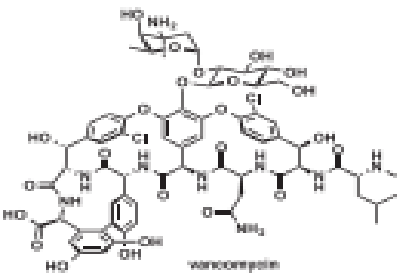
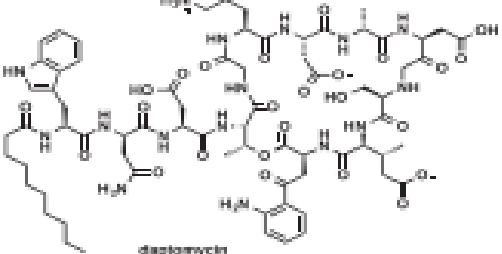
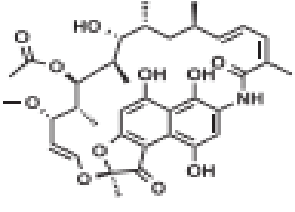
Linezolid

Figura 29. Clases de antibióticos sintéticos (Modificado de Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

## 2.9.2. Antibióticos naturales

La otra vía paralela de descubrimiento de antibióticos durante la mayor parte del siglo pasado ha sido el descubrimiento de antibióticos en la naturaleza, que generalmente son producidos por microbios, bacterias y hongos para combatir otros microbios en su microambiente inmediato. Se han detectado muchos cientos de antibióticos de productos naturales. Un enfoque históricamente fructífero fue el ensayo de muestras de suelo extraídas con disolventes orgánicos, como acetato de etilo o metanol, para separar las moléculas activas de la fase acuosa. Bioensayo guiado el fraccionamiento (como las determinaciones CMI) permitió la purificación de antibióticos naturales (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

Tabla 7. Antibióticos naturales en uso clínico humano (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

Año	Clase	Diana	Estructura
1940	$\beta$ -lactámicos	Peptidoglicano	 <p>penicillin G</p>
1950	Aminoglucósidos	Subunidad 30S del ribosoma	 <p>kanamycin</p>
1952	Macrólidos	Subunidad 50S del ribosoma	 <p>erythromycin</p>
1949	Tetraciclinas	Subunidad 30S del ribosoma	 <p>tetracycline</p>
1958	Glicopéptidos	Lípido II	 <p>vancomycin</p>
2007	Lipopéptidos	Membrana bacteriana	 <p>daptomycin</p>
1957	Plicétidos	RNA polimerasa	 <p>rifamycin SV</p>

## 2.9.3. Objetivos de los principales grupos de antibióticos

Cuando una molécula ha sido identificada en ensayos de inhibición del crecimiento bacteriano para tener actividad antibiótica, los estudios sobre el mecanismo de acción pueden proporcionar información sobre el objetivo (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

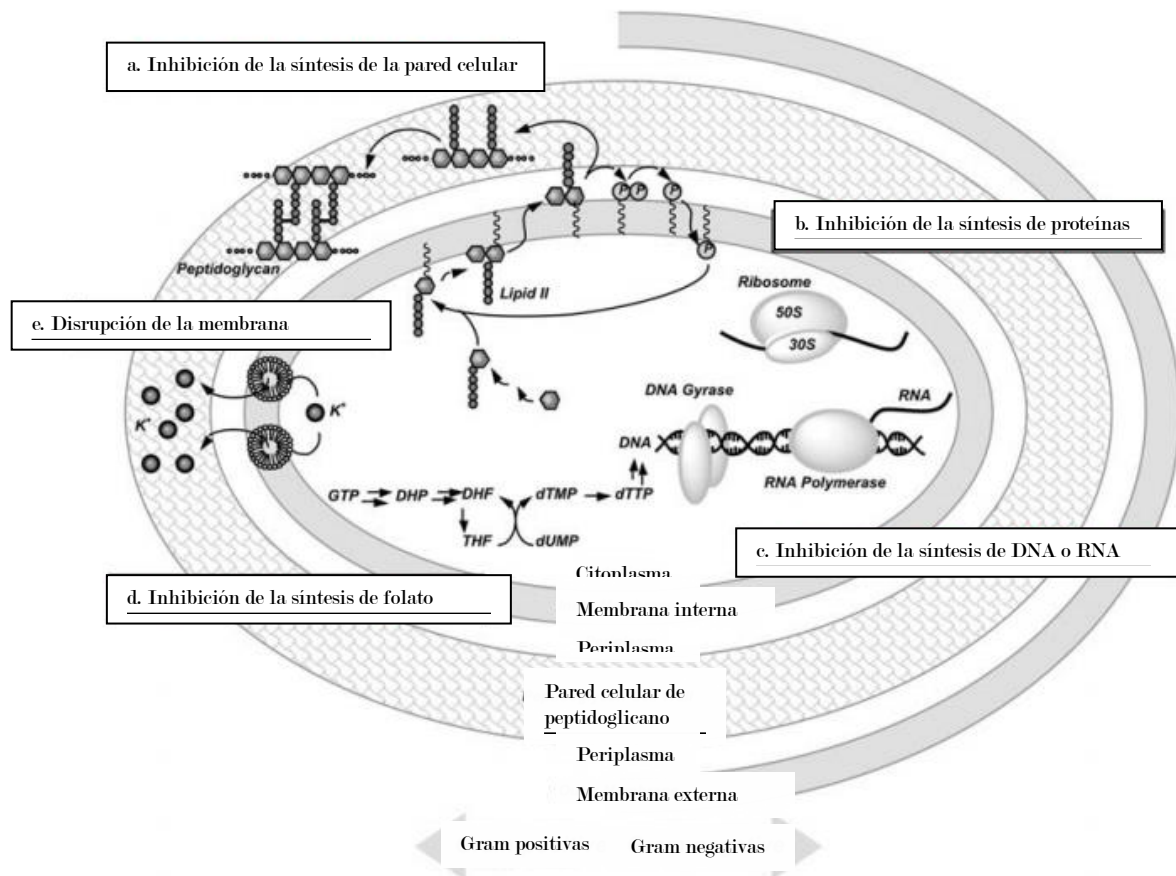


Figura 30. Dianas de las principales familias de antibióticos (Modificado de Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

### 2.9.3.1. Biosíntesis de la pared celular

El ensamblaje y el mantenimiento de la pared celular bacteriana es crucial para que la mayoría de las bacterias pueda soportar los cambios en la presión osmótica que de otro modo lisarían las células (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

Dos conjuntos de antibióticos ampliamente utilizados, los  $\beta$ -lactámicos de la clase de penicilina y cefalosporina y los glucopéptidos de la clase de vancomicina, interfieren con los pasos de entrecruzamiento extracelular y debilitan la resistencia mecánica de la capa de peptidoglicano (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

### 2.9.3.2. Integridad de la membrana celular

La integridad de la membrana celular como barrera para el escape no controlado de iones y pequeñas moléculas dentro y fuera de las células es un requisito obligatorio para las células bacterianas. El lipopéptido antibiótico daptomicina parece alterar la integridad de la membrana como la base de su modo de acción. Además, los péptidos que contienen lantionina, como la nisina, conocidos colectivamente como lantibióticos, que se utilizan como conservantes de alimentos para matar bacterias y detener el crecimiento de esporas de tales bacterias formadoras de esporas ya que los clostridios pueden formar poros de membrana transitorios por complejación con un intermedio de peptidoglicolípidos en la fase de membrana del ensamblaje de peptidoglucano (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

### 2.9.3.3. Biosíntesis de proteínas

En cada generación de células, las bacterias producen miles de proteínas que llevan a cabo las diversas funciones de supervivencia, crecimiento y división. Hay docenas de pasos, desde la selección y activación de bloques de construcción de aminoácidos, acompañamiento de aminoacil-ARNt al ribosoma, condensación del enlace peptídico, hasta elongación de la cadena y pasos de terminación en el ribosoma, que pueden ser interferidos por antibióticos. La alteración de la biosíntesis de proteínas conduce a la muerte celular bacteriana. El más conocido de los antibióticos que bloquean la síntesis de proteínas bacterianas se dirige a la pequeña subunidad ribosómica (tetraciclinas y aminoglucósidos) o la subunidad grande (eritromicinas, estreptograminas y lincosamida), pero literalmente hay un compendio A (azitromicina) a Z (Zyvox) de antibióticos dirigidos a ribosomas (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

#### 2.9.3.4. Metabolismo de DNA y RNA.

El bloqueo selectivo de la transferencia de información en el metabolismo macromolecular de las células bacterianas puede extenderse más allá de la inhibición de la biosíntesis de proteínas. La interferencia con uno o más de los muchos pasos en la replicación del ADN o la transcripción del ADN en el ARN también debería ser bactericida. Las fluoroquinolonas sintéticas antibacterianas, durante años la clase de antibióticos más ampliamente prescrita, se dirigen a un paso de desconcentración al final de la replicación del ADN llevada a cabo por la enzima ADN girasa. La clase de rifampicina de productos naturales se une a ARN polimerasa bacteriana en el borde del sitio activo y así bloquear la transcripción de ADN en ARN (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

#### 2.9.3.5. Biosíntesis de folato

El quinto conjunto históricamente importante de objetivos para antibióticos clínicamente útiles no está directamente involucrado en la biosíntesis de macromoléculas celulares como los cuatro ejemplos anteriores, sino que es un vía para construir y reciclar la forma de la coenzima de la vitamina ácido fólico. Se requiere el estado de tetrahidrooxidación del anillo de pteridina del folato para la conversión del resto de uracilo en 20-dUMP en la 5-metil (timidina) resto en dTMP, uno de los cuatro bloques de construcción para la biosíntesis del ADN. Los antibióticos sulfonamida, en uso continuo durante los últimos 80 años, actúan como inhibidores competitivos para para-aminobenzoato en la maduración del andamio de folato. La combinación de trimetoprima y una sulfonamida se recetó ampliamente durante décadas para bloquear la síntesis de ADN bacteriano (Walsh, C. & Wencewicz, T., 2016).

#### 2.9.4. Seguridad en la utilización de antimicrobianos

Los efectos adversos relacionados con la utilización de antimicrobianos constituyen un problema importante de salud en el ámbito hospitalario. El sistema de utilización de los

medicamentos en los hospitales es complejo, abarca diferentes etapas e implica la participación de diferentes profesionales y está sujeto a errores (Rodríguez, J, et al., 2012).

Cada institución sanitaria debe identificar los procesos en los que se producen errores con más frecuencia y desarrollar medidas de prevención específicas para cada etapa y para cada uno de los profesionales implicados, dirigidas a mejorar la seguridad en la utilización de los medicamentos (Rodríguez, J, et al., 2012).

En el caso de los antimicrobianos, existen algunos aspectos específicos que se deben considerar:

- *Momento de la administración de la primera dosis:* Existe relación entre el retraso en la administración de la primera dosis de antimicrobiano activo y la mortalidad en diversas infecciones graves (meningitis, sepsis grave o shock). Deben implementarse medidas que garanticen una rápida disponibilidad del fármaco y su inmediata administración, sin esperar a los horarios estándar para la medicación.
- *Horario de las dosis siguientes:* Es imprescindible no olvidar ninguna dosis del antimicrobiano, y administrarlo según la pauta de dosificación indicada.
- *Compatibilidad de infusiones:* Debe comprobarse en todos los casos que la administración de más de un fármaco se realice por la misma luz del catéter.
- *Velocidad de la infusión intravenosa:* Deben seguirse las indicaciones para la administración (en bolo, en perfusión extendida o en perfusión continua). En caso de indicarse la administración en perfusión extendida o continua debe comprobarse la estabilidad del fármaco.
- *Alergias a antibióticos:* No por obvio, y aunque no sea específico de los antimicrobianos, debe omitirse en este apartado la necesidad de considerar la historia de alergia a antimicrobianos antes de prescribir y administrar los antibióticos que, en ocasiones, por la necesidad de ganar tiempo en la administración de la primera dosis, puede pasar inadvertida. A este respecto debe

considerarse también que la mayoría de las ocasiones en que un paciente dice ser alérgico a un antibiótico no lo es realmente y que esto puede conducir a la utilización de fármacos menos eficaces, más tóxicos y más costosos que los tratamientos de primera línea. Por ello, en caso de que un paciente afirme ser alérgico a los antibióticos es fundamental hacer una historia clínica detallada que se centre en el tipo de reacción experimentada, en la utilización reciente de antibióticos de la misma familia que el supuestamente causante de la alergia y si el paciente ha sido evaluado específicamente por un alergólogo. En caso de que la anamnesis no permita descartar razonablemente un cuadro alérgico es recomendable asumir el diagnóstico, plantear una alternativa terapéutica y remitir al paciente a dicho especialista (Rodríguez, J, et al., 2012).

## 2.10. Expectativas y pronósticos a nivel nacional y mundial

La evolución epidemiológica de México se caracteriza por la coexistencia tanto de enfermedades pertenecientes al grupo de las causas infecciosas y parasitarias, como al grupo de las crónico-degenerativas.

A través del InDRE, se proporcionan servicios de diagnóstico y referencia a la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLS) y en general a la población mexicana. El InDRE participa además en las redes globales de detección de patógenos emergentes y reemergentes así como también en el monitoreo de la resistencia a los antimicrobianos de microorganismos con impacto en salud pública. Por ello resulta imperativo el intercambio de insumos, tecnologías y material biológico valioso entre los laboratorios de referencia así como la implementación conjunta de programas y acciones para el manejo y control de la resistencia a los antimicrobianos (Secretaría de Salud 2014).

Las I.A.A.S. agravan la discapacidad funcional y la tensión emocional del paciente y, en algunos casos, pueden ocasionar trastornos incapacitantes que reducen la calidad de la



vida. Son una de las principales causas de defunción. Los costos económicos son enormes. Una estadía prolongada de los pacientes infectados es el mayor factor contribuyente al costo (OMS, 2002).



**RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS**

**MANÉJALOS ANTIBIÓTICOS CON CUIDADO**

La **resistencia a los antibióticos** ocurre cuando las bacterias cambian y se vuelven resistentes a los antibióticos que se usan para tratar las infecciones que estas bacterias causan. Esta resistencia está comprometiendo nuestra capacidad para tratar las enfermedades infecciosas y socavando muchos avances en la medicina.

Debemos manejar con cuidado los antibióticos para que continúen siendo eficaces por el mayor tiempo posible.

**¿QUÉ PUEDE HACER?**

- 1 Utilice los antibióticos sólo cuando un profesional de salud certificado se los recete
- 2 Tome siempre el **tratamiento completo**, aun cuando se sienta mejor
- 3 Nunca utilice los antibióticos que le sobraron
- 4 Nunca comparta antibióticos con los demás
- 5 Prevenga las infecciones lavándose con frecuencia las manos, evitando el contacto con personas enfermas y manteniendo sus vacunas al día

[www.who.int/drugresistance/es/](http://www.who.int/drugresistance/es/)

**#AntibioticResistance**

Organización Mundial de la Salud

Figura 31 Cartel de Resistencia a Antibióticos (OMS, 2016.)

## 2.10.1. De la resistencia bacteriana

La revisión de los puntos de corte mediante la utilización de criterios Pk//Pd y de correlación de los valores de CMI con el resultado clínico puede hacer innecesaria que en la lectura interpretada del antibiograma se modifiquen en un futuro las categorías clínicas. Este proceso reforzaría el valor de la CMI como valor predictivo de la eficacia clínica en la utilización de los antimicrobianos y el análisis conjunto de los valores de CMI en el antibiograma tendría gran relevancia en la detección fenotípica de los mecanismos de resistencia. Los sistemas automáticos y semiautomáticos para el estudio de sensibilidad se han incorporado plenamente a los laboratorios de microbiología, se han convertido en herramientas de gran utilidad en el proceso de la lectura interpretada del antibiograma y han facilitado enormemente esta labor al microbiólogo clínico. La lectura interpretada del antibiograma sigue siendo un proceso necesario en el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Ésta es complementaria a la categorización clínica de los resultados de sensibilidad, permite una mejor gestión de éstos, tiene aplicaciones importantes para el tratamiento antimicrobiano y el control de las enfermedades infecciosas, y facilita la participación del microbiólogo en la toma de decisiones clínicas (Cantón, R. 2010).

En la actualidad, la lectura interpretada del antibiograma se ha convertido en uno de los primeros escalones en el estudio de la resistencia a los antimicrobianos. Precisa una aplicación posterior de técnicas de microbiología molecular para la caracterización definitiva del mecanismo de resistencia. Aunque se han producido avances importantes en los últimos años, la automatización de las técnicas de microbiología molecular en el terreno de la resistencia a los antimicrobianos está aún por desarrollarse plenamente. Estas técnicas tienen numerosas ventajas, pero también presentan limitaciones, como las relacionadas con su coste económico, la posible ausencia de correlación entre la presencia de los genes de resistencia y su expresión fenotípica o la hipotética diferencia entre la expresión *in vitro* e *in vivo*. La irrupción de las técnicas y las plataformas de alto rendimiento (*high throughput*) en el ámbito del diagnóstico puede facilitar esta labor, incluso aplicada sobre las muestras de los pacientes y no exclusivamente sobre los

microorganismos aislados. El microbiólogo clínico no es ajeno a este avance en el contexto de su actividad en el laboratorio y en la importancia de su labor en la toma de decisiones. La lectura interpretada del antibiograma continúa siendo de plena actualidad y es necesaria en su actividad clínica (Cantón, R. 2010).

Una de las prioridades de investigación cruciales en la lucha para controlar la resistencia bacteriana es el desarrollo y mantenimiento de los programas, ya sean locales, nacionales, regionales o mundiales, orientados a la vigilancia de la evolución de la resistencia bacteriana a los antibióticos y del uso adecuado de los tratamientos antimicrobianos (Rodríguez, E., et al., 2014).

Debido a la creciente necesidad de desarrollar nuevas clases de antibióticos para combatir bacterias resistentes a los antibióticos, se ha propuesto la identificación de nuevos blancos bacterianos mediante la secuenciación y Debido a la creciente necesidad de desarrollar nuevas clases de antibióticos para combatir bacterias resistentes a los antibióticos, se ha propuesto la identificación de nuevos blancos bacterianos mediante la secuenciación y análisis de los genomas que incluyen la genómica comparativa y la genética molecular. Por su parte, la química y biología estructural están encaminadas a comprender las interacciones entre las sustancias y sus blancos biológicos. Varias estrategias se han intentado para identificar nuevos antibióticos que incluyan otras estructuras además de las ya estudiadas y otras clases funcionales que actúen en patógenos bacterianos multirresistentes, además de ampliar y extender la vida media útil del antibiótico para obtener un mejor éxito durante la terapia antimicrobiana. Por lo regular se han utilizado tres blancos bacterianos: las PBP, los ribosomas y la ADN girasa. Sin embargo, los antibióticos que actúan sobre estos blancos han disminuido su efectividad debido a la multirresistencia. Hoy en día, los avances de la genómica han permitido identificar cientos de nuevos posibles candidatos como blancos bacterianos para inhibir el crecimiento bacteriano. Un blanco preferido ha sido la membrana bacteriana, con el objetivo de afectar la síntesis de los ácidos grasos que la componen. Otra alternativa propuesta es la limitación de la capacidad mutagénica en la bacteria que interfiere con los genes activados en los mecanismos de reparación del ADN (Garza, U., Silva, J. y Martínez, E., 2009).

El uso de antimicrobianos en la práctica clínica es un desarrollo reciente en la historia en comparación con la aparición de organismos bacterianos en nuestro planeta. Por lo tanto, el desarrollo de la resistencia a los antibióticos debe verse como una respuesta adaptativa "normal" y una manifestación clara de los principios de evolución de Darwin. Podría decirse que la implementación de la terapia antimicrobiana en la práctica clínica ha sido uno de los avances más exitosos de la medicina moderna, allanando el camino para intervenciones médicas complejas y altamente sofisticadas que han permitido prolongar significativamente el período de vida de la población en todo el mundo. Para sobrevivir, las bacterias, en un proceso probablemente presionado por el uso creciente de antimicrobianos en la práctica clínica, han desarrollado estrategias complejas y creativas para eludir el ataque de antibióticos. La resistencia a los antibióticos ha evolucionado rápidamente en las últimas décadas hasta convertirse en una de las mayores amenazas para la salud pública del siglo XXI. Una comprensión completa de los mecanismos por los cuales las bacterias se vuelven resistentes a los antibióticos es de suma importancia para diseñar nuevas estrategias para contrarrestar la amenaza de resistencia. Necesitamos desarrollar antibióticos con la comprensión de que el microorganismo responderá a ellos y se desarrollará resistencia (un hecho evolutivo). Por lo tanto, los esfuerzos para desarrollar antibióticos y estudiar los mecanismos de resistencia deben ser continuos, resilientes y constantes (Munita, J., & Arias, C., 2016).

Otro factor importante que causa la aparición de cepas resistentes es el consumo de carne proveniente de animales multitratados o alimentados con productos que contienen antibióticos, esto es un claro ejemplo del uso indiscriminado de antibacterianos, lo cual hace necesario tomar medidas para la racionalización de antibióticos, no solo en el área médica humana sino también en la medicina veterinaria, sobre todo para la encargada de la producción de alimento de origen animal (Pérez, H. y Robles, A., 2013)

Es probable que se trate de una "guerra" de larga duración contra las entidades vivientes con una gran capacidad para adaptarse y sobrevivir (Munita, J., & Arias, C., 2016).

### 3. Justificación

Desde el surgimiento de los antibióticos, las bacterias han logrado adaptarse para poder evitar la acción de estos, aunado al uso indiscriminado de estos y malas prácticas de higiene en centros de atención a la salud; la resistencia a los antibióticos se ha convertido en un grave problema de salud pública en México y a nivel mundial, razón por la cual se han implementado a diferentes niveles planes para el control de esta; desde un nivel institucional (IMSS) hasta un nivel global coordinado por la OMS.

Este estudio se realizó con la finalidad de tener datos estadísticos de la frecuencia de las bacterias que se presentan y sus diferentes fenotipos en el Hospital de Especialidades, para llevar un control interno y continuar la vigilancia en este, así como para involucrar a todo el personal de salud del hospital para frenar la diseminación de estas bacterias y por lo tanto disminuir la frecuencia en que se presentan infecciones intrahospitalarias.

### 4. Objetivos

#### **Objetivo general**

- Realizar el análisis de frecuencia de los microorganismos aislados en los pacientes de un Hospital de Tercer Nivel, analizando la sensibilidad y fenotipos encontrados en un periodo de dos años (2016- 2017)

#### **Objetivos particulares**

- Conocer los principales fenotipos presentes en las diferentes cepas de microorganismos aislados.
- Analizar qué tipo de microorganismos están involucrados con las Infecciones Asociadas a la Atención a la Salud (I.A.A.S.) presentadas en un hospital de tercer nivel, así como sus repercusiones a nivel intrahospitalario.

- Estudiar los cambios en el comportamiento de los mecanismos de resistencia microbiana en un periodo de dos años y analizar posibles causas de estos.
- Evaluar el PROA implementado en el hospital en el año 2017 en comparativa con el año 2016
- Dar a conocer un panorama epidemiológico sobre la resistencia a antibióticos y su relación con Infecciones Asociadas a la Atención en Salud.

## 5. Hipótesis

Con el análisis de datos de los años 2016 y 2017 se conocerán los principales microorganismos que afectan a la población y pacientes hospitalizados que atiende el Hospital de Especialidades del C.M.N. Siglo XXI, y sus mecanismos de resistencia, así como medidas para frenar el uso indiscriminado de antibióticos.

## 6. Metodología

Se realizó un estudio descriptivo, observacional y retrospectivo en expedientes pertenecientes al archivo clínico de la U.M.A.E. Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Los cultivos y el antibiograma se procesaron en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital, se utilizó el equipo VITEK-2® de BioMerieux® y cumpliendo con las políticas internas del laboratorio de la institución.

Se determinó la significancia estadística en la diferencia de sensibilidad de las bacterias a los distintos antibióticos en ambos años haciendo uso de chi cuadrada ( $\chi^2$ ) con un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0.05$ ).

### **1) Aislamiento de los microorganismos de las diferentes muestras del hospital**

- I. Cada una de las distintas muestras que llegaron al laboratorio se procesaron para el aislamiento de posibles microorganismos presentes.

- II. Dependiendo de la muestra, ésta se siembra en diferentes medios de cultivo (CPS, AS, MC, Agar Gardnerella, ACh, SDA, Frascos de Hemocultivos)
- III. Pasado el tiempo de incubación se detecta el microorganismo abundante y posible patógeno en la muestra
- IV. Se hace el aislamiento de este para su identificación
- V. Se hace la identificación y el antibiograma con determinación de sensibilidad/resistencia por el sistema automatizado Vitek
- VI. Los datos pasan a una base de datos interna del sistema Vitek

## **2) Extracción de datos de las bases de datos del hospital**

- I. Los datos encontrados en el sistema Modulab se pasan al sistema Observa (Biomérieux)
- II. Se extraen los datos de la base de datos para hacer el análisis estadístico que contempla:
  - Incidencia bacteriana y fenotipos aislados para hacer la comparativa entre dos años
  - Análisis de cambio en fenotipos entre los dos años contemplados
  - Variables como género y servicio hospitalario del que procede la muestra de la cual fue aislado el microorganismo

## 7. Resultados y Discusión

Tabla 8. Resultados de incidencia total en 2016 y 2017

	Incidencia total 2016	Incidencia total 2017
<i>Enterococcus faecalis</i>	339	353
<i>Enterococcus faecium</i>	124	150
<i>Streptococcus agalactiae</i>	44	NA
<i>Staphylococcus aureus</i>	260	427
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	45	NA
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	233	399
<b>Gran Positivas</b>	<b>1045</b>	<b>1329</b>
<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	221	245
<i>Citrobacter freundii</i>	31	NA
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	60	93
<i>Escherichia coli</i>	1252	1019
<i>Klebsiella oxytoca</i>	44	NA
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	311	310
<i>Proteus mirabilis</i>	59	58
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	347	269
<b>Gram Negativas</b>	<b>2325</b>	<b>1994</b>

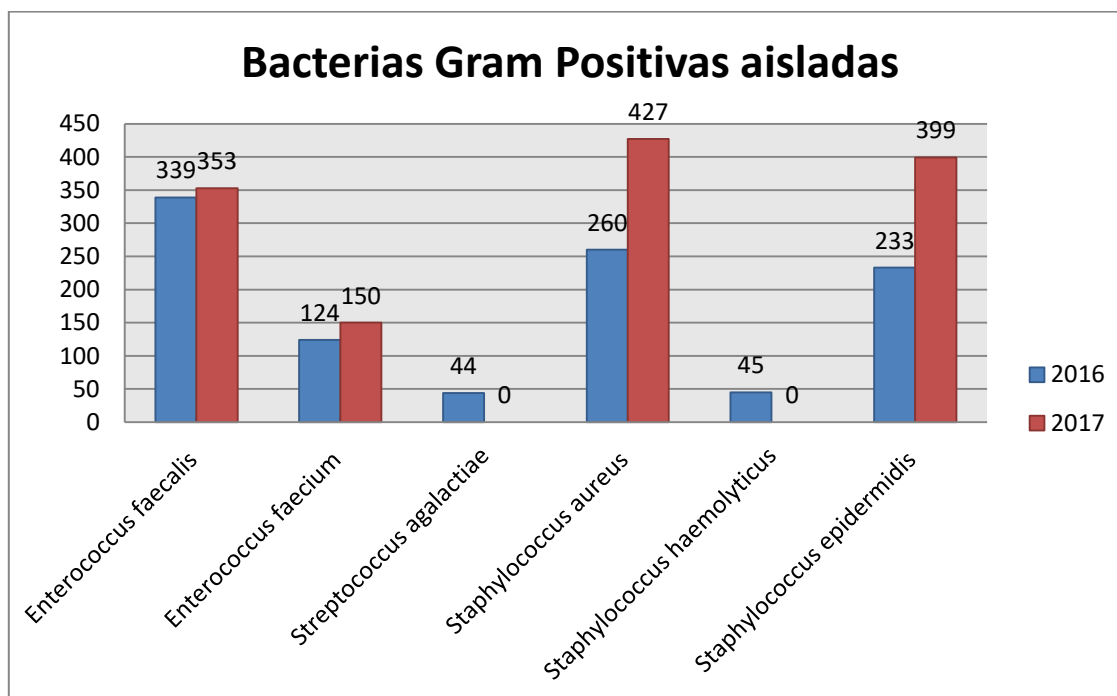


## Aislamientos anuales de Bacterias Gram Positivas y Negativas

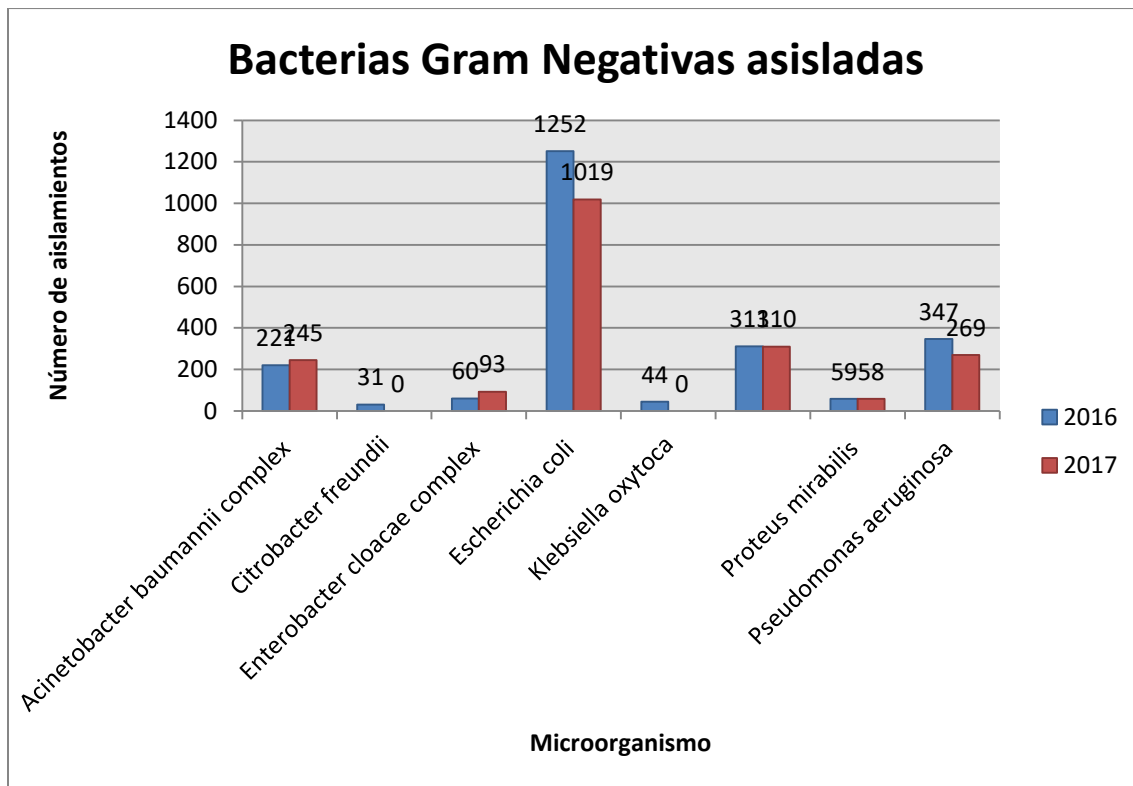
La resistencia a los antimicrobianos ha tomado mayor importancia en los últimos años en estudios epidemiológicos tanto en las unidades de atención a la salud como los hospitales, para tener un control de la terapia antibiótica que se receta a los pacientes así como para conocer la incidencia de bacterias que son contraídas dentro de estos, conocidas antiguamente como “infecciones nosocomiales”.

La actual complejidad en el manejo de las enfermedades infecciosas y del aumento de las resistencias hace imprescindible el establecimiento de programas de optimización del uso de antimicrobianos en los hospitales (PROA). (Rodríguez, J., Paño, J., Álvarez, L., Asensio, A., Calbo, E., Cercenado, E... Sierra, R., 2012)

En este trabajo se realizó un análisis retrospectivo de los años 2016 y 2017 de la U.M.A.E (Unidad Médica de Atención Especializada) del Centro Médico Nacional Siglo XXI, para la continua implementación de los PROA dentro del hospital.



Gráfica 1 Aislamiento de bacterias Gram Positivas en 2016 y 2017 de pacientes hospitalizados.

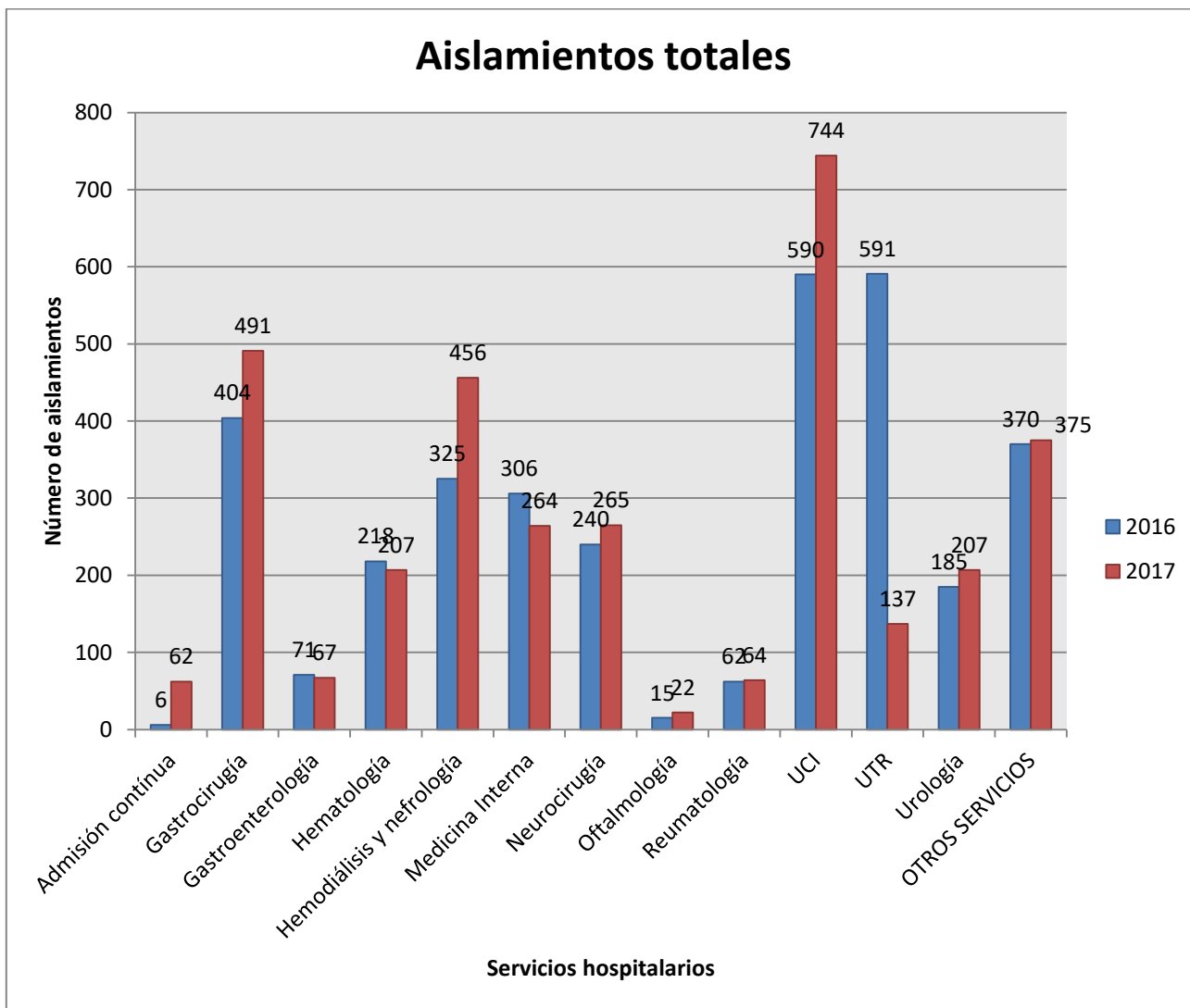


Gráfica 2 Aislamiento de bacterias Gram Negativas en 2016 y 2017 de pacientes hospitalizados.

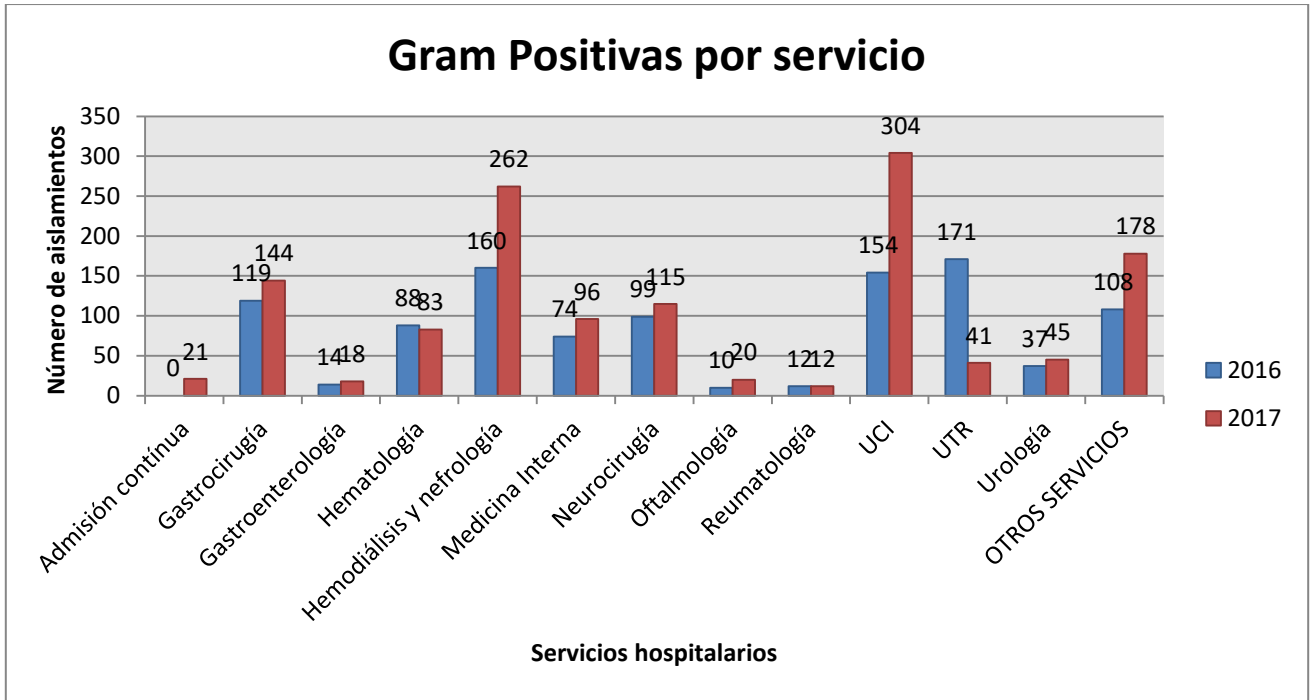
Se obtuvieron un mayor número de aislamientos de bacterias Gram Positivas en 2017 que en 2016 como se muestra en la Gráfica 1. Teniendo en consideración los criterios de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), en 2016 se aislaron 2 bacterias más con más de 30 aislamientos, que fueron *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus haemolyticus*, mientras que en 2017 la incidencia de estas se redujo a menos de 30 aislamientos. La bacteria Gram Positiva con mayor aislamientos en 2016 fue *Enterococcus faecalis* mientras que en 2017 fue *Staphylococcus aureus*.

En la Gráfica 2 que nos muestra los aislamientos de Gram Negativas observamos una tendencia en los aislamientos de *Escherichia coli* predominando sobre las demás Gram Negativas, siendo la bacteria principal causante de Infecciones del Tracto Urinario y siendo los urocultivos el análisis más solicitado en el Laboratorio de Bacteriología, se debe a esto el número de aislamientos. Al igual que como ocurrió con las Gram Positivas, en 2016 se tuvieron dos bacterias con más de 30 aislamientos que en 2017, que fueron *Citrobacter freundii* y *Klebsiella oxytoca*. Los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* aumentaron en 2017 y al ser esta una bacteria que presenta varios factores que la hacen multiresistente, es un dato para tener presente.

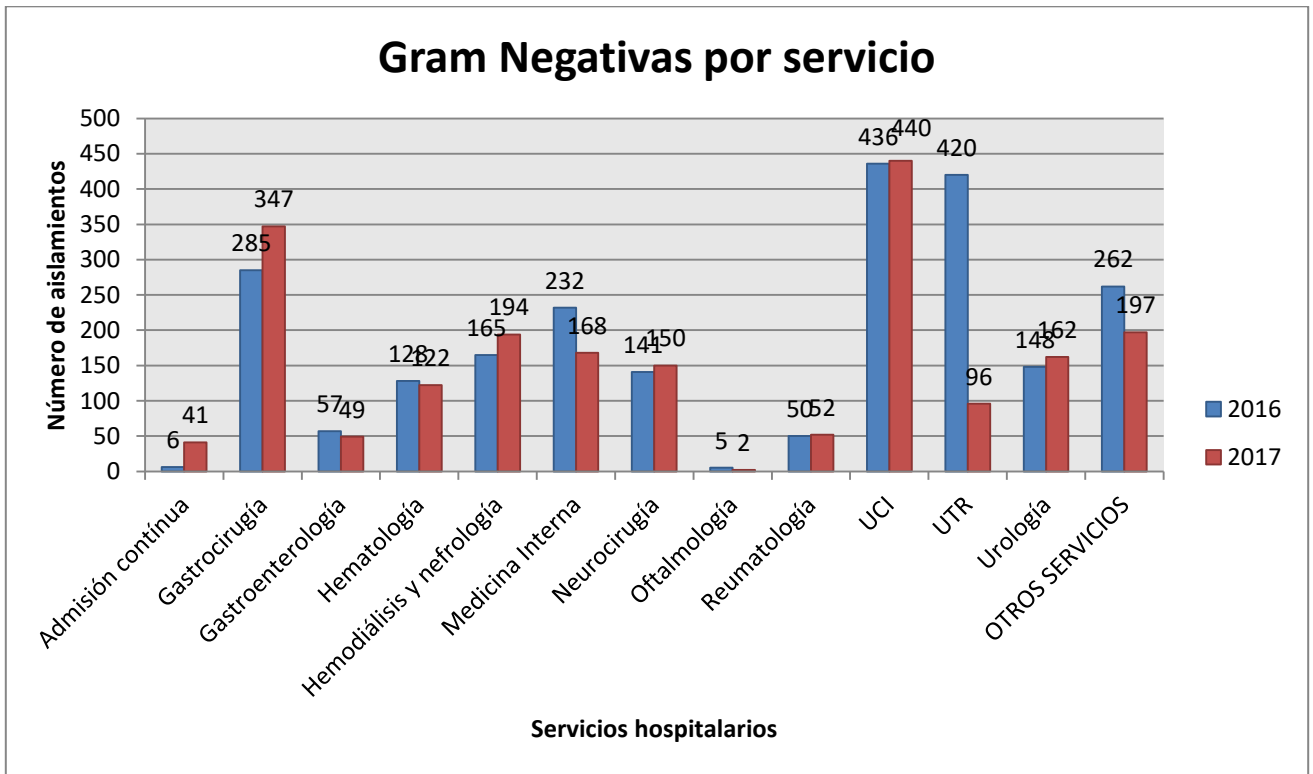
## Aislamientos en 2016 y 2017 totales en los diferentes servicios hospitalarios



Gráfica 3 Incidencia bacteriana total por servicio hospitalario. La barra de “Otros servicios” Incluye a Alergias e Inmunología, Andrología, Angiología,, Cirugía colon-recto, cirugía cuello, cirugía general, cirugía maxilofacial, cirugía reconstructiva, dermatología, endoscopia, Infectología y otorrinolaringología.



Gráfica 4 Incidencia de bacterias Gram Positivas por servicio Hospitalario

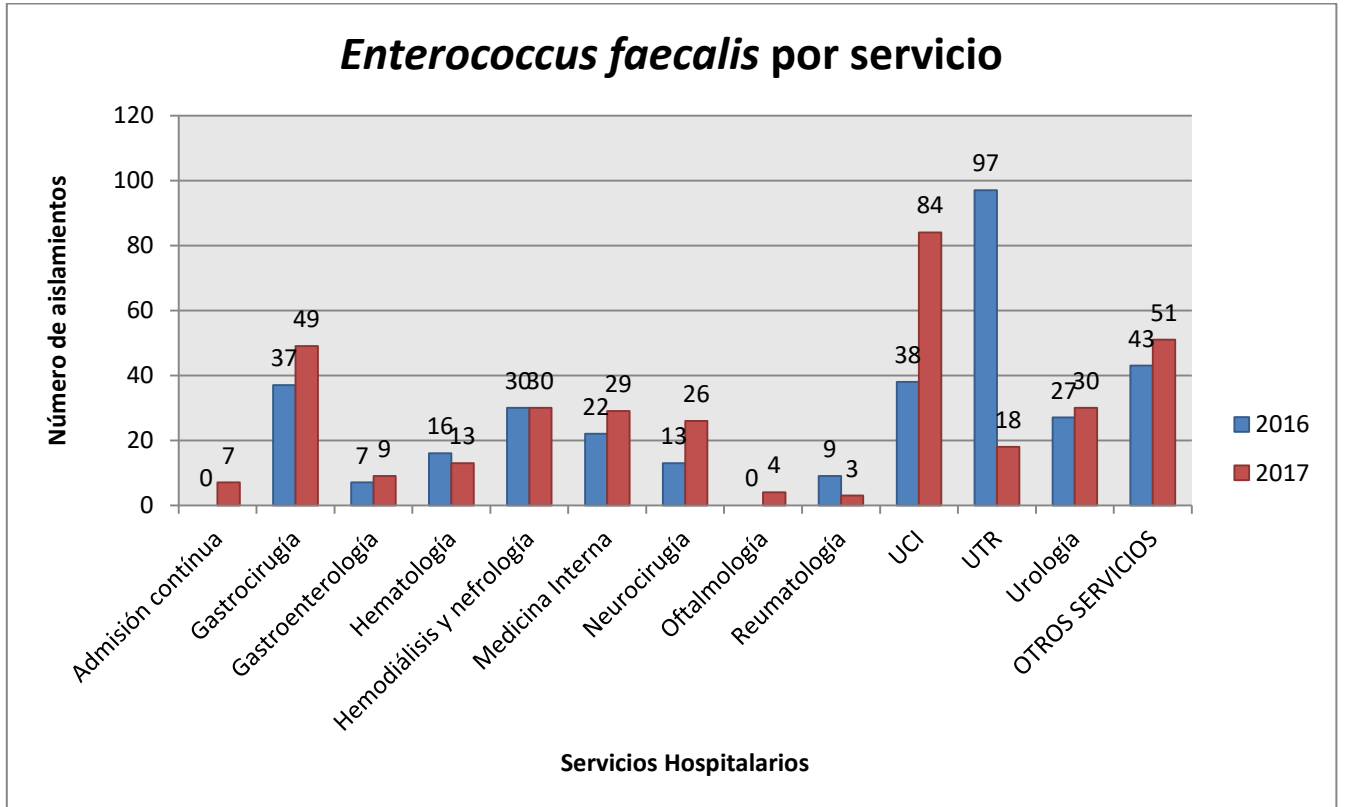


Gráfica 5 Incidencia de bacterias Gram Negativas por servicio Hospitalario

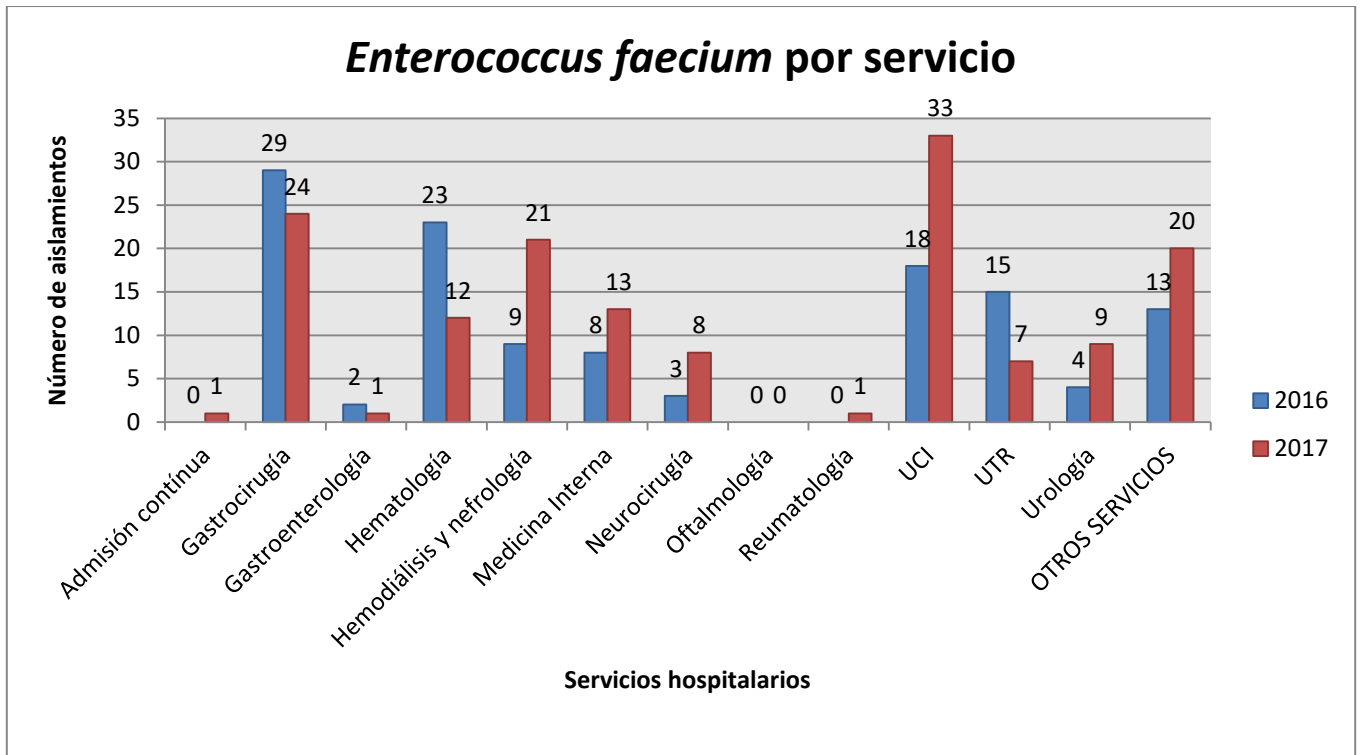
El mayor número de aislamientos se detectó en ambos años en la UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) como observamos en la Gráfica 3. En 2017 hubo una importante disminución en los aislamientos de la UTR (Unidad de Trasplante Renal); sin embargo aumentó en los otros servicios. En la Gráfica 4 se ve claramente que las bacterias Gram Negativas predominaron en cuanto al número de aislamientos. La UCI, Gastrocirugía, Hemodiálisis y Nefrología, Medicina Interna y UTR son los servicios hospitalarios con mayor número de pacientes, lo que los vuelve un factor para que se den las infecciones intrahospitalarias, por lo que se debe tener un mayor cuidado y control del personal como de los pacientes. Los principales tipos de infección relacionada con el sistema sanitario están relacionados con procedimientos invasivos y son la infección respiratoria, la quirúrgica, la urinaria y la bacteriemia de catéter vascular (Pujol, M y Limón, E., 2013)

Los microorganismos grampositivos de mayor trascendencia clínica pertenecen a los géneros *Staphylococcus*, principalmente *Staphylococcus aureus* pero también diferentes especies de estafilococos coagulasa negativa (ECN), *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* y varias especies de *Streptococcus*, entre las que destaca *Streptococcus pneumoniae*. El aislamiento de estas especies en el laboratorio de Microbiología permite la detección de su resistencia antimicrobiana, tanto a nivel fenotípico como, eventualmente, genotípico, lo que posee gran trascendencia clínica y epidemiológica (Ardanuy, C., Cercenado, E., Morosini, M. y Torres, C., 2011)

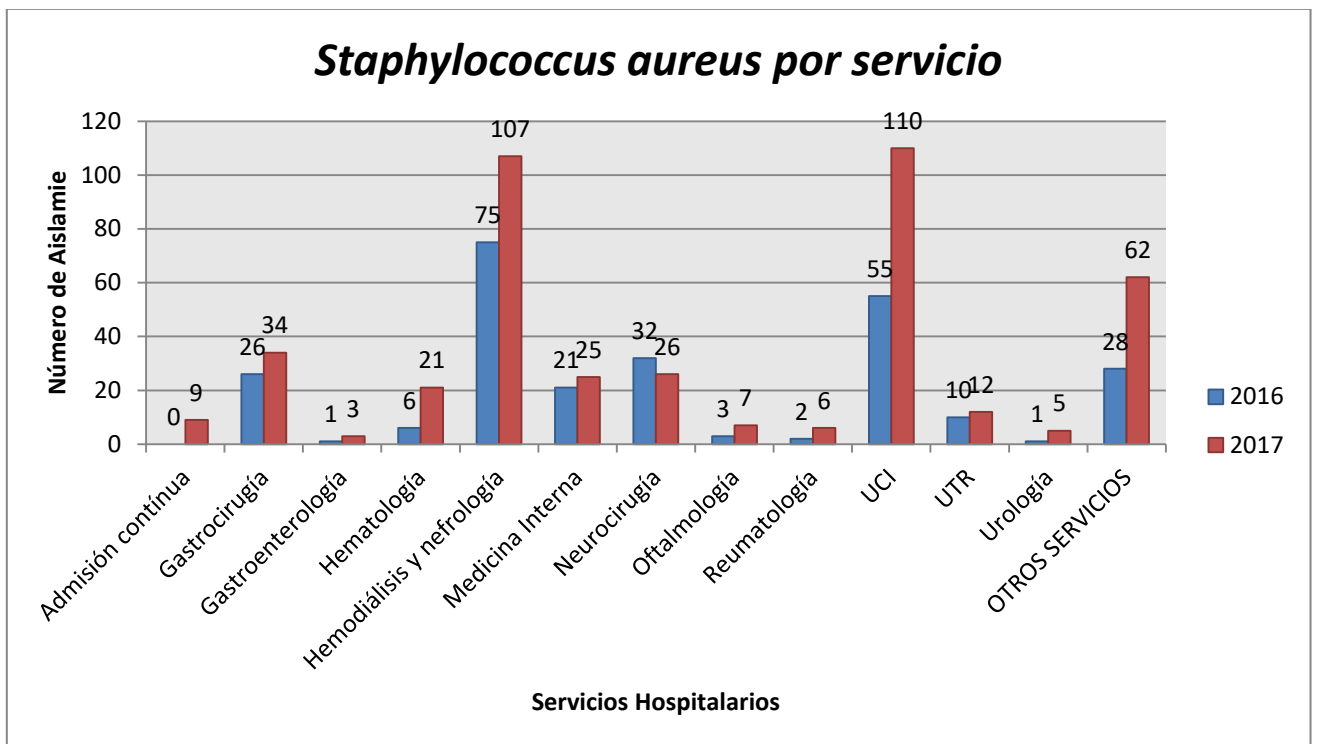
## Aislamientos de bacterias Gram Positivas en los diferentes Servicios Hospitalarios



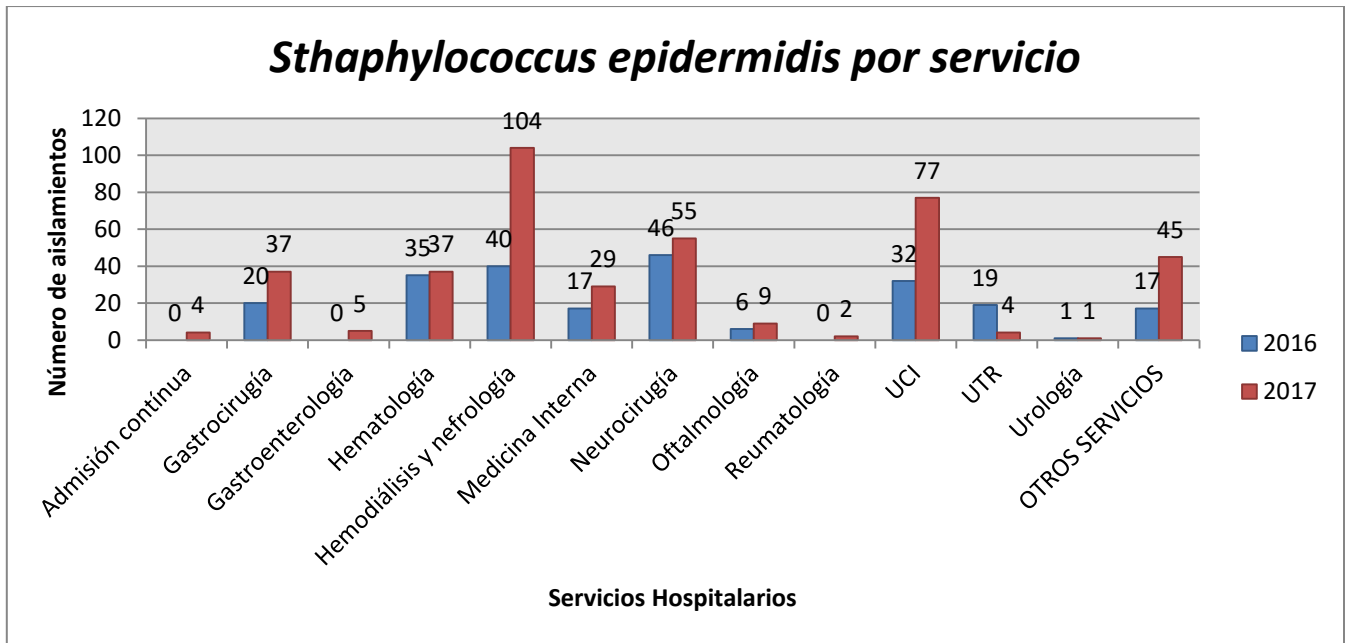
Gráfica 6 Incidencia por servicio Hospitalario de *Enterococcus faecalis*



Gráfica 7 Incidencia por servicio Hospitalario de *Enterococcus faecium*



Gráfica 8 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Staphylococcus aureus*



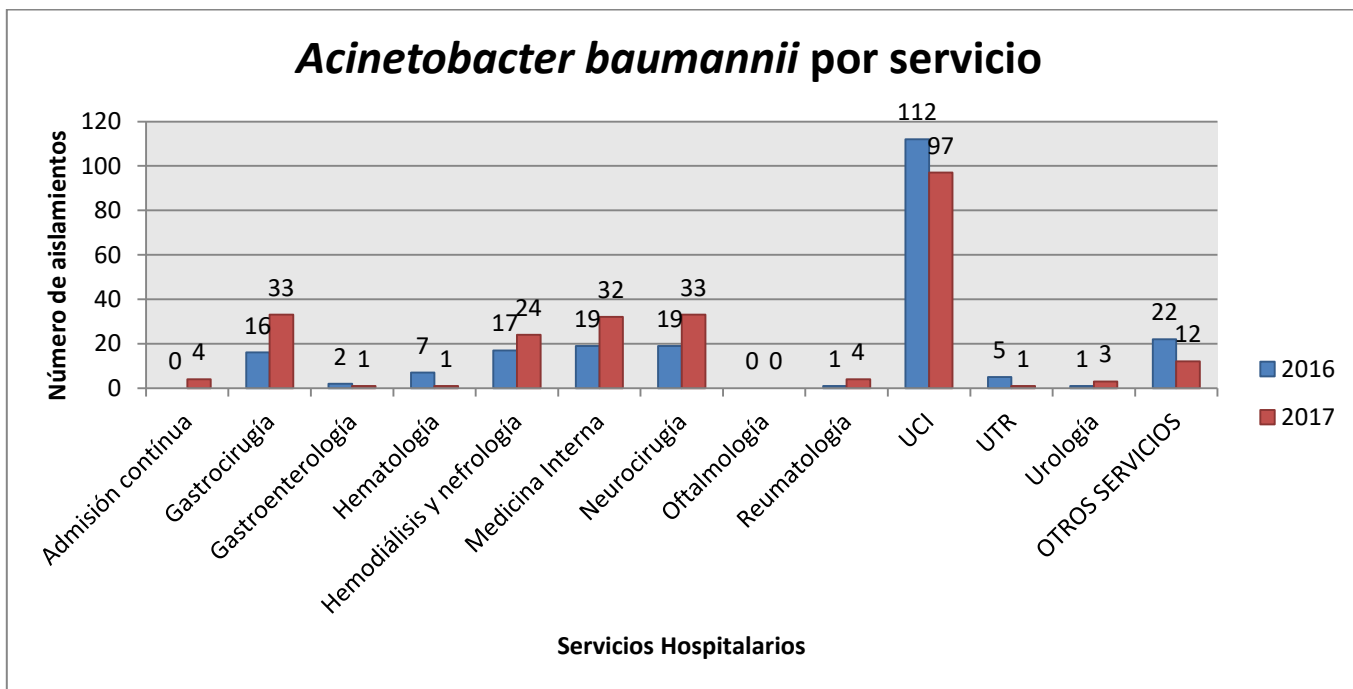
Gráfica 9 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Staphylococcus epidermidis*

*Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* considerados como microbiota normal se pueden encontrar causando infecciones como infecciones urinarias, endocarditis, y en el peor de los casos bacteremias, por lo que la mayoría de sus aislamientos tanto en 2016 como 2017 fueron en la UCI, UTR y Gastrocirugía como se ve en las Gráficas 6 y 7.

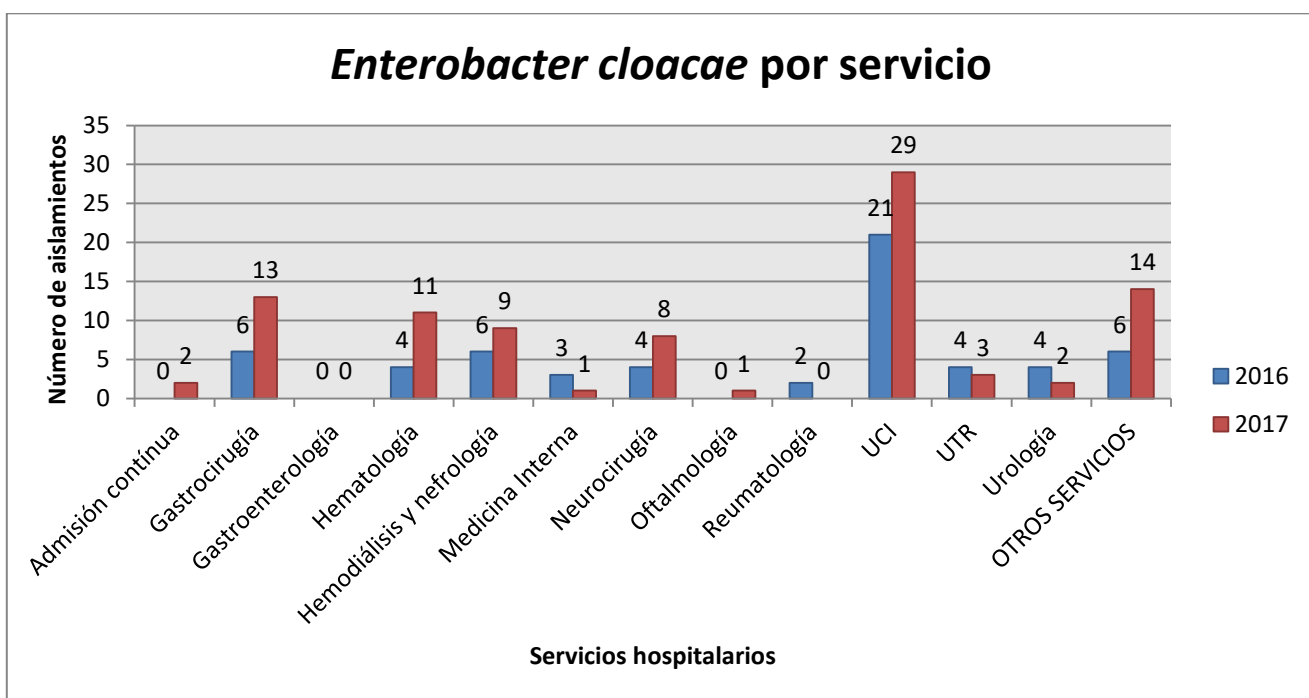
Las bacterias del genero *Staphylococcus* de importancia en estudios epidemiológicos por presentar resistencia son *aureus*, *epidermidis* y *haemolyticus*. Fueron las primeras dos especies de las que más aislamientos de este género se presentaron, siendo *S. aureus* el que mayor número de aislamientos tuvo, principalmente en Hemodiálisis y nefrología y en la UCI, aumentando en 2017 (Gráfica 8). Sin embargo la sensibilidad a distintos antibióticos de *S. aureus* en ambos años se mantuvo constante observándolo en la Gráfica 32, habiendo un aumento a la sensibilidad en 2017. Esto concuerda con los fenotipos encontrados (Gráfica 42), pues de 2016 a 2017 se redujo del 62% al 41% en la detección del gen *mecA* que presentan las cepas de SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a la *meticilina*), presentando la resistencia por proteínas fijadoras de penicilina (PBP)



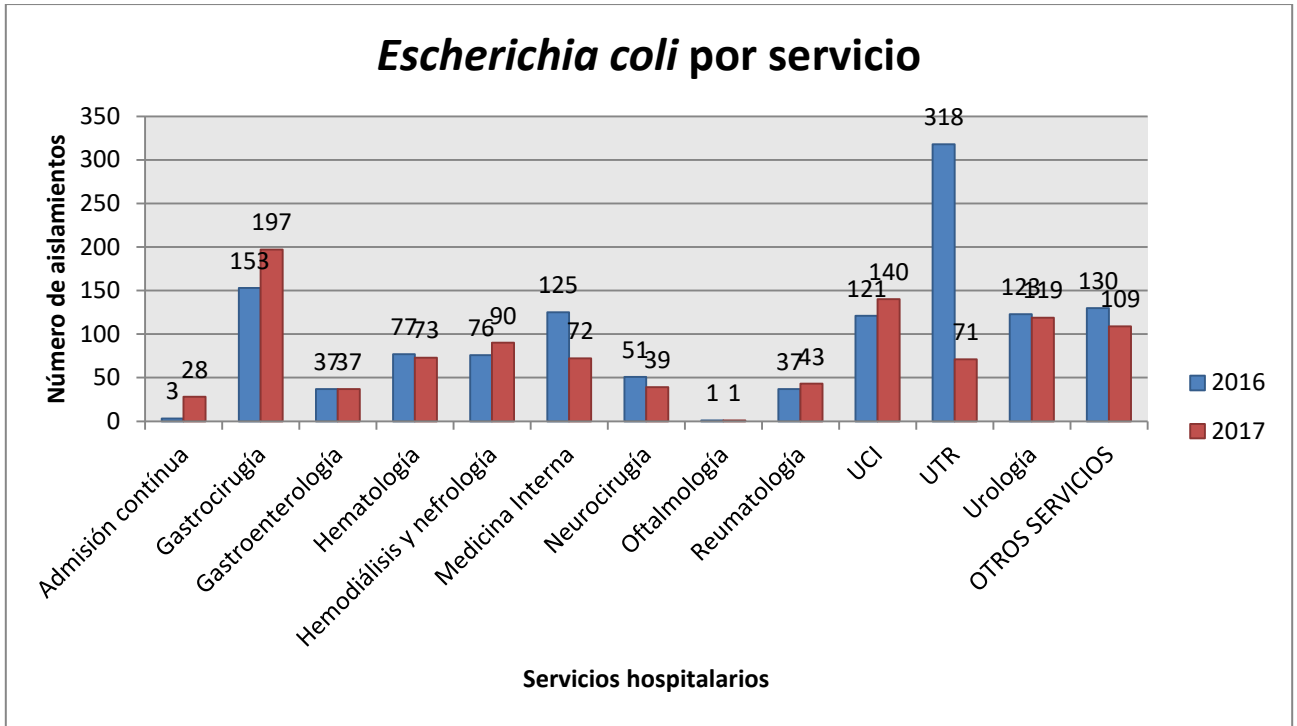
## Aislamientos de bacterias Gram Negativas en los diferentes Servicios Hospitalarios



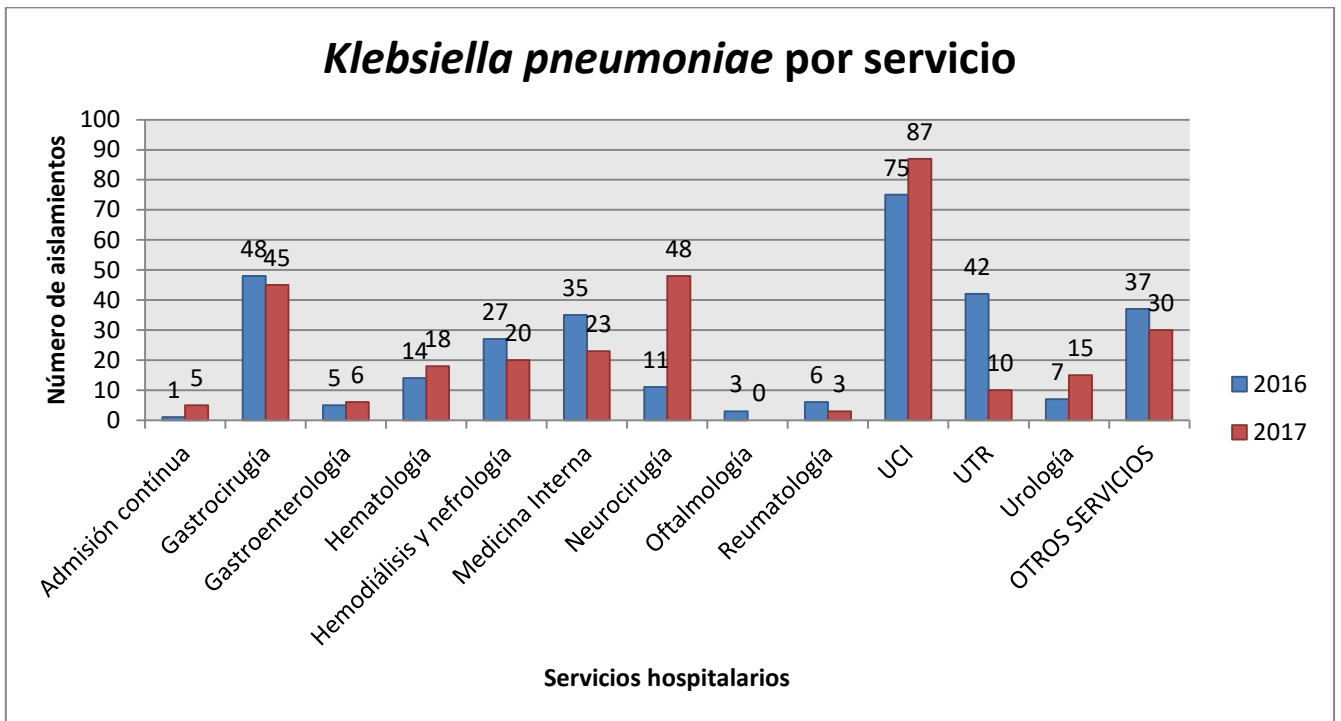
Gráfica 10 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Acinetobacter baumannii* complex



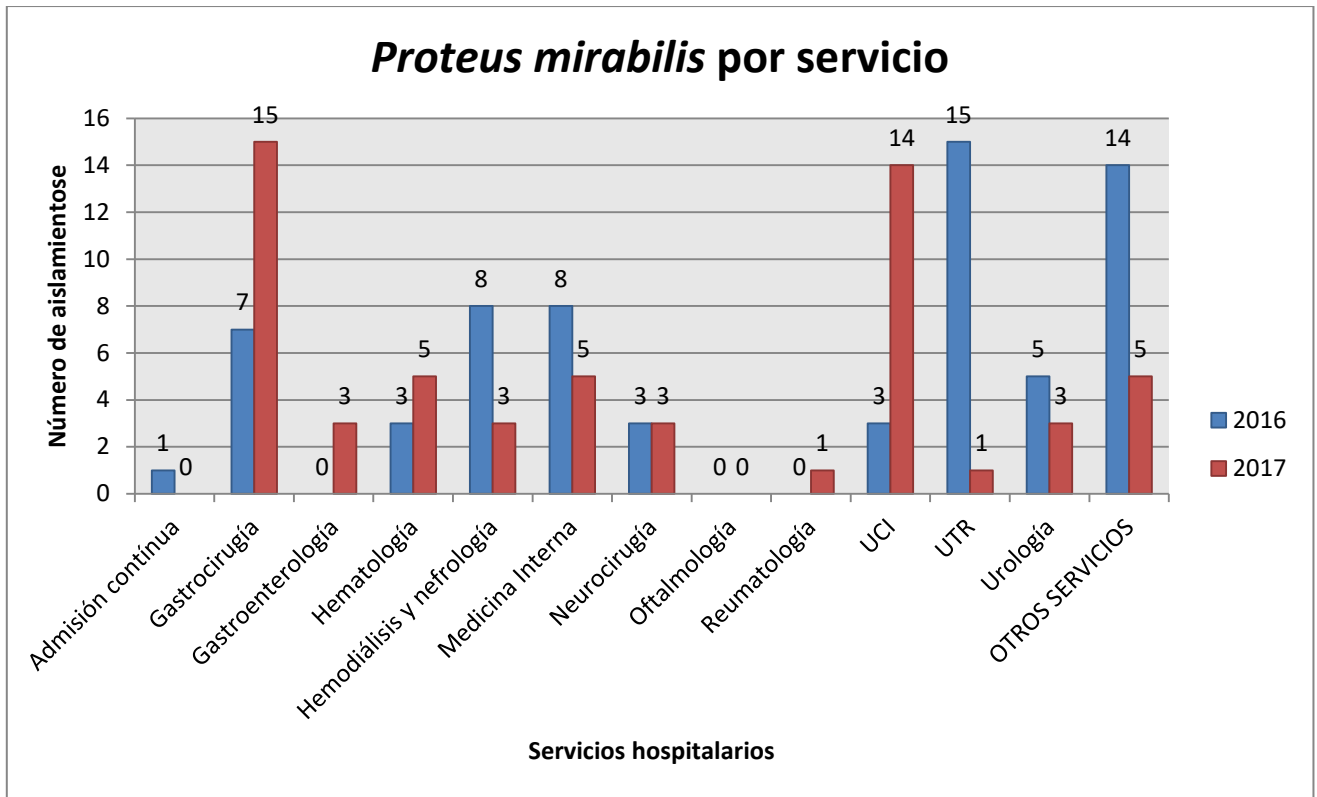
Gráfica 11 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Enterobacter cloacae* complex



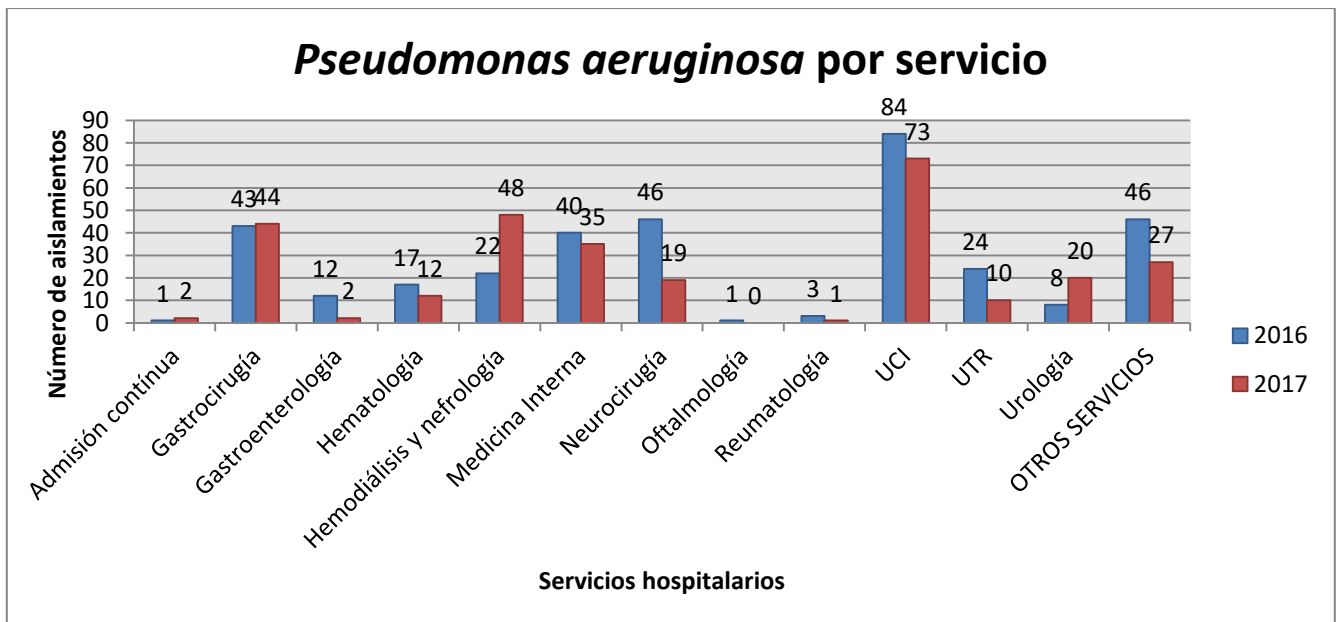
Gráfica 12 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Escherichia coli*



Gráfica 13 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae*



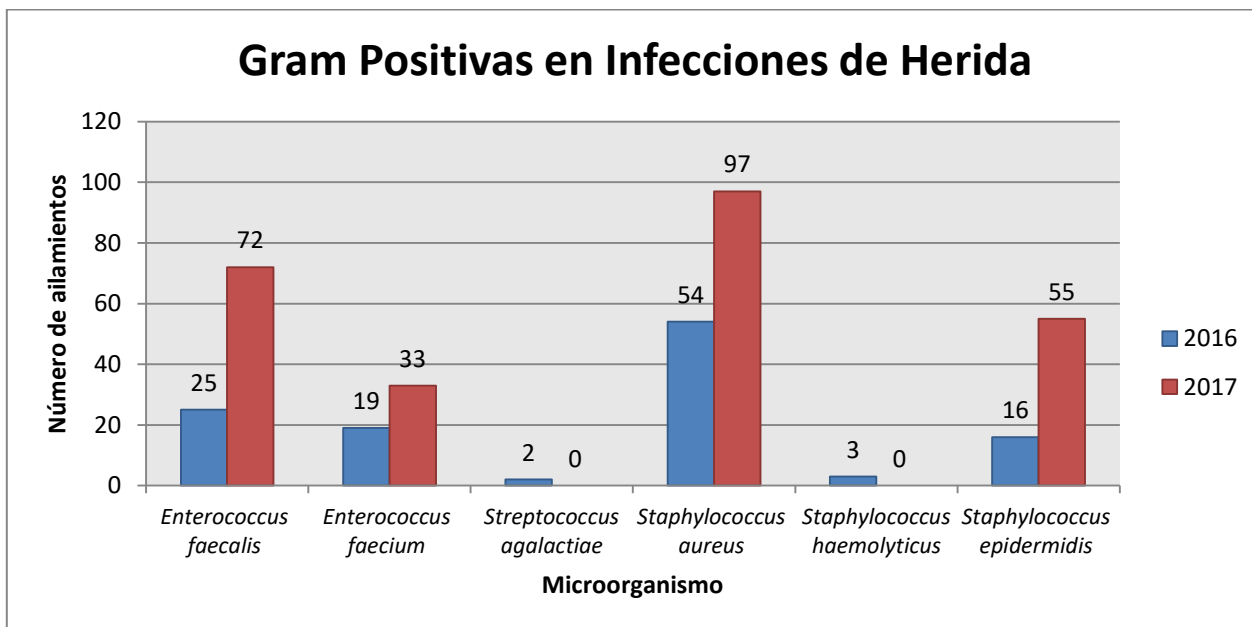
Gráfica 14 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Proteus mirabilis*



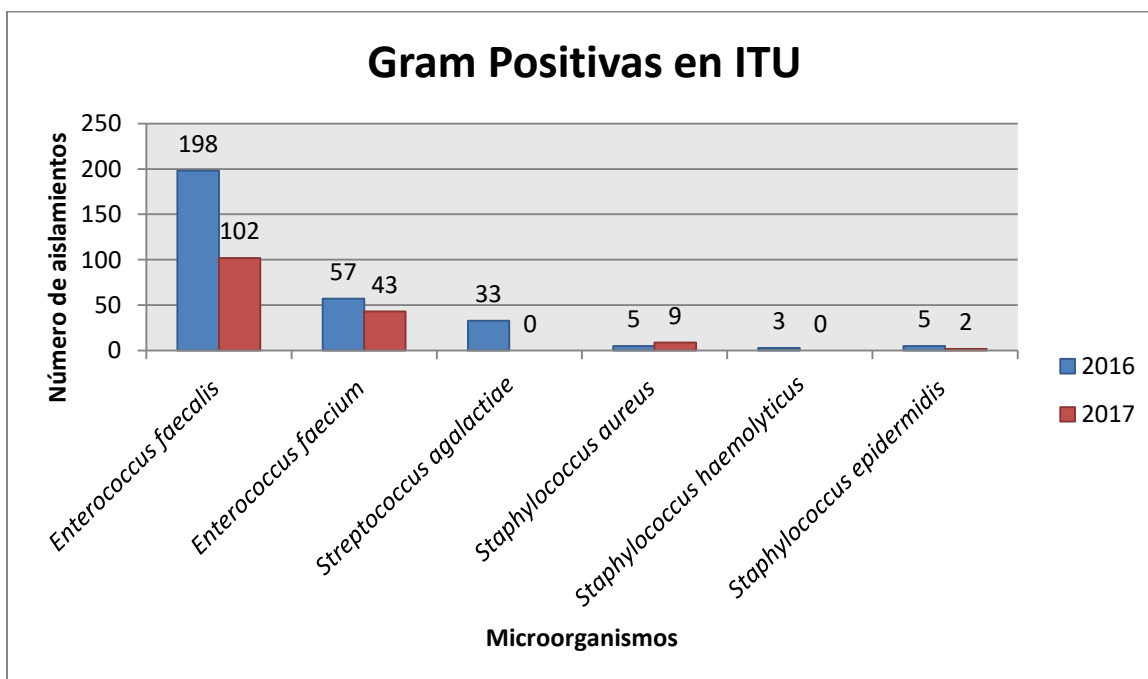
Gráfica 15 Incidencia por Servicio Hospitalario de *Pseudomonas aeruginosa*

*A. baumannii*, bacilo Gram negativo no fermentadora, ha sido implicado en diversos tipos de infecciones, la mayoría de ellas nosocomiales, como septicemias, neumonías, infecciones del tracto urinario, meningitis e incluso endocarditis. Se ha demostrado el importante papel que desarrolla *Acinetobacter* en las neumonías nosocomiales, especialmente en pacientes de UCI que requieren ventilación mecánica, constituyendo hoy día una complicación importante en estos enfermos. La mayoría presentan resistencia a penicilina, cefalosporinas de primera y segunda generación, y en muchos casos a cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos y fluorquinolonas. Incluso se ha documentado recientemente la aparición de cepas resistentes a los carbapenémicos, que hasta ahora han constituido el antibiótico de elección. (López, S y López, M., 2000). Observando la Gráfica 10, es notorio que es en la UCI donde los aislamientos de *A. baumannii* son más que en los demás servicios y en general de todas las bacterias Gram negativas como *E. cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Al igual que *A. baumannii*, en *P. aeruginosa* se han hallado más factores de resistencia haciendo a estas dos bacterias de especial atención en la UCI de todas las unidades de atención a la salud. *E. coli*. a diferencia de las demás Gram negativas, tuvo una importante disminución en su incidencia de 2016 a 2017 en la UTR (Unidad de trasplante renal), sin embargo este bacilo tuvo un aumento en Gastrocirugía (Gráfica 12), que comúnmente se aísla de infecciones del tracto genitourinario, pudiendo haber complicaciones en la cirugía, por lo que el monitoreo post operatorio del paciente en este servicio se vuelve de especial importancia.

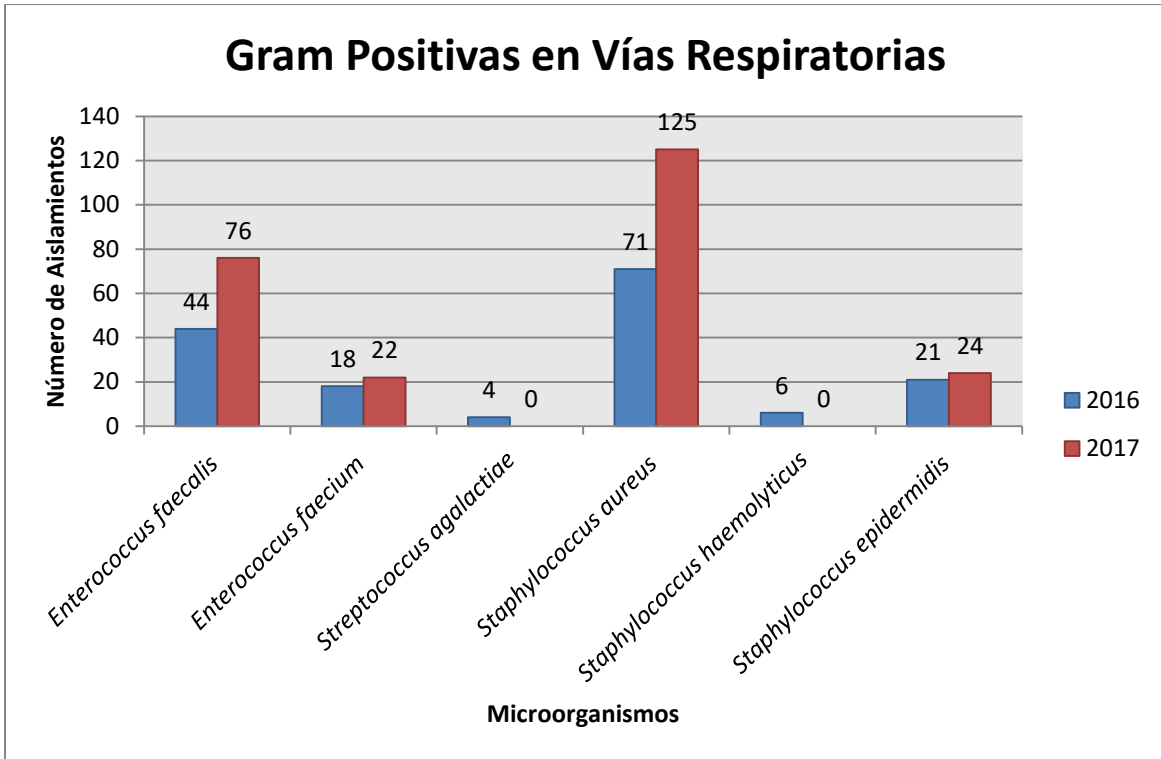
## Aislamientos de Bacterias Gram Positivas por Enfermedad Asociada



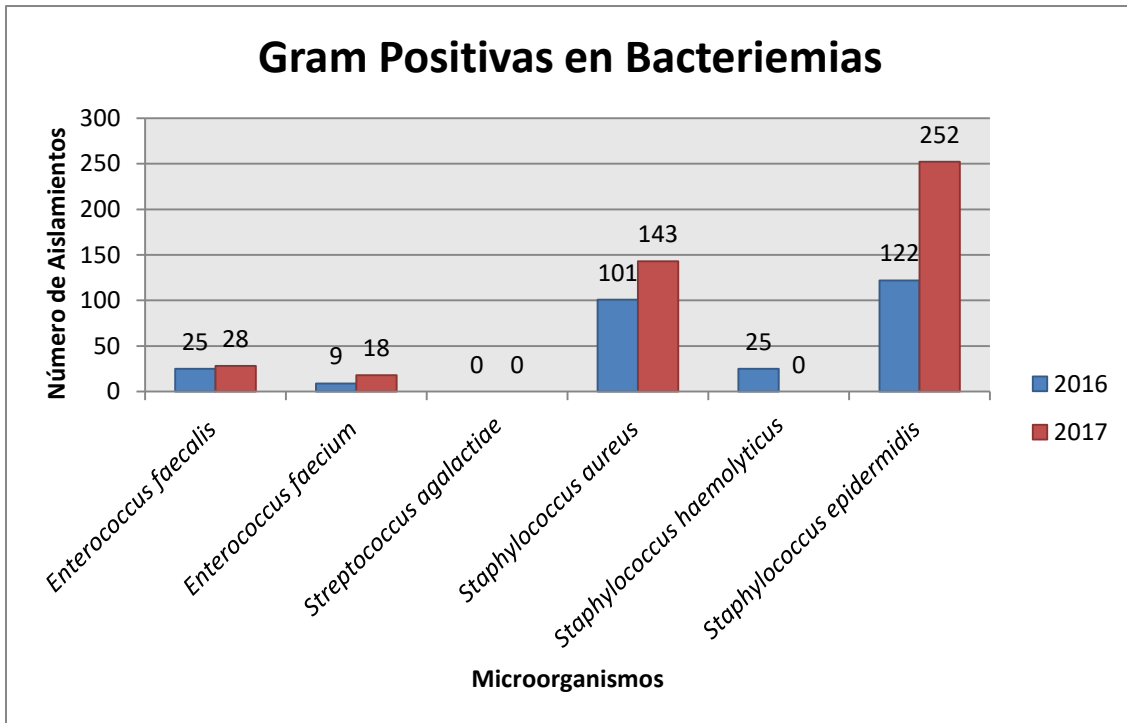
Gráfica 16 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones de Herida



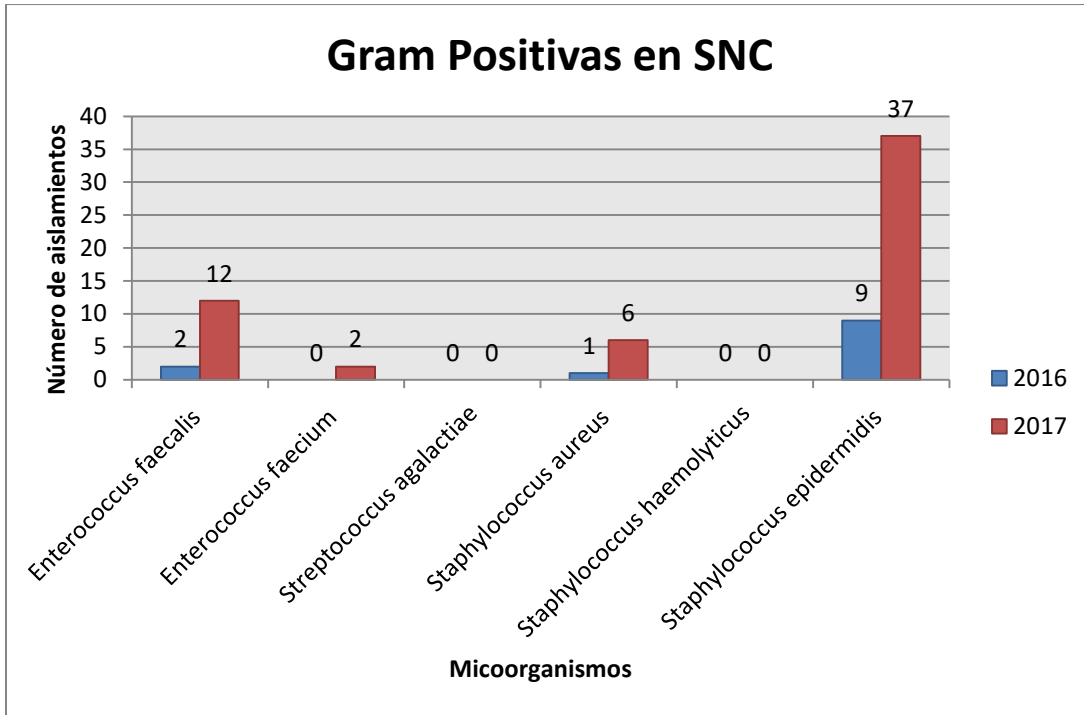
Gráfica 17 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones del tracto Urinario



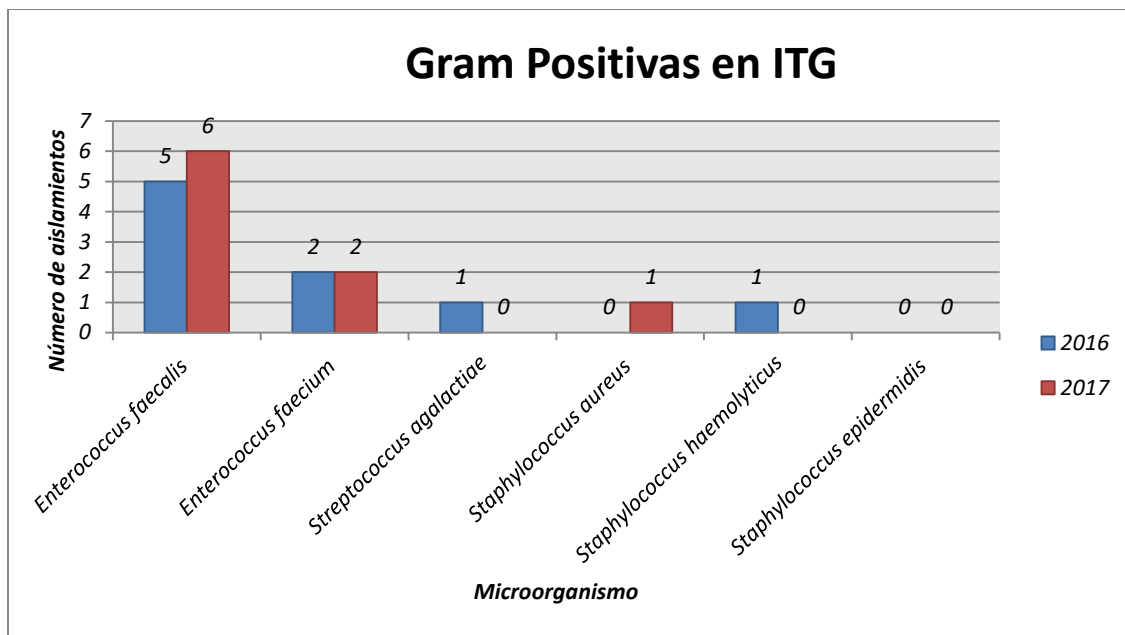
Gráfica 18 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones de Vías Respiratorias



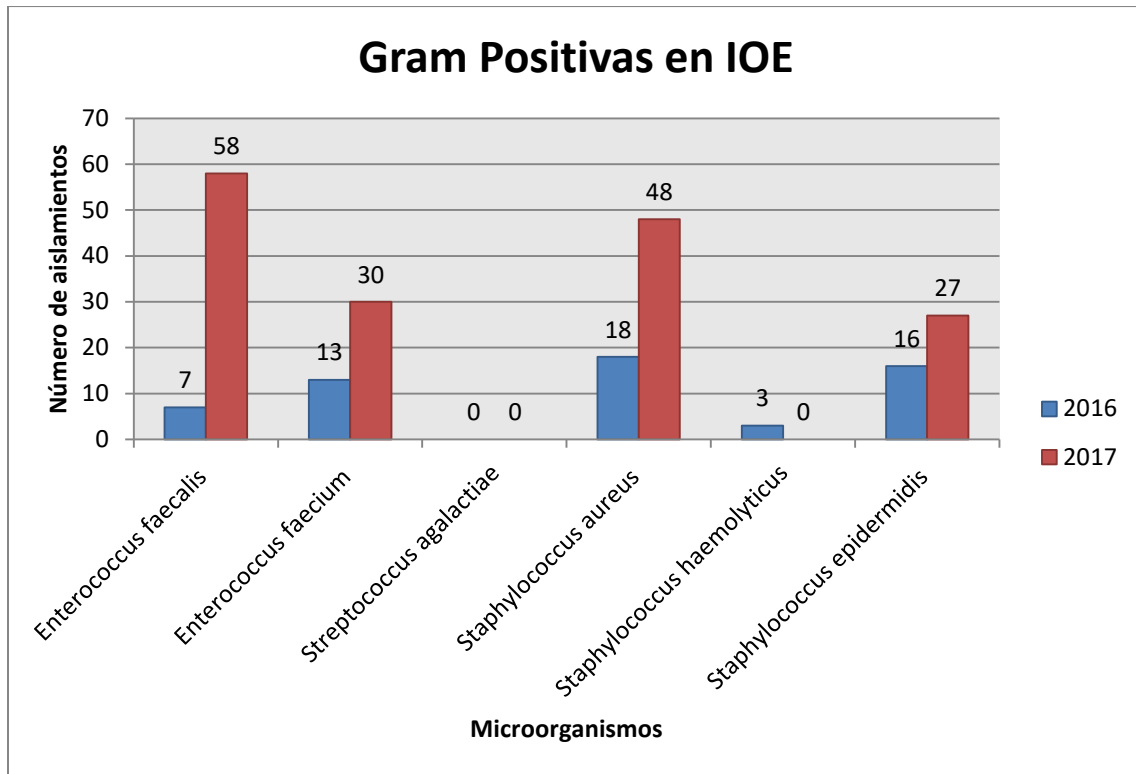
Gráfica 19 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Bacteriemias



Gráfica 20 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Sistema Nervioso Central



Gráfica 21 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones del Tracto Genital

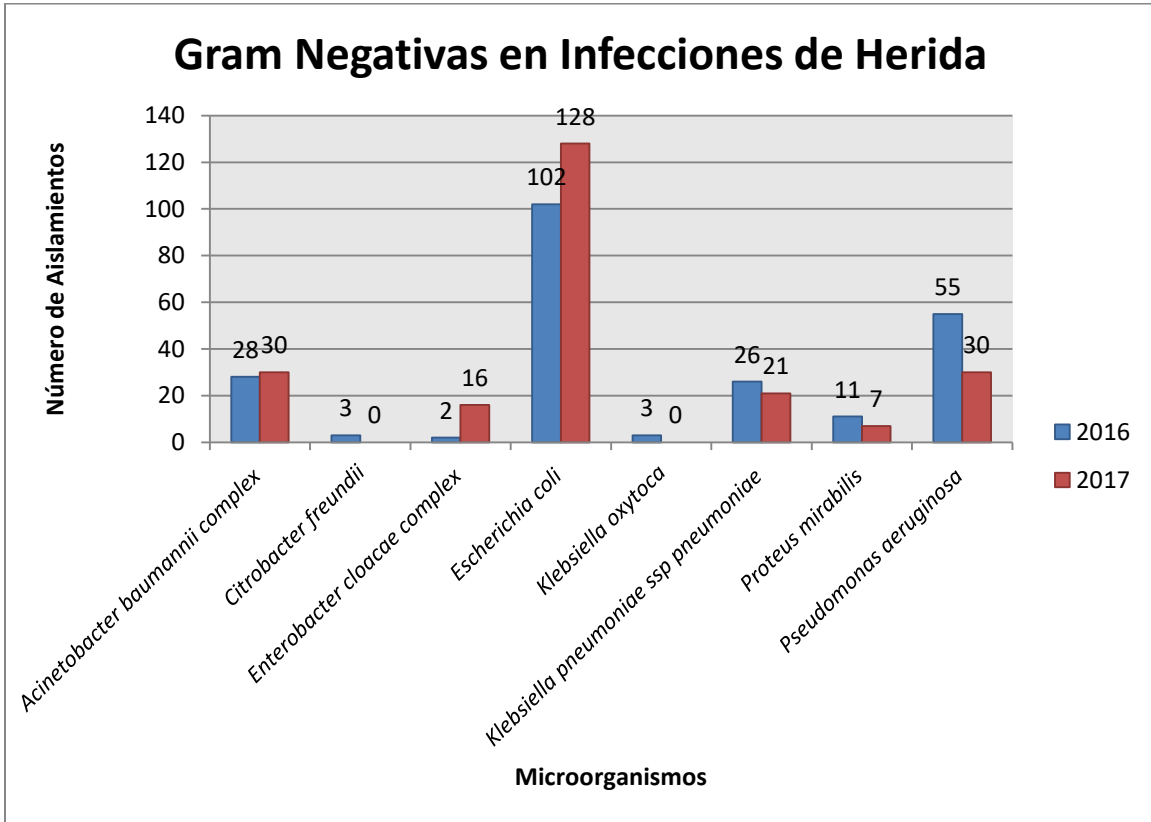


Gráfica 22 Aislamientos de bacterias Gram Positivas en Infecciones de órganos y Espacios

Lo que respecta a Infecciones de órganos y espacios, abarca un amplio margen de sitios de obtención de la muestra; abscesos cerrados, líquido de ascitis, drenaje de sonda, líquido peritoneal, diálisis, biopsias, líquido sinovial, líquido biliar, líquido ocular y líquido pleural. En el ambiente hospitalario usualmente hay bacterias Gram Positivas como *S. aureus* y *S. epidermidis* que entran en estos espacios “aprovechando” el estado inmunológico debilitado del hospedador. En 2017 hubo un aumento en el número de aislamientos tanto de Gram Positivas como Gram negativas, siendo en estas últimas *E. coli* la que predominó (Gráfica 29). Se puede atribuir a que las medidas de control para evitar la diseminación bacteriana fueron pobres por lo que se necesita hacer una concientización del personal para tratar este problema, que eventualmente se traduce en bacterias multiresistentes por largos periodos de hospitalización.

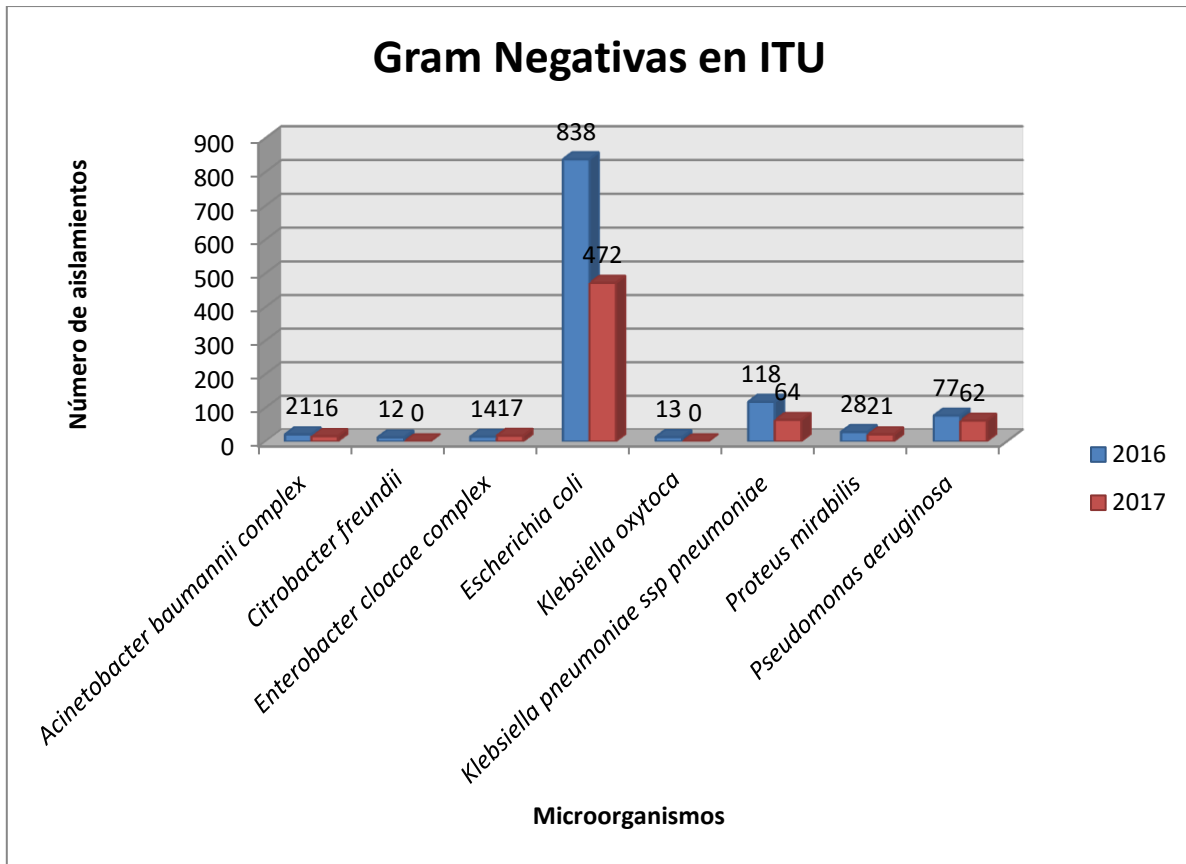


## Aislamientos de Bacterias Gram Negativas por Enfermedad Asociada



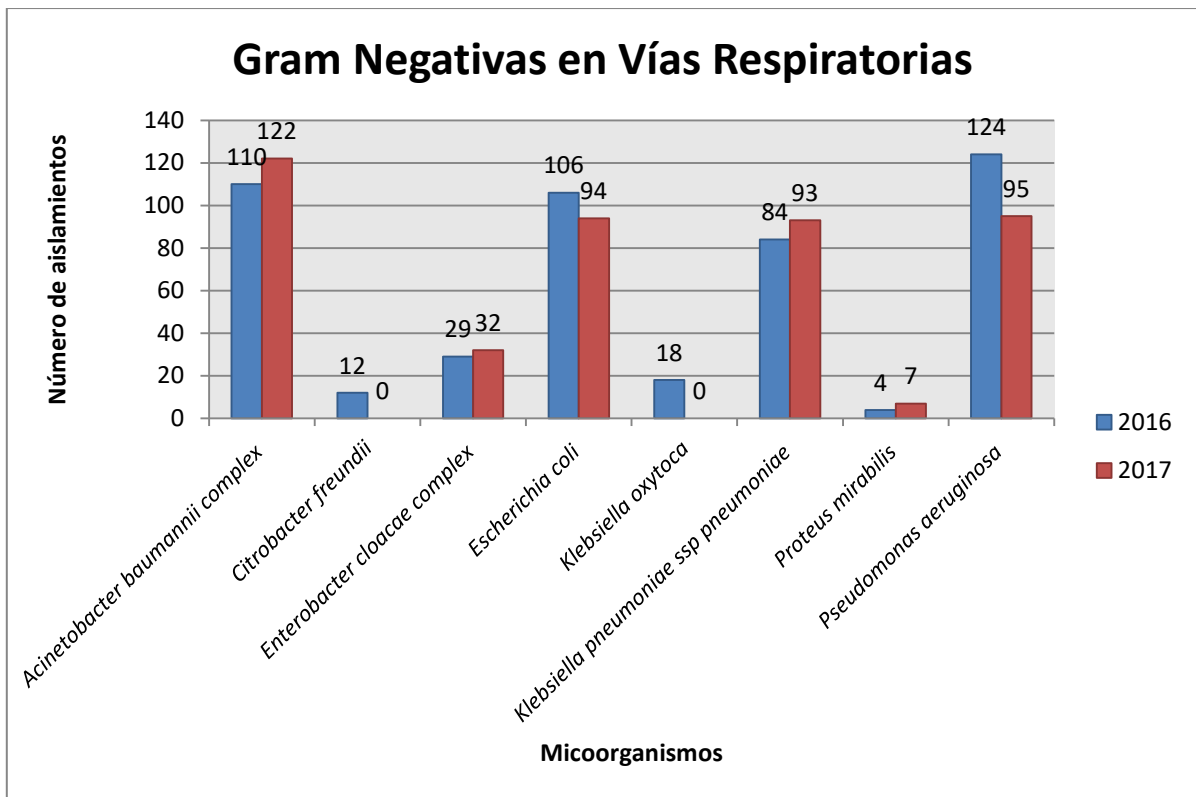
Gráfica 23 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Herida

Las infecciones de heridas comúnmente se ven infectadas por *S. aureus* y *E. coli* seguidas de *E. faecalis* y *P. aeruginosa*. En general hubo un aumento en el número de aislamientos en este tipo de cultivos en el año 2017 con comparación al 2016 lo que podría hablar de un posible incremento por contaminación intrahospitalaria por malas prácticas de higiene.



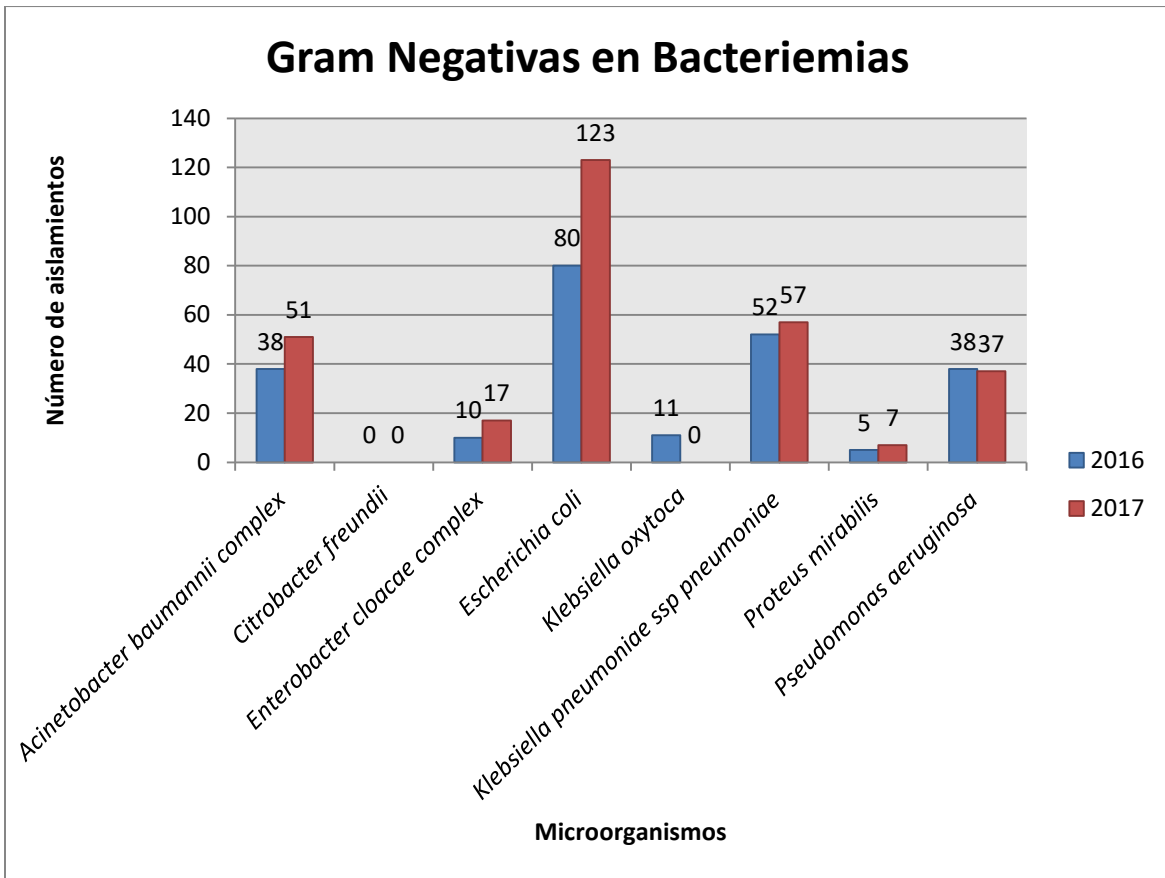
Gráfica 24 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Tracto Urinario

*E. faecalis* fue la bacteria Gram Positiva con mayor incidencia tanto en 2016 como en 2017 (Gráfica 17) en infecciones del tracto urinario (aisladas de urocultivos) y *E. coli* la Gram negativa la que con más de 800 aislamientos en 2016, es la más frecuente (Gráfica 24). Hubo una disminución general de aislamientos en urocultivos, lo que indica que la demanda de esta prueba fue menor que en 2017.



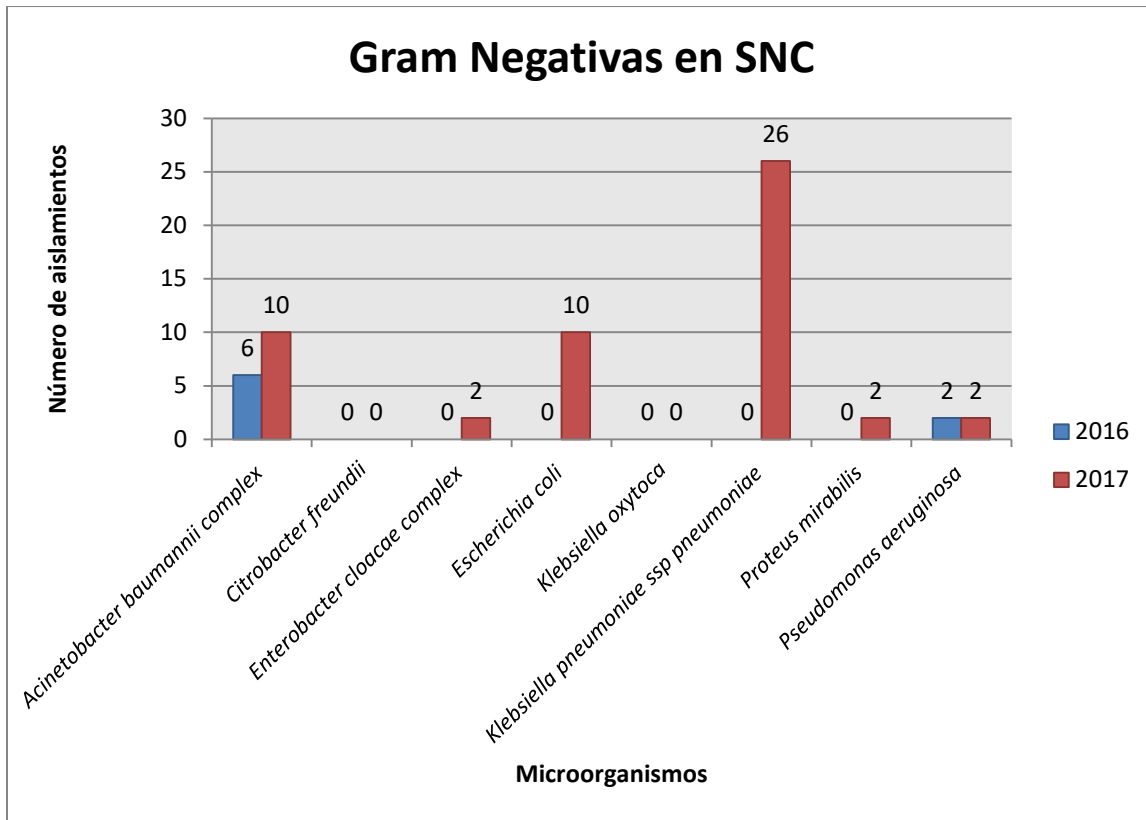
Gráfica 25 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Vías Respiratorias

Lo que respecta a infecciones de vías respiratorias, que engloba; cultivos de secreción bronqueal, secreción traqueal, lavado bronquial, cultivo de expectoración, exudado faríngeo y exudado nasal, hubo un aumento en el aislamiento de Gram Positivas de 2016 a 2017, principalmente en *E. faecalis* y *S. aureus* (Gráfica 18). En cuanto a las Gram Negativas en 2016 la que mayor número de aislamientos tuvo fue *P. aeruginosa*. Disminuyendo en 2017, mientras que *A. baumannii* aumentó. Siendo esta última una bacteria no comúnmente aislada en Infecciones de Vías respiratorias se debe tomar en cuenta para el tratamiento y que el médico al momento de emitir una receta tome en cuenta los resultados del cultivo pues comúnmente se recetan medicamentos contra Gram Positivos, sin embargo contra para *A. baumannii* no habría mismo efecto, contribuyendo esto con su resistencia. *Klebsiella pneumoniae* a pesar de tener menor número de aislamientos también se debe tener muy presente al momento de encontrarla en un cultivo positivo pues puede causar enfermedades que lleguen a tener severas complicaciones como neumonía.



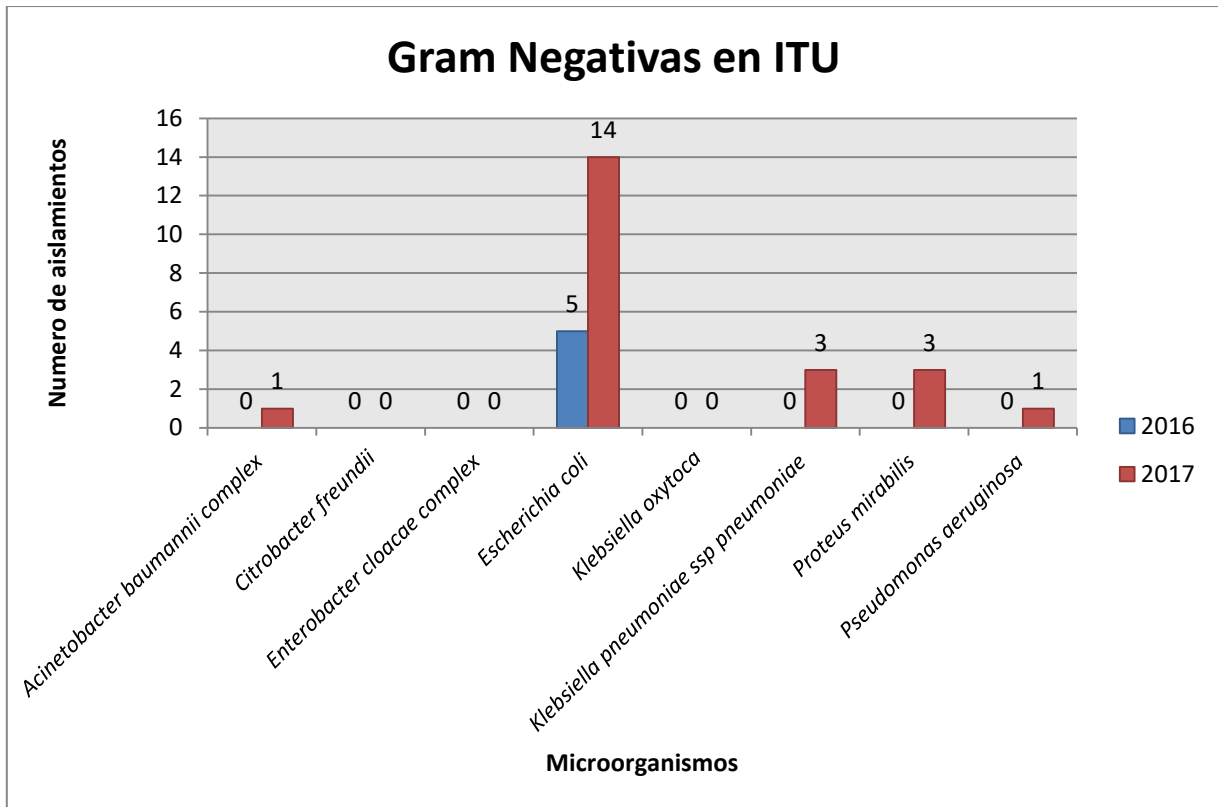
Gráfica 26 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Bacteriemias

Al ser las bacteriemias una infección diseminada por el torrente sanguíneo, se debe considerar de suma importancia pues puede llegar a ser mortal. Es el género *Staphylococcus* las Gram Positivas que principalmente se aislaron tanto en 2016 como en 2017, con *S. aureus*. y *S. epidermidis* como las principales especies (Gráfica 19). Estas bacterias generalmente son microbiota normal de la piel, pero cuando un paciente se encuentra inmunodeprimido o inmunocomprometido pueden ser oportunistas y causar una serie de problemas. Fue *E. coli* la bacteria Gram Negativa con mayor número de aislamientos tanto en 2016 como 2017 como se ve en la Gráfica superior lo que es un indicativo que no solamente en infecciones del tracto urinario se halla, sino igualmente puede llegar a ser bastante problemática y diseminarse al torrente sanguíneo.



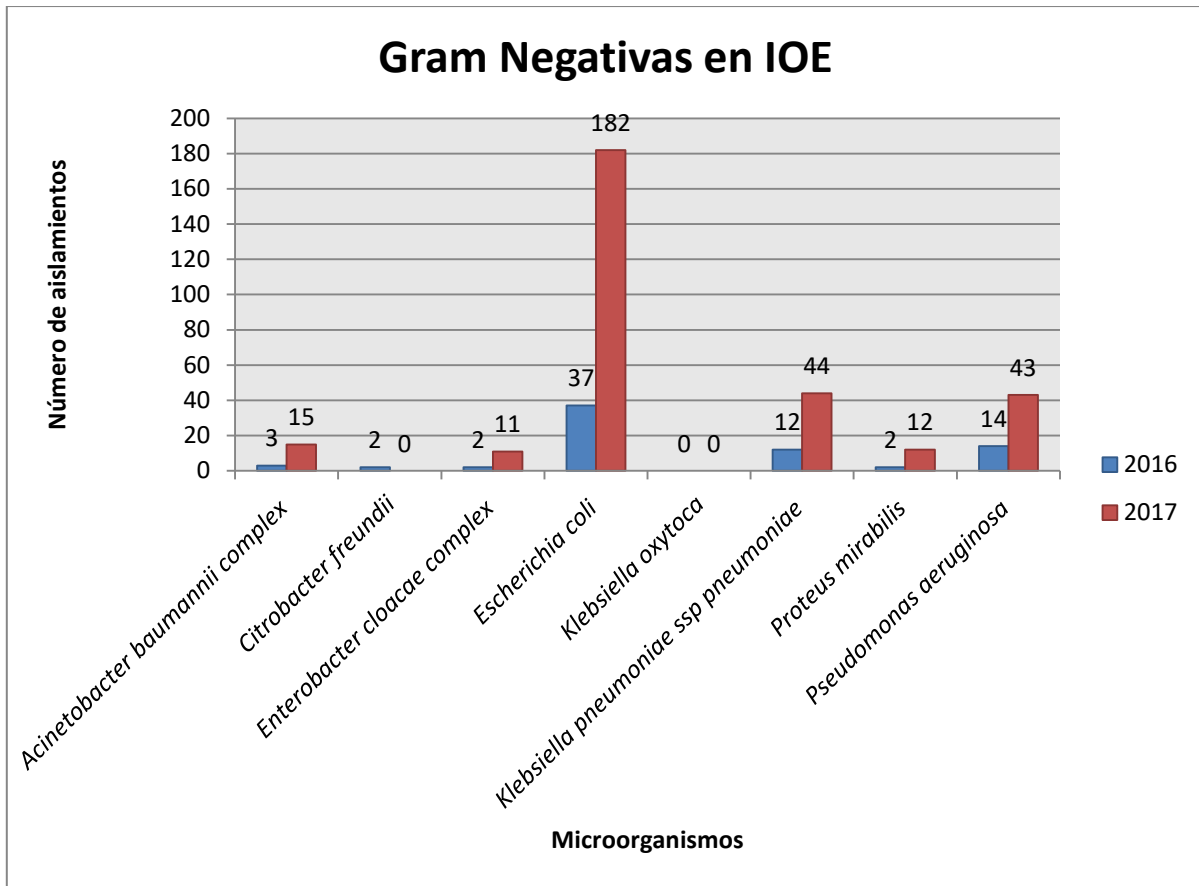
Gráfica 27 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Sistema Nervioso Central

En cultivo de Líquido Cefalorraquídeo siempre será indicativo de una infección de Sistema Nervioso Central, siendo de suma importancia pues nos habla de que las bacterias lograron atravesar la barrera hematoencefálica. Se puede ver en la Gráfica 20 que en general en 2017 hubo un aumento en los aislamientos de Gram Positivas, pero principalmente de *S. epidermidis* lo que puede ser porque este microorganismo oportunista logró ingresar quizás vía sanguínea inicialmente con su alta capacidad para adherirse a catéteres o dispositivos conectados al cuerpo. En 2016 Gram Negativas aisladas de LCR (Líquido Cefalorraquídeo) fueron solamente *A. baumannii* y *P. aeruginosa.*, mientras que en 2017 se presentaron casos con *E. cloacae*, *E. coli* y principalmente *Klebsiella pneumoniae* (Gráfica 27).



Gráfica 28 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Tracto Genital

Las infecciones del tracto genital tienen estrecha relación con las infecciones del tracto urinario, sin embargo por el sitio que se obtiene el cultivo se clasifican por separado, siendo de exudado vaginal, micro espermio cultivo y exudado uretral los sitios anatómicos de donde se obtuvieron los microorganismos. Aunque fueron pocos los aislamientos *E. faecalis* fue la Gram Positiva con mayor número y *E. coli* la Gram negativa con mayor número, se ve aquí que de igual manera en Infecciones del Tracto Urinario fueron las bacterias con más aislamientos, confirmando la relación entre estos. Se descartan de este estudio las levaduras como *Candida albicans*, otras bacterias como *Gardnerella vaginalis* con menos de 30 aislamientos así como protozoarios como *Trichomonas vaginalis* que también son comúnmente encontrados en infecciones de tracto genital y cuya relevancia se debe tener en cuenta para su tratamiento oportuno.

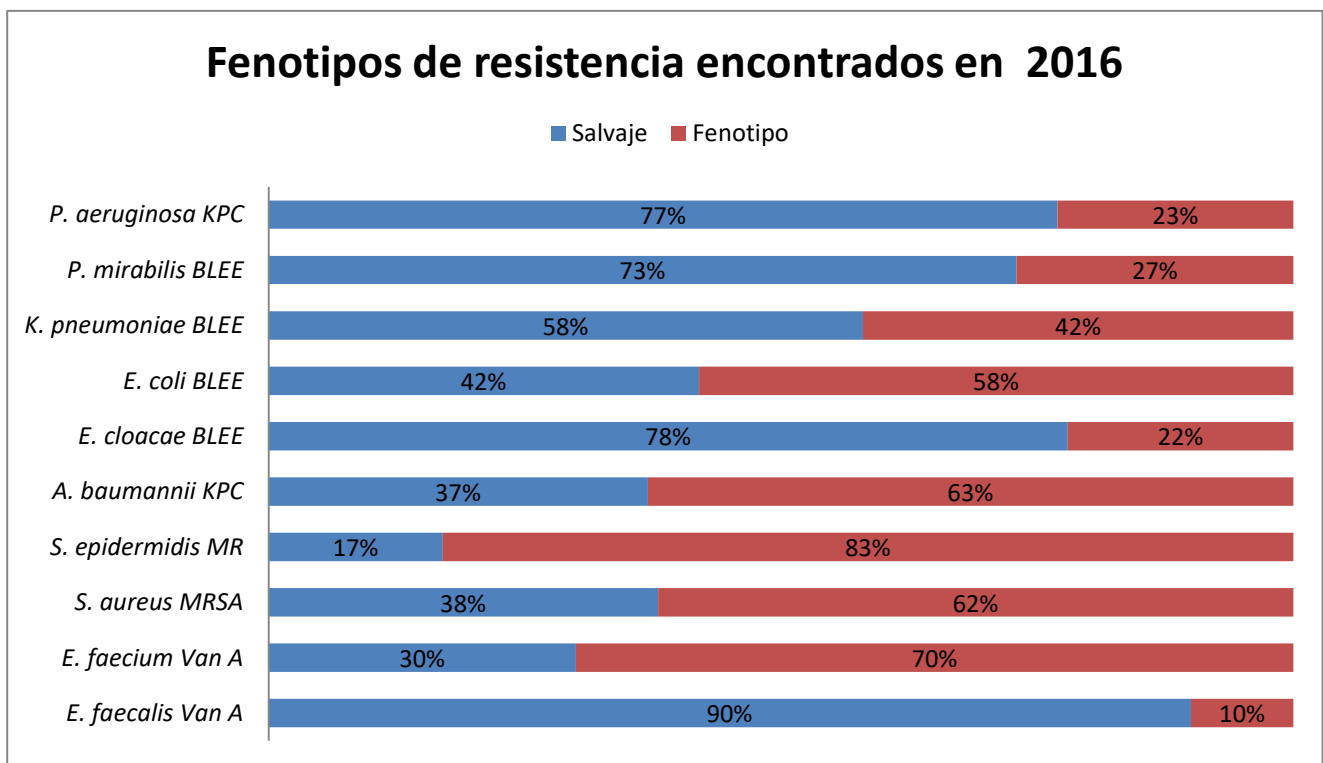


Gráfica 29 Aislamientos de bacterias Gram Negativas en Infecciones de Órganos y Espacios

# Porcentajes de resistencia

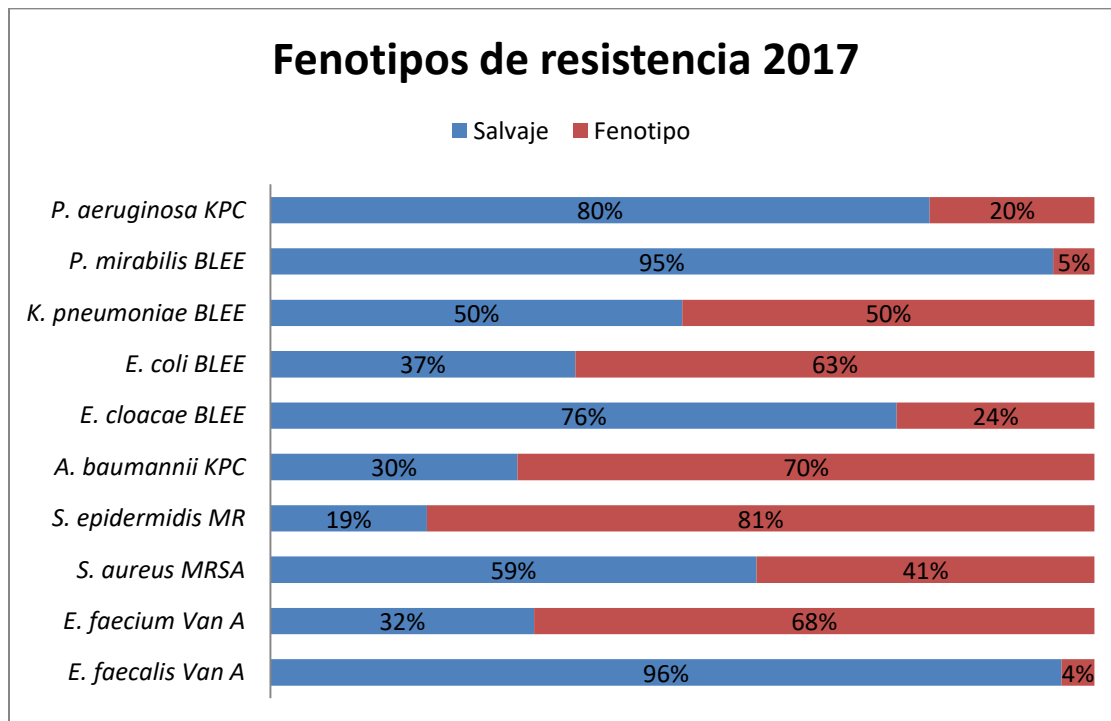
Tabla. 9 Porcentajes de fenotipos principales de resistencia en los años 2016 y 2017

Microorganismo y fenotipo	2016			2017		
	Aislamientos totales	Salvaje	Fenotipo presente	Aislamientos totales	Salvaje	Fenotipo presente
<i>E. faecalis</i> Van A	339	90%	10%	353	96%	4%
<i>E. faecium</i> Van A	124	30%	70%	150	32%	68%
<i>S. aureus</i> MRSA	260	38%	62%	427	59%	41%
<i>S. epidermidis</i> MR	233	17%	83%	399	19%	81%
<i>A. baumannii</i> KPC	221	37%	63%	245	30%	70%
<i>E. cloacae</i> BLEE	60	78%	22%	93	76%	24%
<i>E. coli</i> BLEE	1252	42%	58%	1019	37%	63%
<i>K. pneumoniae</i> BLEE	311	58%	42%	310	50%	50%
<i>P. mirabilis</i> BLEE	59	73%	27%	58	95%	5%
<i>P. aeruginosa</i> KPC	347	77%	23%	269	80%	20%



Gráfica 30 Fenotipos de resistencia en bacterias Gram Positivas y Gram Negativas aisladas en 2016





Gráfica 31 Fenotipos de resistencia en bacterias Gram Positivas y Gram Negativas aisladas en 2017

En las gráficas anteriores podemos observar los principales fenotipos de resistencia presentados en los años 2016 y 2017. *A. baumannii* y *P. aeruginosa* como principales productoras de carbapenemasas tipo KPC aparte de *K. pneumoniae* tanto en 2016 como en 2017; *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *E. cloacae* principales productoras de beta lactamasas de especto extendido; *E. faecium* y *E. faecalis* con resistencia de tipo Van A. Los primos hermanos *S. aureus* y *S. epidermidis* resistentes a meticilina.

En *A. baumannii* se presentó un aumento en la resistencia a los carbapenémicos del 63% al 70% siendo estas estadísticas alarmantes porque subió en tan solo un año un 7%. Cada vez se vuelve más complicado el tratamiento ante este bacilo Gram negativo y es por eso que se debe dar su justa importancia desde el momento en que se encuentra aislado de algún paciente. Esta bacteria junto con *P. aeruginosa* son de las principales encontradas

en infecciones intrahospitalarias y sus fenotipos de resistencia son rápidamente propagados por un mal diagnóstico.

*K. pneumoniae* también presentó un aumento en su resistencia pasando de un 42% a un 50% de un año a otro. Este es otro dato alarmante pues este 8% ya hace que pase a, que del total de aislamientos, el 50% fueron resistentes a carbapenémicos. Esta bacteria ha tomado gran importancia pues su resistencia se ha tornado un grave problema pues dependiendo el sitio de colonización de la bacteria puede ser el grado de la infección y avanzar rápidamente pudiendo causar mayor complicación. Se podría considerar a *K. pneumoniae* una bacteria panresistente pues entre los fenotipos de resistencia puede producir diferentes beta lactamasas, entre ellas; BLEEs actuando sobre cefalosporinas de tercera generación; cefalosporinas de clase C; KPC, con resistencia a todos los beta lactámicos, cefalosporinas, la penicilina y monobactámicos; así como producción de metalobetalactamasas.

*E. coli* también presentó un aumento en la resistencia pasando de 58% a 63% en la producción de BLEEs. Con *E. coli*. al ser uno de los microorganismos más frecuentes, se ha generado esta resistencia y se debe en gran medida a un mal tratamiento. Como su aislamiento es principalmente en infecciones del tracto urinario, los médicos ocupan como medicamento de primera línea la combinación Trimetoprima/Sulfametoxazol sin conocer antes la sensibilidad del aislamiento a estos medicamentos. Esta bacteria presenta alto nivel de resistencia a esta combinación antibiótica, por lo que es aquí que la medicación debe ser basada en evidencias, pues puede esto ser un fracso terapéutico. Al ser tan frecuentes sus aislamientos, se hace más fácil su diseminación dentro de un centro de salud, por lo que las medidas de higiene del personal y visitas deben ser muy altas, principalmente en las UCI y UTR, donde más fácilmente se puede diseminar.

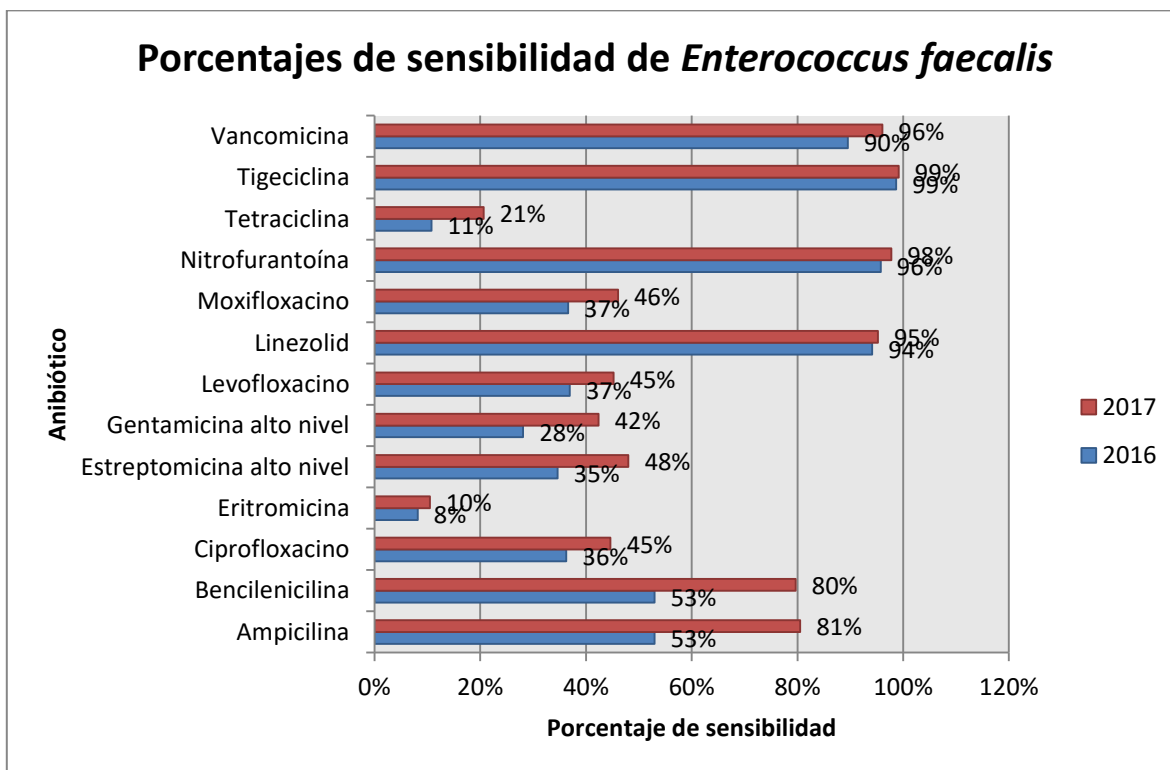
*E. cloacae* se vio aumentada en su resistencia pasando de un 22% a 24% adquiriendo también enzimas de tipo BLEE. Esta bacteria presenta una beta lactamasa que le confiere resistencia natural a las aminipenicilinas. Aunque no aumentó en gran medida, se debe monitorear para no convertirse en una bacteria multiresistente.

*S. aureus* resistente a meticilina (SARM o MRSA por sus siglas en inglés) es un patógeno de suma importancia en infecciones intrahospitalarias. Su resistencia se ha dado por malos tratamientos a infecciones lo que ha causado que se desarrolle esta resistencia, que se vuelva tan importante porque este microorganismo puede ser parte de la microbiota normal de las personas. Puede causar complicaciones principalmente en personas que están pasando por un procedimiento invasivo pues con facilidad pueden ingresar al organismo por estas vías. Aunque en los aislamientos de *S. aureus* se disminuyó su resistencia de un 62% a 41% de 2016 a 2017 se debe seguir monitoreando este microorganismo y seguir las medidas pertinentes para poder seguir esta tendencia a la baja. *S. epidermidis* no siempre es considerado de mucha importancia sin embargo debe de tener muy presente pues su resistencia a meticilina fue mucho mayor que la de *S. aureus* en ambos años, siendo del 83% y del 81% en 2016 y 2017 respectivamente. Son números altos pues su frecuencia de aislamiento aunque no es alta, es bastante alta y este microorganismo al igual que *S. aureus* puede causar problemas adicionales en los pacientes internados en los centros de atención a la salud.

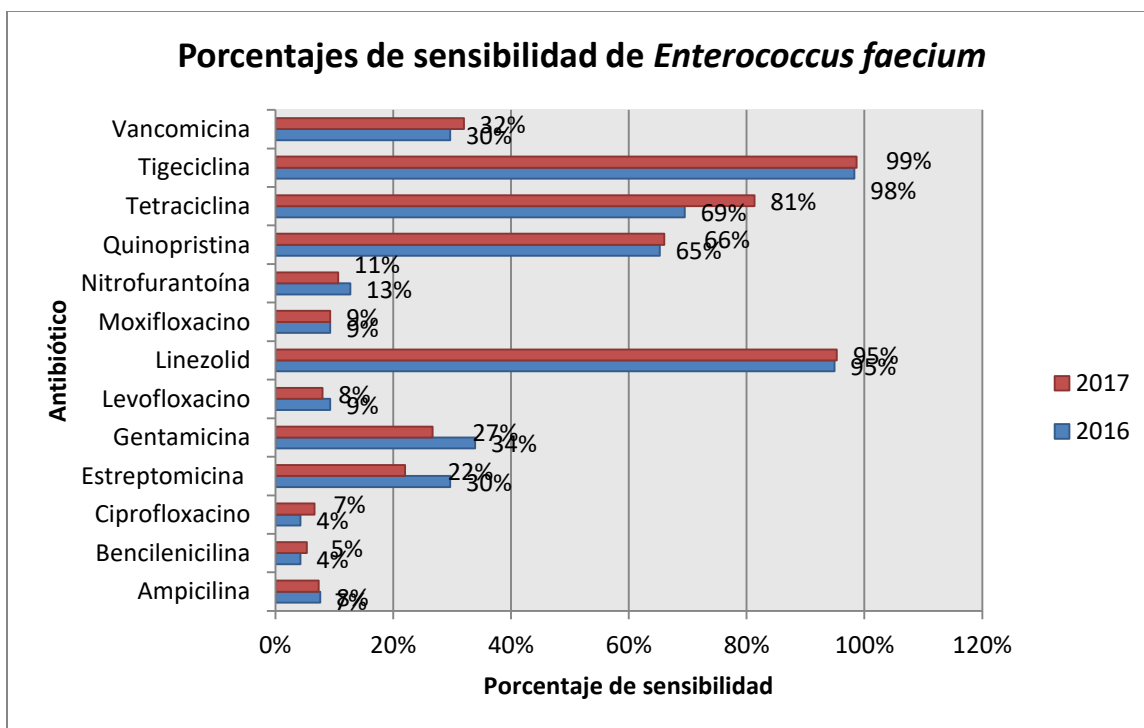
Lo que respecta a los enterococos, es *E. faecium* el que mayor resistencia a la vancomicina presenta, debido al fenotipo VanA. Disminuyó del 70% al 68% de 2016 a 2017, sin embargo este porcentaje es muy poco si contamos que en 2016 hubo 124 aislamientos y en 2017, 150, es decir; hubo en 2017 incluso más aislamientos de *E. faecium* resistente a vancomicina que en 2016, pudiendo ver aquí que este fenotipo se sigue transfiriendo y presentando con alta incidencia en el hospital y que las medidas posiblemente no han sido las adecuadas aún o no se ha generado la suficiente conciencia en la población.

A pesar de que *E. faecalis* es una bacteria frecuente encontrada en infecciones intrahospitalarias, no presenta fenotipos de resistencia; sin embargo tanto en 2016 como en 2017 se encontraron cepas con el fenotipo VanA. Aunque representa menos del 10% de estas, es importante su seguimiento para que en un futuro no represente un reto como lo es *E. faecium*.

## Porcentaje de sensibilidad de bacterias Gram Positivas



Gráfica 32 Porcentaje de sensibilidad de *Enterococcus faecalis* en 2016 y 2017



Gráfica 33 Porcentaje de sensibilidad de *Enterococcus faecium* en 2016 y 2017

Para *E. faecalis*., como se observa en la Gráfica 30, el antibiótico ante el que menos presentó sensibilidad fue a Eritromicina, sin embargo hubo un aumento del 8% al 10% de 2016 a 2017. Ante todos los antibióticos aumentó la sensibilidad lo que es un buen indicativo en que los PROA (Programa de Optimización de uso de antimicrobianos) han guiado correctamente al diagnóstico y medicación. En una terapia por desescalamiento los antibióticos de elección para *E. faecalis*. son: Penicilinas como Ampicilina o Bencilpenicilina (como primera opción considerando que más del 50% de los aislamientos presentó sensibilidad a este y aumentó en 2016), Nitrofurantoína (o como primera opción en infecciones de tracto urinario), Vancomicina, Tigeciclina y Linezolid como última opción.

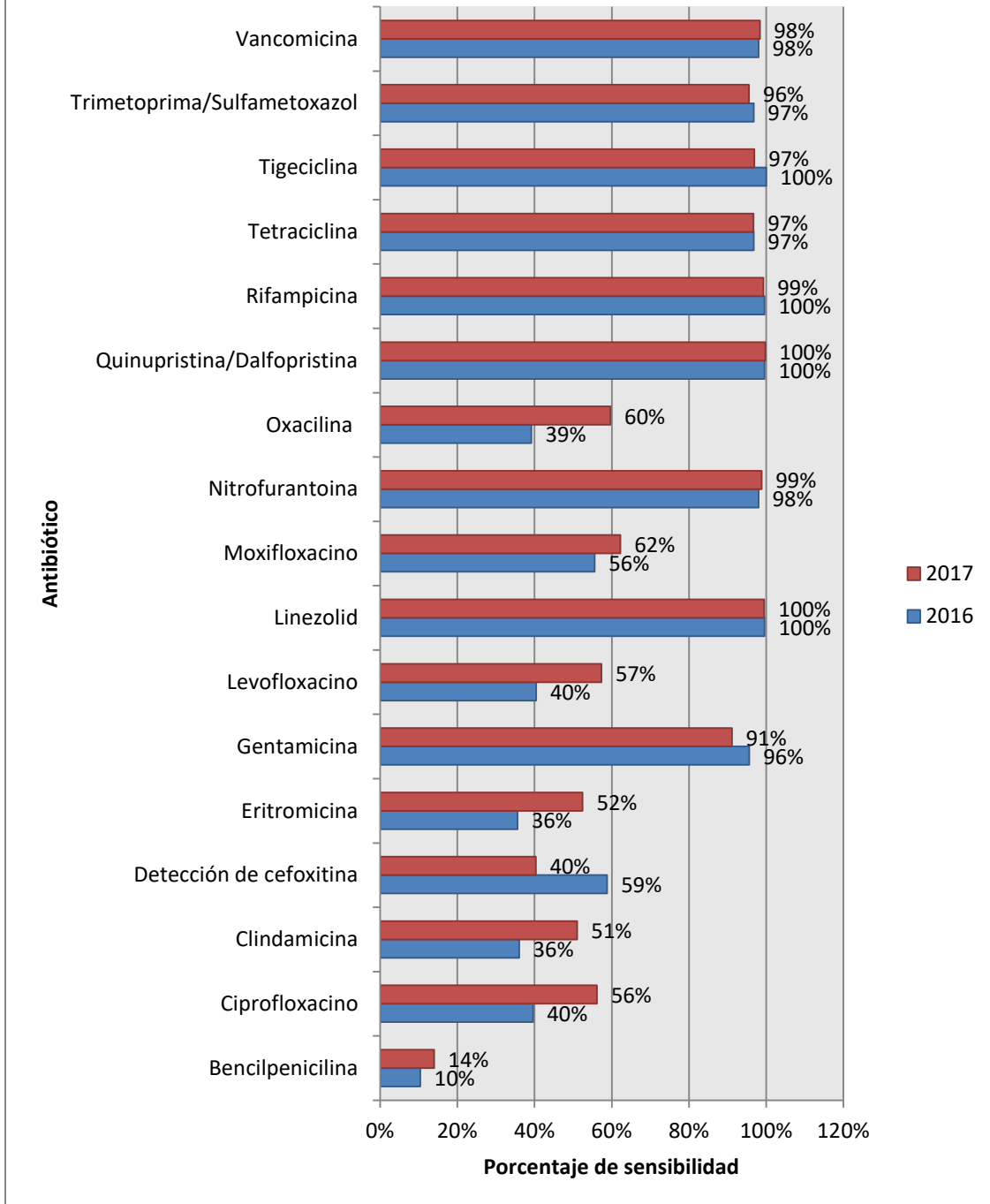
Los enterococos poseen cierta resistencia natural intrínseca a los beta-lactámicos, que se debe a la baja afinidad de sus proteínas de unión a penicilinas (PBP o penicillin-binding proteins) por estos antibióticos (Cercenado, G, 2011), como se observa en la Gráfica 40 esta resistencia intrínseca fue detectada en más cultivos en 2017 que en 2016

Se han descrito 8 operones distintos que median la resistencia adquirida a glucopéptidos en enterococo denominados vanA, vanB, vanD, vanE, vanG, vanL, vanM y van (Cercenado, G, 2011) siendo en A y el B los encontrados en este estudio, disminuyó este fenotipo en 2017 como se ve en la Gráfica 40, aumentando la sensibilidad a Vancomicina.

Los macrólidos, las lincosamidas y las estreptograminas B (MLS<sub>B</sub>) son tres familias diferentes de antimicrobianos que poseen mecanismos y sitios de acción (subunidad 50S del ribosoma bacteriano) similares (Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C., 2011), siendo la resistencia a eritromicina el principal fenotipo presentado habiendo una disminución en este fenotipo en 2017, viéndose reflejado en un aumento a la sensibilidad a la eritromicina.

En el caso de *E. faecium*. presentó perfiles de sensibilidad menores, sin embargo su sensibilidad en general aumentó de 2016 a 2017. A los que menos presentó sensibilidad fue a las penicilinas y quinolonas, teniendo una sensibilidad menor al 10% por lo que estos dos grupos se descartan en terapia a este microorganismo. Los antimicrobianos de elección serían; Tetraciclinas, Tigeciclina y Linezolid, en ese orden. Al igual que *E. faecalis*, presentó los fenotipos de resistencia vanA y vanB, como se ve en la Gráfica 41, que aunque hubo un aumento en la sensibilidad a Vancomicina, esta resistencia se ve constante reflejándose como una sensibilidad baja. También se mantiene constante el fenotipo de resistencia natural a los beta lactámicos.

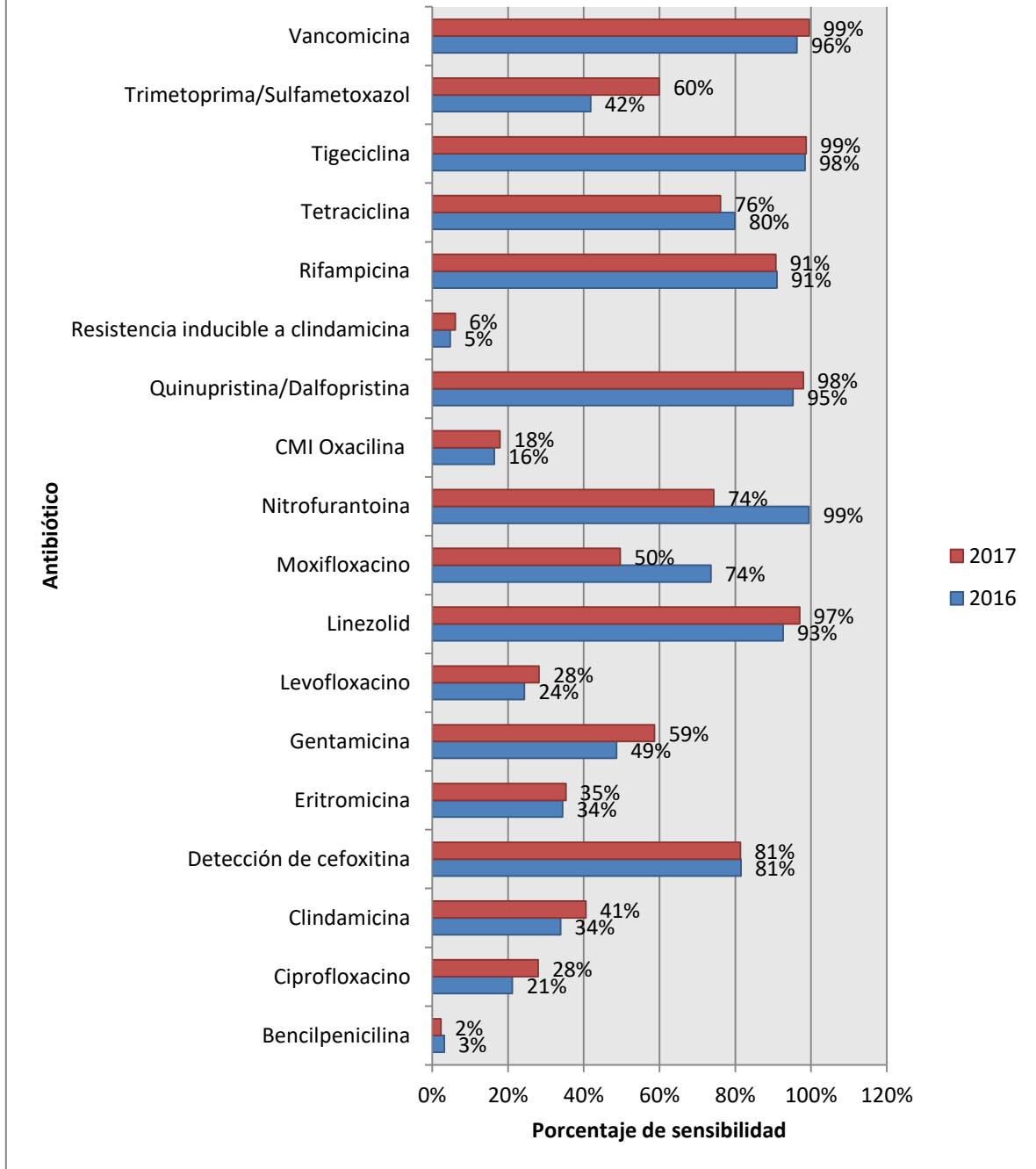
## Porcentajes de sensibilidad de *Staphylococcus aureus*



Gráfica 34 Porcentaje de sensibilidad de *Staphylococcus aureus* en 2016 y 2017

*S. aureus* presentó alta sensibilidad a una gama variada de antibióticos, teniendo tanto en 2016 como en 2017 una sensibilidad arriba del 95% a: Vancomicina; Trimetoprima/Sulfametoxazol, prescrito por los médicos casi exclusivamente para Infecciones del Tracto Urinario y como se ve en la Gráfica 18 en las ITU por Gram Positivas *S. aureus* fue de los principales causantes; Tigeciclina; Tetraciclina; Rifampicina; Quinupristina/Dalfopristina; Nitrofurantoína; Linezolid y Gentamicina en 2016, teniendo esta última una disminución en 2017 del 5%. Teniendo esta amplia gama de antimicrobianos como elección para *S. aureus* se debe tomar muy en cuenta el tipo de infección en que está siendo partícipe para poder orientar bien hacia una correcta prescripción. De igual manera se debe tener muy presente la identificación de este microorganismo en los resultados de laboratorio, por el médico, pues como se ve en la Gráfica 32, por la baja sensibilidad a Clindamicina, Bencilpenicilina, Oxacilina y Eritromicina son cepas de SARM las presentes por su alta sensibilidad a beta lactámicos y macrólidos. Sin embargo la sensibilidad a Clindamicina y Oxacilina aumentó en 2017 indicando que los aislamientos de SARM disminuyeron o el *S. aureus* que presenta este fenotipo se han vuelto menos resistentes. La detección por susceptibilidad a cefoxitina de SARM es una herramienta muy útil que en este caso se halló una disminución del 59% al 40% de *S. aureus* resistentes a la cefoxitina. Se debe tener cuidado en los reportes de prevalencia de SARM, pues en este caso el mayor número de aislamientos de esta bacteria fue en la UCI lo que hace más fácil la diseminación por el tipo de pacientes que están en este servicio, al presentar en su mayoría heridas expuestas.

## Porcentajes de sensibilidad de *Staphylococcus epidermidis*



Gráfica 35 Porcentaje de sensibilidad de *Staphylococcus epidermidis* en 2016 y 2017

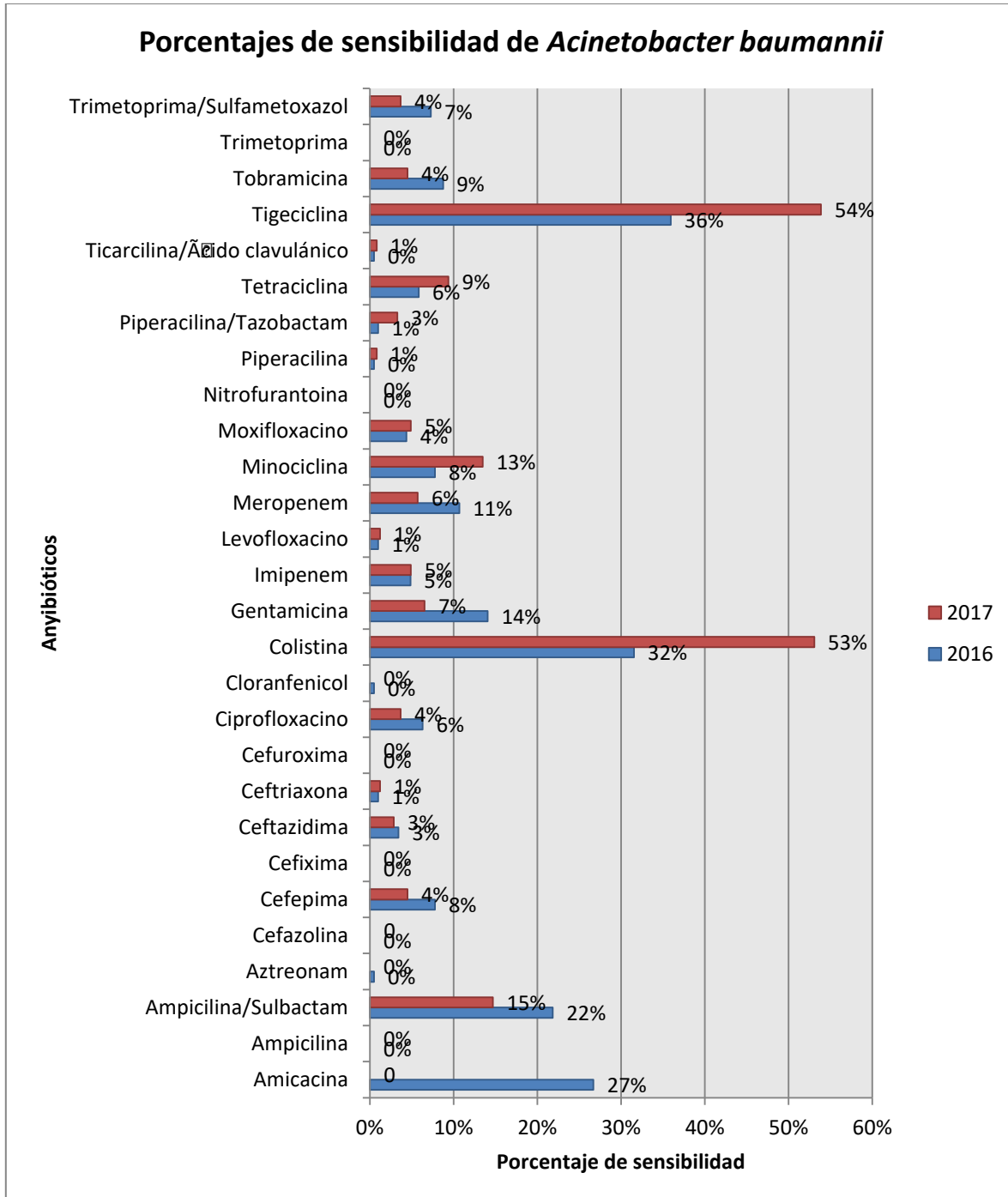


A diferencia de *S. aureus*, *S. epidermidis* presentó niveles de sensibilidad menores, principalmente habiendo una disminución en la susceptibilidad a la Nitrofurantoína de más del 20%. Este medicamento al igual que el tratamiento con Trimetoprima/Sulfametoxazol son indicados para ITU, y como se observa en la Gráfica 33 la sensibilidad con el tratamiento con la combinación Trimetoprima/Sulfametoxazol fue mayor, debiéndose descartar la Nitrofurantoína como antibiótico de primera elección. Los demás antibióticos de primera elección a considerar por una infección con *S. epidermidis* son: Vancomicina, Tigeciclina, Rifampicina, Quinupristina/Dalfopristina y Linezolid, debiéndose descartar los beta lactámicos en su tratamiento. Al tener el mismo fenotipo MLSB, este puede ser inducido por una CMI menor en la administración de algún antibiótico de estos grupos, así como las bombas de eflujo con las que cuenta este microorganismo como se ve en la Gráfica 43 que en 2016 fueron encontrados para kanamicina en 3 diferentes genes relacionados a la resistencia aminoglucósidos.

La sensibilidad de los Gram Positivos en general aumento del año 2016 al 2017. Se hizo la comparativa entre *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. aureus* y *S. epidermidis* que son los que en ambos años tuvieron más de 30 aislamientos. Mediante un análisis de chi cuadrada ( $\alpha=0.05$ ) se determinó que en todos excepto en *E. faecium* existió diferencia significativa en los cambios de su sensibilidad.

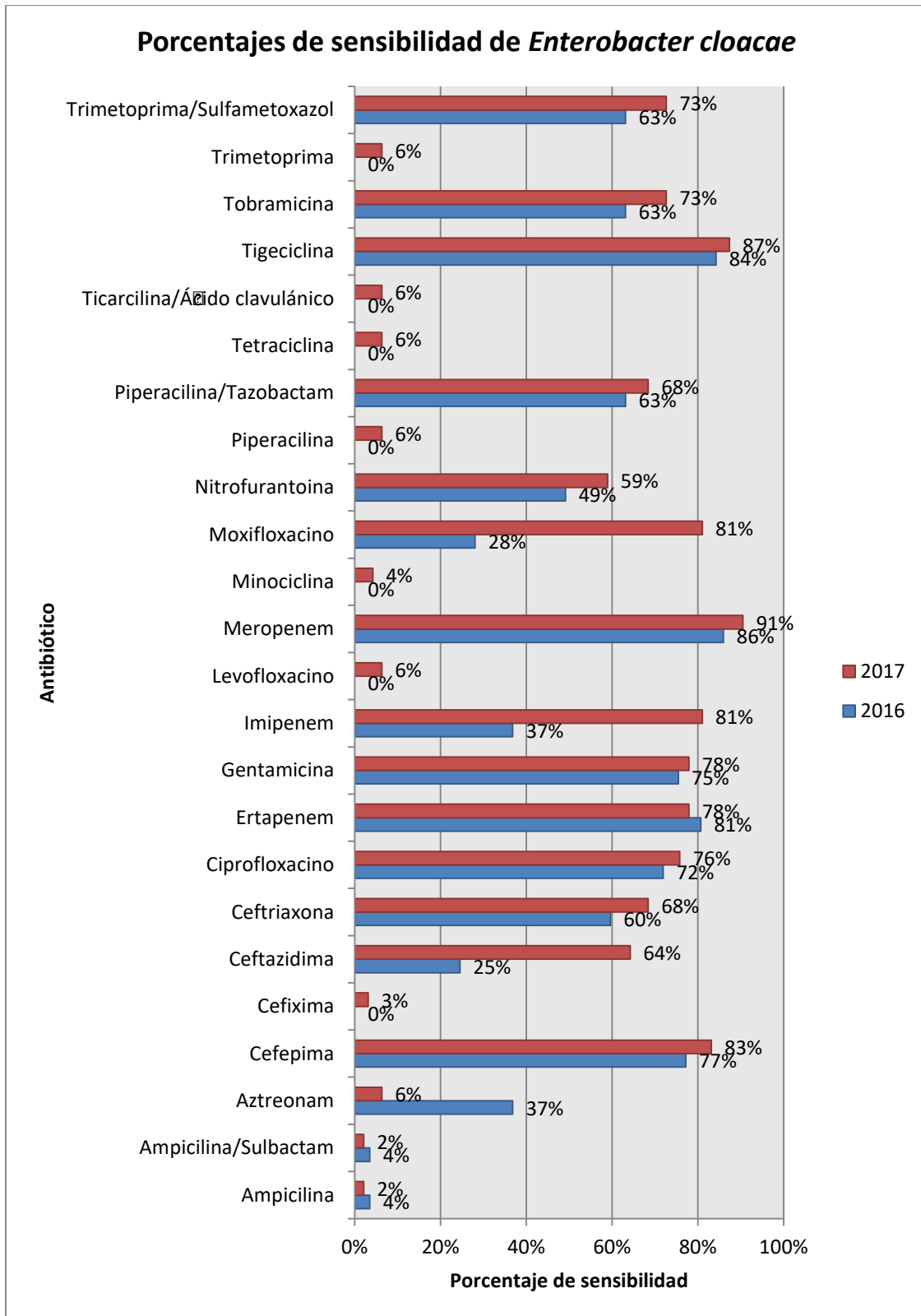
Las cuatro bacterias Gram positivas mantuvieron un perfil de sensibilidad similar siendo la Tigeciclina y el Linezolid los antibióticos a los que las Gram positivas presentaron mayor sensibilidad, por arriba de 93% en 2016 y por arriba de 95%. Estos dos antibióticos deben ser utilizados como último recurso por su amplio espectro.

# Porcentaje de sensibilidad de bacterias Gram Negativas



Gráfica 36 Porcentaje de sensibilidad de *Acinetobacter baumannii* complex en 2016 y 2017

Las bacterias Gram Negativas son un problema grande pues la mayoría de estas ha desarrollado varios mecanismos de resistencia, como es el caso de *Acinetobacter baumannii*, que como se observa en la Gráfica 34, la susceptibilidad que esta presenta a los antibióticos es muy baja. A pesar de que Tigeciclina y Colistina fueron los dos antimicrobianos a los que aumentó la sensibilidad de 2016 a 2017, apenas sobrepasó el 50%, es decir que casi la mitad de los aislamientos fueron resistentes. De igual forma disminuyó la resistencia a carbapenémicos como en Meropenem y con Imipenem se mantuvo igual (5%), que indica que la producción de carbapenemasas de esta bacteria es un fenotipo que se encuentra en aumento. *A. baumannii* se convierte entonces en una de las principales bacterias de las cuáles se debe tener cuidado y cuyo tratamiento debe ser llevado por un infectólogo dándo seguimiento a pruebas de susceptibilidad antibiótica como el E-test o de métodos de difusión en agar para corroborar la sensibilidad de esta bacteria y tener en cuenta la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) pues puede que su sensibilidad sea dosis dependiente, y poder guiar su tratamiento con una combinación de antimicrobianos, teniendo muy en cuenta la farmacocinética de éste evitando tener repercusiones a nivel renal.

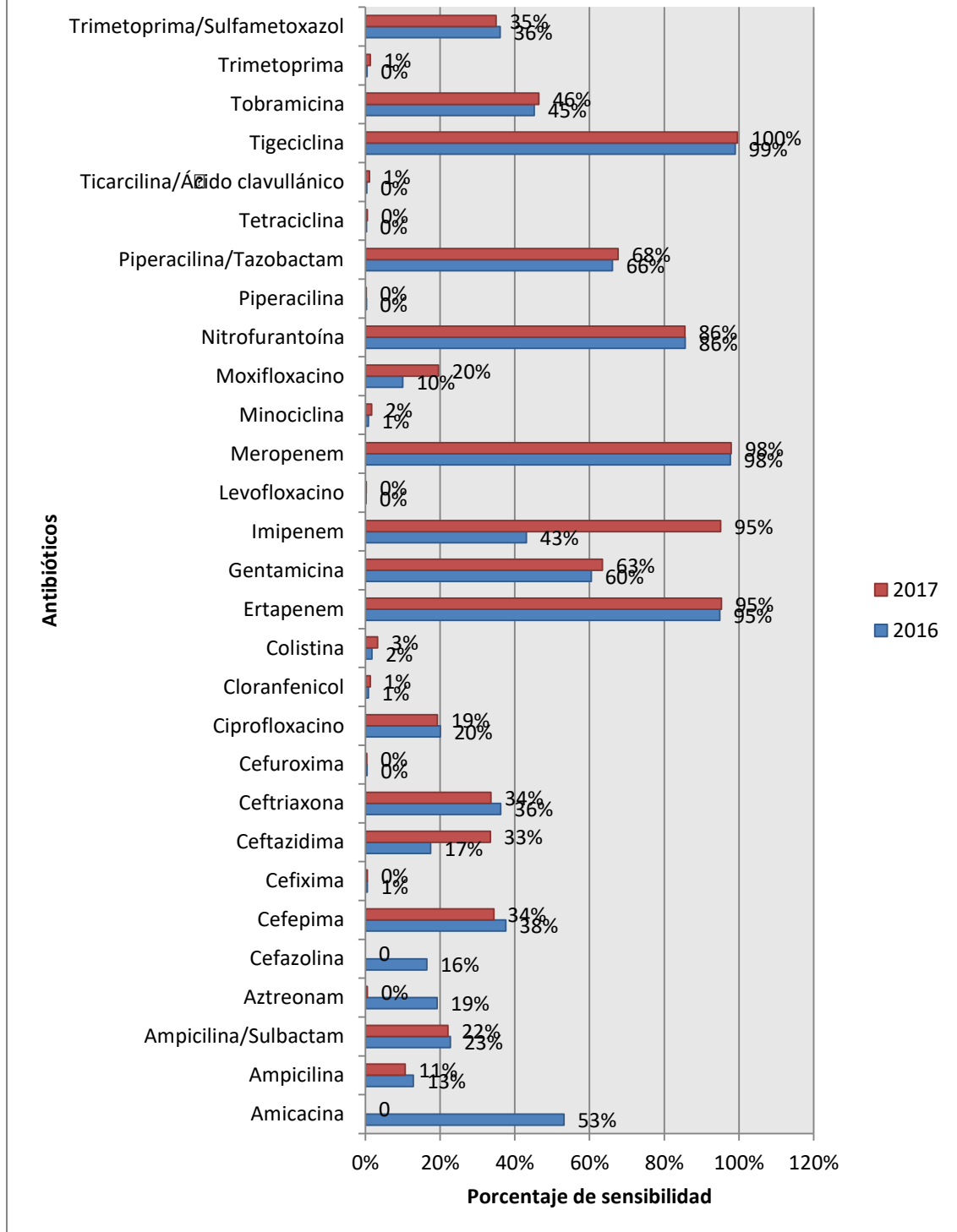


Gráfica 37 Porcentaje de sensibilidad de *Enterobacter cloacae complex* en 2016 y 2017

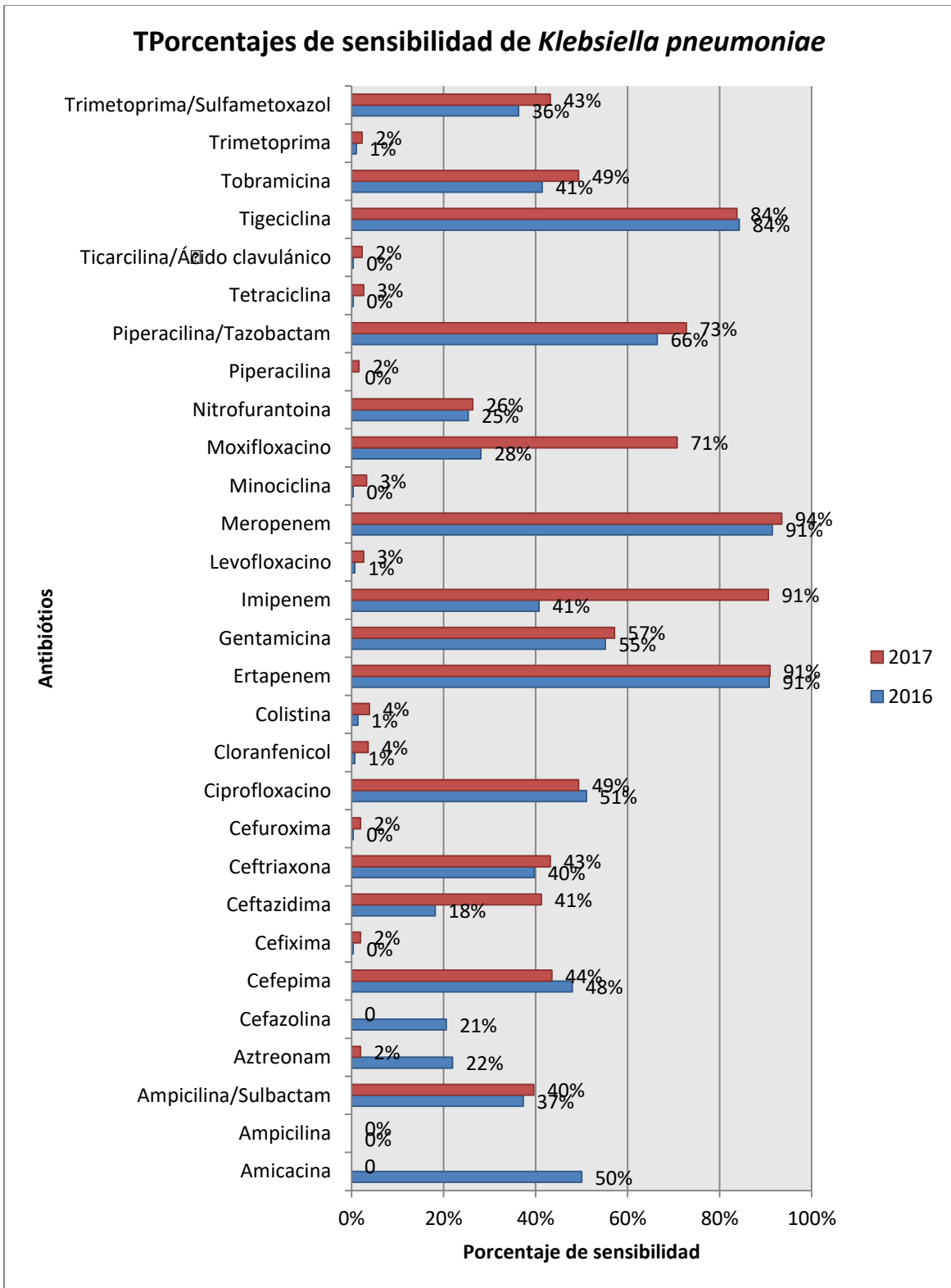
*Enterobacter cloacae* tuvo a diferencia de *A. baumannii* un aumento a su sensibilidad a los carbapenémicos de 2016 a 2017, y en general a la mayoría de antimicrobianos a los que fue probado habiendo una diferencia significativa. Fue el Meropenem el que tuvo una sensibilidad mayor al 90% en 2017, el Imipenem subió del 37% al 81% sin embargo el Ertapenem bajó de 81% a 78%. A pesar de esto, son los carbapenémicos el grupo de medicamentos con mayor espectro de acción contra *E. cloacae*. Aquellos antimicrobianos con una buena susceptibilidad son Trimetoprima/Sulfametoxazol, Tigeciclina, Gentamicina, Ciprofloxacino y Cefepima. Para la prescripción de estos como de todos los antimicrobianos se aconseja tomar en cuenta estudios de susceptibilidad específicos y considerar la CMI pues muchas de las ocasiones la dosis es determinante entre Sensible, Intermedio y Resistente.

*E. coli* es la bacteria Gram Negativa más común en ITU, sin embargo, aunque comúnmente se prescribe Trimetoprima/Sulfametoxazol para este tipo de infecciones, en pacientes hospitalizados la terapia empírica respecto a estas infecciones de este tipo debe estar sujeto a estudios de susceptibilidad, pues como se ve en la Gráfica 36 del 100% de aislamientos de *E. coli* únicamente 36% fue sensible a Trimetoprima/Sulfametoxazol en 2016 y 35% en 2017 habiendo incluso una disminución del 1%, lo que se traduce en más de 12 pacientes. Es por esta razón que esta combinación de antimicrobianos no es la elección para *E. coli*; sin embargo presentó una sensibilidad creciente en 2017 respecto a 2016 para los carbapenémicos como Meropenem, Imipenem y Ertapenem. También a la Nitrofurantoína se presentó un buen porcentaje de susceptibilidad; del 86% en ambos años, siendo este por lo tanto el recomendado como primera opción para el tratamiento de ITU de pacientes hospitalizados, quedando los carbapenémicos y la Tigeciclina como última opción.

## Porcentajes de sensibilidad de *Escherichia coli*



Gráfica 38 Porcentaje de sensibilidad de *Escherichia coli* en 2016 y 2017



Gráfica 39 Porcentaje de sensibilidad de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* en 2016 y 2017

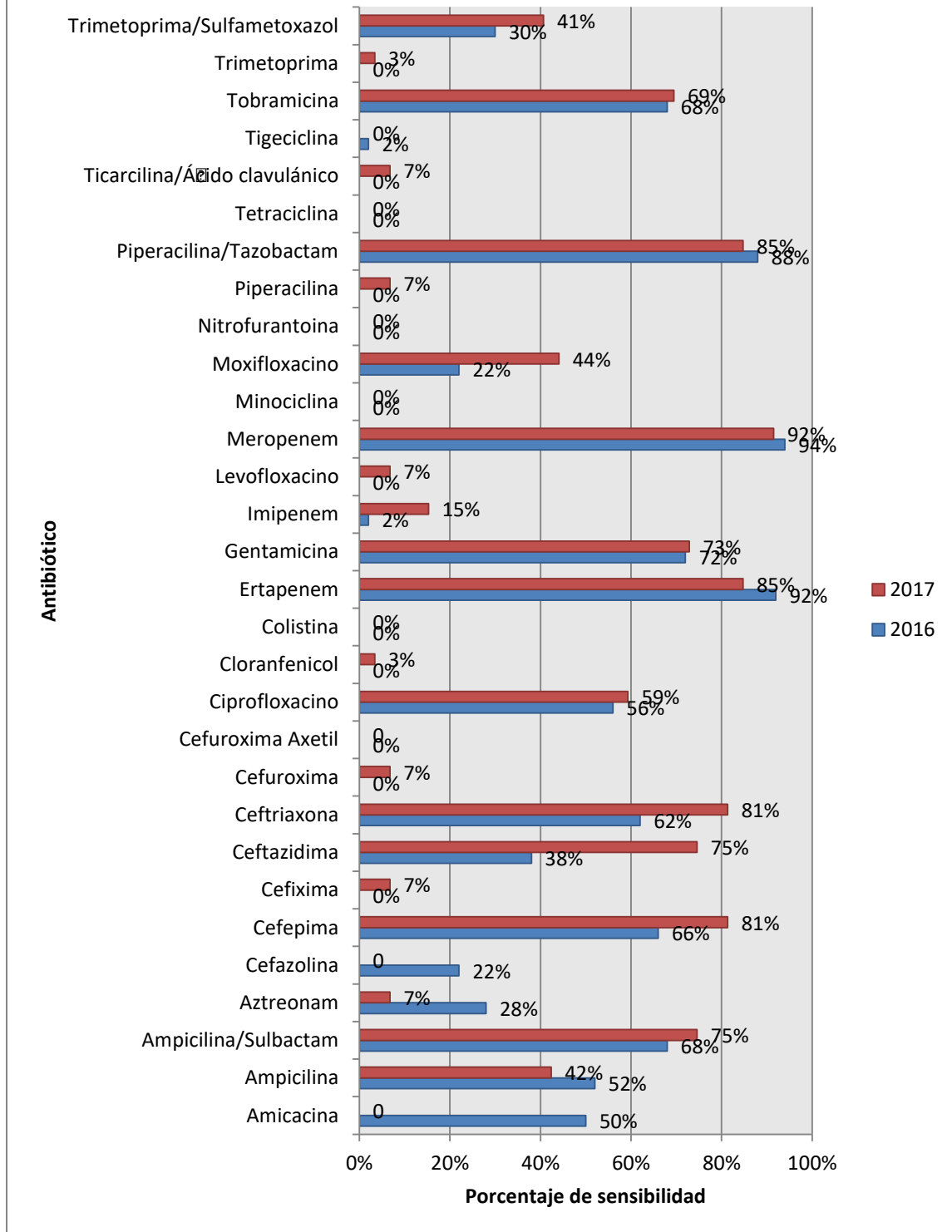
Si bien *K. pneumoniae* es la principal especie productora de KPC, también se ha determinado su presencia en otras especies de la familia Enterobacteriaceae. Esta enzima presenta actividad contra un amplio espectro de antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos que incluye penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, aztreonam y carbapenémicos (Modificado de Cercenado, E. y Cantón, R., 2011)

Las enzimas KPC pueden ser confundidas con BLEEs, dado que también confieren resistencia a cefalosporinas y son parcialmente inhibidas por ácido clavulánico y tazobactam por lo que lo que se observa en la Gráfica 47 las Beta Lactamasas de Espectro Extendido pueden incluir KPCs, necesitando pruebas confirmatorias para la identificación del gen *bla*.

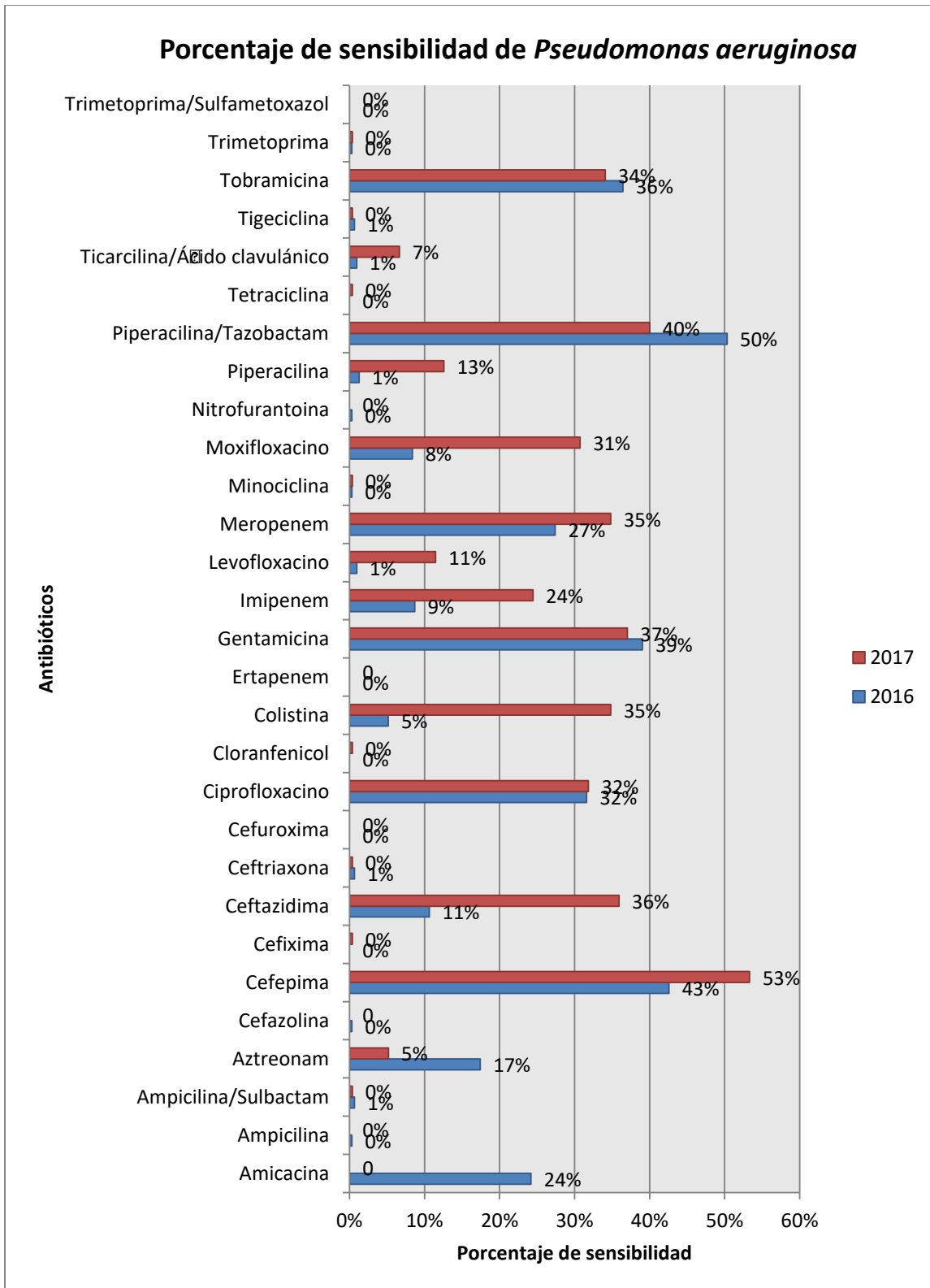
*Klebsiella pneumoniae* es una bacteria de especial cuidado en pacientes inmunodeprimidos o inmunocomprometidos, pues una infección por este bacilo Gram Negativo en Infecciones de Vías respiratorias que se complique puede evolucionar a una neumonía que puede llegar a ser mortal, por lo que el correcto tratamiento desde su primer aislamiento es de suma importancia. En la Gráfica 37 se observa que es a los carbapenémicos a los que mayor presenta sensibilidad. Al igual que como sucedió con *E. coli* hubo un considerable aumento en la sensibilidad ante Imipenem aumentando en un 50% de 2016 a 2017. Al tener una sensibilidad casi nula a los beta lactámicos, a excepción de aquellos que contienen un inhibidor de las betalactamasas como , Amplicilina/Sulbactam y Piperacilina/Tazobactam, se considera que *K. pneumoniae* es una productora de BLEE (Beta lactamasas de espectro extendido), habiendo incluso generado resistencia a la combinación de Ticarcilina/Ácido clavulánico como se ve en la misma Gráfica. Es por ello que para el tratamiento de esta se recomienda el uso de carbapenémicos , Tigeciclina así como Amplicilina/Sulbactam y Piperacilina/Tazobactam (estas dos últimas solamente después de un estudio de susceptibilidad), pues su sensibilidad puede ser dependiente de la dosis y de los genes de resistencia que tenga cada cepa aislada, podría ser o no productora de BLEE.



## Porcentaje de sensibilidad de *Proteus mirabilis*



Gráfica 40 Porcentaje de sensibilidad de *Proteus mirabilis* en 2016 y 2017

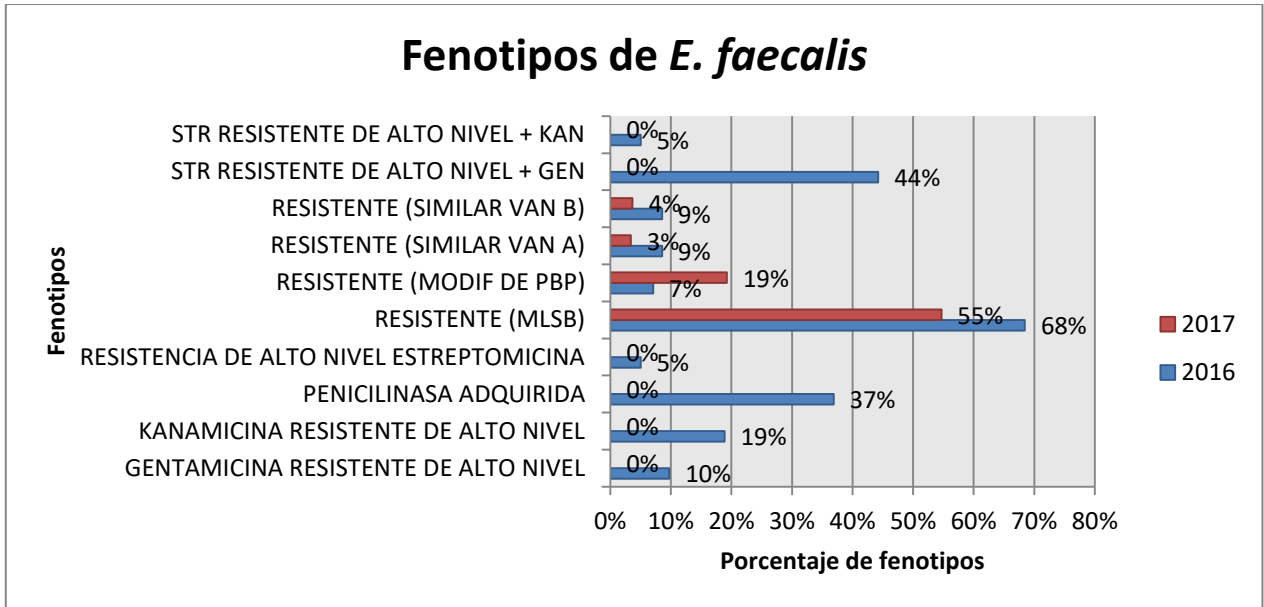


Gráfica 41 Porcentaje de sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* en 2016 y 2017

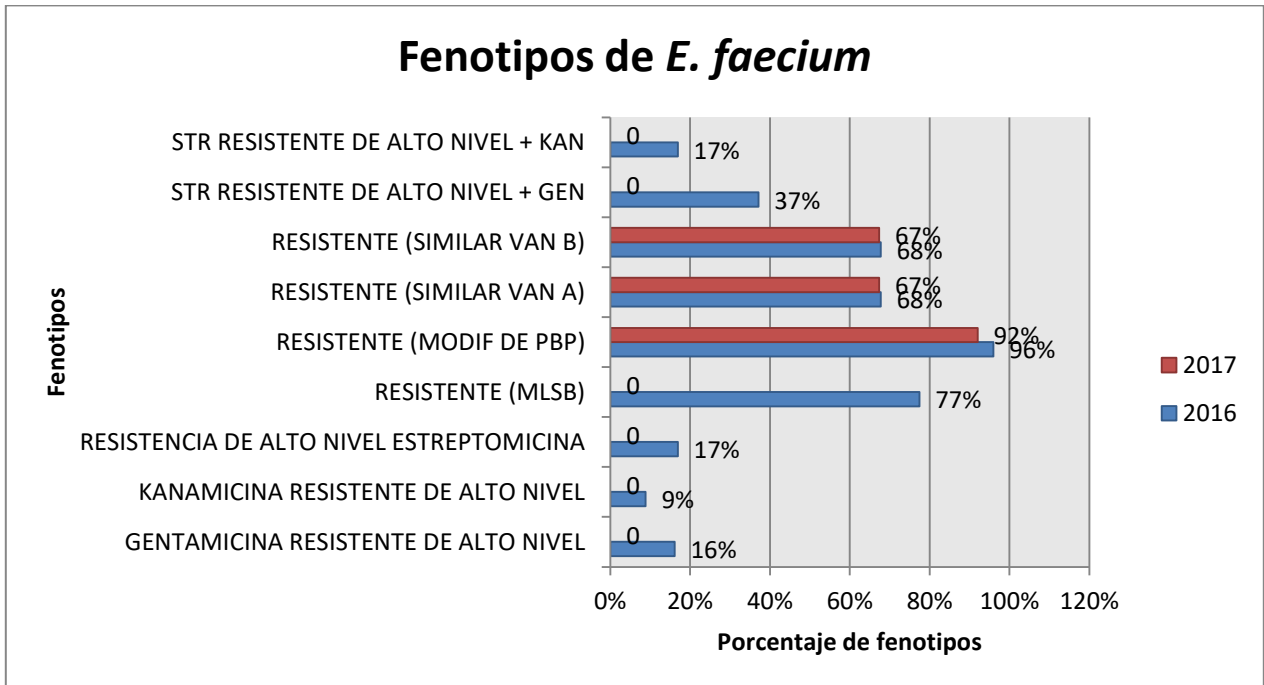
*Proteus mirabilis* presentó en general una buena sensibilidad a los carbapenémicos a excepción de Imipenem. Aunque es mayor al 80% su sensibilidad a Meropenem y Ertapenem, esta bajó en 2017, por lo que está en aumento su producción de carbapenemasas teniendo que tener este dato muy presente para la prescripción antibiótica contra este microorganismo por el infectólogo. De igual modo ante Piperacilina/Tazobactam hubo una reducción de la sensibilidad, aunque un aumento ante Ampicilina/Sulbactam, datos que se pueden ver en la Gráfica 38, lo que nos indica una variación en la producción de BLEE. En definitiva los betalactámicos deben suprimirse en la terapia ante esta bacteria, a menos que estén en sinergia con un inhibidor de las beta lactamasas, y ello teniendo en consideración un estudio de susceptibilidad específico para cada aislamiento y dependiendo de la CMI.

La otra bacteria de la que se debe tener especialmente en cuenta es *Pseudomonas aeruginosa* pues al igual que *A. baumannii* ha desarrollado crecientes mecanismos de resistencia a los distintos grupos de antibióticos y esto se corrobora en la Gráfica 39 en la que Cefepima apenas alcanza el 53% de sensibilidad en 2017 mientras que la Piperacilina/Tazobactam en 2016 un 50%, habiendo disminuido en 10% un año después. La colistina aumentó del 5% al 35% de 2016 a 2017; siendo este el último recurso pues al ser un lipopéptido de amplio espectro es más agresivo. El 35% de sensibilidad ante la colistina es un porcentaje muy bajo pues se traduce como más de 100 aislamientos resistentes a este antibiótico, teniendo que recurrir los médicos a tratamientos de dos antibióticos en dosis más altas lo que puede repercutir a daños renales. Esta bacteria presenta diversos mecanismos de resistencia entre los que se encuentra producción de BLEE y carbapenemasas. Hace por tanto a *P. aeruginosa* y *A. baumannii* a dos bacterias de importancia en infecciones intrahospitalarias y una alerta sanitaria importante en su aislamiento, principalmente en la UCI de las unidades de atención a la salud.

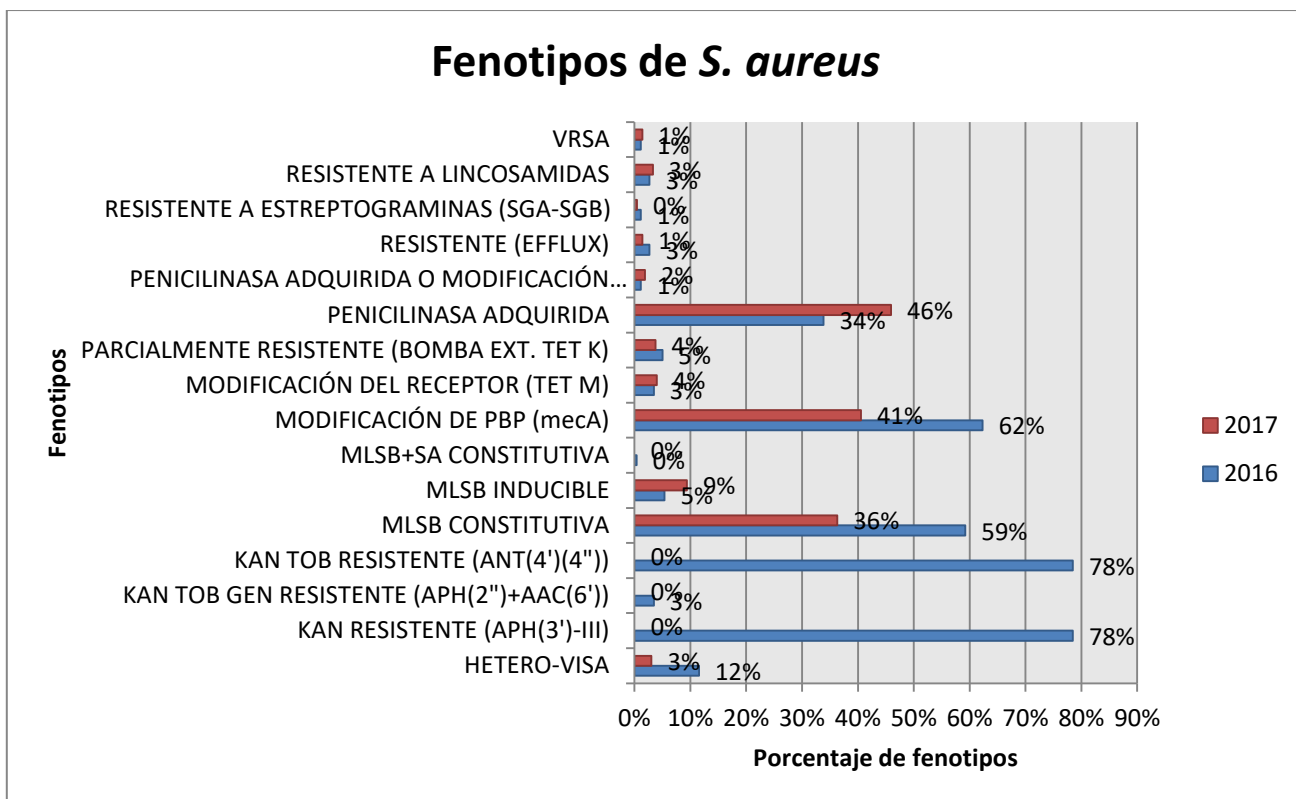
# Porcentaje de Fenotipos de resistencia encontrados de bacterias Gram Positivas



Gráfica 42 Porcentaje de fenotipos de *Enterococcus faecalis* en 2016 y 2017



Gráfica 43 Porcentaje de fenotipos de *Enterococcus faecium* en 2016 y 2017

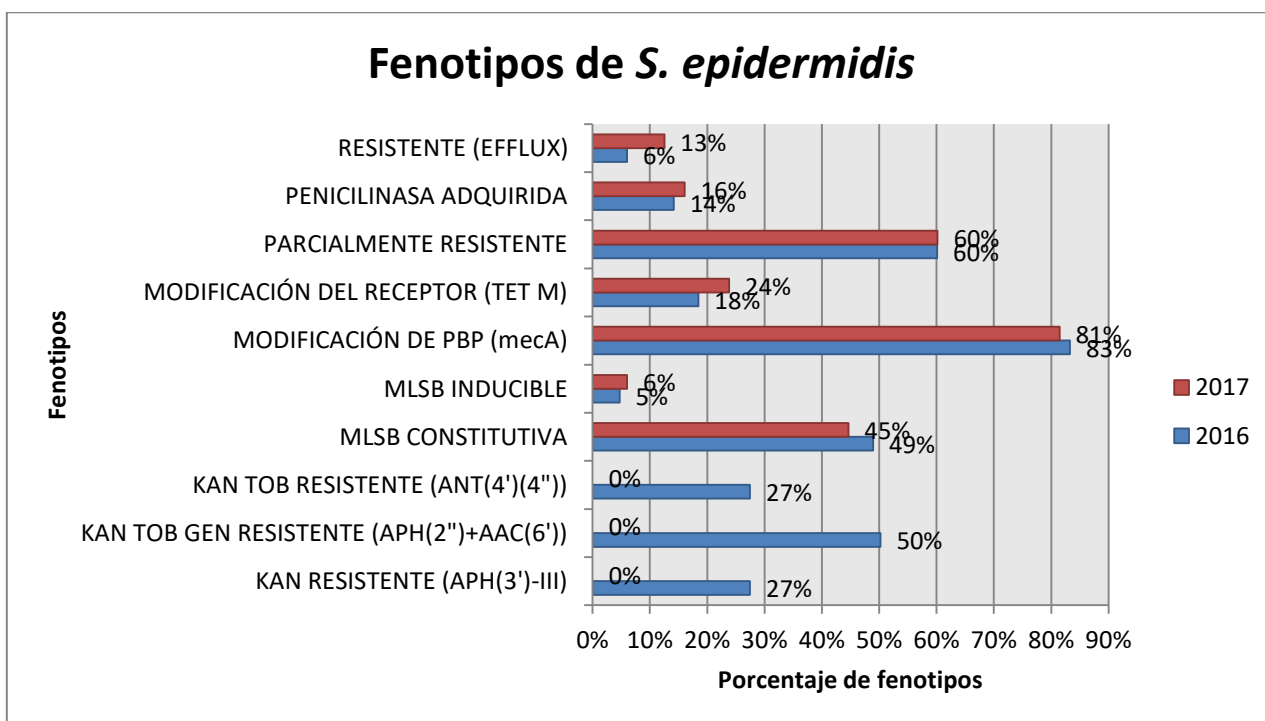


Gráfica 44 Porcentaje de fenotipos de *Staphylococcus aureus* en 2016 y 2017

La resistencia a meticilina en *S. aureus* está dada fundamentalmente por la síntesis de una proteína de unión a penicilina -PBP- supernumeraria, llamada PBP2a, codificada por el gen *mecA*. En general, la resistencia mediada por *mecA* determina CMI de oxacilina 4 mg/L. Sin embargo, en los últimos años y en distintos países se ha descrito la circulación de cepas de *S. aureus* portadoras del gen *mecA* con CIM de oxacilina 2 mg/L (Modificado de Giudice, M., Pardo, L., Mota, M., Gutiérrez, C., Algorta, G y Varela, G., 2018), por lo que se deben hacer pruebas confirmatorias con discos de oxacilina para la determinación de SARM.

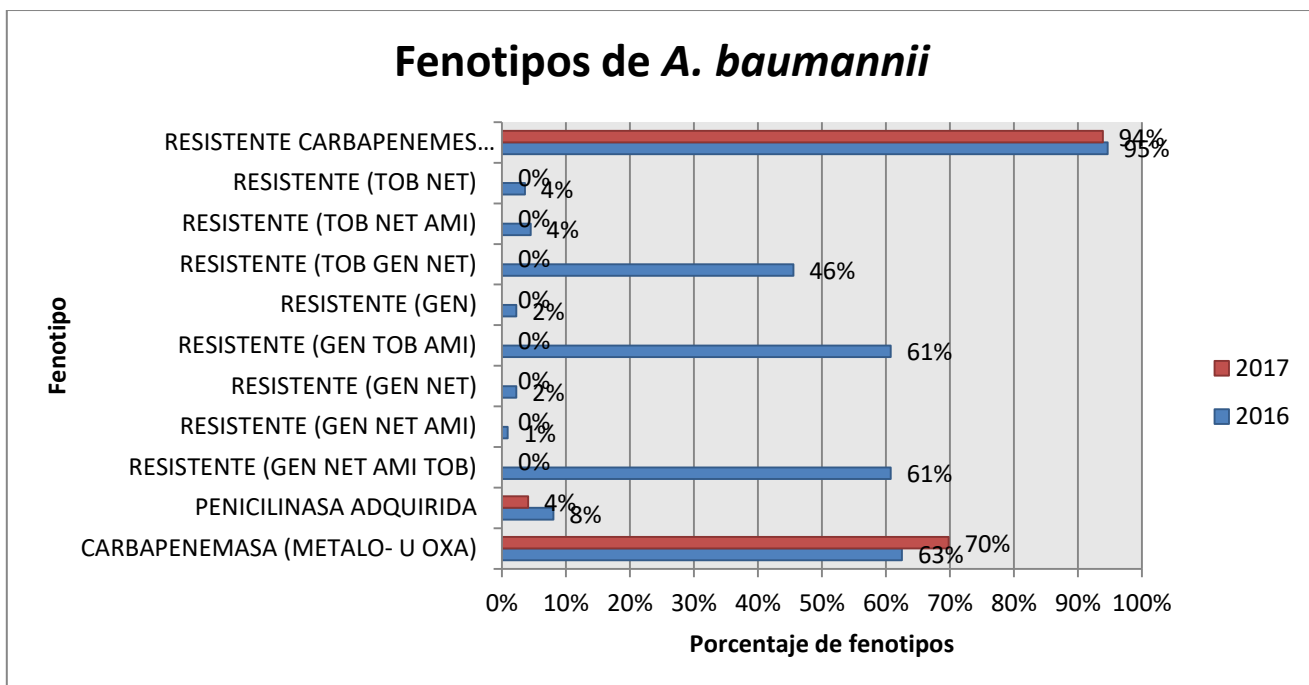
En este microorganismo se han descrito múltiples mecanismos de resistencia. Entre estos, existen 3 mecanismos de resistencia para los macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLSB): Modificación del sitio de acción (codificado por el gen *erm*), Bomba de eflujo (codificado por el gen *msr A*) e Inactivación (codificado por el gen *mph*). La mayor parte de las cepas de *Staphylococcus aureus* que son resistentes a la eritromicina lo son también a las Lincosamidas (Montoya, I., Mira, M., Álvarez, I., Cofré, J., Cohen, J., Donoso, G. y Torres, J., 2009) por lo que es su resistencia a eritromicina.

El *Staphylococcus aureus* resistente a la oxacilina en el límite (BORSA, por sus siglas en inglés) representa un fenotipo de la resistencia a la meticilina bastante poco conocido y mal definido. Las cepas BORSA muestran una resistencia baja y límite a las penicilinas resistentes a la penicilinasas (PRP), con CMI de oxacilina por lo general igual a 1-8 µg/mL, y en contraste con *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), no tienen una proteína de unión a la penicilina alterada, PBP2a, codificada por el gen *mecA* o *mecC*. Su resistencia suele estar asociada con la hiperproducción de beta-lactamasas o, en algunos casos, con mutaciones puntuales en los genes PBP. BORSA no puede clasificarse como cepas verdaderamente resistentes a la meticilina o verdaderamente susceptibles a la meticilina. Sin embargo, con frecuencia se identifican erróneamente, lo que plantea una evidente amenaza epidemiológica y terapéutica (Modificado de Hryniewicz y Garbacz, 2017) por lo que lo que se ve en la Gráfica 42 en “penicilinasas adquirida” se considera el porcentaje de aislamientos con producción de penicilinasas, siendo aquí un indicativo de que estas pueden ser cepas BORSA.



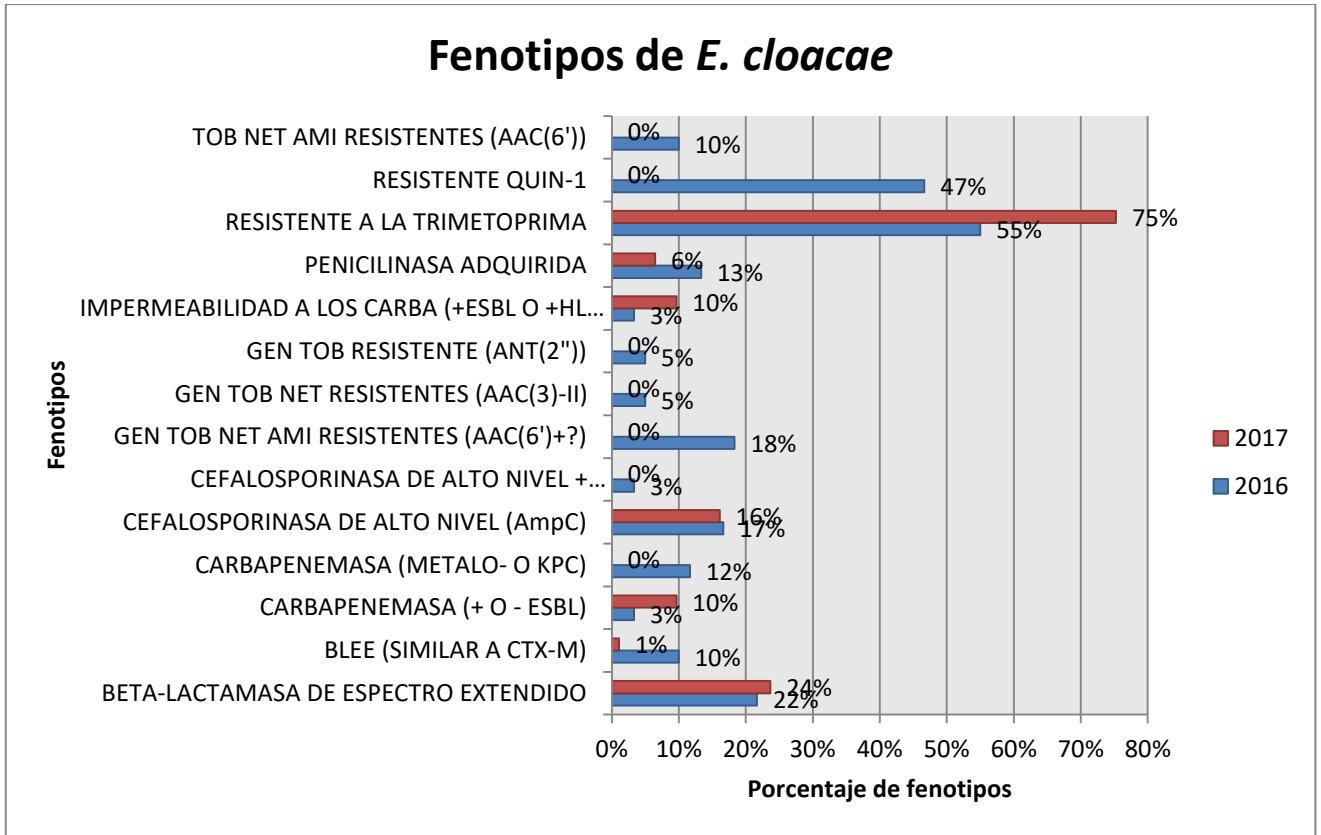
Gráfica 45 Porcentaje de fenotipos de *Staphylococcus epidermidis* en 2016 y 2017

## Porcentaje de Fenotipos de resistencia encontrados de bacterias Gram Negativos



Gráfica 46 Porcentaje de fenotipos de *Acinetobacter baumannii* complex en 2016 y 2017

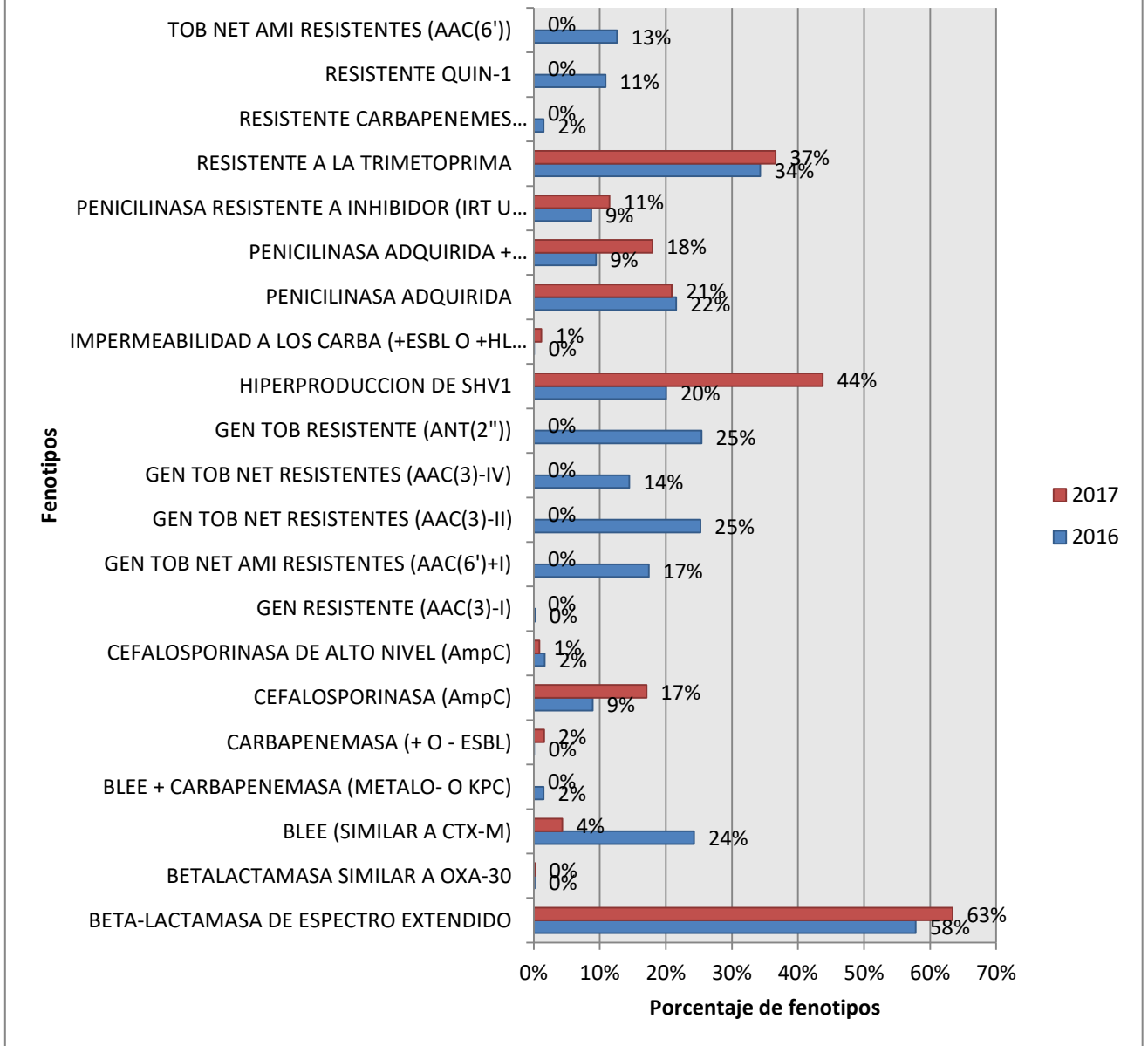
Respecto a los mecanismos de resistencia de *A. baumannii*, los mecanismos enzimáticos consisten en la degradación del  $\beta$ -lactámico mediada por diferentes tipos de  $\beta$ -lactamasas, dentro de las cuales se encuentran las  $\beta$ -lactamasas de clase A, B o D, de acuerdo con la clasificación de Ambler. Las  $\beta$ -lactamasas de clase D u oxacilinasas son las que se describen con mayor frecuencia en cepas de *A. baumannii*, siendo las principales OXA-24, OXA-23, OXA-51 y OXA-58 (Modificado de Venegas, J., Roncancio y Jiménez, J., 2014). Son las metalocarbapenemasas también de importancia, y se señala en la Gráfica 44 esta. *A. baumannii* presenta también un mecanismo que es la impermeabilidad a los carbapenémicos que en la misma gráfica se representa en aumento con respecto al 2016.



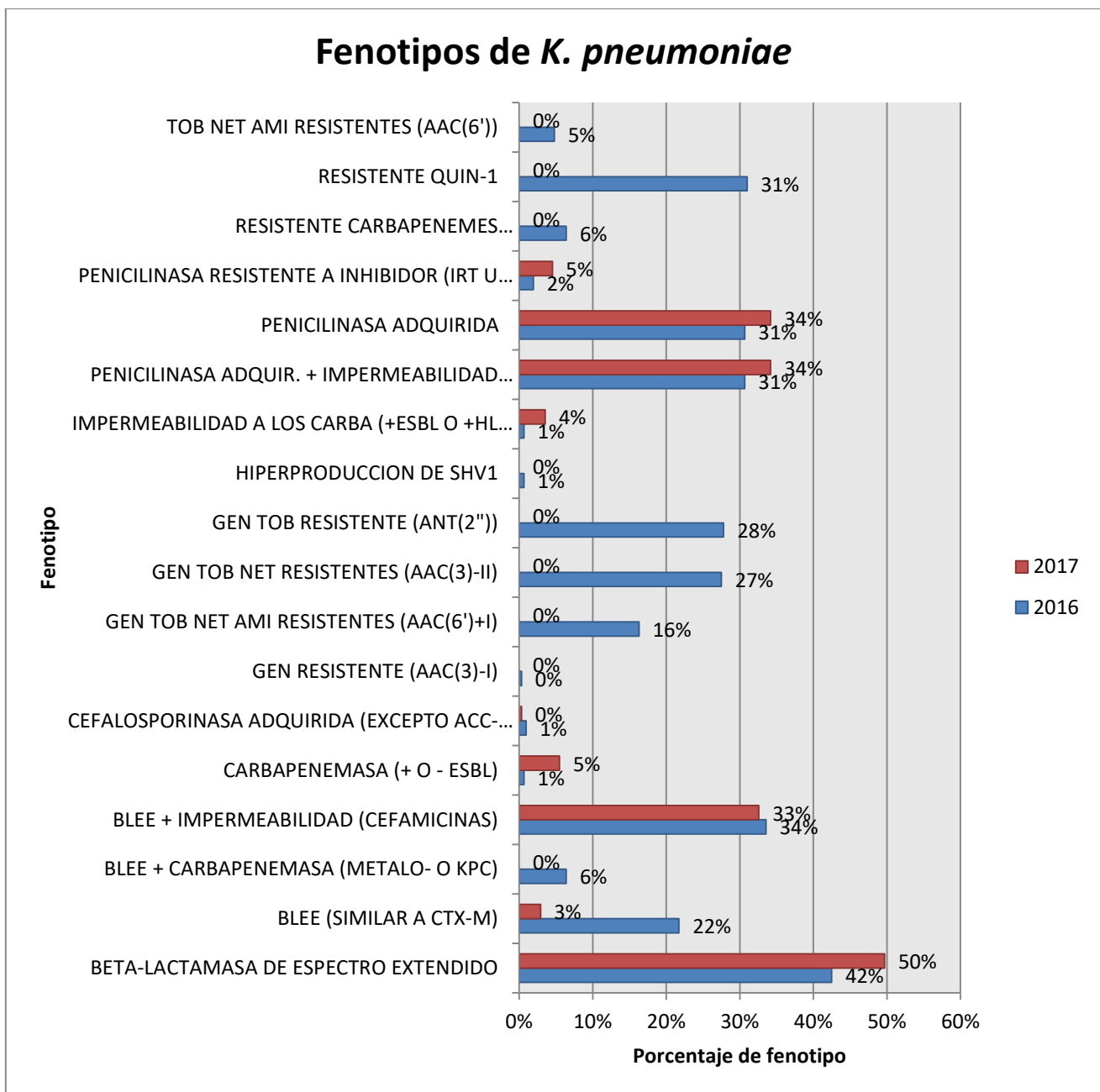
Gráfica 47 Porcentaje de fenotipos de *Enterobacter cloacae complex* en 2016 y 2017



## Fenotipos de *E. coli*



Gráfica 48 Porcentaje de fenotipos de *Escherichia coli* en 2016 y 2017

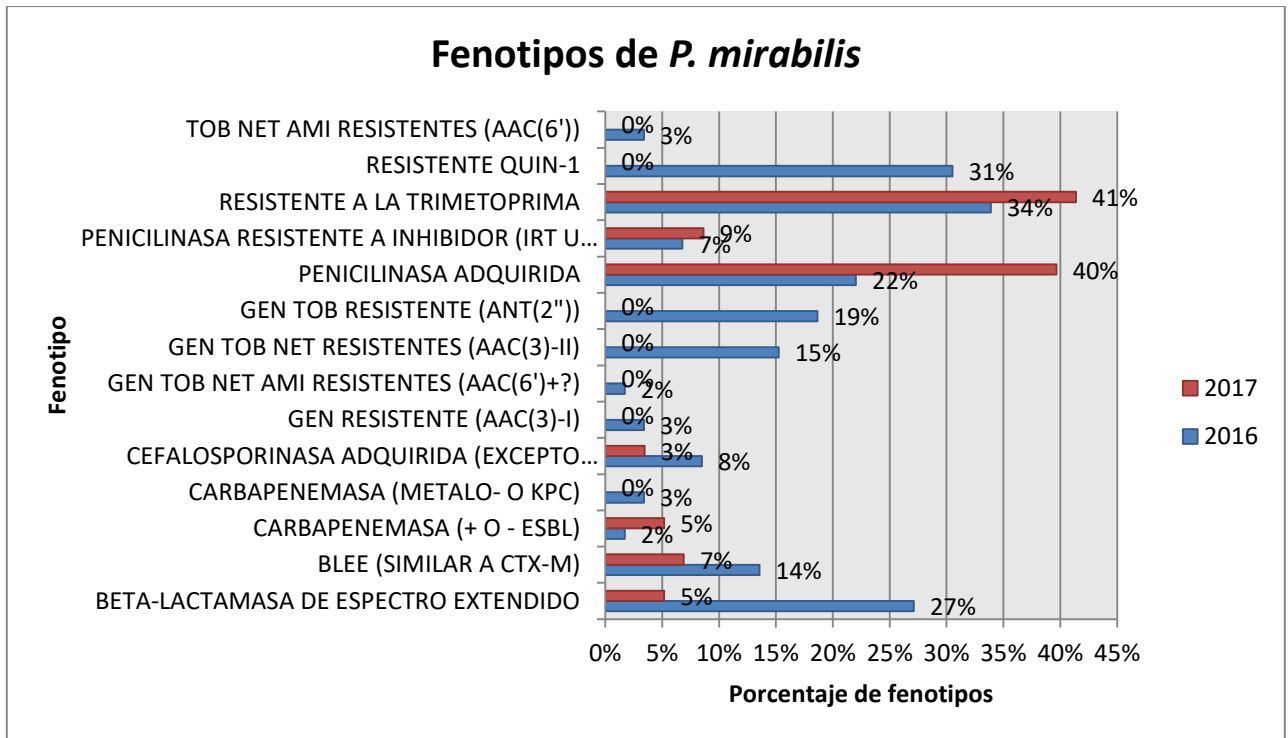


Gráfica 49 Porcentaje de fenotipos de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* en 2016 y 2017

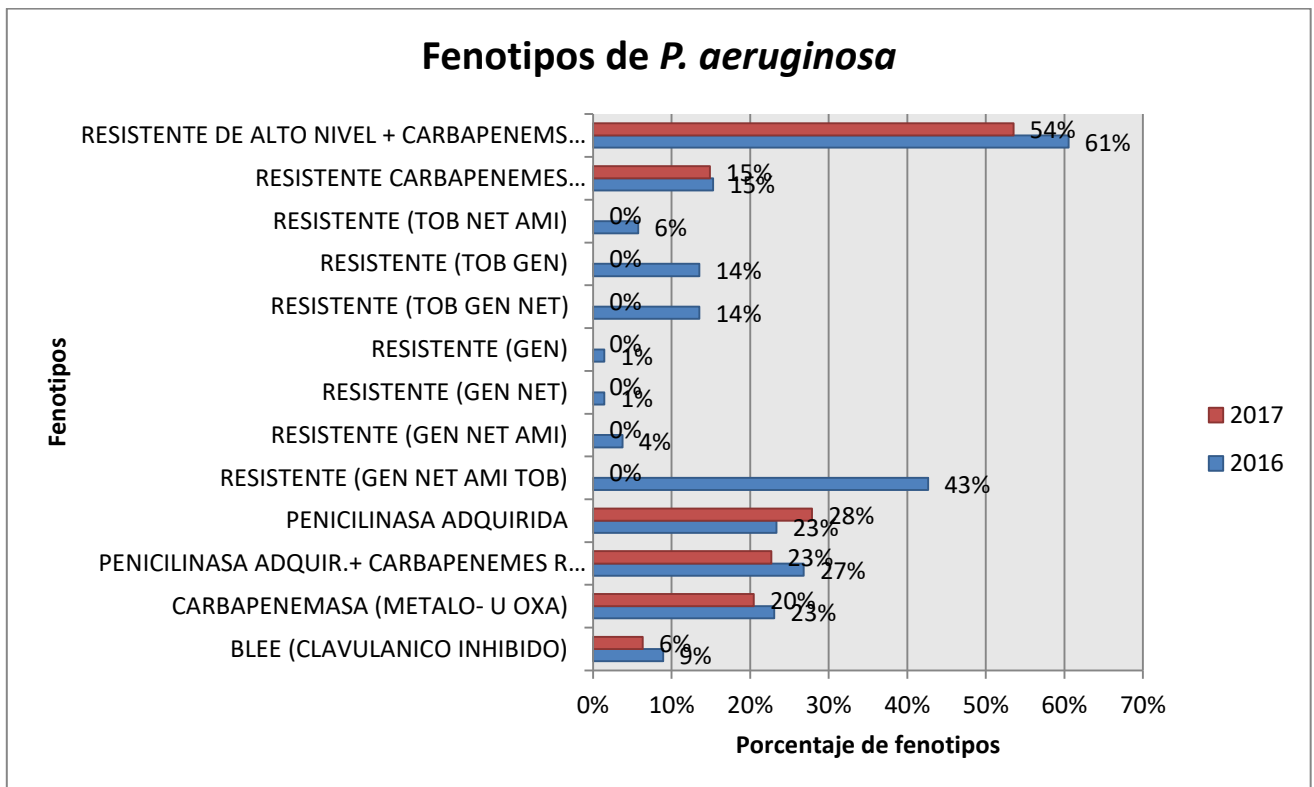
Las BLEE se pueden clasificar en diferentes grupos, según las distintas clasificaciones. La mayoría de ellas pertenecen a la clase molecular A de Ambler. La detección de las BLEE en el laboratorio no siempre es fácil, ya que depende de su expresión fenotípica, y esto viene condicionado por la cantidad de enzima producida por la bacteria, y de la presencia o no de otros mecanismos de resistencia (Aguilar, D. ,2015)

Las betalactamasas de la clase molecular C de Ambler caracterizan por su espectro de hidrólisis (actividad cefalosporinasa) y por su perfil de inhibición. Las AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera (cefalotina) y segunda generación (cefuroxima), incluidas las cefamicinas (cefotaxima y cefotetán) y, en menor medida, las de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima y cefpiroma) y los carbapenémicos (imipenem y meropenem). En determinadas especies bacterianas como *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*, etc. el gen *blaAmpC* se expresa de forma inducible. Independientemente del mecanismo que conduce a una hiperproducción de *AmpC*, los aislados hiperproductores de *AmpC* presentan un fenotipo de resistencia (fenotipo *AmpC*) a las penicilinas, las asociaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasa, cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas, así como a las de tercera generación, pero en grado variable, dependiendo del nivel de hiperproducción (Modificado de Cercenado, E. y Cantón, R., 2011). En las Gráficas 46 y 47 se aprecia el aumento de cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* con este fenotipo. Dato preocupante y a tomar en cuenta en cada próximo aislamiento para los estudios de susceptibilidad, principalmente en pacientes inmunodeprimidos.

La presencia de microorganismos BLEE complica la selección de antimicrobianos particularmente en pacientes con infecciones tan serias como bacteriemia. Además, que varias de las cepas productoras de BLEE son productoras de CTX-M, lo que las hace resistentes a fluoroquinolonas. Los antibióticos regularmente utilizados como manejo empírico o anticipado en pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad, como las cefalosporinas vía oral, usualmente no son efectivas contra *E. coli* BLEE. La terapia empírica o anticipada es la que se inicia antes de tener el resultado del cultivo con el germen aislado y los patrones de susceptibilidad (Modificado de Aguilar, D., 2015)



Gráfica 50 Porcentaje de fenotipos de *Proteus mirabilis* en 2016 y 2017



Gráfica 51 Porcentaje de fenotipos de *Pseudomonas aeruginosa* en 2016 y 2017

Son los casos de *Pseudomonas aeruginosa* como se ve en la Gráfica 49 que presenta una sinergia de más de un mecanismo de resistencia como beta lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas lo que está siendo más problemático y que se debe considerar por el microbiólogo clínico pues la determinación del antibiótico al que mayor presenta sensibilidad es esencial para el correcto tratamiento y disminución de brotes en los servicios como lo es la UCI de los hospitales.

## 8. Conclusiones

Se realizó el análisis de las bacterias más frecuentes aisladas en el Hospital de Especialidades de CMNSXXI que fueron: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, así como la comparación entre la sensibilidad de estas a distintos antimicrobianos en 2016 y 2017. De igual manera se hizo el análisis de los principales fenotipos de resistencia presentes de las cepas aisladas. Se encontró que en los aislamientos de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* y *A. baumannii* del 2017 hubo un aumento en los fenotipos de resistencia respecto a 2016, por lo que la implementación de los PROA y las medidas de higiene y control dentro del hospital se deben controlar de una mejor manera. Se encontró una diferencia significativa entre la sensibilidad de todas las bacterias analizadas a los antimicrobianos entre los dos años excepto en *Enterococcus faecium*.

Con el estudio comparativo se determinaron los microorganismos más comunes asociados a I.A.A.S, así como los cambios en su sensibilidad a estos después de la implementación de un PROA implementado en el hospital en el año 2017.

El problema de resistencia a los antimicrobianos ha sido durante años un tema de suma importancia en cuanto a salud pública. Los estudios epidemiológicos y de susceptibilidad a antimicrobianos en instituciones de atención a la salud deben ser siempre de suma importancia en la toma de decisiones por los médicos en conjunto con los químicos, pues aunque es un tema que depende de todos; desde la persona que no se auto medica, las y los enfermeros que tratan con los pacientes en los hospitales, los pacientes que deben

seguir al pie de la letra el tratamiento que le prescribe el médico, el químico que realiza la identificación y estudio de sensibilidad a las bacterias y el médico que prescribe el tratamiento, se conciente en una cadena en la que la participación debe ser general.

Cabe señalar que siempre es importante la realización de pruebas confirmatorias por los químicos del laboratorio de bacteriología de los resultados obtenidos por sistemas automatizados para poder dirigir mejor los PROAs.

Se logró realizar una comparación entre ambos años y así analizar cómo el Programa de Optimización para el uso de Antimicrobianos realizado en el Hospital de Especialidades dio resultado en cuanto a la terapia empírica para los pacientes; sin embargo se siguen presentando bacterias multiresistentes, siendo este un problema que no fácilmente se va a erradicar, sin embargo con tratamiento adecuado, buenas prácticas de higiene y un control del personal y las áreas dentro del hospital, se puede controlar.

Desde los PROAs que se realizan en los hospitales con datos estadísticos de los aislamientos obtenidos y sus perfiles de sensibilidad, hasta la vigilancia por el SINAVE por la SSA es importante para un tratamiento empírico por parte del médico, así como para poder concientizar a la población respecto al uso indiscriminado de antibióticos.

## 10. Referencias

1. Aguilar, D. (2015) *E. coli* BLEE, la enterobacteria que ha atravesado barreras. *Rev Invest Med Sur Mex* 22 (2): 57-63. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2015/ms152b.pdf>
2. Ardanuy, C., Cercenado, E., Morosini, M. y Torres, C. (2011) Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en grampositivos. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf>

3. Arias, R., Rosado, U., Vargas, A y Grajales, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev. Med. Inst. Méx. Seguro Soc.* 54 (1) 20-24. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im161d.pdf>
4. Biology, (S/A) Célula procariota. Componentes de la célula procariota. Recuperado de [https://cnx.org/contents/GFy\\_h8cu@9.87:pOpVdlwp@11/Prokaryotic-Cells](https://cnx.org/contents/GFy_h8cu@9.87:pOpVdlwp@11/Prokaryotic-Cells)
5. Biomérieux /S/A) CHROMID ESBL. Recuperado de: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/chromidr-esbl>
6. Biomérieux (S/A) Vitek 2.0 Recuperado de: <https://www.biomerieux.com.mx/diagnostico-clinico/productos/vitek-r-2>
7. Brooks, G., Carroll, K. y Bute, J. (2014) Jawetz, Melnick y Adelberg: microbiología médica. 26a. ed. CDMX, México: McGraw-Hill Interamericana
8. Cercenado, E. (2015). Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Rev Esp Quimioter* 28 (Suppl 1): 8-11 Recuperado de [https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq\\_0214-3429\\_28\\_sup1\\_cercenado.pdf](https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_sup1_cercenado.pdf)
9. Cercenado, E. y Cantón, R. (2011) Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. *Procedimientos en microbiología clínica . Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Recuperado de: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf>
10. Cantón, R. (2010). Lectura Interpretada del Antibiograma: una necesidad clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin:* 28 (6) 375–385
11. Castro, A. (2014) Bacteriología médica basada en problemas. 2 ed. México: Editorial el manual moderno.
12. Cercenado, G (2011) Enterococcus: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 29

- (Supl 5): 59-65 Recuperado de:  
<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/ccs-2010-bacteriologia.pdf>
13. Fuentes, J., 2017. Identificación de la presencia de carbapenemasas y determinación de su tipo (A, B y D) en cepas de *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes a antibióticos aisladas en un hospital de tercer nivel. *Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. pág.82*
  14. Fundación io (S/A) *Clostridium* spp.: cultivo en Agar sangre en anaerobiosis. Se observan grandes colonias en expansión el primer día de cultivo. Atlas de bacteriología. Recuperado de:  
<http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/clostridium.html>
  15. Galván, M., Castañeda, L., Galíndo, M. y Morales, M. (2017). Infecciones asociadas con la atención de la salud y su resistencia antimicrobiana. *Rev. Esp. Méd. Quir.* 22 (1): 1-13. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2017/rmq171a.pdf>
  16. Garza, U., Silva, J. y Martínez, E. (2009) Genética y genómica enfocadas en el estudio de la resistencia bacteriana. *Salud Pública de México v. 51*. Recuperado de:  
<http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/4917/9659>
  17. Giudice, M., Pardo, L., Mota, M., Gutiérrez, C., Algorta, G y Varela, G. (2018) *Staphylococcus aureus* portador del gen *mecA* sensible a oxacilina (OS-MRSA): otro desafío para los laboratorios de microbiología. *Rev. Méd. Urug.* 34 (4) Recuperado de:  
[http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-03902018000400142](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902018000400142)
  18. Hryniewicz y Garbacz(2017) Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) – a more common problem than expected? *Journal of Medical Microbiology*, 66:1367– 1373 Recuperado de:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28893360>



19. López, S y López, M. (2000) ¿Qué debemos saber acerca de las infecciones por *Acinetobacter baumannii*? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 18 (3): 105-156. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-que-debemos-saber-acerca-las-9771>
20. Martín, A. & Ignacio, J. (2012) Cepa de *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas de amplio espectro y amoxicilina/clavulánico. *Rev Esp Quimioter.* 25 (3): 222-223. Recuperado de: <https://seq.es/seq/0214-3429/25/3/martin.pdf>
21. Microbeonline (2015). Nitrocefin test: Principle, procedure, uses and limitations. *Medical microbiology Guide.* Recuperado de: <https://microbeonline.com/nitrocefin-test-principle-procedure-uses-limitations/>
22. Montoya, I., Mira, M., Álvarez, I., Cofré, J., Cohen, J., Donoso, G. y Torres, J. (2009) Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. *Rev Chil Pediatr* 80 (1): 48-53 Recuperado de: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v80n1/art06.pdf>
23. Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C. (2011) Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica.* 30 (6): 325-332 - DOI: 10.1016/j.eimc.2011.09.009
24. Munita, J., & Arias, C. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2),10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <http://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
25. Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F. y Mirelis, B (2011) Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica.* 29 (7): 524-534 Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-deteccion-fenotipica-mecanismos-resistencia-microorganismos-S0213005X11001546>
26. Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-1994, para la vigilancia epidemiológica (11 de octubre de 1999) Diario Oficial de la Federación, CDMX, México

27. Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA2-2005, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales. (20 de noviembre de 2009). Diario Oficial de la Federación, CDMX, México.
28. OMS, (2002). *Prevención de las infecciones nosocomiales GUÍA PRÁCTICA*. (2a edición). Recuperado de: [http://www.who.int/csr/resources/publications/ES\\_WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_12.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/ES_WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12.pdf)
29. OMS, (2016.) Resistencia a los antibióticos. *Programas y proyectos*. Recuperado de <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/events/world-antibiotic-awareness-week-2016/es/>
30. OMS, (2017). *Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos Manual para la primera fase de implementación*. Recuperado de: <https://goo.gl/fjkMJW>
31. OPS (2018) *Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos*. Recuperado de <https://goo.gl/3D1bME>
32. OPS (2012) *Vigilancia epidemiológica DE las infecciones asociadas a la atención de la salud*. Recuperado de: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=22315&Itemid=270&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22315&Itemid=270&lang=en)
33. Pérez, H. y Robles, A. (2013) Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica*, 4 (3):186-191pp Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2013/md133i.pdf>
34. Prácticas de microbiología (2016) Tinción de Ziehl-Neelsen. Recuperado de <https://fiestadelosmicroorganismos.wordpress.com/2016/12/15/practica-10-tincion-de-ziehl-neelsen/>
35. Pujol, M y Limón, E. (2013) Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Sistemas y programas de vigilancia. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 31 (2), 65- 126. Recuperado de: <https://www.elsevier.es/es-revista->

enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-epidemiologia-general-las-infecciones-nosocomiales--S0213005X13000025

36. Rodríguez, E., León, G., Petersen, S., Pérez, H., González, E. & Morfín, R. (2014). La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*. ;34 (Supl.1) :181-90. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v34s1/v34s1a21.pdf>
37. Rodríguez, J., Paño, J., Álvarez, L., Asensio, A., Calbo, E., Cercenado, E... Sierra, R. (2012) Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 30 (1) 22.e1–22.e23 Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-programas-optimizacion-uso-antimicrobianos-proa--S0213005X11003259#elsevierItemsResumenes>
38. Romero, R. (2007) Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª ed. CDMX, México: Médica Panamericana.
39. (Sin autor, 2016.) Control Químico Antimicrobiano. Recuperado de: <https://slideplayer.es/slide/9890466/>
40. Sakurada, A. (2016). Protocolo simplificado de Carba NP para la detección de carbapenemasas directamente de cultivos. *Revista chilena de infectología*, 33(1), 95. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000100017>
41. Saldarriaga, E., Echeverria, E. y Ospina, S. (2015). Factores clínicos asociados a multirresistencia bacteriana en un hospital de cuarto nivel. *Infectio*. 19 (4), 161-167. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.infect.2015.04.003>
42. Sánchez, D. (2015) Recombinación de ácidos nucleicos en la naturaleza. Recuperado de: <http://davidsanchez1996.blogspot.mx/2015/06/recombinacion-de-acidos-nucleicos-en-la.html>

43. Secretaría de Salud (2014). *Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Programa Sectorial de Salud 2013-2018*. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/211946/PAE\\_2013-2018.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/211946/PAE_2013-2018.pdf)
44. Soto, G., Moreno, L. y Pahua, D. (2016). Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 59 (6), 8-22. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2016/un166b.pdf>
45. Unahalekhaka, A. (2014). Epidemiología de las infecciones asociadas a la atención en salud. En G. Emori, (3 ed), *Conceptos básicos de control de infecciones*. (pp. 29-44) Estados Unidos de América: CDC.
46. Venegas, J., Roncancio y Jiménez, J. (2014) *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *Rev CES Med ; 28(2): 233-246*. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v28n2/v28n2a08.pdf>
47. Walsh, C. & Wencewicz, T. (2016) *Antibiotics: Challenges, Mechanisms, Opportunities*. Washington DC, USA: ASM Press
48. Weiman S (2015) *Harnessing the Power of Microbes as Therapeutics: Bugs as Drugs: Report on an American Academy of Microbiology Colloquium held in San Diego, CA, in April 2014*. Washington (DC): American Society for Microbiology; 2015. Recuperado de: [://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519801/figure/fig8](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519801/figure/fig8)