



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Evaluación de la susceptibilidad de ceftolozane/tazobactam una cefalosporina de 5^o generación en cepas de Enterobacterias multiresistentes (*Klebsiella spp*, *Escherichia coli*) y *Pseudomonas aeruginosa*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

P R E S E N T A:

HERNÁNDEZ SÁNCHEZ DANIEL DE JESÚS

Asesora: Q.F.B Flores Cima Reyna

**Coasesor(a): M. en C. Vázquez Martínez Ana
Laura**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

**ATN: LA. 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**

Evaluación de la susceptibilidad de ceftolozane/tazobactam una cefalosporina de 5º generación en cepas de Enterobacterias multiresistentes (Klebsiella spp. Escherichia coli) y Pseudomonas aeruginosa.

Que presenta el pasante: **Daniel de Jesús Hernández Sánchez**

Con número de cuenta: **310066800** 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 27 de Febrero de 2020.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Dulce María Ruvalcaba Sil	
VOCAL	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
SECRETARIO	Q.F.B. Leticia Cubillo Carrillo	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. David Ladislao Sánchez	

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

LMCF/lmcf*

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría comenzar agradeciendo a mi querida Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por haberme brindado los mejores años de mi vida, desde que ingrese al Colegio de Ciencias y Humanidades Vallejo, recuerdo bien mi primer día con emoción y nervios por ser una nueva etapa, que yo sabía sería sin duda la mejor. Siendo lo más importante la oportunidad de estudiar en una licenciatura y permitirme crecer en el ámbito profesional y personal.

Quiero agradecer en especial a mi segunda casa la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, donde no solo obtuve una gran formación académica, si no también me brindo profesores increíbles y amistades que se perduraran de por vida. El camino nunca fue fácil, hubo incontables momentos en los que sentí que no podría culminar este gran viaje, pero finalmente se logró. Jamás olvidare todo lo bueno y malo que aprendí en toda mi estancia en la facultad, son enseñanzas y experiencias que me ayudaron a ser la persona que soy y que me formaron académicamente.

Agradezco a Dios por permitirme llegar a este punto al brindarme fortaleza, fuerza y amor para poder cumplir esta meta. Gracias Dios por darme la linda vida que tengo y poner siempre a las personas correctas en ella.

DEDICATORIAS

A la M. en C Ana Laura, por haberme brindado la oportunidad de ser uno de sus “tesistas”, y más importante, el apoyo incondicional que siempre me brindo, sin importar las circunstancias usted, nunca dejo que me rindiera y siempre me motivo para seguir adelante. Es usted un claro ejemplo de una gran profesora y ser humano, le agradezco muchísimo.

En especial también me gustaría agradecer a la Q.F.B Reyna Flores por haber sido quien me guio en todo el proyecto, que me oriento y me ayudo a salir a delante.

A mi mamá, Paula y mi papa Daniel, les agradezco la vida, el apoyo y amor incondicional que siempre he recibido de su parte, ya que a lo largo de mi vida ha velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me ha presentado, sin dudar de mis capacidades e inteligencia, es gracias a ustedes que hoy soy un futuro profesionista. Gracias por siempre ver por mi hermano y por mí. Padre muchas gracias porque siempre viste primero por el hogar, por siempre preguntarme como me había ido y escuchar siempre lo que tenía por decirte, gracias por ser el ejemplo de cómo debe ser una buena persona, gracias también porque siempre viste por nuestro bienestar, mamá te agradezco todo el tiempo invertido en mí, al ayudarme siempre con mis tareas, al igual que mi padre eres un ejemplo para mí. LOS AMO, muchas gracias por todo, les estoy eternamente agradecido.

A mi hermano Christopher, gracias por acompañarme en esas noches de desvelo que parecían eternas, gracias por ser mi primer amigo, sabes que siempre estaré

para ayudarte y apoyarte en todo lo que desees, tienes el potencial de llegar hasta la luna si lo quieres. Eres el mejor hermano menor, gracias.

A mis abuelos Mamá Betty y papá Daniel, los amo gracias porque siempre están pendiente de mí y pidiendo eternamente porque siempre Dios este conmigo. Gracias por siempre preguntarme como estoy y cuidarme siempre. Gracias Mamá Betty por haber sido otra madre para mí. Gracias por compartir sus vidas a nuestro lado.

A mi abuelita Tere, gracias por todo, el cariño, las atenciones, el apoyo, la comida, el siempre recibirnos con alegría en tu casa y el que estemos en tus oraciones siempre. Gracias por compartir tu vida a nuestro lado.

A mis padrinos Martha y Alfredo, porque siempre están cuidándonos a mi hermano y a mí, siempre me han ofrecido su ayuda cuando se a necesitado, gracias padrino, que sin ti jamás hubiera pasado Calculo, gracias por tomarte el tiempo de enseñarme algo tan complicado a mi parecer. Gracias madrina porque siempre me siento en casa cuando vamos a verte. Los quiero, gracias por el apoyo, por ustedes hoy también es posible que este terminando esta etapa de mi vida.

A mis tíos cada uno de ustedes, que siempre me brindaron el apoyo que necesite y me han hecho sentir que siempre tendré una casa con ustedes. Gracias.

A mis primos, todos ustedes fueron mis primeros amigos y más aún mis hermanitos y hermanitas a cada uno los considero así. Gracias por esta bella relación de amistad que todos tenemos siempre, que se jamás se perderá, les agradezco el apoyo, las risas, los consejos, siempre he visto cosas buenas de ustedes y tratado de tenerlas en mí, son todos ustedes ejemplo para mí y tienen cualidades increíbles, saben que siempre lo que necesiten, uno estará para ustedes, gracias “morros”, Alba, Liz, Karen, Sara, Irving, Carlos, Cesar, Lalo, Juan, Mike, José, Jessy (mi pequeña hermanita, serás mayor que yo pero para mí eres la peque), Natalia, Manuel. Gracias “primates” por siempre ser mi bandita, mi apoyo y mis mejores amigos siempre. Los amo y adoro a cada uno de ustedes muchísimo.

A mis amigos, gracias Dios por permitirme tener amigos increíbles, soy tan afortunado, de la gente tan maravillosa que has puesto en mi camino, me gustaría agradecer primero a mis dos mejores amigo de la vida, mis hermanos de otra madre, Alberto Valenzuela y Miguel Pulido, hace casi 20 años que los conozco y siempre me he sentido el mas afortunado, gracias amigos porque siempre han estado para mi apoyándome y aconsejándome en todas las situaciones de mi vida, gracias por siempre haber estado y seguir estando. A mi amiga de la secundaria Melissa, lo único bueno que me dejo ese lugar, fue la gran amistad que formamos, gracias pequeña por ser siempre un gran apoyo y soportarme (sé que no es fácil), mis amigos de CCH, Esli muchas gracias hija por tu linda amistad, por esas clases tan chidas que tuvimos juntos y los buenos momentos en la banca, Jazmín y Rodrigo (vaquero) gracias porque ustedes siempre han estado cuando lo he necesitado, me

han apoyado y sobretodo escuchado y aconsejado gracias por impulsarme para salir de mi zona de confort. Mi amiga Lic. Fernanda gracias por siempre ser buena onda conmigo, por esas clases divertidas con el Diego. A mis primeros amigos de la carrera, Mariana, Angie y Juan (mi otro carnal), gracias por haberme incluido en sus viajes, por esas tardes divertidas en lo que esperábamos por las mil horas libres y por seguir conmigo. A mi otro amigo que al pasar el tiempo también se ha vuelto un hermano para mi Alberto Cortes, gracias carnal, por siempre escucharme, apoyarme y motivarme a dar el 100% siempre, por ser un gran amigo leal, eres una persona admirable. A Cesar gracias amigo porque siempre me has aconsejado, me has escuchado demasiadas veces y brindado tantos consejos, gracias, eres mi maestro “jedi” y lo sabes. Amiguita Yessica, gracias por tantas risas y lindos tratos que siempre tuviste conmigo, que bueno que fuimos equipo en microbiología, éramos los mejores. Enrique y Saúl gracias por brindarme de su amistad, por tantos ratos de risas y buenos momentos juntos.

Mis “amixes” Roger, Ileana y Tania amigos gracias, por siempre hacerme saber que estarán para mí, sin duda alguna fueron de las personas más importantes en toda mi vida universitaria, siempre me apoyaron, motivaron y ayudaron, los quiero infinitamente, son unas personas increíbles, Tania principalmente a ti que te volviste la mejor amix, gracias por siempre estar conmigo, chismear, compartir clases, incluirme en equipos, escucharme y apoyarme.

Mi Lic. Yesenia, tal vez al principio no fuimos tan unidos, pero después de estar juntos en centro médico y las ultimas clases, me di cuenta que eres una persona súper increíble y valiosa, te agradezco tanto, siempre estas al pendiente de mí, te volviste una sinodal más de mi tesis y estaré siempre en deuda contigo, gracias por impulsarme a terminar todo esto, por mis regaños y por nunca abandonarme.

A ti Vanessa, mi amorcito, te agradezco muchísimo como siempre me apoyaste, alentaste y motivaste para jamás dejar este proyecto, tu afecto y cariño son los detonantes de mi felicidad. Gracias por tu amor incondicional y por darme el privilegio de compartir mi vida contigo, gracias por ser mi mejor amiga, por recorrer este camino junto a mí, por haber llegado a mi vida y convertirte en parte de ella, y sobre todo, gracias linda por siempre darme lo mejor de ti, por siempre creer en mí y por tu apoyo incondicional. Vanessa, tú eres la mejor persona que pude haber conocido, eres esa persona que tanto esperé, compartimos muchas metas y sé que juntos llegaremos muy lejos. Vamos por más aventuras juntos, te amo.

1	ÍNDICE	
2	ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
3	ÍNDICE DE TABLAS.....	9
4	ÍNDICE DE GRAFICAS.....	9
5	ABREVIATURAS.....	9
6	RESUMEN	11
7	MARCO TEÓRICO	12
7.1	ENTEROBACTERIAS: GENERALIDADES	12
7.2	ESTRUCTURA DE LAS ENTEROBACTERIAS.....	13
7.3	IDENTIFICACIÓN BACTERIANA.....	18
7.4	SISTEMAS AUTOMATIZADOS	19
7.5	MÉTODOS MOLECULARES.....	20
7.6	PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD.....	21
7.7	CEPAS EVALUADAS.....	23
7.7.1	<i>Escherichia coli</i>	23
7.7.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30
7.7.3	<i>Pseudomonas spp</i>	34
7.8	RESISTENCIA BACTERIANA	42
7.8.1	<i>Mecanismos de resistencia</i>	52
7.8.2	<i>Modificación enzimática del antibiótico</i>	53
7.8.3	<i>Bombas de salida</i>	55
7.8.4	<i>Cambios en la permeabilidad de la membrana externa</i>	58
7.8.5	<i>Alteraciones del sitio de acción</i>	59
7.8.6	<i>Biofilmes</i>	60
7.8.7	<i>Sobre-expresión del sitio blanco</i>	60
7.8.8	<i>Carbapenemasas</i>	61
7.9	ANTIBIÓTICOS.....	61
7.9.1	<i>Clasificación de los antibióticos</i>	62
7.9.2	<i>Según el mecanismo de acción</i>	65
7.9.3	<i>Antibióticos que inhiben la síntesis de pared celular</i>	66
7.9.4	<i>De acuerdo a su farmacocinética y farmacodinamia</i>	68
7.9.5	<i>Antibióticos inhibidores de la síntesis proteica</i>	69
7.9.6	<i>Antibióticos que actúan en el metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos</i>	70
7.9.7	<i>Bloqueo de la síntesis de factores metabólicos</i>	71
7.9.8	<i>Antibióticos activos en la membrana citoplasmática</i>	72
7.9.9	<i>Antibióticos que bloquean mecanismos de resistencia</i>	74
7.10	CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM	74
7.10.1	<i>Farmacocinética y farmacodinamia de Ceftolozano-Tazobactam</i>	76
8	OBJETIVO GENERAL	77
9	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	77
10	JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	77
11	HIPÓTESIS.....	78
12	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	78

13	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	78
14	CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	78
15	METODOLOGÍA.....	78
16	DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES	82
17	RESULTADOS	83
18	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	95
19	DISCUSIÓN.....	96
20	CONCLUSIÓN	103
21	BIBLIOGRAFÍA.....	104
22	ANEXO	119

2 Índice de figuras

Figura 1	Estructura del género Enterobacteriaceae(Puerta, 2010)	13
Figura 2	Estructura típica de una bacteria Gram negativa (Woolverton, 2019).....	14
Figura 3	Estructura de los antígenos de la familia Enterobacteriaceae(Brooks G., 2006)	15
Figura 4	Estructura del Lipopolisacárido(Steimle A, 2016).....	17
Figura 5	Punto de intersección con la tira, señalando la concentración mínima inhibitoria.....	22
Figura 6	Principio de la prueba de E-test (Velásquez Jaramillo, 2000)	23
Figura 7	Tinción de Gram, morfología de E.coli, bacilos G(-) sin agrupación.....	24
Figura 8	E.coli ETEC, mecanismo de acción patogénica, sitios de unión (Farfán-García, Ariza-Rojas, Vargas-Cárdenas, & Viviana., 2016).....	27
Figura 9	Tinción de Gram, morfología de Klebsiella spp, bacilo G(-).	30
Figura 10	Representación esquemática de los factores de virulencia de Klebsiella pneumoniae (López Vargas, 2009)	33
Figura 11	Fenotipo hiper mucoviscoso de una cepa de K.pneumoniae (Flemming HC., 2010).....	34
Figura 12	Tinción de Gram, morfología de Pseudomonas, bacilo G(-)	35
Figura 13	Representación de los mecanismos de resistencia de Pseudomonas aeruginosa a los betalactámicos (Miller GH, 1999)	42
Figura 14	Esquema de la transformación bacteriana (Bentacor, Cadea, & Flores, 2006)	49
Figura 15	Esquema de la transducción generalizada (Brooks, 2013)	50
Figura 16	Esquema de la transposición generalizada (FACENA-UNNE, 2019).....	51
Figura 17	Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos. 1.Enzimas modificadoras. 2. Bombas de salida. 3. Cierre de porinas. 4. Proteínas unidoras de penicilina. (Andrés Opazo C., 2009).....	53

Figura 18 Bombas de excreción en Gram negativas. Representando las principales familias RND, ABC y MFS. (Becerra Gerardo, 2010).....	56
Figura 19 Representación esquemática de la estructura y función de los sistemas de eflujo RND.Los antibióticos son capturados desde el espacio preriplásmico (EP), la membrana citoplasmática (MC) y/o el espacio citoplasmático (EC) por este tipo de transportadores. (Marchetti ML., 2011)	58
Figura 20 Sitio de acción de los bactericidas. (UNR, 2019)	63
Figura 21 Sitio de acción de los bacteriostáticos. (UNR, 2019).....	64
Figura 22 Diferentes espectros de antibióticos para diferentes géneros bacterianos (Toro, 2012).....	65
Figura 23 Sitio de acción de los antimicrobianos con un ejemplo de un antibióticos del grupo (Bado, 2009).....	66
Figura 24 Estructura general de los antibióticos β -lactámicos más representativos (Bado, 2009).....	67
Figura 25 Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos. (Carrillo & Bustos Zavaleta, 2013).....	68
Figura 26 Esquema de antibióticos que alteran la síntesis de proteínas (E. A. Vives, 2019)	70
Figura 27 Mecanismo de acción de las quinolonas sobre la DNA girasa, causando la inhibición de la síntesis del DNA (Víctor M. Chávez-Jacobo, 2015)	71
Figura 28 Mecanismo de acción de las sulfamidas. (Cámara, 2008)	72
Figura 29 Esquema del mecanismo de acción de las polimixinas. (Gerardo, 2019)	73
Figura 30 Estructura química de ZERBAXA® (MSD, 2019).....	74
Figura 31 Resultado de susceptibilidad de la cepa ATCC de <i>Klebsiella pneumoniae</i> 700603	83
Figura 32 Resultado de susceptibilidad de la cepa ATCC de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853.....	83
Figura 33 Resultado de susceptibilidad de la cepa ATCC de <i>E.coli</i> 25922.....	84
Figura 34 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Ceftolozano / Tazobactam en cepas de P.aeruginosa por la prueba de E-test.	85
Figura 35 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Ceftolozano-Tazobactam en cepas de Klebsiella pneumonie, mediante la prueba de E-test.	86
Figura 36 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Ceftolozano-Tazobactam en cepas de Escherichia coli mediante la prueba de E-test.	86
Figura 37 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Ceftolozano-Tazobactam en cepas de Pseudomonas aeruginosa, mediante el uso de sensi-discos (método de Kirby Bauer).	87
Figura 38 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Ceftolozano-Tazobactam en cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , mediante el uso de sensi-discos (método de Kirby Bauer).	88

3 Índice de tablas

Tabla 1 Medios de cultivo y pruebas bioquímicas para la identificación de <i>E.coli</i> .	24
Tabla 2 Clasificación de la familia Pseudomonadaceae	36
Tabla 3 Diferencias metabólicas en <i>P. aeruginosa</i> y <i>P. putida</i>	39
Tabla 4 Factores que indican la predisposición a padecer una IAAS.....	44
Tabla 5 Principales agentes etiológicos de IAAS de las unidades médicas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 2013	46
Tabla 6 Tipos de plásmidos y su microorganismo portador	51
Tabla 7 Criterios para determinar el resultado de susceptibilidad de las cepas bacterias empleando tiras o sensidiscos	80
Tabla 8 Descripción de variables	82
Tabla 9 PREVALENCIA EN GENERAL DE RESISTENCIA a CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM.....	95

4 Índice de graficas

Gráfica 1 Comparación de los resultados entre las diferentes especies evaluadas.	89
Gráfica 2 Porcentaje de Escherichia coli en diferentes cultivos y servicios del Hospital	89
Gráfica 3 Porcentaje de Klebsiella spp, en diferentes cultivos y servicios del hospital	90
Gráfica 4 Porcentaje de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en diferentes cultivos.....	90
Gráfica 5 Porcentaje de <i>P.aeruginosa</i> en diferentes servicios del hospital	91
Gráfica 6 Proporción de susceptibilidad contra el genero	91
Gráfica 7 Proporción de cepas resistentes por tipo de muestra.....	92
Gráfica 8 Proporción de cepas resistentes por servicios del hospital.....	92
Gráfica 9 Proporción de cepas resistentes en base a la edad	93

5 Abreviaturas

ADEC <i>E.coli</i> de adherencia difusa	CAMP Christie Atkins Munch Peterson
ADN Acido Desoxirribonucleico	CBM Concentración bactericida mínima
aGM1 glucolípido M1 aGM1	Cd Cadmio
AMPc Adenosin mofosfato ciclico	CDC Center for Disease Control and Prevention
ATP Adenosin trifosfato	CDC Centro de prevención y control de enfermedades
BE Bomba de excreción	CFAs Colinazation factor antigens
BLEE producción de betalactamasa de espectro extendido	

CFs colonization factors

cIAI infección intraabdominal comunitaria

CIM Concentración inhibitoria mínima

CLSI Clinical Laboratory Standards Institute

ClyA citolisina A

CSs Coli Surface antigens

CT toxina del cólera

Cu Cobre

DALYS años de vida perdidos ajustados

EAEC *E. coli* enteroagregativas

EatA autotransporter A

EC espacio citoplasmático

EHEC *E. coli* enterohemorrágicas

EIEC *E. coli* enteroinvasivas

EMB Eosina azul de metileno de Levine

EP espacio preriplásmico

EPA efecto postantibiótico

EPEC *E. coli* enteropatógenicas

ESKAPE *Enterococcus, Staphylococcus, Klebsiella, Acinetobacter, Pseudomonas y Enterobacter*

ETEC *E. coli* enterotoxigénicas

FDA Food and Drug Administration

FQ fibrosis quística

Hg Mercurio

IAAS Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud

ICD infección por *Clostridium difficile*

IHI Instituto para la Mejora de la Asistencia Sanitaria de Estados Unidos (Institute for Healthcare Improvement)

IMSS Instituto Mexicano del Seguro Social

IMViC Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato

LEE locus de borramiento de enterocitos

LPS Lipopolisacáridos

LT enterotoxina oligomérica termolábil

MATE multidrug and toxic compound extrusión

MBL metalo-beta-lactamasa

MC membrana citoplasmática

ME Membrana externa

MFP Proteína peripásmica de fusión

MFS major facilitator superfamily

NAV neumonía asociada a ventilador

NBM sepsis y meningitis del recién nacido

NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standards

Ni Níquel

NOM Norma Oficial Mexicana

OM Proteína de membrana externo tipo porina

OMP proteína de membrana externa

OMS Organización Mundial de la Salud

OMVs outer membrane vesicles

ONPG Orto-Nitrofenil- β -Galactopiranosido

PABA ácido p-aminobenzoico
Pb Plomo
PBP penicilin-bindingprotein
PCFs Putative colonization factors
PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa
PSA Pruebas de Susceptibilidad a Antimicrobianos
RHOVE Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica
RM rojo de metilo
RND Proteína transportadora
RND resistance nodulation division
RND Resistance-Nodulation-Division
rRNA Ácido Ribonucleico ribosomal

SINAVE Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica
SMR small multidrug resistance)
SPATEs serine proteas autotransporter of Enterobacteriaceae
ST enterotoxina monomérica termoestable
TGI Tracto Gastro-Intestinal
Tia toxigenic invasion loci A
TibA: toxigenic invasion loci B
TPS two partner secretion
TSI Triple Iron Sugar
UTI infección del tracto urinario comunitaria
VP Vogues-Proskaeur

6 Resumen

Las infecciones por diversos agentes bacterianos intrahospitalarios multirresistentes son cada vez más comunes, esto es debido a que la resistencia a los antibióticos representa un problema de carácter mundial que ha ido en aumento en los últimos años, que no solo afecta en el aspecto económico, si no más importante en el humano.

Dicho aumento ha hecho que los tratamientos con los antibióticos convencionales, sean cada vez más ineficientes, todo esto es por causa del mal uso de ellos; al emplearse para tratar infecciones virales, a la automedicación, a la prescripción sin un previo diagnóstico e identificación incorrecta y malas determinaciones de susceptibilidad.

Debido a esta problemática han surgido nuevas combinaciones de antibióticos, en este caso Ceftolozano/Tazobactam también conocido como Zerbaxa® de la casa comercial MSD, una cefalosporina de nueva generación unida a inhibidor de β -lactamasas, dicha combinación se cree será efectiva contra el tratamiento de bacterias que presentan multiresistencia a los antibióticos más usados. Dicha combinación actúa principalmente inhibiendo la síntesis de la pared celular, así como la inhibición de enzimas de β -lactamasas de la clase A respectivamente.

En el presente trabajo se evaluará la susceptibilidad de las cepas multirresistentes *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* y *Pseudomonas spp*, principalmente la especie *aeruginosa* aisladas en un hospital especialidades centro médico nacional siglo XXI Dr. Bernardo Sepúlveda, frente a la actividad de Ceftolozano/Tazobactam, empleando el método de E-test y Kirby-Bauer mediante sensidiscos.

El empleo de la técnica de E-test se fundamenta en una expansión de la técnica de difusión en disco. Se puede determinar mediante lectura directa, mide la concentración mínima inhibitoria (CMI). La tira de plástico es no porosa, 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. Posterior a una incubación, se llevó a cabo la lectura y la correcta interpretación del resultado obtenido.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) surge una clasificación para las cepas multirresistente, llamado ESKAPE; ya a que son las cepas multirresistentes con alta prioridad; surgen debido a que se han empleado de manera incorrecta los antibióticos, generando aumento en la presencia de las bacterias que conforman este grupo.

7 Marco teórico

7.1 Enterobacterias: Generalidades

La familia Enterobacteriaceae constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la microbiota intestinal normal. Denominada así por Rahn en 1937. (Murray, 2000)

Son microorganismos con forma de bastón, por lo general de 1-3 μm de largo y 0,5 μm de diámetro, con una temperatura de crecimiento óptimo entre 22°C y 37°C. Las principales características microbiológicas de la familia Enterobacteriaceae es que son aerobios no formadores de esporas que pueden crecer en anaerobiosis (anaerobios facultativos), reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones), fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o sin ella, son oxidasa-negativos, a excepción de *Plesiomonas*, producen catalasa, no se ve favorecido su crecimiento en NaCl, la mayoría son móviles (con flagelos peritricos). (Farmer J. , 1995)

La familia Enterobacteriaceae está formada por unos 30 géneros y aproximadamente más de 130 especies, biogrupos y grupos entéricos. Sin embargo, el número puede variar ligeramente dependiendo del autor que haya establecido el ordenamiento taxonómico. (Mariana, 2019)

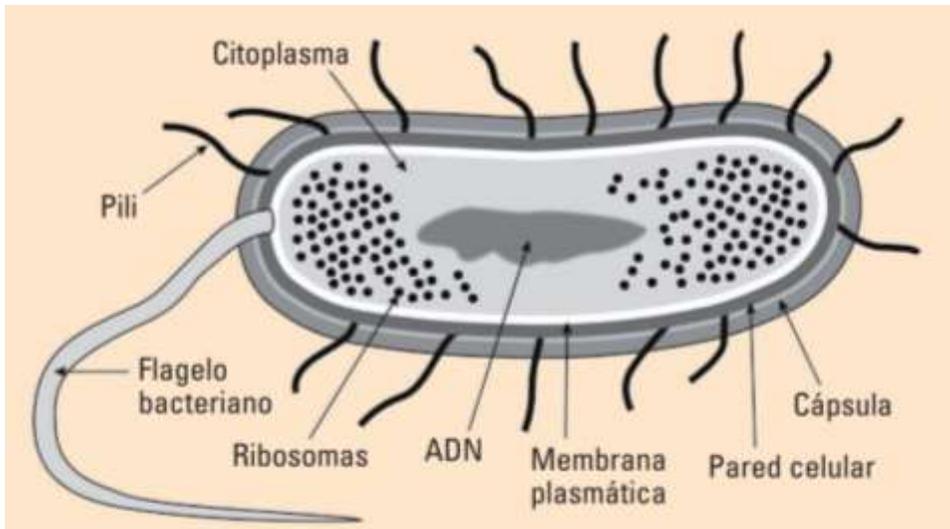


Figura 1 Estructura del género *Enterobacteriaceae* (Puerta, 2010)

Son componentes importantes de la microbiota intestinal normal, pero son relativamente poco comunes como comensales en otros sitios del organismo, a excepción del caso de pacientes internados. Es así que algunas especies son causa frecuente de infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS). De los aislamientos significativos en clínica, las Enterobacterias significan el 80% de los bacilos Gram negativos aislados en el Laboratorio de Microbiología y el 50 % de todos los aislamientos clínicamente significativos. Son causa del 50 % de casos de septicemia, más del 70 % de infecciones del tracto urinario dentro de las Enterobacterias son: *E. coli*, sobre todo *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* y *Enterobacter* como las más frecuentes. Afecta a las vías urinarias bajas provocando cistitis y en casos más graves a las vías urinarias altas dando lugar a pielonefritis. Aproximadamente, constituyen un 66 % de cepas aisladas a partir de materia fecal de pacientes con gastroenteritis. (Lopardo, 2016) (Pérez Granados, 2005)

7.2 Estructura de las Enterobacterias

Su principal característica es la envoltura celular que se caracteriza por una estructura multilaminar. La membrana interna (o citoplasmática) consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La capa siguiente, o capa externa, consiste en un peptidoglucano delgado junto con un espacio periplásmico que contiene una elevada concentración de proteínas. La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS) (en la parte más externa, son un importante factor de patogenicidad de estas bacterias), lipoproteínas (que están fijadas al peptidoglucano), proteínas porinas multiméricas (que facilitan el paso de diversas sustancias, incluidos los antibióticos betalactámicos) y otras proteínas de

la membrana externa. LPS tiene muchas funciones importantes, como se aprecia en la figura 2.

1. Contribuye a la carga negativa en la superficie bacteriana porque el polisacárido central generalmente contiene azúcares cargados y fosfato.
2. Ayuda a estabilizar la estructura de la membrana externa porque el lípido A es un componente importante de la capa exterior de la membrana externa.
3. Ayuda a crear una barrera de permeabilidad.
4. El LPS también desempeña un papel en la protección de bacterias patógenas de las defensas del hospedero. (Willey, Woolverton, & Sherwood, 2019)

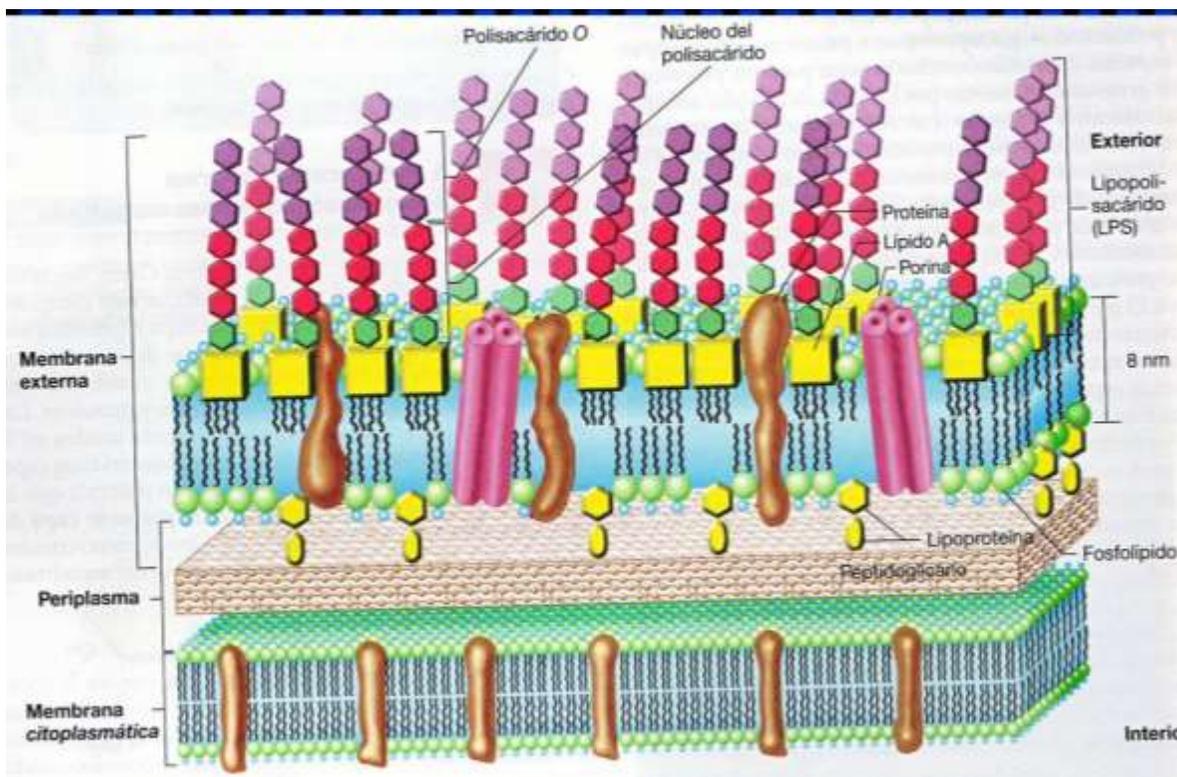


Figura 2 Estructura típica de una bacteria Gram negativa (Woolverton, 2019)

El LPS tiene tres dominios principales: el esqueleto de Lípido A, el oligosacárido fosforilado central (Core) y las cadenas laterales de oligosacárido de repetición.

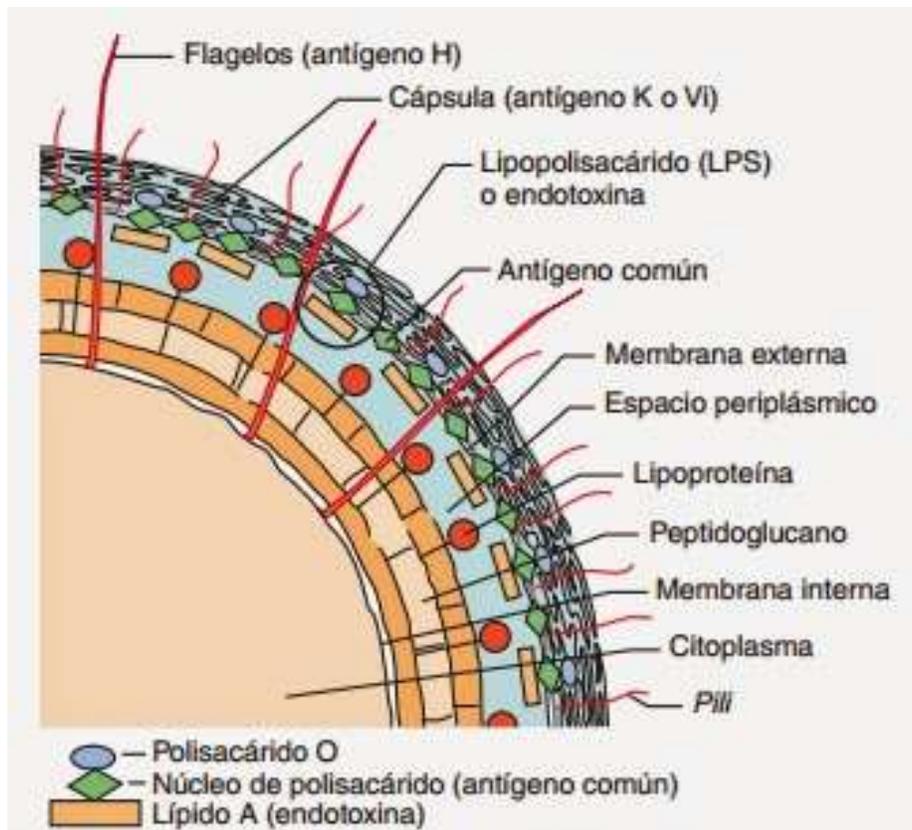


Figura 3 Estructura de los antígenos de la familia Enterobacteriaceae (Brooks G., 2006)

- 1) El lípido A, también conocido como endotoxina, es la parte biológicamente activa de la molécula que el hospedero reconoce. Ejerce su efecto solamente cuando la bacteria se lisa. La lisis ocurre como resultado del efecto del complejo de ataque a membrana o por el complemento, ingestión y destrucción por fagocitos o la muerte por ciertos tipos de antibióticos. (López Molina, Clasificación de los factores de patogenicidad, 2019)
- 2) El polisacárido central (Core) está unido al lípido A y está formado por 10 azúcares, muchos de ellos de estructura inusual. Se conoce como antígeno O. Este antígeno es la base para la clasificación de los serogrupos. Junto con otros factores, la presencia del antígeno O media la resistencia bacteriana al efecto bactericida del suero normal, siendo capaces por tanto de sobrevivir más tiempo en sangre y causando infecciones hematógenas, diseminadas y más graves. También es la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular y consiste en unidades repetitivas de polisacárido. Algunos polisacáridos específicos de O contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor, al alcohol y generalmente se detectan por aglutinación bacteriana. Los anticuerpos contra los antígenos O son predominantemente IgM. Aunque cada género de Enterobacterias está

asociado con grupos O específicos, un solo organismo puede portar varios antígenos O. (Brooks, 2013)

- 3) Y el antígeno K llamado cápsula, es una red de polímeros que cubre la superficie de una bacteria. La mayoría de las cápsulas están compuestas de polisacáridos. Si el polisacárido forma una capa homogénea y uniforme alrededor del cuerpo bacteriano se le llama cápsula y si solo forma una red o malla alrededor de la bacteria se le llama glucocalix. El papel de la cápsula bacteriana es proteger a la bacteria de la respuesta inflamatoria del hospedero, esto es, activación del complemento y muerte mediada por fagocitosis. La cápsula constituye el llamado antígeno K (capsular). La cápsula por sí misma es menos probable que sea opsonizada por C3b y la bacteria puede no ser ingerida por los fagocitos. (Puerta, 2010)

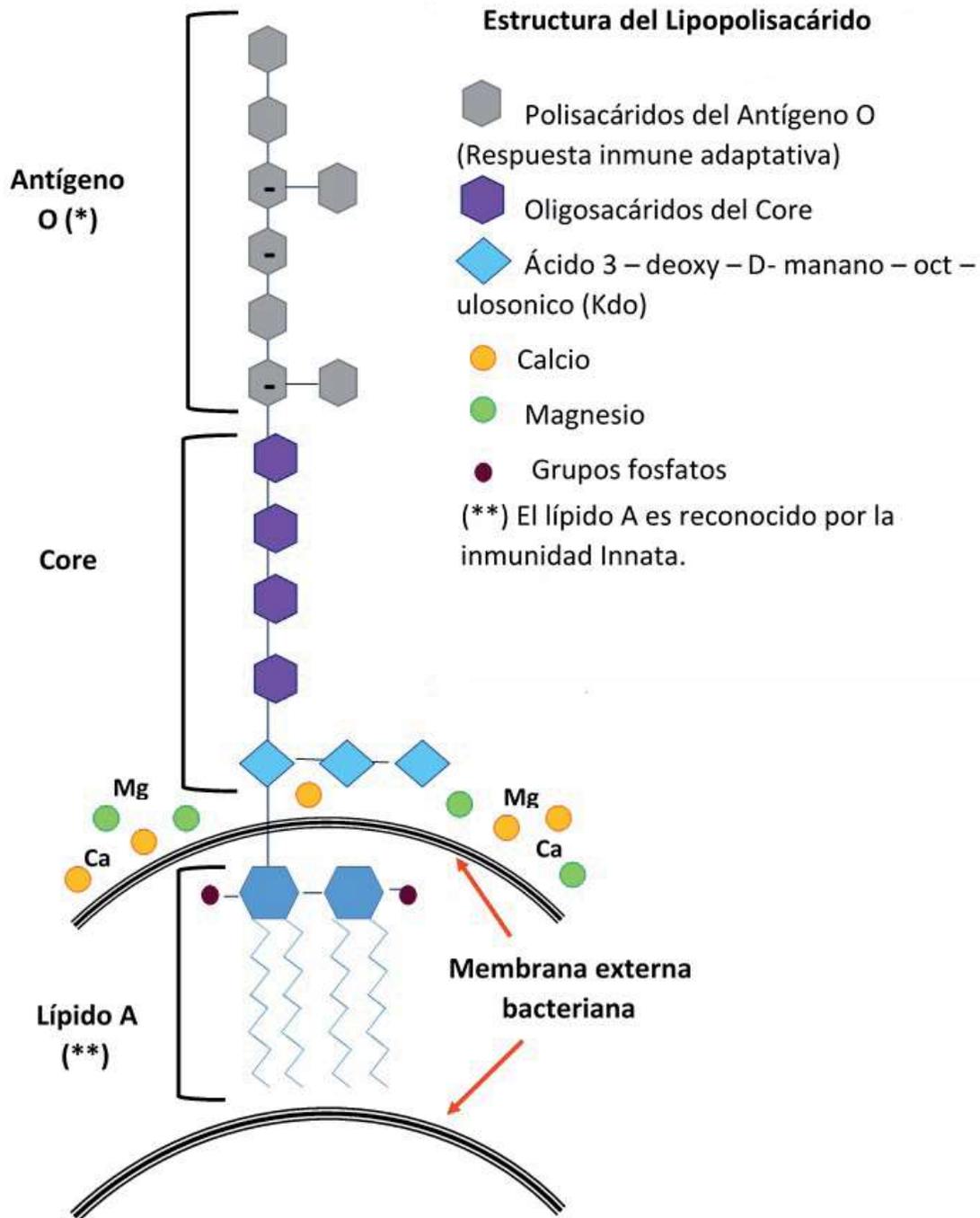


Figura 4 Estructura del Lipopolisacárido (Steimle A, 2016)

Existe otro antígeno llamado H, está localizado en el flagelo y se pueden desnaturizar o eliminar por calor o alcohol. Se conservan tratando las variantes bacterianas móviles con formalina. Estos antígenos H se aglutinan con anticuerpos anti-H, principalmente IgG. Los determinantes en los antígenos H son una función de la secuencia de aminoácidos en la proteína flagelar (flagelina). Dentro de un solo

serotipo, los antígenos flagelares pueden estar presentes en una o ambas formas, llamadas fase 1 (designadas convencionalmente con letras minúsculas) y fase 2 (designadas convencionalmente con números arábigos). Esto se conoce como variación de fase el cual se define como un cambio en la expresión de los antígenos de superficie de las bacterias. En general la variación de fase es un evento heredable, reversible, estocástico, que puede ser modulado por factores externos y se refiere como un interruptor reversible entre un «todo o nada». La variación de fase se ha asociado con la virulencia de las cepas bacterianas y se presenta en estructuras de superficie como el LPS, las proteínas de membrana y los pilis, in vivo la variación de fase representa un paradigma de microevolución, puede presentarse tanto en el antígeno H como en el O. (Reyes & Ramírez Saad, 2010) (Morschhauser, Kohler, Ziebuhr, & Blum-Oehler., 2001)

7.3 Identificación bacteriana

Actualmente, la identificación bacteriana se realiza por medio de métodos convencionales basados en las características fenotípicas bacterianas; se basan en las características «observables» de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. Dentro de esta familia de pruebas bioquímicas se destacarían las:

- Características microscópicas. Macroscópicas: morfología y hemólisis: Cultivo: Medios de cultivo y requerimientos de crecimiento en relación a atmósfera, temperatura, pH y nutrición.
- Pruebas bioquímicas; Se utilizan pruebas en la identificación preliminar y con lectura inmediata como la catalasa y oxidasa, existen otras pruebas con lectura menor a 6 horas como lo es la hidrólisis del hipurato, la β -galactosidasa, las aminopeptidasas, la ureasa y el indol. También se emplean pruebas de lecturas más lentas de 18 a 48 horas, como lo son: la óxido-fermentación (O/F), Reducción de nitratos, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, Agar hierro de Kligler, fermentación de carbohidratos, hidrólisis de la esculina, coagulasa (lectura a las 18 y 24 horas), fenilalanina-desaminasa, DNasa, hidrólisis de la gelatina, descarboxilasas, lipasa, lecitinasa, utilización de citratos, utilización de malonato y finalmente también se puede utilizar pruebas con caracteres de resistencia a ciertas sustancias tal y como optoquina, bacitracina, solubilidad en bilis, y crecimiento en caldo hipersalino.
- Pruebas comerciales automatizadas; hay paneles en los que además de encontrarse los sustratos para el desarrollo de pruebas Bioquímicas, como las antes mencionadas; se encuentran diversos antimicrobianos a distintas

concentraciones, con lo que se realiza simultáneamente la identificación y antibiograma del microorganismo objeto de estudio. Existen distintos paneles para distintos grupos de microorganismos. La inoculación y la lectura de estos paneles se suele hacer de forma automática, incorporándose los datos obtenidos en un ordenador, el cual proporciona con un índice alto de fiabilidad la identificación del microorganismo; estos son algunos de los sistemas en paneles comerciales más extendidos disponibles en el mercado: MicroScan, Vitek, Pasco, Wider, Phoenix, etc. (Bou, Olmos Fernández, García, Sáez-Nieto, & Valdezaste, 2011)

Hay cuatro razones por las cuales se desea identificar este tipo de microorganismos:

1. Para ayudar a predecir el posible resultado de la infección.
2. Identificar los riesgos potenciales de infección cruzada y la infección cruzada.
3. Intentar predecir la sensibilidad probable a los antibióticos.
4. Obtener información de investigación sobre nuevas asociaciones de enfermedades con microorganismos.

Existen diferentes formas de realizar la identificación de las diferentes cepas de Enterobacteriaceae. Los laboratorios de microbiología clínica utilizan el análisis de tubos el cual todavía se usa ampliamente en los laboratorios de referencia y de salud pública. Aunque algunos laboratorios preparan sus propios medios a partir de polvos comerciales deshidratados, la mayoría de los medios comunes también están disponibles comercialmente en tubos de vidrio que están listos y validados para su uso. El crecimiento de una sola colonia se inocula en cada tubo, y las pruebas se leen a las 24 horas y por lo general también a las 48 horas. En muchos laboratorios de referencia, la mayoría de las pruebas a menudo se mantienen durante 7 días para detectar reacciones tardías. Desafortunadamente, los medios y las pruebas no están completamente estandarizados, y pocos laboratorios usan exactamente las mismas formulaciones o procedimientos. Incluso con estas variables, este enfoque generalmente resulta en identificaciones correctas de las especies comunes de Enterobacteriaceae. (Farmer J. , 2005)

7.4 Sistemas automatizados

Además de las pruebas clásicas en tubos en el laboratorio de microbiología, en la década de 1980, se desarrollaron dos programas de micro-computadoras en los Laboratorios de Referencia Entéricos del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) para ayudar en la identificación de cultivos de Enterobacterias. (Heymann, 2004)

La mayoría de los sistemas utilizan pruebas bioquímicas convencionales con cambios de color o liberación de fluoróforos, pero también se incluye la inhibición

del crecimiento mediante antibiótico y colorante. Se han desarrollado varios enfoques diferentes, por ejemplo, el sistema de Biología determina los perfiles de utilización de la fuente de carbono y el sistema de identificación microbiana Midi utiliza un sistema automatizado de cromatografía de gases de alta resolución acoplado a una computadora. Uno de los sistemas más utilizados es VITEK, es un sistema automatizado de identificación bacteriana y estudio de sensibilidad antimicrobiana. La identificación de las bacterias se basa en la inoculación de una suspensión de microorganismos en tarjetas con determinados paneles de reacciones bioquímicas. La sensibilidad antimicrobiana se lleva a cabo en forma similar a través de tarjetas que contienen diluciones estandarizadas de distintos antibióticos correspondientes a los puntos de corte de sensibilidad establecidos por El Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio por sus siglas en inglés CLSI. Este sistema se ha empleado para el estudio de cepas clínicamente significativas aisladas de muestras clínicas u otras fuentes como alimentos y agua. (Romeau, Salazar, Armando, & Daysi., 2008) (Hawkey, 2009)

Existen también hoy en día “kits” comerciales, que se definen como un panel de pruebas miniaturizadas o estandarizadas que están disponibles comercialmente. El enfoque para usar “kits” es similar al método de tubo convencional, con las principales diferencias en la miniaturización, el número de pruebas disponibles, el medio de suspensión y el método de lectura e interpretación de los resultados (algunas veces por máquina). Los “kits” a menudo proporcionan la identificación correcta para las especies más comunes de Enterobacteriaceae, pero pueden no ser tan precisos para algunas de las nuevas especies. Es importante consultar el manual de instrucciones para determinar qué organismos se han incluido en la base de datos y el número de cepas que se utilizaron para definir cada organismo. (Johnson, 2006)

7.5 Métodos Moleculares

También existen los métodos de identificación moleculares, han demostrado ser extremadamente útiles para la identificación a nivel de familia, género, especie, serotipo, clon y cepa y para diferenciar las cepas patógenas de las no patógenas. La identificación bacteriana mediante la secuenciación del gen 16S rRNA es un método de identificación bacteriana universal que se ha utilizado en combinación con la hibridación de ADN / ADN de genoma completo por taxonomistas bacterianos. Porque los primeros 500 pb de este gen altamente conservado, tiene la mayor heterogeneidad, esta secuencia, que puede ser generada, mediante PCR y secuenciación automatizada de ADN, se ha utilizado en la laboratorio clínico (particularmente para *Mycobacterium spp.*) (Patel, 2001). Sin embargo, pocos o ninguno de estos métodos moleculares están disponibles comercialmente. Los

costos para la identificación de 16S rRNA es relativamente alta, y debe haber un equilibrio se realiza entre el valor clínico de la identificación y el costo. En los Estados Unidos, las pruebas de diagnóstico comerciales a menudo deben ser aprobadas por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés) si se usan en muestras clínicas humanas. Las limitaciones reglamentarias y de costos han restringido en gran medida el uso de métodos moleculares en los laboratorios de microbiología clínica. (Truant, 2002) (Patrick, 2007)

7.6 Pruebas de susceptibilidad

El principal objetivo de las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos (PSA) *in vitro* es el proporcionar una guía para el manejo terapéutico de las enfermedades infecciosas a través de la sensibilidad o resistencia de bacterias patógenas aerobias y anaerobias facultativas a diferentes compuestos antimicrobianos. Estos métodos pueden clasificarse en métodos cuantitativos y cualitativos. Métodos cuantitativos: son aquellos procedimientos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).

Existen diferentes técnicas de laboratorio para evaluar *in vitro* la resistencia, entre estas técnicas la prueba de susceptibilidad de difusión en disco (técnica de Kirby-Bauer) siendo esta la más común, así como las pruebas de macrodilución en caldo y agar. Hoy en día, el "Clinical Laboratory Standards Institute" (CLSI) es responsable de la actualización y modificación del procedimiento original de Kirby y Bauer a través de un proceso de consenso global, esto con el fin de obtener resultados más confiables y un mayor control de calidad. (Jorgensen & Turnidge, 2007)

El método de Kirby- Bauer, se recomienda por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio por sus siglas en inglés CLSI para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar Müller-Hilton de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. (Picazo, 2000)

Esta determinación se realiza con cientos de bacterias para minimizar errores. Se mide el diámetro de la zona de inhibición obtenida por cada una de tales cepas y se grafica dicha medida frente a la CMI, obteniéndose la línea de regresión o "recta de concordancia" que proporciona la correspondencia entre las CMI y los diámetros de

inhibición. Para determinar la CMI de una cepa se procede a medir el diámetro de la zona de inhibición y luego extrapolarlo en el gráfico para obtener la CMI. Existen, por tanto, unos diámetros de inhibición, expresados en mm, estandarizados para cada antimicrobiano. La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el CLSI. (Picazo, 2000)

Existe otro método, representada por la figura 5, Épsilon test, es una expansión de la técnica de difusión en disco, empleando el agar Müller-Hilton. En el método E-test (AB Biodisk, Suecia) podemos, mediante lectura directa, determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI). Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. Después de un periodo de incubación, con el cual el crecimiento bacteriano es visible, se observa una elipse de inhibición. El borde de la zona intercepta la longitud de la tira graduada, en la posición donde una concentración específica del antibiótico causa inhibición y cesa el crecimiento bacteriano, como se aprecia en la figura 4. (Velásquez Jaramillo, 2000)

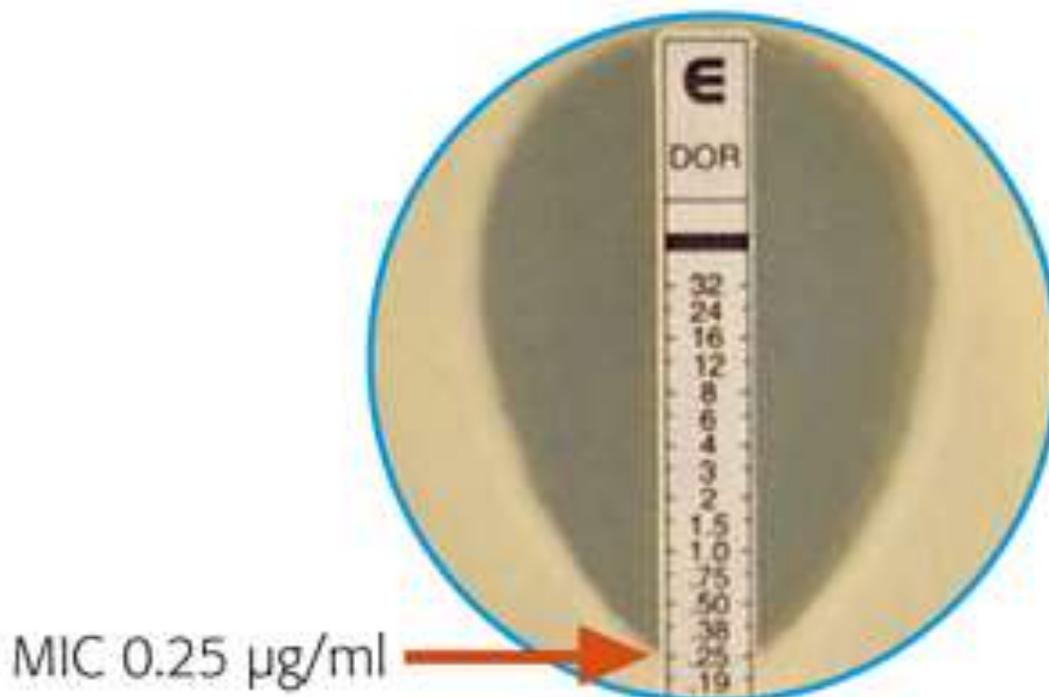


Figura 5 Punto de intersección con la tira, señalando la concentración mínima inhibitoria

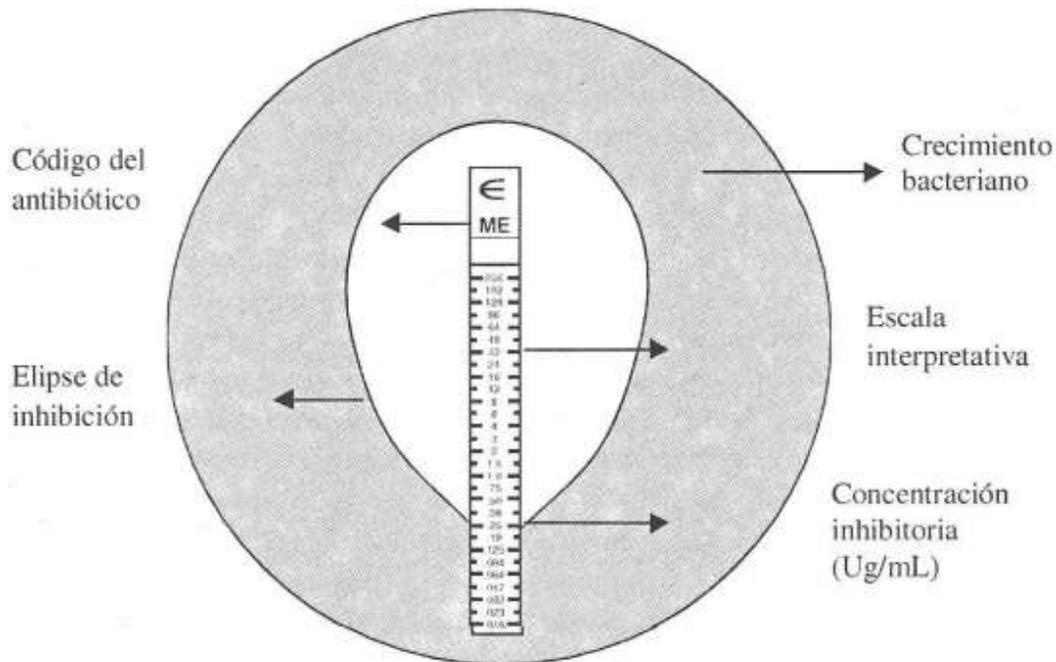


Figura 6 Principio de la prueba de E-test (Velásquez Jaramillo, 2000)

7.7 Cepas evaluadas

7.7.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli se describió por primera vez en 1885 por el pediatra alemán Theodore Escherich. Fue nombrada inicialmente como "*Bacterium coli commune*", pero en 1919 fue renombrada con el nombre actual en honor a su descubridor. Es el principal habitante anaerobio facultativo del intestino grueso y es único entre los microorganismos que integran la microbiota normal del tracto gastrointestinal (TGI) del ser humano, otros mamíferos y las aves y constituye una de las especies bacterianas más abundantes en esta localización; por cuanto también es el microorganismo aislado con mayor frecuencia como agente causal de infecciones de las vías urinarias, de heridas, de neumonía, meningitis y de septicemia, tanto en las infecciones comunitarias como en las adquiridas en el hospital. (Cordero Lobaton, 2010) (Scheutz, 2009)

Los representantes de esta especie son bacilos Gram negativos, oxidasa negativos, con un tamaño promedio de 1,1-1,5 μm de ancho y 2,0-6,0 μm de largo. De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos peritricos o no móviles y poseedores de una proporción G+C de 39% a 59% en su DNA. Desde el punto de vista taxonómico su clasificación es la siguiente:

Phylum Proteobacteria

Clase Gammaproteobacteria

Orden Enterobacteriales

Familia Enterobacteriaceae

Género *Escherichia*

Especie *Escherichia coli*

La identificación de las cepas del genero *E. coli*, iniciando con una tinción de Gram, permitiéndonos confirmar, la morfología característica que son bacilos Gram negativo, como se representa en la figura 6. En la siguiente tabla se ejemplifica los medios de cultivo y pruebas bioquímicas más utilizadas para la identificación de *E. coli*. (Rojas N, 2008)

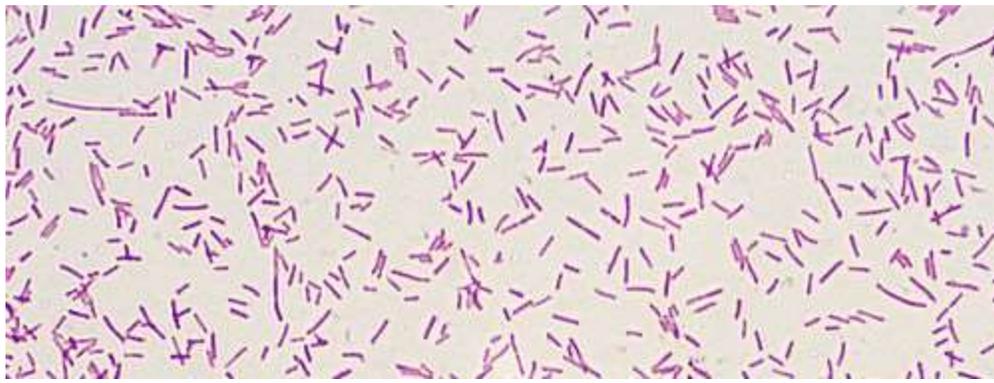


Figura 7 Tinción de Gram, morfología de *E.coli*, bacilos G(-) sin agrupación

Tabla 1 Medios de cultivo y pruebas bioquímicas para la identificación de *E.coli*

Medios de cultivo	Pruebas bioquímicas de identificación
<i>Salmonella-Shigella</i>	Agar-hierro-triple azúcar (TSI)
<i>Tergito</i>	Orto-nitrofenil- - galactopiranosido (ONPG)
<i>MacConkey</i>	Movilidad
<i>Eosina-Azul de Metileno de Levine (EMB)</i>	Gelatinasa
	Rojo de Metilo (RM) y Vogues-Proskaeur (VP)
	Fenilalanina desaminas
	Ureasa
	Citrato

	Indol
	Malonatos
	Nitratos
	Fermentación de carbohidratos

Un reciente reporte publicado en 2015 por la Organización Mundial de la Salud estima que en las enfermedades diarreicas, en el cual *E.coli* patógena es un contribuyente importante, son responsables de 550 millones de enfermedades y 230,000 muertes cada año. (OMS, World Health Organization, 2015)

Algunas cepas de *E. coli* son capaces de formar antígeno O y K, confiriéndoles propiedades antifágocitarias y de resistencia frente a sustancias bactericidas, proporcionándole con ello un alto poder invasivo.

Se distinguen dos grandes grupos de *E.coli* patógenas según el tipo de infección que provocan. Un primer grupo está constituido por las cepas de *Escherichia coli* responsables de infecciones extraintestinales (tracto urinario, sepsis y meningitis neonatal) y un segundo grupo constituido por cepas patógenas intestinales, responsables de un elevado número de infecciones gastrointestinales. Dentro del segundo grupo se han realizado diferentes clasificaciones. Una de las más utilizadas es la que toma en consideración sus factores de virulencia y patogénesis. Según esta clasificación, se distinguen seis grupos diferentes: *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteroagregativas (EAEC), *E. coli* enteropatogénicas (EPEC) y *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) y *Escherichia coli* de adherencia difusa (ADEC). (Romeu, 2012)

Aproximadamente, cada año se presentan 280 millones de infecciones por ETEC en niños bajo 4 años, de los cuales entre 300.000 a 500.000 mueren y se cree que más de 40 millones son asintomáticos. Cada cepa tiene estructuras en su superficie, necesarias para la adhesión, denominados factores de colonización (CFs: colonization factors) y que en ETEC son llamados antígenos de superficie coli (CSs: Coli surface antigens), antígenos de los factores de colonización (CFAs: colonization factor antigens) o PCFs (putative colonization factors). (Farfán-García, Ariza-Rojas, Vargas-Cárdenas, & Viviana., 2016)

Las cepas de *E. coli* ETEC presentan dos los principales mecanismos de patogenicidad: adherencia y toxinas;

- Adhesión; Los CFs se encargan de la adhesión de las bacterias a receptores (fibronectina, glicosfingolípidos y glicoproteínas) de las células epiteliales del intestino delgado, lo que permite su colonización. (Mazariego K, 2010) Para la adherencia de ETEC a las células epiteliales, la bacteria expresa la EtpA,

exoproteína de adhesión (TPS: two-partner secretion) situada al extremo del flagelo, para permitir que los CFs se adhieran a éstas. Inmediatamente después, el auto-transportador EatA (EatA: autotransporter A) incluida en el grupo de las serin-proteasas (SPATEs: serine proteas autotransporter of Enterobacteriaceae) inhiben la actividad de EtpA, lo que da origen a la adhesión de ETEC a los enterocitos por el loci toxigénico de invasión A (Tia: toxigenic invasion loci A), una proteína de membrana externa y el loci toxigénico de invasión B (TibA: toxigenic invasion loci B). (Roy K, 2010) (Kansal R, 2011)

- Toxinas; se caracterizan por la producción de al menos uno de los dos tipos de enterotoxinas termoestables: ST (enterotoxina monomérica termoestable) y LT (enterotoxina oligomérica termolábil). El LT se clasifica en tipo I (LTI) están directamente asociadas a cepas humanas y tipo II (LTII). LTI es una proteína periplásmica codificada por un plásmido que se parece a la toxina del cólera (CT). Cada toxina se divide en dos subunidades A y B, ETEC secreta, mediante el sistema de secreción tipo 2, la LT dentro de las vesículas de la membrana externa (OMVs: outer membrane vesicles) y posteriormente con ayuda de la subunidad B de LT se une al gangliósido GM1, que por endocitosis permite que las OMV ingresen al citoplasma. (Tauschek M, 2007) Una vez ahí se dirige al aparato de Golgi y al retículo endoplasmático. Estas reacciones producen un aumento del AMP cíclico, lo que estimula la secreción de cloruro y demás electrolitos a través del canal regulador transmembranal de la fibrosis quística. Además, las ST tienen la capacidad de controlar la proliferación celular. Según estudios, inhibe la síntesis de ADN en células de cáncer de colon, que depende de los niveles de calcio intracelulares. La citolisina A (ClyA: cytolysin A) expresada del gen clyA también ha sido descrita como citotoxina de ETEC cuyas funciones son la formación de poros, inducción de apoptosis en los macrófagos y actividad hemolítica. (Sato T, 2005)

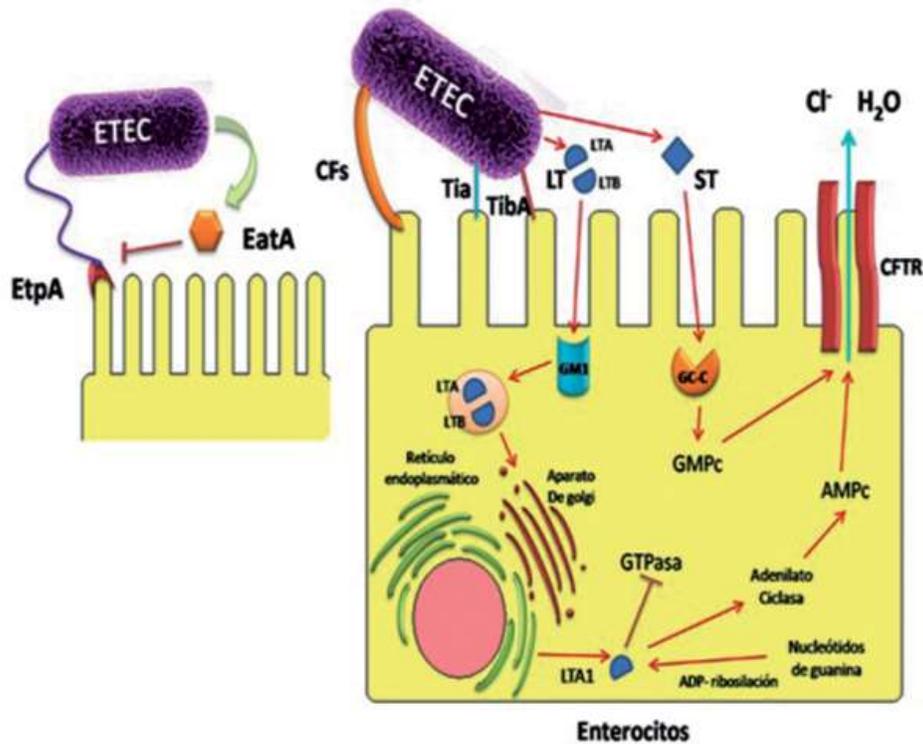


Figura 8 *E. coli* ETEC, mecanismo de acción patogénica, sitios de unión (Farfán-García, Ariza-Rojas, Vargas-Cárdenas, & Viviana., 2016)

EPEC y EHEC son patógenos extracelulares de la mucosa que comparten un mecanismo único de colonización caracterizado por la formación de lesiones de adherencia y borrado o esfacelación (A / E) en el epitelio intestinal donde las bacterias se adhieren íntimamente a la membrana plasmática de los enterocitos del huésped e inducen reordenamientos citoesqueléticos debajo de las bacterias adherentes (El desarrollo de las lesiones A / E se basa en la patogenicidad del locus de borrado de enterocitos (LEE), que codifica el sistema de secreción de tipo tres (T3SS) y las proteínas efectoras necesarias para la patogénesis. Estas proteínas efectoras desempeñan funciones críticas cuando se desplazan a las células huésped al subvertir las defensas del huésped y los procesos celulares que permiten a las bacterias colonizar, multiplicar y causar enfermedades. Los genes que codifican las proteínas efectoras varían considerablemente entre los patógenos A / E, y es esta variación la que probablemente refleja su diferencia en los fenotipos de virulencia. (Contreras & Ochoa, 2010) (Lluque, y otros, 2010)

La capacidad toxigénica de las cepas EHEC, es necesaria para que el paciente desarrolle colitis hemorrágica y diarrea con sangre, ya que la citotoxina STX es el principal mecanismo de patogenicidad de EHEC y su síntesis está relacionada con la presencia del bacteriófago STX, que se encuentra en el genoma. La STX actúa a

nivel de síntesis de proteínas ya que se une a la subunidad 60S de los ribosomas de las células intestinales o renales del hospedero. Además de la toxina, presentan el gene cromosomal *eae* que codifica para la proteína de membrana externa (OMP) de 94 kilodaltones (kDa), llamada intimina, cuya expresión es regulada por genes plasmídicos; el gene *eae* también se encuentra en las cepas EPEC. Otro factor de patogenicidad es el plásmido pO157, de 60 megadaltones (MDa), que codifica para la enterohemolisina. El periodo de incubación de EHEC es de 1 a 8 días; inicialmente produce diarrea sin sangre, con o sin vómito, dolor abdominal, fiebre, y después de 1 a 2 días la diarrea se torna sanguinolenta y se intensifica el dolor abdominal, de una duración de 4 a 10 días, con heces abundantemente sanguinolentas. Los diferentes serotipos EHEC se han relacionado con la etiología de la diarrea esporádica en adultos, en brotes asociados a la ingesta de alimentos contaminados, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica. Estos padecimientos se han observado con mayor frecuencia en países con climas templados como los Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, Argentina, Alemania y Japón. (Angeles Rodríguez, 2002) (González Ayala & Cecchinini, 2015)

Las EPEC inducen una profusa diarrea acuosa, a veces sanguinolenta. Son una de las principales causas de diarrea infantil en los países en desarrollo. Los brotes se han relacionado con el consumo de agua potable contaminada, así como algunos productos cárnicos. La patogenia de la EPEC implica una proteína codificada por plásmidos conocida como factor de adherencia EPEC (EAF) que permite la adherencia localizada de bacterias a las células intestinales y una adhesina no fimbrial designada intimin, que es una proteína de la membrana externa que media en las etapas finales de adherencia. No producen toxinas ST o LT. La adherencia de las cepas de EPEC a la mucosa intestinal es un proceso muy complicado y produce efectos dramáticos en la ultraestructura de las células que resultan en reordenamientos de actina cerca de las bacterias adherentes. El fenómeno a veces se llama "apego y borrado" de las células. Se dice que las cepas de EPEC son "moderadamente invasivas", lo que significa que no son tan invasivas como *Shigella* y, a diferencia de ETEC o EAEC, causan una respuesta inflamatoria.

La diarrea y otros síntomas de las infecciones por EPEC probablemente son causados por la invasión bacteriana y la interferencia con la transducción de señales celulares normales, en lugar de por la producción de toxinas. Algunos tipos de EPEC se conocen como *E. coli* difusamente adherentes (DAEC), según los patrones específicos de adherencia. Son una causa importante de la diarrea del viajero en México y en el norte de África. Uno de los aspectos más importantes de la epidemiología de la diarrea producida por EPEC es la población afectada. Esta se presenta principalmente como una enfermedad de niños menores de 2 años de edad. En la actualidad los casos de diarrea por cepas EPEC en países

industrializados son poco frecuentes. En los países en desarrollo, la incidencia de diarrea producida por EPEC sigue siendo alta. Diferentes estudios realizados en México, Brasil, y África del Sur refieren que entre 30 y 40% de los casos de diarrea puede ser atribuido a cepas EPEC. (Todar, 2019) (Vidal, Román Canizález, & Jiménez Guitiérrez, 2008)

De acuerdo a la clasificación antes mencionada en el primer grupo encontramos a *E. coli*, a menudo llamado UPEC (*E. coli* uropatógena), que es responsable de las infecciones urinarias agudas y crónicas es distinto de la *E. coli* comensal que se encuentra en el colon de los humanos y está representado por unos pocos serogrupos (O1, O2, O4, O6, O7). y O75). A menudo poseen genes que codifican muchos factores asociados a la patogenicidad, incluidas adhesinas, sideróforos (es decir, aerobactina), cápsulas y toxinas implicadas en la patogénesis de las infecciones urinarias. Las toxinas producidas por UPEC incluyen hemolisina y factor de necrotización citotóxico 1 (CNF1) y toxina autotransportadora secretada (Sat) que se ha demostrado que tiene un efecto citopático en varias líneas celulares de vejiga y riñón. (Hernández Manjarrez, 2013)

La adherencia es un paso crítico en la patogénesis de la meningitis por *E. coli*. Los factores implicados en la unión de *E. coli* a las células endoteliales microvasculares del cerebro (BMEC) incluyen las fimbrias S, que también son importantes en la patogénesis de la UPEC. La invasión posterior se ve facilitada por varios determinantes microbianos, incluida la invasión de las proteínas del endotelio cerebral (Ibe), que pueden promover el cruce de la barrera hematoencefálica. El organismo Gram negativo más común responsable de la meningitis durante el período neonatal es *E. coli*. La sepsis y la meningitis del recién nacido por sus siglas en inglés (NBM) a menudo se asocian con *E. coli* que pertenece a un número limitado de serotipos, particularmente aquellos que expresan el antígeno capsular K1, p. Ej. O83: K1 y O7: K1 y especialmente O18: K1. (Baylis, Penn, Thielman, & Gillespie, 2008)

Los mecanismos de resistencia antibiótica en *E. coli* hacia ampicilina, Trimetropim-Sulfametoxazol, Tetraciclina, Cloramfenicol y Ácido Nalidíxico son múltiples y estos mecanismos se adquieren mediante mutaciones puntuales a nivel cromosómico o transferencia horizontal de material genético entre especies relacionadas o diferentes facilitada por algunos elementos móviles tales como los integrones, estas son piezas genéticas capaces de captar genes que codifican determinantes de resistencia antibiótica u otras funciones. Éstos compuestos por tres elementos necesarios para la inserción y expresión de genes exógenos: unos fragmentos que codifican una integrasa (int), una secuencia *att* a la que se unen los genes en casetes que codifican diferentes mecanismos de resistencia y dentro del intl, en el extremo 3', una secuencia promotora (Pc) a partir de la cual se transcriben los casetes de

resistencia integrados. Entre estos tipos de integrones, el más frecuentemente descrito es el integrón I (Int1), relacionado con resistencia antibiótica en Gram negativos. Existen dos tipos de integrones: el grupo I o también llamado “integrones móviles” relacionados con los casetes de resistencia antibiótica y el grupo II o “superintegrones” presentes, a diferencia de los primeros, a nivel cromosómico y no relacionados con la resistencia antibiótica salvo algunas excepciones. Esta transferencia horizontal permite que los mecanismos se trasladen entre diferentes enteropatógenos y que se diseminen rápidamente a nivel mundial. (Mosquito, 2011) (Pérez, Pavas, & Rodríguez, 2011)

7.7.2 *Klebsiella pneumoniae*

El término *Klebsiella* fue nombrado por el bacteriólogo alemán Edwin Klebs, *K. pneumoniae* es una bacteria de forma bacilar, Gram negativa (figura_), perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, anaerobia facultativa, inmóvil y usualmente encapsulada, ampliamente esparcida en el ambiente, y presente de manera especial en las superficies mucosas de mamíferos; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal. La tasa de detección de adultos portadores de *K. pneumoniae* en materia fecal es de 5-38%, y en nasofaringe entre 1 y 6%; en los niños el estado de portador fecal puede alcanzar el 100%. Algunos de los miembros de este género habitan en el suelo o forman parte de la microbiota del tracto respiratorio y gastrointestinal en los humanos. Las especies de *Klebsiella* que se asocian a infecciones en humanos son principalmente *Klebsiella pneumoniae*, posteriormente *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella ozaenae*. (Echeverri Toro, 2010)

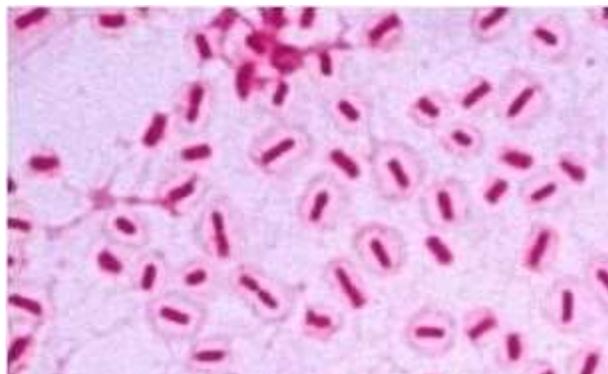


Figura 9 Tinción de Gram, morfología de *Klebsiella* spp, bacilo G(-).

Siete especies del género *Klebsiella*, se conocen. Estas son.

- 1) *Klebsiella pneumoniae*
- 2) *Klebsiella ozaenae*
- 3) *Klebsiella terrigena*
- 4) *Klebsiella rhinoscleromatis*
- 5) *Klebsiella oxytoca*
- 6) *Klebsiella planticola*

7) *Klebsiella ornithinolytica*

Este bacilo muestra un aspecto pegajoso y brillante, con crecimiento mucoso debido a la presencia de cápsula. En el agar McConkey las colonias serán rosadas, tonalidad conseguida por la presencia de β -galactosidopermeasa y β -galactosidasa; conjuntamente, *Klebsiella* no produce hemólisis en agar sangre. (Rojas N., 2007)

Klebsiella pneumoniae es una bacteria anaerobia facultativa, es decir, capaz de crecer en presencia o ausencia de oxígeno, inmóvil, su porcentaje de Guanina-Citosina en ADN oscila entre el 53% y el 58% y sus resultados para IMViC Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato son -/+ / +. (Ray Sherris, 2005)

Los miembros del género *Klebsiella*, poseen tres tipos de factores de patogenicidad. Ejemplificado en la figura 6

- El lipopolisacárido (LPS), es una molécula compuesta por el lípido A, un núcleo de polisacárido y una cadena lateral denominada antígeno O, cuya función es proteger a las células bacterianas de la actividad del complemento. El lípido A es el anclaje hidrofóbico a la membrana celular y puede estar compuesto por una gran variedad de sacaralípidos y ácidos grasos involucrados en la resistencia a los péptidos antimicrobianos. Es el responsable de la toxicidad de la molécula. (Llobet E, 2015)
El antígeno O es el principal factor de resistencia al complemento y de defensa frente a la fagocitosis. Sin embargo, la expresión de la capsula es imprescindible para la resistencia al complemento siendo menos importante la composición química del polisacárido capsular (antígeno K). (Álvarez D, 2002)

En *Klebsiella pneumoniae*, el antígeno O1 es el más prevalente y está formado por unidades D-galactanol I y D-galactano II repetidas, tienen un papel determinante en la integridad y la permeabilidad de la membrana externa, es en el transporte de moléculas a través de la membrana y en la patogénesis jugando un papel importante en la interacción de la bacteria con el sistema inmune. (March C, 2018)

- Polisacárido capsular (antígeno K); la cápsula es un elemento importante en la virulencia asociada a *Klebsiella*, gracias a ella estos microorganismos son capaces de evitar la fagocitosis y resistir la actividad bactericida de algunas sustancias presentes en el suero sanguíneo, dicha estructura está compuesta por cadenas de polisacáridos muy complejas. Hay reportes de al menos 80 serotipos capsulares en esta especie.
- Adhesinas; la adhesión a las mucosas y a los tejidos es el paso fundamental para que se logre llevar a cabo la colonización-infección del hospedero. En las especies de *Klebsiella* y otras Enterobacterias se lleva

a cabo gracias a la ayuda de las fimbrias, que están ancladas a la membrana celular externa y sirven de soporte de las adhesinas facilitando la adhesión de la bacteria a las superficies celulares. (Tártara, 2013) (Brooks G., 2006)

La primera etapa en el proceso infeccioso por *Klebsiella* es la adherencia del agente a las células del hospedero, por acción de unas proyecciones filamentosas de la superficie bacteriana llamadas *pilis*, de las cuales existen dos tipos predominantes en *Klebsiella* spp;

Tipo 1: Son más gruesas (de 5 a 7nm de diámetro), rígidas, producen canales y su propiedad adhesiva esta mediada por la adhesina *fimH* la cual reconoce estructuras que contienen manosa presentes en las células del huésped o en la matriz extra celular, lo cual favorece que la bacteria se adhiera y colonice al epitelio del tracto urogenital. El tipo 1 está asociado en la patogénesis de las infecciones del tracto urinario, adhiriéndose a las células del túbulo proximal. Su adherencia a las células del tracto respiratorio afecta la resistencia a la colonización, lo cual conlleva a la proliferación de patógenos potenciales y puede conducir a neumonía, principalmente en pacientes con ventilación mecánica. (Struve C, 2009)

Tipo 3: Son más delgadas (de 2 a 5nm de diámetro), intervienen en la adherencia basolateral a las células endoteliales y los epitelios del tracto respiratorio y urinario. Favorecen la adhesión a la superficie del hígado, pulmones y vejiga. El operón *mrk* codifica una adhesina de tipo fimbria tipo 3, facilita la unión a la matriz extracelular, está compuesta por seis genes requeridos para la expresión de las fimbrias tipo 3: *mrkA*; codifica para la subunidad mayor de la fimbria (desempeña un papel importante en la formación de biopelícula en *K. pneumoniae* sobre todo en las infecciones asociadas a la salud); *mrkB*, *mrkC* y *mrkE*: ensamble de la fimbria y regulación de la expresión de la fimbria *mrkD*: codifica la adhesina responsable de la hemaglutinación y resistencia a la manosa y *mrkF*: mantiene la estabilidad de la fimbria en la superficie celular. (López JA., 2009) (Stahlhant SG, 2012)

El hierro es un elemento vital para el desarrollo bacteriano, y su disponibilidad en el ambiente del hospedero es muy limitado, pero muchas bacterias lo obtienen produciendo agentes quelantes llamados sideróforos, que son capaces de tomarlo de las proteínas del hospedero. Existen varios tipos de sideróforos que se han reunido en dos grupos químicos diferentes, según produzcan enterobactinas y aerobactinas, las cuales, como se ha demostrado, son producidas por las especies del género *Klebsiella* spp. (López Vargas, 2009)

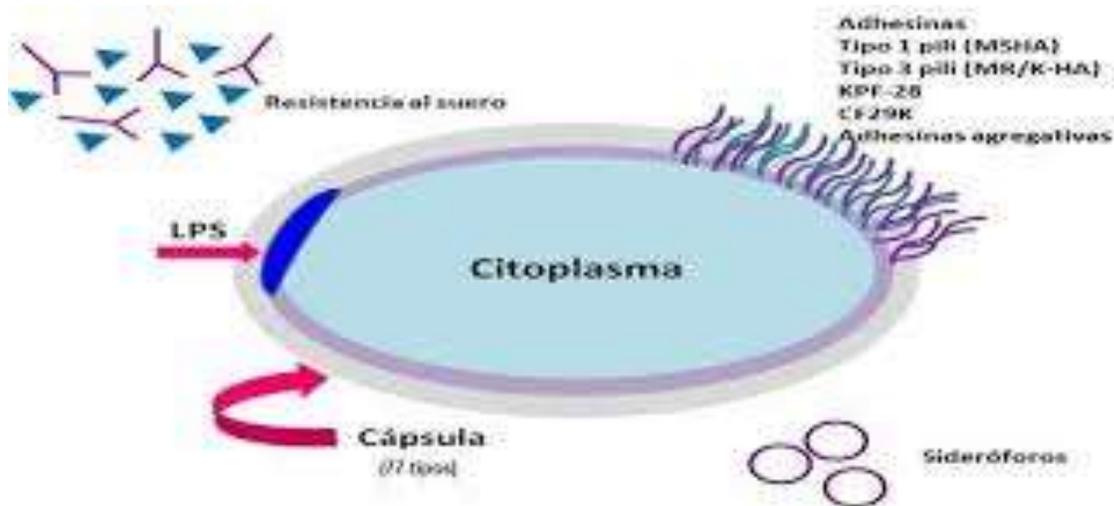


Figura 10 Representación esquemática de los factores de virulencia de *Klebsiella pneumoniae* (López Vargas, 2009)

Las infecciones producidas por *K. pneumoniae* pueden presentarse en casi cualquier parte del cuerpo, siendo el tracto urinario y respiratorio los más comunes; la mayoría de las infecciones ocasionadas por *K.pneumoniae* están asociadas al ambiente hospitalario, se asocia significativamente con padecimientos como la diabetes mellitus, obstrucción pulmonar crónica o algún grado de deficiencia en el sistema inmune. Este tipo de infecciones se asocian a una alta morbilidad y mortalidad. (Chan K., 2007)

Las cepas hipervirulentas de *K. pneumoniae* con serotipos relacionados con la elevada producción de polisacárido capsular, pueden afectar a personas sanas y causar infecciones adquiridas en la comunidad como abscesos hepáticos piógenos, abscesos cerebrales, endoftalmitis y neumonía. (Li B., 2014)

Estas cepas pueden presentar un fenotipo hiper mucoviscoso (fiura7) que puede ser debido a la expresión de dos genes: gen A asociado a la mucoviscosidad (*magA* es característico del serotipo capsular K1) y gen regulador del fenotipo mucosido A (*rmpA*). Dicho fenotipo hiper mucoso se puede apreciar a simple vista realizando el test conocido como "string test", mediante el cual obtendríamos un resultado positivo cuando se genera un hilo mucoso de más de 5mm al tocar la colonia con un asa, como se presenta en la siguiente imagen. (Fang, Lai, Yi, Hsueh, & Liu, 2010)



Figura 11 Fenotipo hipermucoviscoso de una cepa de *K.pneumoniae* (Flemming HC., 2010)

Se estima forma parte del 8% de las infecciones asociadas a la atención de la salud, en Estados Unidos y en Europa, por tanto, se sitúa entre los ocho patógenos infecciosos más importantes en hospitales. En México *Klebsiella pneumoniae* permanece como uno de los principales patógenos con una alta presencia en urocultivos; de 8,718 urocultivos; de los cuales 7,978 (91.5%) reportaron información de *Escherichia coli* y 740 (8.5%) de *Klebsiella pneumoniae*. (Ponce de León, 2018)

Se caracterizan por tener enzimas codificadas genéticamente, que confieren resistencia a múltiples antimicrobianos, incluyendo los carbapenems. Las carbapenemasas son codificadas por el gen bla_{kpc} localizado en plásmidos. (Montúfar-Andrade, 2015)

7.7.3 *Pseudomonas spp*

Pseudomonas aeruginosa pertenece a la familia Pseudomonaceae. Etimológicamente, "*Pseudomonas*" significa "falsa unidad", del griego "pseudo", que significa "falso", y "monas", que significa "unidad simple". Se trata de un bacilo recto o ligeramente curvado Gram negativo, crece mejor en aerobiosis, es muy versátil nutritivamente y no fermenta hidratos de carbono pero produce ácido a partir de azúcares como la glucosa, fructosa y lactosa o sacarosa, por acción de las vías extracelular, donde la oxidación de glucosa a gluconato por la enzima glucosa deshidrogenasa y la consecutiva reacción de gluconato a 2-ceto-gluconato por gluconato deshidrogenasa, respectivamente e intracelular donde se lleva a cabo principalmente por la ruta metabólica Entner-Doudoroff (EDP) donde gluconato-6-fosfato es el principal intermediario. (Rojas, Villafaña, & Nungaray, 2007)

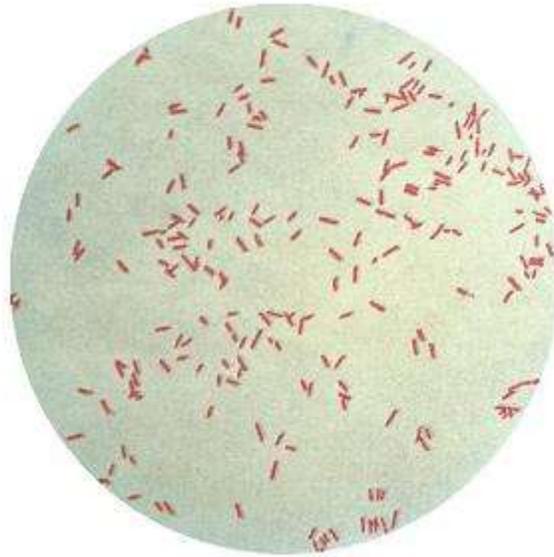


Figura 12 Tinción de Gram, morfología de *Pseudomonas*, bacilo G(-)

En el ambiente hospitalario la *Pseudomonas aeruginosa* puede colonizar superficies húmedas de los pacientes oídos, axilas, periné y también se aísla en entornos húmedos inanimados que incluyen agua de lavabos, sumideros, duchas, etc. La mayoría de las cepas presentan también un olor característico similar a la uva o a una fruta madura. (Mandell, 2010)

La clasificación taxonómica de *Pseudomonas*:

Reino Bacteria

Filo Proteobacteria

Clase Gammaproteobacteria

Orden Pseudomonadales

Familia Pseudomonadaceae

Genero *Pseudomonas*

Especie *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*

(Brenner, 2005)

Es un patógeno oportunista capaz de causar infecciones sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. Tiene una peculiar predilección por los tejidos blandos en donde puede ocasionar infecciones agudas o crónicas. Las infecciones crónicas en diferentes órganos pueden persistir por meses o años. Por ejemplo, los pacientes con fibrosis quística presentan infección crónica y ésta puede persistir por décadas. Las infecciones agudas, pueden iniciar de forma local y rápidamente diseminarse y

volverse sistémicas. *P. aeruginosa* posee diversos factores de virulencia los cuales incluyen proteasas, fosfolipasas, exotoxinas y endotoxinas. (Hernández, 2017)

Con un tamaño de 2–4 x 0,5-1 micras, y móvil gracias a la presencia de un flagelo polar. Se caracteriza por producir una variedad de pigmentos, como la piocianina (de color azul verdoso), la pioverdina (pigmento fluorescente de color verde amarillento), la piorrubina (de color rojo) y piomelanina (café oscuro). Es considerado un patógeno oportunista. Es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C. En relación a la morfología de las colonias puede ser variada y generalmente pigmentadas, se encuentran las típicas colonias que se extienden en la placa con un brillo metálico y con un aspecto gelatinoso, viscoso especialmente en zonas de mayor crecimiento y las variantes de colonias con morfo tipo enano, coliforme y mucoside frecuentes se observan en las vías respiratorias y en pacientes con fibrosis quística (FQ). (Ochoa, 2013)

Pseudomonas spp se ha clasificado en cinco grupos en base a su ADN y ARN, como se muestra en la tabla_, además de características de cultivo en común. El grupo I de la familia Pseudomonadaceae se subdivide en fluorescentes y no fluorescentes. El grupo fluorescente que produce pigmentos incluye el género *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida*. (Romero, 2008)

Tabla 2 Clasificación de la familia Pseudomonadaceae

<p>Grupo I Grupo fluorescente</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i></p>	<p>Grupo IV Grupo Diminuta</p> <p><i>Brevundimonas diminuta</i> <i>Brevundimonas vesicularis</i></p>
<p>Grupo II Grupo Pseudomallei</p> <p><i>Burkholderia mallei</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Burkholderia gladioli</i> <i>Burkholderia pickettii</i></p>	<p>Grupo V</p> <p><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></p>
<p>Grupo III</p>	

<p>Grupo Acidovorans</p> <p><i>Comamonans acidovorans</i></p> <p><i>Comamonas terrigena</i></p> <p><i>Comamonas testosterona</i></p>	
--	--

(Winn & Koneman, 2008)

P. aeruginosa es un patógeno oportunista que rara vez causa enfermedad en individuos sanos; en el caso de producirse esta, suele manifestarse como:

- Infecciones dérmicas: puede causar foliculitis (foliculitis de la bañera), que se caracteriza por la aparición de pápulas pruriginosas en la zona lateral del tronco y/o en las zonas axilar, inguinal, púbica, etc., estando asociada al contacto prolongado con agua contaminada. También puede ocasionar el síndrome de la uña verde (cloroniquia), una paroniquia consistente en la coloración verdosa de la lámina ungueal y causada por la exposición frecuente de las uñas previamente dañadas a ambientes húmedos contaminados.
- Neumonía: producida por la inhalación de bioaerosoles de agua o fluidos contaminados (p.ej. taladrinas o fluidos de corte). La infección en personas sanas es extremadamente rara, siendo el pronóstico muy grave.
- Otitis externa (otitis del nadador): infección del canal auditivo externo ocasionada por contacto prolongado con agua contaminada.
- Infección ocular: asociada principalmente a la contaminación del líquido utilizado para la limpieza de las lentes de contacto, pudiendo causar una queratitis que puede resultar en la perforación y derretimiento corneal, en la infección de cicatrices o, incluso, en la pérdida de visión del ojo infectado.

(Luján Roca, 2014) (Ben Haj Khalifa A, 2011)

Su patogenicidad está mediada por diversos factores de virulencia, que dependen de la cepa y entre los cuales destacan;

- Los pilis; causando adherencia a células epiteliales y mucina
- Los cilios; los cuales, en las vías respiratorias, el glucolípido M1 (aGM1) es uno de los blancos para la unión a la superficie epitelial celular.
- El flagelo; Movilidad y adherencia a mucina.
- Biopelícula-alginato; protección de fagocitosis, adhesina, resistencia contra antibióticos.
- Los pigmentos; la piocianina pueden cambiar el color del pus en el hospedero
- Rhamnolípido; daño a membrana celular del hospedero

- Elastasas; causan daño a tejido de pulmón y vasos sanguíneos.
- Proteasas alcalinas; producen daño a tejidos
- Lectinas solubles
- Fosfolipasa C; daño de tejido, estimulación de mediadores de inflamación
- Sistema de secreción tipo III; daño a tejido del hospedero, daño citotóxico, relacionado al proceso de invasión, produce diversas toxinas como;
 - Endotoxina; Responsable de la estimulación excesiva del sistema inmunitario, puede provocar shock séptico y producir la muerte.
 - Endotoxina A; Citotóxica. Inhibe la síntesis proteica celular, es responsable de necrosis tisular y afecta la respuesta del hospedador a la infección.
 - Exoenzima S (ExoS) y Exoenzima T (ExoT); Citotóxica. Facilita la adhesión de la bacteria a las células epiteliales y la necrosis tisular.
 - Exoenzima U (ExoU); Citotóxica. Produce lesiones en las células epiteliales, es responsable de bacteremia e, incluso, de shock tóxico.

(Driscoll JA, 2008) (Markey, 2013)

Principalmente se utiliza el agar MacConkey para su identificación, donde presentan un brillo metálico distintivo, las colonias son grandes, pálidas y con pigmento azul verdoso, en un agar sangre para evidencia de la β -hemólisis y los cultivos presentan un olor característico comparado con las uvas. Los bacilos son; oxidasa positiva, licuan gelatina, peptonizan leche tornasol, utilizan el citrato, reducen nitrato y no producen indol. Las colonias pueden variar dependiendo de las especies, por ejemplo:

- ❖ Forma S, suaves y brillantes
- ❖ Forma R, pequeñas, secas y granulares
- ❖ Forma M, mucoides (forma atípica)

(Markey, 2013) (Vallés, 2006)

Aunque *P. aeruginosa* es la bacteria con mayor importancia clínica, es importante diferenciarla en el diagnóstico de otras especies de *Pseudomonas*, en la siguiente tabla se presentan las diferencias metabólicas entre *P.aeruginosa* y *P.putida*.

Tabla 3 Diferencias metabólicas en *P. aeruginosa* y *P. putida*

Características Metabólicas	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.putida</i>
Crecimiento a 4°C	-	+ (variable)
Gelatinasa	+	-
Reducción de nitratos	+	-
Producción de piocianina	+	-
Producción fluoresceína	+	-

Además de la identificación por características bioquímicas y morfológicas, también puede ser empleado la tipificación serológica, sensibilidad a bacteriófagos, patrones de sensibilidad a antibióticos y producción de piocianinas. Además de técnicas moleculares, las cuales brindan una mayor sensibilidad y especificidad. (Forbes, 2009)

Posee una capacidad para defenderse generada por un gran número de factores de patogenicidad estructurales (cápsula exopolisacárida, adhesinas, pili, pigmentos difusibles, endotoxinas) y toxinas (exotoxinas A, S y T) como enzimáticos (elastasa, proteasa alcalina, ramnolipido, fosfolipasas C) esto explica en gran parte que *Pseudomonas aeruginosa* pueda causar una amplia variedad de infecciones. Estos factores de patogenicidad bacteriana que contribuyen en el proceso patológico asociado a la infección por *Pseudomonas aeruginosa* son variados tanto en forma como en función. (Garua, 2011)

Por otra parte, en ambientes acuosos esta bacteria se adhiere a superficies, produciendo una especie de agregado llamado biopelícula. La formación de estos cúmulos de bacterias y material extracelular representa un problema de salud pues contamina dispositivos que se implantan dentro del cuerpo, como por ejemplo dispositivos intrauterinos, catéteres o válvulas cardíacas. Las biopelículas también representan un problema en el proceso de producción de diversas industrias pues provocan taponamiento y corrosión de conexiones y filtros. (Gloria, 2009)

Pseudomonas aeruginosa presenta un alto nivel de resistencia, por un lado, resistencia intrínseca o natural a los antibióticos y por otro lado una extraordinaria capacidad para adquirir mecanismos de resistencia, generalmente mediante mutaciones. La resistencia intrínseca se define como la falta de casi la totalidad de los aislados de una especie bacteriana al efecto de un antimicrobiano, sería la presencia natural en un microorganismo de un mecanismo de resistencia que afecta a un antibiótico de la misma o diferentes familias. (Poole, 2002)

La resistencia intrínseca está dada, en el caso de la *Pseudomonas aeruginosa* en gran medida por su membrana externa, probablemente el factor más importante sea la presencia de bombas de expulsión, sobre todo MexAB-OprM, con capacidad para expulsar antibióticos betalactámicos, tetraciclina, cloranfenicol, macrólidos, fluoroquinolonas, sulfonamidas y trimetoprim. (Cantón R. , 2006)

Una de las características de las bacterias del género *Pseudomonas* es su gran capacidad para catabolizar distintos hidrocarburos aromáticos y alifáticos. Esta característica generalmente está codificada en plásmidos, llamados catabólicos, que casi siempre se encuentran en cepas de *P. putida* y rara vez en *P. aeruginosa*. En el caso de esta última bacteria su enorme versatilidad metabólica parece deberse al gran número de genes que codifican para enzimas con actividades novedosas. Los plásmidos que se presentan en *P. aeruginosa* codifican para resistencias a antibióticos o a metales y su extensa distribución representa un problema clínico. (Adriana Callicó, 2005)

Los principales mecanismos de resistencias de la *Pseudomonas aeruginosa* a los betalactámicos son: (Aloush, 2006)

a) Pérdida de porinas:

Las porinas son canales proteicos de la membrana externa de las bacterias Gram negativas que participan en el transporte de moléculas hidrofílicas desde el medio externo al espacio periplasmático. Los carbapenem llegan al espacio periplasmático pasando a través de porinas. Los genes que codifican las porinas pueden sufrir mutaciones y producir proteínas alteradas no funcionales o pueden disminuir su expresión. Una porina específica de sustrato, llamada OprD, es la encargada de transportar los carbapenem a través de la membrana externa. Su pérdida eleva considerablemente la concentración inhibitoria mínima (CIM) de Imipenem y en menor grado, la de Meropenem. De las diferentes porinas que se encuentran en la membrana externa de *Pseudomonas aeruginosa*, la más abundante es la porina OprF, probablemente es utilizada por la mayoría de betalactámicos para acceder al interior de las bacterias. Las porinas OprC y OprE son canales inespecíficos, aunque son empleados por algunos antibióticos. (Livermore D. , 2000) (Riera E, 2011)

b) Bombas de expulsión activa:

Pseudomonas aeruginosa posee en su envoltura celular, un sistema que acoplado al gradiente electroquímico de protones o con gasto de ATP, permite la expulsión al exterior de la célula de ciertos metabolitos y sustancias tóxicas, estas son unas estructuras proteicas capaces de expulsar del citoplasma y del periplasma bacteriano compuestos tóxicos para la bacteria, como los antibióticos. La expresión de estas bombas puede ser permanente (expresión constitutiva) o intermitente

(expresión que puede inducirse). Las bombas de flujo se clasifican en 5 superfamilias, de acuerdo a su secuencia de aminoácidos, la fuente de energía y la especificidad del sustrato, en el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, el mayor número de bombas se incluyen dentro de la familia RND (Resistance-Nodulation-Division). Los sistemas RND están compuestos por tres proteínas: una proteína de estructura de porina que se encuentra insertada en la membrana externa y que actúa como canal de expulsión, la bomba propiamente dicha constituida por un transportador situado en la membrana plasmática y una lipoproteína periplasmática que acopla ambos componentes. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa* se han descrito 10 sistemas de RND como bombas de expulsión activa (Mex AB-OprM, Mex CD-OprJ, Mex EF-OprN, Mex XY-OprM, Mex JK-OprM/OprH, Mex GHI-OpmD, Mex VW-OprM, Mex PQ-OpmE, Mex MN-OprM y Tri ABC-OpmH.) (Grkovic, 2005) (Lister PD, 2009)

c) **Betalactamasas AmpC cromosómica:**

Las β -lactamasas tipo AmpC, similar a la descrita en miembros de la familia Enterobacteriaceae. También es llamada cefalosporinasas, median la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, aztreonam, cefemicinas (cefotetán y cefotetán) e inhibidores de β -lactamasas. Las β -lactamasas tipo AmpC presentan baja afinidad a los carbapenem; sin embargo, cuando la enzima se produce en exceso y la bacteria cierra porinas, la baja cantidad del antibiótico presente en el espacio periplasmático permite que la enzima hidrolice al antibiótico y se registre resistencia a los carbapenem. (Suárez, 2008)

d) **Betalactamasas plasmídicas:**

La presencia de este tipo de betalactamasa en *Pseudomonas aeruginosa* es menos frecuente que en Enterobacterias. De las carbapenemasas de la clase A se han descrito en *Pseudomonas aeruginosa* la KPC y GES/IBC, dentro de las KPC, se han descrito la KPC-2 y la KPC-5, con un espectro sobre todos los betalactámicos y para GES solo se encuentran GES-1 y GES-5, presentes en *Pseudomonas aeruginosa*. (Juan C, 2011)

Se han descrito también carbapenemasas de tipo metalo-beta-lactamasas (MBL). Identificándose hasta 8 grupos de MBL plasmídicas (IMP, VIM, SPM, GIM, AIM, DIM y KHM), de las cuales las más extendidas son las IMP y las VIM. La VIM-2 es la más prevalente en el género de *Pseudomonas*. Dentro de las IMP, existen 21 variantes de las que todas excepto las IMP-3, IMP-5, IMP-17, IMP-23 e IMP-24 se identificaron en *Pseudomonas aeruginosa*. Los genes responsables de la producción de MBL, suelen formar parte de integrones que contiene además genes de resistencia a otros antibióticos como los aminoglucósidos. Dichos integrones pueden localizarse en el cromosoma, pero también en plásmidos transferibles de

una bacteria a otra lo que facilita su diseminación. (Walsh T.R, 2006) (Zavascki AP, 2005)

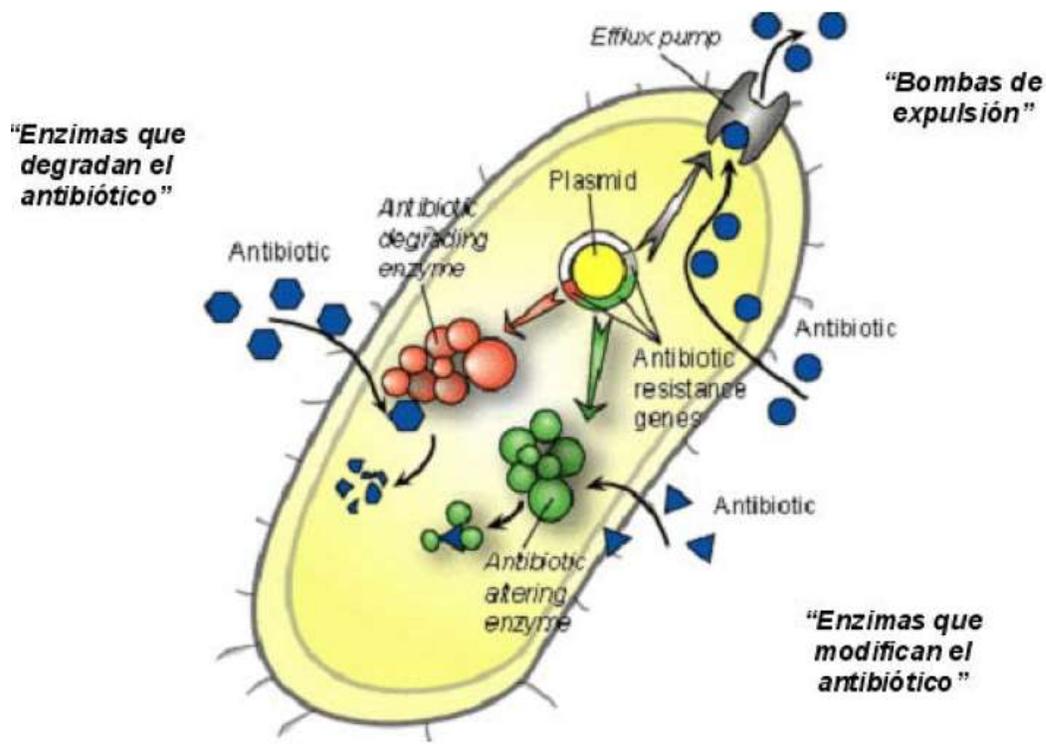


Figura 13 Representación de los mecanismos de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los betalactámicos (Miller GH, 1999)

Los mecanismos más importantes implicados en la resistencia (figura8) a los amiglicosídicos en *Pseudomonas aeruginosa* son: inactivación por enzimas modificantes, alteraciones en la permeabilidad y eliminación por bombas de expulsión. Las enzimas más frecuentes en *Pseudomonas aeruginosa* son nucleotidiltransferasa [ANT (2"-I)] que confiere resistencia a gentamicina, tobramicina, dibekacina y kanamicina y una acetiltransferasa [AAC(6')-II] cuyo sustrato es gentamicina, tobramicina y netilmicina. Las alteraciones en la permeabilidad comportan resistencia a todos los aminoglucósidos y junto con las enzimas modificantes, constituyen los mecanismos de resistencia más habituales. Sin embargo, las bases moleculares de la resistencia a aminoglucósidos son poco conocidas. (Msuda N, 2002)

7.8 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. (Ríos-

Mondragón L., 2012). 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. (Becerra G, 2009)

La resistencia bacteriana continúa en aumento y representa serios retos para el tratamiento de infecciones tanto adquiridas en la comunidad como en los hospitales. Se calcula que entre el 50% y el 60% de más de dos millones de infecciones hospitalarias son causados por bacterias resistentes, y que son responsables de cerca de 77.000 muertes por año. (Ronald, 2001)

En las últimas décadas, estos bacilos han adquirido mayor importancia como agentes causantes de infecciones relacionadas a la atención de la salud (IAAS) debido a que han desarrollado fenotipos de resistencia bastante amplios frente a los antimicrobianos; situación que ha sido reportada en prácticamente todo el mundo. (Villegas MV, 2008).

Las infecciones asociadas con la atención de la salud (IAAS) son un serio problema de salud pública a escala mundial, pero con mayor acentuación en los países emergentes en comparación con países europeos o Estados Unidos. Pueden definirse como una condición localizada o generalizada secundaria a la presencia de un agente infeccioso o su toxina y que además no estaba presente o en periodo de incubación al momento del ingreso hospitalario, que ocurrió 48 a 72 horas posterior al ingreso. (Tapia-Rombo KA, 2012)

En México, según la OMS, se calcula que 450 mil casos de infección relacionada con la atención sanitaria causan 32 muertes por cada 100 mil habitantes por año (cuyo costo de atención anual se aproxima a los 1,500 millones). ((OMS)., 2017) Por otra parte, algunos informes revelan que la prevalencia de IAAS puede llegar hasta 21% de los casos de hospitalización, e incluso hasta más de 23% en unidades de cuidados intensivos, dichas cifras duplican o triplican los estándares internacionales. (Rodríguez Salgado, 2017)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Foro Económico Mundial, la resistencia a los antibióticos es uno de los mayores problemas de salud pública mundial porque: impide nuestra capacidad de controlar las enfermedades infecciosas, aumenta la morbi-mortalidad, permite la transmisión de microorganismos infecciosos de un individuo a otro, aumenta los costos en la atención de salud y amenaza la seguridad sanitaria perjudicando el comercio y la economía. (Cifuentes M, 2014)

Hay que tener en claro la diferencia entre los conceptos resistencia antimicrobiana y multiresistencia antimicrobiana. El primero se refiere a la capacidad que tiene una bacteria de sobrevivir ante la exposición de la concentración mínima inhibitoria

(CMI) de cualquier tipo de antibiótico, que inhibe/mata a otras de la misma especie, mientras que el segundo habla sobre la resistencia que presenta un microorganismo ante la exposición de dosis terapéuticas adecuadas de tres o más antibióticos los cuales pertenecen a diferentes grupos de antibióticos. (Alós, 2015)

La prevalencia de las infecciones asociadas con la atención de la salud (IAAS) 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%. (Garay UA, 2010)

En la siguiente tabla se enlistan factores que, dentro del hospital, predisponen a las IAAS según las características intrínsecas del paciente o procedimientos que se le realizan. Los procesos invasivos o bien que hacen que uno permanezca en cama durante su estancia hospitalaria lo hacen más susceptible a padecer alguna complicación. (Avila C, 1999)

Tabla 4 Factores que indican la predisposición a padecer una IAAS

Relacionados al estado de salud	Relacionados a procesos infecciosos agudos	Relacionados a procedimientos invasivos	Relacionados a tratamiento
Edad	Cirugía	Intubación endotraqueal o nasal	Transfusiones sanguíneas
Desnutrición	Traumatismo	Catéter venoso central	Terapia antimicrobiana reciente
Alcoholismo	Quemaduras	Soporte renal	Tratamientos inmunosupresivos
Tabaquismo		Drenajes quirúrgicos	Profilaxis para ulcera gástrica por estrés
Diabetes		Tubo nasogástrico	Alimentación parenteral
Enfermedades respiratorias crónicas		Traqueostomía	Internamiento prolongado

Existen cuatro tipos principales de IAAS, las infecciones de vías urinarias, infecciones del sitio quirúrgico, infecciones del torrente sanguíneo y las neumonías asociadas a la ventilación mecánica. (RHOVE, 2015)

El impacto de las IAAS repercute en el incremento de las tasas de mortalidad, morbilidad y estancias hospitalarias prolongadas, lo cual genera un incremento en años de vida perdidos ajustados (DALYS por sus siglas en inglés), aumento de

resistencia antimicrobiana, así como elevación en los costos de atención médica. (Kuri, 2012)

Debido a la relevancia de las IAAS se han creado estrategias para hacer frente a algunos de los riesgos mencionados con anterioridad, por lo cual la OMS propone las siguientes medidas de prevención: prestar especial atención a las áreas de calidad y uso de productos sanguíneos, prácticas de inyección e inmunizaciones, agua potable, saneamiento básico y gestión de residuos y finalmente en los procedimientos clínicos, especialmente en la atención de emergencia. ((WHO), 2019)

En México la vigilancia epidemiológica intrahospitalaria se realiza siguiendo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana 045-SSA2-2005 para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las Infecciones Nosocomiales, actualizada recientemente cambiando su nombre a NOM 045-SSA2-2015 Vigilancia epidemiológica, prevención y control de las IAAS, sin estar aún publicada su fecha de inicio de vigencia. (Diez, 2005)

Las IAAS son producto de tres clases de factores;

1. Los inherentes al hospedero; Edad avanzada, nacimiento prematuro, inmunodeficiencia (la causada por uso de fármacos), enfermedades (diabetes, desnutrición) y quemaduras.
2. Los ambientales (involucran al medio en el que se encuentran); Ambiente animado (personal médico, familia, visitas, otros pacientes de la unidad terapéutica), ambiente inanimado (superficies, instrumental, equipo médico, limpieza de la unidad, temperatura, humedad, maniobras terapéuticas).
3. Los del agente (correspondientes al agente causal de la infección); Bacterias (cocos Gram positivos y bacilos Gram negativos), hongos y virus.

(RHOVE, 2015)

A nivel global los microorganismos causantes de IAAS en su mayoría pertenecen al denominado grupo ESKAPE, que por sus siglas incluye a;

- **E:** proviene de *Enterococcus* Vancomicina Resistente (EVR)
- **S:** proviene de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM), La oxacilina y la metilina 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.
- **K:** proviene de *Klebsiella pneumoniae*, 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.

- **A:** proviene de *Acinetobacter baumannii*, cuya multiresistencia a antibióticos genera un reto en las recomendaciones internacionales de tratamiento.
- **P:** proviene de *Pseudomonas aeruginosa* cuya resistencia a carbapenems y a quinolonas genera gran preocupación en una neumonía asociada a ventilador con esta etiología.
- **E:** proviene de Enterobacterias como *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, etc.

En la siguiente tabla se ilustra el grupo de microorganismos encabezan las estadísticas referentes a la producción de IAAS en las instituciones de salud del país.

Tabla 5 Principales agentes etiológicos de IAAS de las unidades médicas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 2013

Agentes etiológicos	Unidad médicas del IMSS		Unidades médicas de segundo nivel		Unidad Médica de Alta Especialidad	
	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	8192	16.9	6282	17.9	1910	14.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4725	9.8	3534	10	1191	9
<i>Staphylococcus aureus coagulasa (-)</i>	6771	14	4899	13.9	1872	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3122	6.5	2118	6	1004	7.6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	371	0.8	268	0.8	103	0.8
<i>Acinetobacter spp.</i>	1437	3	690	2	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

(Arias-Flores, Rosado-Quilab, Vargas-Valerio, & Grajales-Muñiz, 2016)

La aparición de las estas especies de microorganismos causantes de IAAS tanto a nivel global como nacional, demuestran la gran importancia de tomar acciones para el control y disminución de casos dentro de los hospitales de la Ciudad de México, y para lograr esto es más que necesario contar con buenos sistemas de vigilancia epidemiológica que desarrolle estrategias para frenar el incremento de este tipo de infecciones, impidiendo la propagación de microorganismos multirresistentes. Para la revisión epidemiológica en México la NOM-017-SSA2-2012, se encarga de la vigilancia epidemiológica, la cual corresponde a la Secretaria de Salud gestionar el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), con ayuda del sector público, social y privado, mientras que la vigilancia epidemiológica de las IAAS está a cargo de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE), sustentándose en la NOM-045-SSA2-2005 y mediante la implementación del manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica. (Carrascoso, 2015)

Como se ha mencionado, las IAAS son producto de múltiples factores que interaccionan en el ambiente hospitalario. Varios de estos son susceptibles de prevención y control a través de vigilancia epidemiológica estrecha, la evaluación continua de programas y políticas, así como de la capacitación constante del personal de salud. (Ponce de León-Rosales, Molinar-Ramos, Dominguez-Chertt, Rangel, & Vazquez-Ramos, 2000)

Debido a la relevancia de las IAAS se han creado estrategias para hacer frente a estas, por lo cual la OMS propone las siguientes medidas de prevención:

- Prestar especial atención a las áreas de calidad y uso de productos sanguíneos
- Prácticas de inyección e inmunizaciones
- Agua potable, saneamiento básico
- Gestión de residuos
- Procedimientos clínicos, especialmente en la atención de emergencias.

En 2001, por iniciativa del Instituto para la Mejora de la Asistencia Sanitaria de Estados Unidos (Institute for Healthcare Improvement o IHI por sus siglas en inglés), se desarrolló el concepto de paquetes preventivos (bundles o patient care bundles) en el contexto de una iniciativa para mejorar los cuidados de pacientes críticos, especialmente pacientes conectados a ventilador mecánico y pacientes con catéteres intravenosos centrales. Un cúmulo de intervenciones basadas en evidencia que se aplican en pacientes o poblaciones definidas y que en su conjunto

llevan a mejores desenlaces que cuando se implementan cada una de las medidas de forma separada. (Resar R, 2012)

Los paquetes preventivos que se desarrollaron fueron;

1. Paquete preventivo para bacteriemias asociadas a catéteres intravasculares centrales
2. Paquete preventivo de neumonía asociada a ventilador (NAV)
3. Paquete preventivo de infección de vías urinarias asociada a sonda urinaria
4. Paquete preventivo de infecciones de sitio quirúrgico
5. Paquete preventivo de infección por *Clostridium difficile* (ICD).

(Ochoa-Hein & Galindo-Fraga, 2018)

La prevalencia de resistencia entre las Enterobacterias es alta en todo el mundo y la producción de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) constituye el mecanismo más importante (Seral C, 2010), en términos generales resistentes a penicilinas, cefalosporinas (excluidas cefamicinas, que no se hidrolizan por estas enzimas) y monobactámicos. Además, las cepas productoras de BLEE también presentan altos niveles de resistencia a quinolonas y aminoglucósidos. (Rodríguez, 2008)

Las principales especies causantes son las bacterias y de estas las Gram negativas ocasionan entre 60 y 70% de las infecciones nosocomiales de acuerdo con algunas publicaciones, mientras que las Gram positivas de 20 a 25%. (Rincón-León HA., 2016)

El aumento en la resistencia a antibióticos y la disminución en la producción de nuevos antibióticos hace que las infecciones asociadas con la atención de la salud sean un serio problema, sobre todo aquellas que son producidas por las tipo Gram negativa; esto hizo que en una publicación en el 2015 en Estados Unidos se hicieran advertencias a través del Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) sobre la gran capacidad que tienen este tipo de bacterias de generar resistencias no solo a los β -lactámicos, sino también a otros grupos de antibióticos como son quinolonas, aminoglucósidos y SXT. (Ruíz-López IK, 2008)

Las bacterias pueden presentar resistencia a los antibióticos como resultado de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético de otras bacterias o fagos (virus que utilizan bacterias para su desarrollo y reproducción), a través de mecanismos como

1. **Transformación;** consiste en la transferencia o incorporación por una bacteria de ADN libre extracelular procedente de la lisis de otras bacterias, para la expresión posterior de una característica genotípica o fenotípica que antes no poseía, no es un proceso que se dé con facilidad en la naturaleza, ya que solo

algunos géneros o especies bacterianos son capaces de hacerlo, por ejemplo; *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp* y *Bacillus spp*.

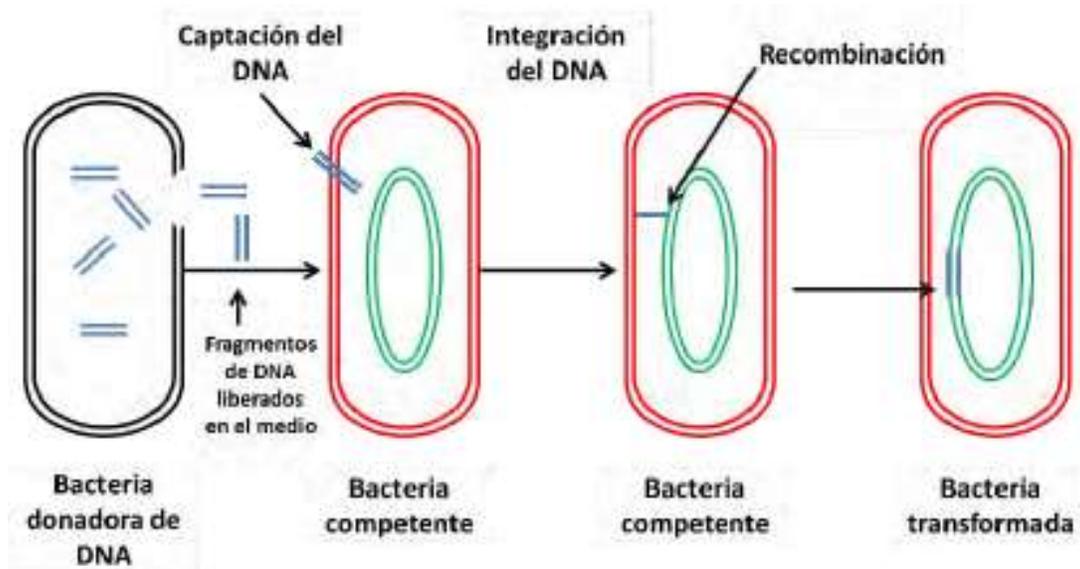


Figura 14 Esquema de la transformación bacteriana (Bentacor, Cadea, & Flores, 2006)

2. Transducción; transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra mediante un bacteriófago (virus que infecta bacterias) y se incorpora a la célula receptora como consecuencia de la infección por el virus. Si el fragmento de ADN que queda envuelto es totalmente bacteriano se denomina transducción generalizada y si sólo se encapsula parte del genoma bacteriano, pero se conserva el genoma viral se habla de transducción especializada.

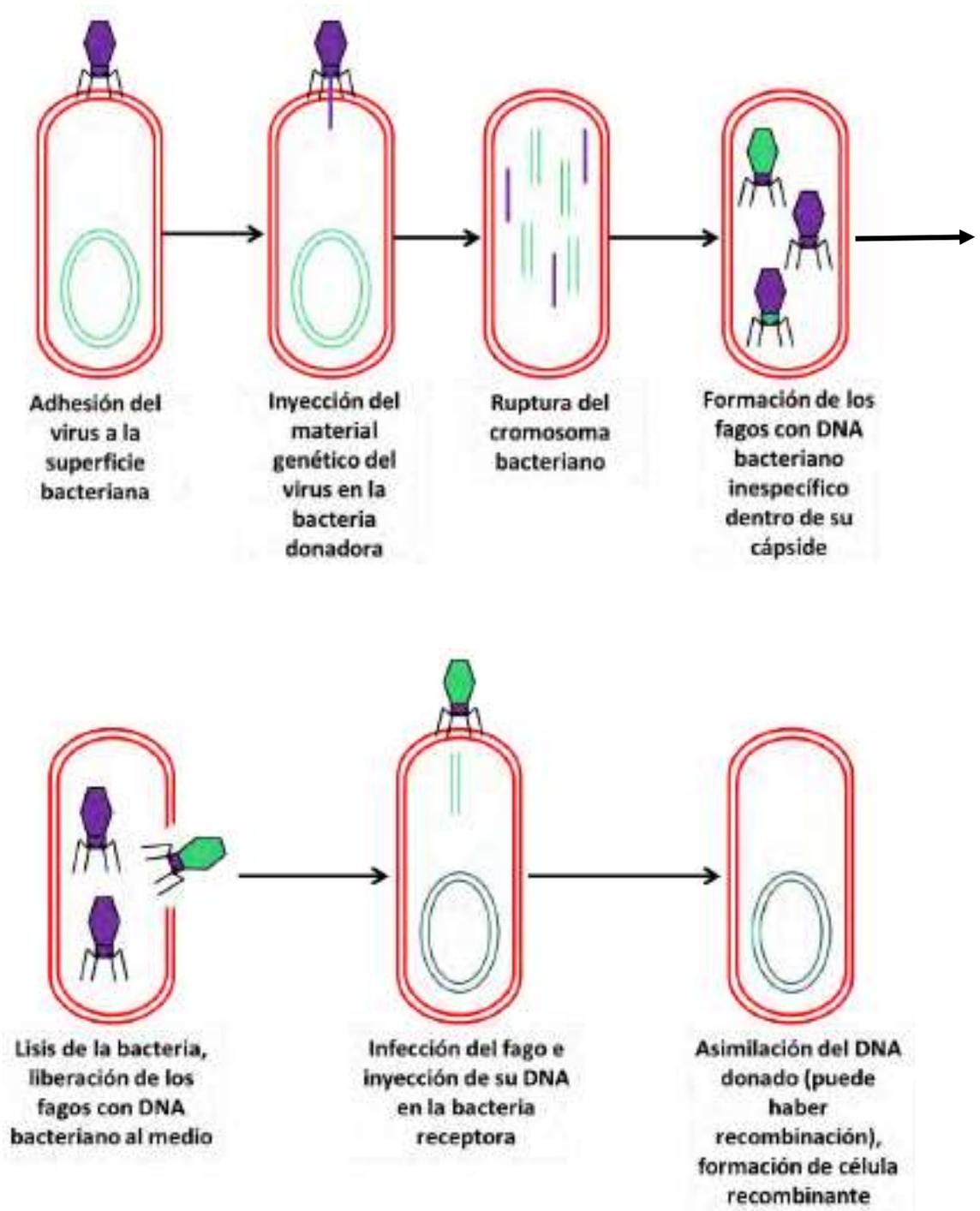


Figura 15 Esquema de la transducción generalizada (Brooks, 2013)

3. Transposición; (transposon) movimiento de una sección de ADN (proveniente de un bacteriófago u otra bacteria) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular.

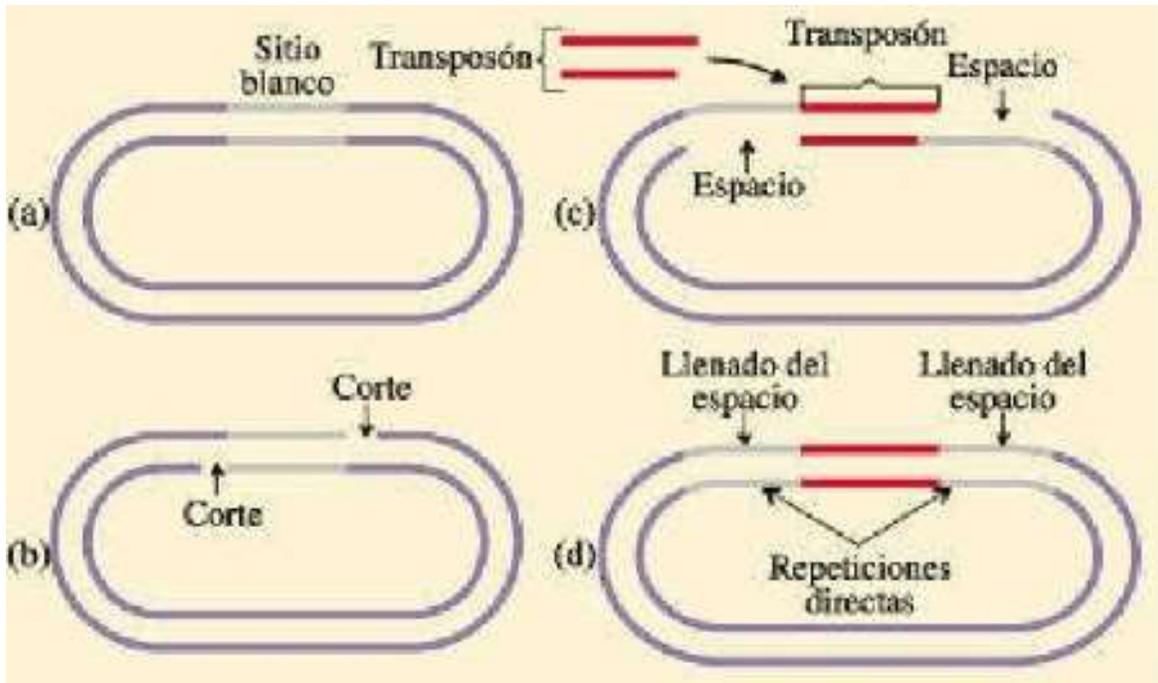


Figura 16 Esquema de la transposición generalizada (FACENA-UNNE, 2019)

4. Conjugación; consiste en el intercambio de material genético entre dos bacterias (donante y receptor), a través de una hebra sexual (pili) o contacto físico entre ambas. La información que puede contener el plásmido no se limita a la transferencia de genes relacionados con la conjugación, también puede contener genes que favorecen la supervivencia de la bacteria, siendo de relevancia clínica los involucrados a la resistencia contra antibióticos. (Cabrera C, 2007) Por ejemplo;

Tabla 6 Tipos de plásmidos y su microorganismo portador

Tipo de plásmido	Microorganismo portador
Resistencia a antibióticos (R)	Enterobacterias, <i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas</i>
Resistencia a metales pesados Hg, Cd, Ni, Cu, Pb	Enterobacterias, <i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas</i>
Conjugativos	<i>Escherichia coli</i>
Producción de bacteriocinas y antibióticos	Enterobacterias, <i>Clostridium</i> y <i>Streptomyces</i>
Metabólicos; Metabolismo de carbohidratos Degradación de hidrocarburos	Enterobacterias <i>Pseudomonas</i>

Virulencia o interacción con el hospedero (enterotoxinas, neurotoxinas y hemolisinas)	<i>Escherichia coli</i> <i>Clostridium tetani</i>
Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/geneticabacteriana_9091.pdf .	

(Moreno C, 2009) (Cabrera, Gómez, & Zuñiga, 2007)

La resistencia bacteriana puede ser natural o intrínseca y adquirida, y debe ser analizada desde varios puntos de vista (farmacocinético, farmacodinámicos, poblacional, molecular y clínico).

- Intrínseca; la resistencia natural o intrínseca es una propiedad específica de las bacterias, su aparición es anterior al uso de los antibióticos y tiene la característica de ser inherente a una especie en particular.
- Adquirida; es un verdadero cambio en la composición genética de la bacteria y constituye un verdadero problema en la clínica.
 - Tolerancia; es considerado como un tipo de resistencia adquirida, aun cuando el microorganismo siga siendo sensible al medicamento. (Abreu O, 2011)

7.8.1 Mecanismos de resistencia

Teniendo en cuenta que las bacterias Gram negativas tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y que la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica, es importante conocer los mecanismos de resistencia más prevalentes en las bacterias Gram negativas. Estos mecanismos de resistencia podrían resumirse en cuatro categorías, de acuerdo a la siguiente imagen. (Tafur, 2008)

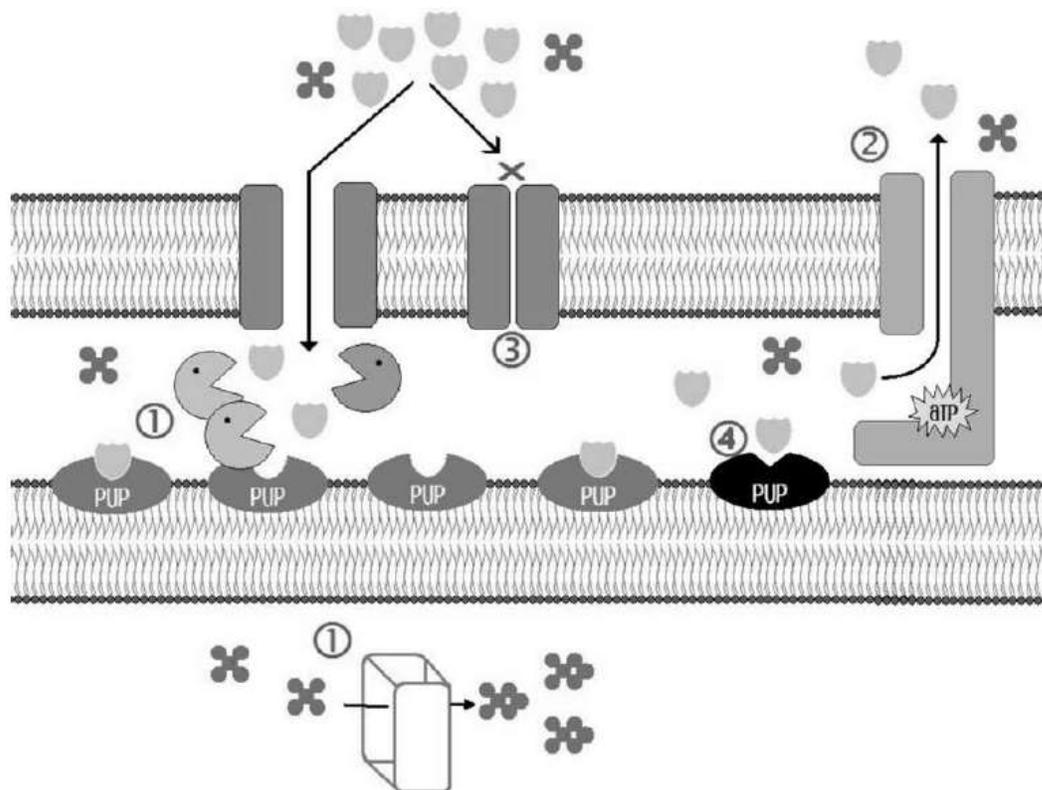


Figura 17 Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos. 1. Enzimas modificadoras. 2. Bombas de salida. 3. Cierre de porinas. 4. Proteínas unificadoras de penicilina. (Andrés Opazo C., 2009)

7.8.2 Modificación enzimática del antibiótico.

Las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad. Las β -lactamasas son las más prevalentes. Son proteínas capaces de hidrolizar el anillo β -lactámico que poseen los antibióticos de esta familia. De igual forma, las enzimas modificadoras de los aminoglucósidos son capaces de modificar estos antibióticos mediante reacciones de acetilación, adenilación y fosforilación. (Livermore D., 2000)

Debido a que el mecanismo de resistencia más prevalente en las bacterias Gram negativas a los antibióticos es la producción de β -lactamasas. Muchas Enterobacterias tienen una beta-lactamasa cromosómica (de las clases A o C) y expresan de forma basal o aumentada bombas de expulsión activa, lo que determina una resistencia intrínseca a bastantes antimicrobianos. Además, se pueden seleccionar con facilidad mutaciones cromosómicas en los genes que codifican las topoisomerasas de clase II (relacionadas con la resistencia a quinolonas) o las porinas (responsables de un ligero incremento del nivel basal de resistencia a múltiples compuestos). (Navarro, 2010).

Existen β -lactamasas de tipo AmpC, estas enzimas se han encontrado codificadas por cromosomas de una amplia variedad de bacterias Gram negativas como;

Aeromonas spp., *Morganella morganii*, *Providencia spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.* (Indol positivo), *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.* y *Serratia spp.* Las β -lactamasas tipo AmpC hidrolizan generalmente a las cefalosporinas de espectro reducido, cefalosporinas de tercera generación, aztreonam e inhibidores de β -lactamasas. (Jacoby G. , 2005)

Al igual hay β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que han sido reportadas en múltiples especies de bacterias Gram negativas: *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli* son los más frecuentes. Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas, el aztreonam, las penicilinas y las cefalosporinas de espectro reducido. Las BLEE son inhibidas por los inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam, lo cual las diferencia de las β -lactamasas tipo AmpC. Se han descrito varias familias de BLEE, y las más prevalentes son las TEM, SHV y CTX-M. La mayoría de BLEE se han originado por mutaciones espontáneas de β -lactamasas de espectro reducido, por cambios en los aminoácidos en su sitio activo, lo que permite ampliar su capacidad hidrolítica. (Livermore M. , 2000) (Corp, 2019)

Otras familias de BLEE son PER, VEB-1 y BES-1, estas son menos prevalentes en el mundo que las previamente descritas. (Nordmann, 2008)

Una característica importante de las BLEE es que son mediadas por plásmidos, lo cual les confiere una increíble capacidad de diseminación entre diferentes especies. El mismo plásmido que porta los genes de BLEE, pueden encontrarse genes que codifican resistencia para aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim/sulfametoxazol, lo cual puede contribuir a la resistencia de múltiples antibióticos. (Martinez-Martinez, 2007).

Existe otro grupo de enzimas modificadoras, que son carbapenemasas. Este grupo de enzimas hidroliza hasta los carbapenems. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: carbapenemasas de serina (incluidas en la clasificación molecular de Ambler, clases A y D) y metalo- β -lactamasas, MBL (Ambler, clase B), denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Un fenotipo que puede ayudar a la detección de carbapenemasas tipo MBL, es la resistencia a todos los β -lactámicos, excepto a aztreonam. En el caso de las carbapenemasas de serina, no existe un fenotipo característico. (Poriel, 2007)

En *K. pneumoniae* se han descritos enzimas de tipo KPC, se trata de una clase de betalactamasas, detectada en Carolina del Norte en 1996 designándose como KPC-1 por identificarse por primera vez en *Klebsiella pneumoniae*, codificada en el gen bla_{kpc} . Hasta 7 tipos de betalactamasas fueron encontrados asociados con bla_{kpc} en un único aislamiento de *K. pneumoniae*. Las enzimas KPC pueden ser

confundidas con BLEEs, dado que también confieren resistencia a cefalosporinas y son parcialmente inhibidas por ácido clavulánico y tazobactam. (Paciel, 2011)

Además de las β -lactamasas, existen otras enzimas responsables de la aparición de resistencia contra los antimicrobianos, como son las metilasas, acetil-transferasas, nucleotidiltransferasas y fosfotransferasas que inactivan, especialmente, los aminoglucósidos. Vale la pena mencionar a la acetil-transferasa AAC (6')-Ib y a las 16S rARN metilasas las cuales confieren resistencia a varios aminoglucósidos, inclusive kanamicina, amikacina y tobramicina. (Dery, 2003)

Los genes responsables de la producción de estas metilasas por las bacterias se han encontrado en plásmidos que portan otros genes de resistencia, lo cual lleva a patrones multirresistentes en bacterias Gram negativas. (Arakawa, 2007)

7.8.3 Bombas de salida

Operan tomando el antibiótico del espacio periplásmico y expulsándolo al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción. Este mecanismo es frecuentemente utilizado por las bacterias Gram negativas. (Vila, 2007)

Para ello, utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato energético. El principal papel de este mecanismo es mantener bajas las concentraciones de sustancias tóxicas dentro de la célula. Las bombas de salida pueden ser específicas para un fármaco (generalmente, codificadas en plásmido y, por lo tanto, transmisibles) o inespecíficas (generalmente expresadas en el cromosoma bacteriano). (Depardieu, 2007)

Estos transportadores se pueden clasificar en seis familias: La familia ABC (casete de unión a ATP, por sus siglas en inglés ATP Binding Cassette), MF (facilitador principal, por sus siglas en inglés Major Facilitator), MATE (eflujo multidrogas y tóxicos, por sus siglas en inglés Multidrug and Toxic Efflux), RND (división de nodulación de resistencia por sus siglas en inglés Resistance Nodulation Division), SMR (pequeña resistencia multidroga, por sus siglas en inglés Small Multidrug Resistance) y DMT (superfamilia transportadora de fármacos /metabolitos por sus siglas en inglés Drug/Metabolite Transporter Superfamily). (Poole, Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria, 2007)

En *A. baumannii* la resistencia mediada por bombas de salida, generalmente, se asocia a las familias RND y MFS. Por otro lado, el sistema de salida RND más frecuentemente encontrado en *P. aeruginosa* es MexAB-OprM. La MexXY-OprM es otra bomba muy importante, ya que es responsable de la expulsión de múltiples antibióticos, en especial, los aminoglucósidos; recientemente se ha asociado con resistencia al cefepime; sin embargo, no tiene acción contra cefalosporinas de tercera generación, como la ceftazidima. (Hocquet, 2006)

Evitando la unión del antibiótico mediante su expulsión por un sistema de bombeo de excreción (BE) *efflux*. Los genes y proteínas de la bomba de excreción (BE) están presentes en todos los organismos, en las bacterias, los genes que codifican para las bombas *efflux* se localizan en el cromosoma o los plásmidos.

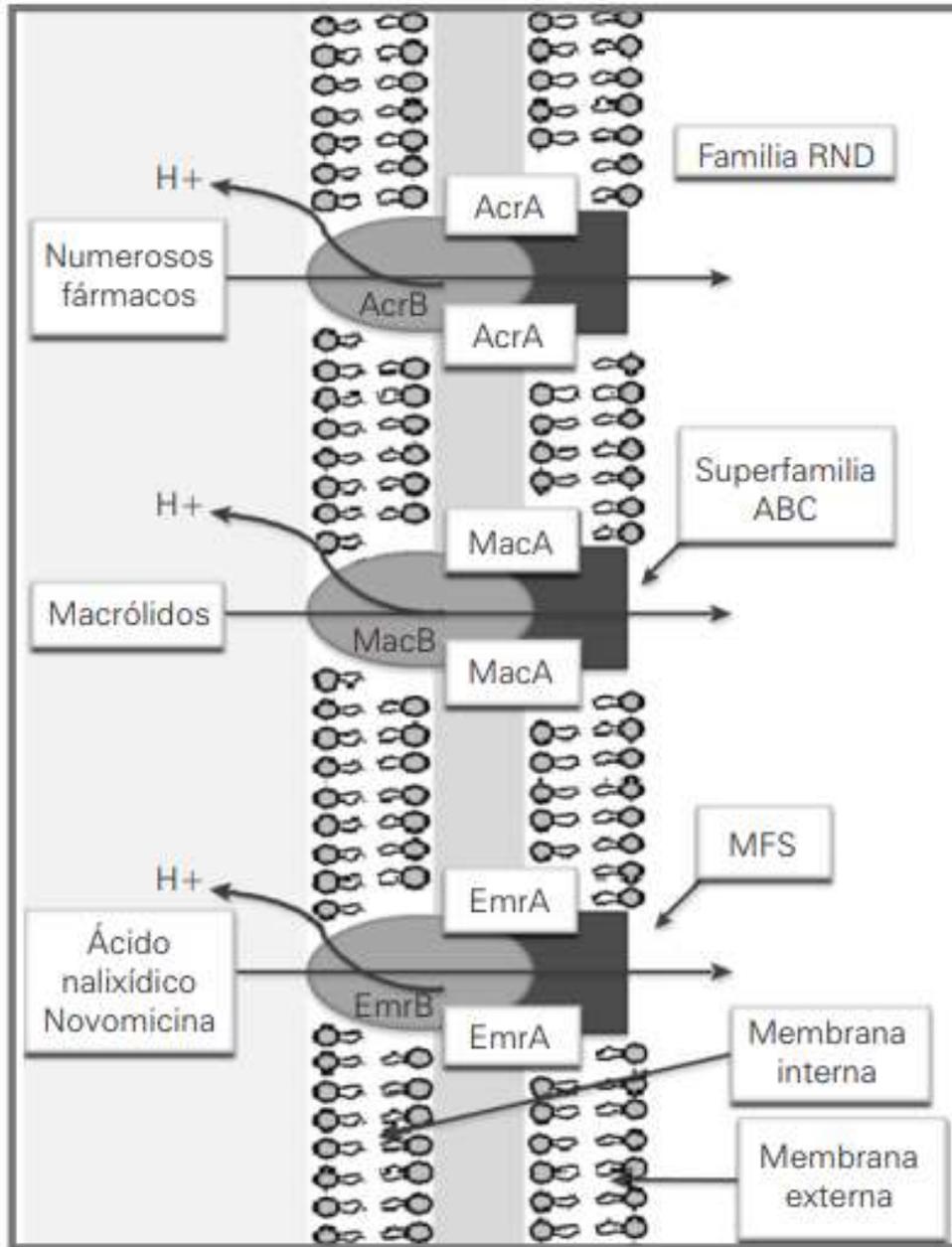


Figura 18 Bombas de excreción en Gram negativas. Representando las principales familias RND, ABC y MFS. (Becerra Gerardo, 2010)

De acuerdo a la figura 13, existen cinco superfamilias de proteínas de BE (bombas de excreción):

- 1) Familia de casete de unión al ATP (ABC, por sus siglas en inglés, ATP binding cassette); son transportadores primarios presentes en las células eucariotas, eubacteria, archaeabacteria. Estas bombas utilizan como fuente de energía la hidrólisis de moléculas de ATP. Esta superfamilia comprende dos clases de proteínas diferentes, las denominadas;
 - 1.1 Tipo-pro-cariota (PK-type); consiste en tres componentes; dos proteínas integrales con seis segmentos transmembranosos, dos proteínas periféricas que capturan e hidrolizan ATP y una proteína periplásmica donde se une el sustrato.
 - 1.2 Tipo-eucariota (EK-type); la proteína de transmembrana y la que se une al ATP están fusionadas y el transportador consiste en dos cadenas polipeptídicas conteniendo cada una un dominio de transmembrana y un dominio de unión a ATP.
- 2) Superfamilia del facilitador mayor (MFS, major facilitator superfamily); tienen una estructura conformada por dos dominios proteicos que constituye un poro de translocación central. Tienen de 12 a 14 segmentos de transmembrana con un sitio de unión al sustrato simple conteniendo un residuo cargado para la unión del protón que será intercambiado por dicho sustrato.
- 3) Familia de extrusión de multifármacos y tóxicos (MATE, multidrug and toxic compound extrusion)
- 4) Familia de resistencia pequeña a multifármacos (SMR, small multidrug resistance)
- 5) Familia de resistencia a división por nodulación (RND, resistance nodulation division); Esta familia es exclusiva de microorganismos Gram negativos, contando con un espectro de acción amplio, permitiéndole conocer una gran variedad de antibióticos, así como de otros agentes farmacológicos. Los integrantes de esta familia muestran características topológicas comunes, tienen dos lazos, prolongaciones extracitoplasmáticas o "loops" y 12 segmentos de transmembrana (Marreno J, 2015)

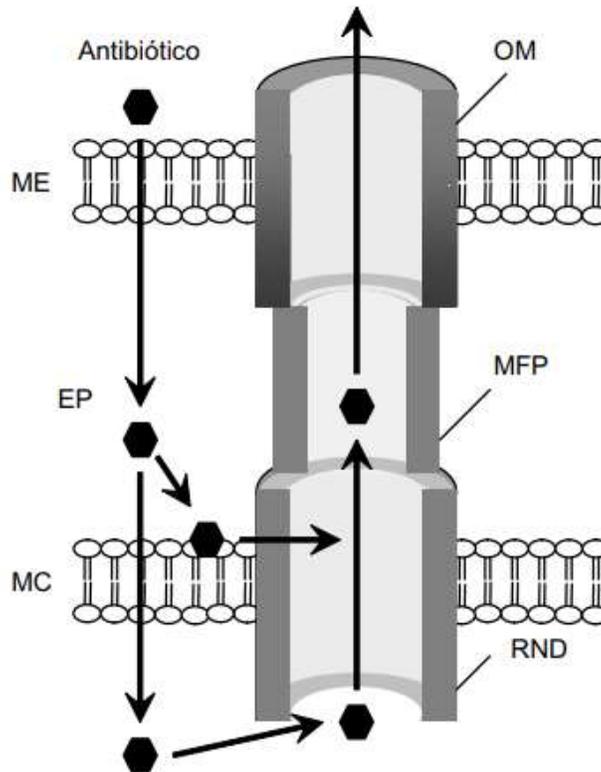


Figura 19 Representación esquemática de la estructura y función de los sistemas de eflujo RND. Los antibióticos son capturados desde el espacio periplásmico (EP), la membrana citoplasmática (MC) y/o el espacio citoplasmático (EC) por este tipo de transportadores. (Marchetti ML., 2011)

Un solo organismo puede expresar más de una familia de BE. En el caso de *P. aeruginosa* y *E. coli*, pueden expresar más de un tipo de BE de la familia RND, las cuales se expresan por bacterias Gram negativas y se relacionan con multiresistencia clínicamente significativas. (Martínez A, 2009)

Las bombas de exclusión (BE) es el mecanismo de sospecha de la resistencia antimicrobiana cuando se incrementa la concentración mínima inhibitoria (CMI) de tres o más antibióticos para una bacteria en particular, en comparación con la CMI de estos antibióticos frente a la cepa nativa. La CMI de estos agentes antimicrobianos para BE mutante puede ser de dos a ocho veces más alta que la CMI de estos agentes para la cepa susceptible. Cuando el CMI se incrementa más de 100 veces, por lo general se asocia con cualquier expresión de enzimas que inactive agentes antimicrobianos. (Poole K, 2004)

7.8.4 Cambios en la permeabilidad de la membrana externa.

Las bacterias pueden generar cambios de la bicapa lipídica, aunque la permeabilidad de la membrana se ve alterada, principalmente, por cambios en las porinas. Las porinas son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos,

los antibióticos. Los cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico. (Vila, 2007)

Además de otras funciones vitales, estas moléculas tienen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Los antibióticos β -lactámicos deben penetrar a través de estos canales; cuando se pierde una porina por mutaciones, aumentan las CIM (Concentración Mínima Inhibitoria) para el antibiótico. En el caso de *P. aeruginosa*, los carbapenems como el Imipenem y el Meropenem, utilizan una porina específica llamada OprD. La OprD puede cerrarse durante la terapia con carbapenems, lo que lleva a una resistencia. Meropenem es menos dependiente que el Imipenem del paso por esta porina, por otro lado, el Meropenem puede ser expulsado por bombas de salida, lo cual no es el caso del Imipenem. (Kohler, 2000)

7.8.5 Alteraciones del sitio de acción.

Las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria para interrumpir una función vital de ésta. Este mecanismo es, principalmente, utilizado por las bacterias Gram positivas, las cuales generan cambios estructurales en los sitios de acción de los antibióticos β -lactámicos a nivel de las proteínas unidoras de penicilinas. (Cavaco, 2008)

La alteración o modificación del sitio de unión del antimicrobiano se traduce en una pérdida de la afinidad y por ende le impide ejercer su acción. La modificación de un aminoácido genera un blanco diferente y así disminuye la afinidad de unión por el antimicrobiano, hay dos tipos de modificación del sitio de activo;

- A) **Modificación de PBP (penicilin-binding protein):** complejo enzimático que permite la síntesis del peptidoglicano, compuesto de pared celular de bacterias principalmente Gram positivas, si se produce la mutación del sitio de unión al antimicrobiano como los betalactámicos, estos no pueden actuar y se genera resistencia.
- B) **Modificación ribosomal;** los genes *erm A* y *erm B* modifican el sitio activo del ribosoma mediante metilación, mecanismo importante en la resistencia a macrólidos (*S. pneumoniae* y *S. pyogenes*). (Moreno C, 2009)

El cambio en la estructura terciaria del sitio donde los antibióticos ejercen su acción es el otro mecanismo de resistencia. Los sitios de acción se pueden encontrar en diferentes componentes bacterianos que involucran actividades celulares vitales. Este mecanismo es el más importante para las bacterias Gram positivas, especialmente, *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Para las bacterias Gram negativas, esta estrategia es menos frecuente. (Endtz, 1991)

7.8.6 Biofilmes

Las biopelículas o biofilmes son agregados adherentes que se forman en superficies bióticas o abióticas. (Callow, 2006) Las bacterias que forman biofilme están protegidas de la luz ultravioleta, la deshidratación, la acción de los antibióticos, los mecanismos de defensa del organismo como la fagocitosis y otras amenazas ambientales. La resistencia antimicrobiana a los antibióticos dentro del biofilme se debe a múltiples mecanismos, que pueden incluso actuar de forma sinérgica. (Lasa, 2005)

Se han propuesto cuatro mecanismos por los cuales las biopelículas contribuyen a la resistencia.

- a) La barrera de difusión física y química a la penetración de los antimicrobianos que constituye la matriz de exopolisacáridos.
- b) El crecimiento ralentizado de las bacterias del biofilme debido a la limitación de nutrientes.
- c) Se trata de una forma de indiferencia al fármaco a causa de los nutrientes y otros limitantes, pues muchas células bacterianas dentro de la biopelícula no se replican ni metabolizan lo suficiente para que el antibiótico funcione de manera eficaz.
- d) La activación de respuestas de estrés que provocan cambios en la fisiología de la bacteria y la aparición de un fenotipo específico del biofilme que activamente combata los efectos negativos de las sustancias antimicrobianas. (Mah TF, 2002) (Anderl JN, 2004)

La explicación más intuitiva para la pobre eficacia de los antibióticos contra las bacterias en biofilme es la incapacidad del antibiótico para penetrar en el biofilme a través de la matriz exopolisacáridica. Sin embargo, diferentes estudios en los que se ha medido la penetración de los antibióticos en los biofilmes de *P. aeruginosa* han mostrado que la matriz del biofilme altera la velocidad de penetración de los antibióticos, por ejemplo: las fluoroquinolonas penetran rápidamente y los aminoglucósidos más lentamente. (Donlan RM, 2003)

7.8.7 Sobre-expresión del sitio blanco

El sobre-expresión del sitio blanco, sólo se ha descrito en micobacterias. La duplicación génica o las mutaciones de los promotores implicados en la transcripción de estos genes, son probablemente el mecanismo responsable. La hiper-producción de betalactamasas (gen ***Tem***) induce resistencia al clavulanato y se podría considerar la sobreexpresión del blanco del antibiótico. (Cabrera, Gómez, & Zuñiga, 2007)

7.8.8 Carbapenemasas

Las carbapenemasas representan la familia más versátil de las β -lactamasas. Tienen la capacidad de hidrolizar tanto a los carbapenémicos como a otros β -lactámicos. (Fresnadillo Martínez, 2010)

Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: serin carbapenemasas que pertenecen a la clase molecular A o D de Ambler y metalo- β -lactamasas (MBLs) que corresponden a la clase B de Ambler, denominadas así por la dependencia de metales como el Zinc para su funcionamiento. Estos grupos difieren en su mecanismo de hidrólisis, el modo de transferencia y la acción de los inhibidores. (Le, 2010)

Las serin carbapenemasas clase A hidrolizan penicilinas, cefalosporinas (en menor grado tercera y cuarta generación), monobactámicos y carbapenémicos. Su actividad hidrolítica depende del sustrato sobre el que actúan, por ejemplo, SME-3 y KPC-2 hidrolizan mejor el Imipenem que el Doripenem, y son levemente inhibidas por el ácido clavulánico y el tazobactam. (Bush, 2010)

Las serin carbapenemasas pueden dividirse fenotípicamente en seis diferentes grupos, de los cuales cuatro grupos están formados por miembros de las enzimas SME, IMI/NMC-A, KPC y GES/IBC, que se caracterizan por tener en común tres motivos altamente conservados esenciales para su actividad, mientras que SHV-38 y SFC-1 constituyen cada una un grupo diferente. (Leavitt, 2009)

Las metalo- β -lactamasas (MBLs) o carbapenemasas clase B, son el grupo más relevante de carbapenemasas, son enzimas que típicamente hidrolizan todos los β -lactámicos excepto monobactámicos y son inhibidas por quelantes de iones metálicos tales como EDTA, ácido dipicolínico o 1,10- σ -phenantrolina, pertenecen al grupo B de Ambler. (Jacoby G. B., 2010)

Los genes MBLs pueden distinguirse ocho grupos: IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, AIM, DIM y KHM. Las más importantes incluyen las familias VIM, IMP y SPM-1 las cuales han sido detectadas en cepas de *P. aeruginosa*, miembros de la familia Enterobacteriaceae y *A. baumannii*. (Kitchel, 2010)

7.9 Antibióticos

Los antibióticos son considerados habitualmente como uno de los descubrimientos terapéuticos más importantes de la historia de la medicina. Durante gran parte de la historia se pensaba, siguiendo las enseñanzas de Hipócrates (siglo IV a.C.), que las enfermedades eran producto del desequilibrio de sustancias –o “humores”– corporales. Hacia 1859, Louis Pasteur y Robert Koch, el primero sobre el gusano de seda y la fermentación del vino y de la cerveza; y el segundo sobre el ántrax y la tuberculosis; sentaron las bases de la Teoría Microbiana de la Enfermedad. Es una

teoría científica que propone que los microorganismos son la causa de una amplia gama de enfermedades. Los microorganismos causantes de enfermedades son llamados patógenos y las enfermedades que causan son llamadas enfermedades infecciosas (Belloso, 2008) (Volcy, 2008).

Era el inicio de la era bacteriológica. En 1887, Louis Pasteur, descubrió que bacterias ambientales pueden destruir el *B. anthracis* y que animales infectados con otros microorganismos son resistentes al ántrax. Este fenómeno de interferencia se denominó “antibiosis” (Acuña, 2003).

El progreso de la era antimicrobiana se aceleró; en 1940 Ron Waksman aisló actinomicina, en 1942 la estreptotricina y en 1944 la estreptomicina. El nombre de estos compuestos como antibióticos; son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. (OMS, World Health Organization , 2019)

Los antibióticos se definen como drogas producidas por un microorganismo, que inhiben el desarrollo o provocan la muerte de otros microorganismos. Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones y la toxicidad es selectiva, con una mínima toxicidad para las células de nuestro organismo. (Vignoli, 2010)

Los antibióticos se diferencian de otros fármacos debido a que no actúan sobre el individuo a quien le es administrado sino sobre una población bacteriana que está produciendo una infección. Esta población bacteriana se caracteriza por tener muchas variables que pueden afectar la acción del antibiótico como ser la o las especies bacterianas involucradas. Estas variables incluyen su estado metabólico - pueden estar en activa replicación o con una baja actividad metabólica-; el sitio de la infección; parasitismo intracelular, etc. (Quintana, 2005)

7.9.1 Clasificación de los antibióticos

- De acuerdo a la interacción microorganismo-antibiótico, estos fármacos pueden dividirse con base en el efecto final que ejercen sobre la viabilidad bacteriana.
 - a) Bactericidas: su acción es letal, llevando a la lisis bacteriana, actúan en la fase de crecimiento logarítmico bacteriano.

Los antimicrobianos bactericidas deben administrarse siempre en infecciones graves, cuando se necesita la muerte rápida de los microorganismos para controlar la infección, y cuando no se cuenta con un sistema inmune adecuado para detener el proceso infeccioso. Ejemplos de enfermedades infecciosas donde deben utilizarse antimicrobianos bactericidas lo constituyen la meningococemia purulenta y la endocarditis infecciosa, también se utilizan en el paciente

con fiebre y neutropenia, o en casos de infección en el paciente con VIH-SIDA.

1. β -lactámicos; Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapénicos y Monobáctamicos
2. Aminoglucósidos
3. Glicopéptidos; Vancomicina y Teicoplanina
4. Quinolonas
5. Fosfocina

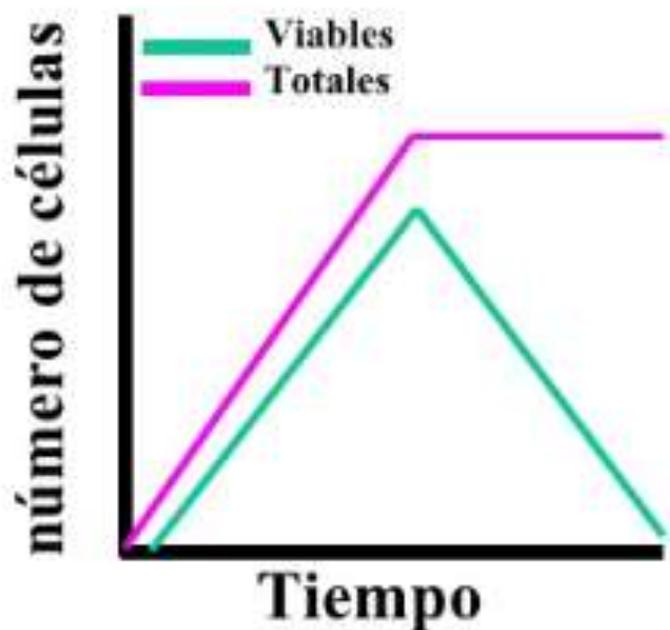


Figura 20 Sitio de acción de los bactericidas. (UNR, 2019)

- b) Bacteriostáticos: a las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana, pero sin llegar a destruir las células. Por lo tanto, estos antimicrobianos no deben indicarse al paciente inmunocomprometido. Actúan en la fase estacionaria de crecimiento bacteriano.
1. Sulfamidas
 2. Clindamicina
 3. Macrólidos
 4. Tetraciclinas
 5. Cloramfenicol para *Neisserias meningitidis* y *Haemophilus influenzae* es bactericida.

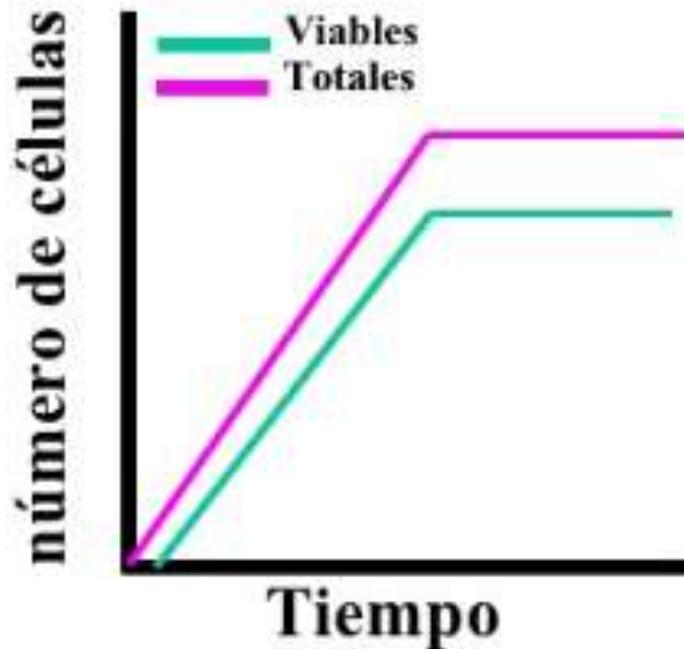


Figura 21 Sitio de acción de los bacteriostáticos. (UNR, 2019)

(Alvo, 2016) (Basualdo, 2008)

- De acuerdo al espectro de acción. El número de clases o especies bacterianas sobre las que puede actuar un antimicrobiano se conoce como espectro de actividad o acción. Así mismo se pueden dividir en amplio, intermedio o reducido:
 - a) Antibióticos de espectro amplio, como aquellos antibióticos que son activos sobre un amplio número de especies y géneros diferentes. Penicilina y Ampicilina
 - b) Antibióticos de espectro reducido, antibióticos solo activos sobre un grupo reducido de especies. Macrólidos para Gram (+) y Gentamicina para G (-)
 - c) Antibióticos de espectro intermedio: Actúan frente a un número más limitados de especies. Este grupo incluye la mayoría de los antimicrobianos, entre los que se destacan los macrólidos y aminoglucósidos.

(Rodriguez, 2012) (Lorenzo Velázquez, 2008)

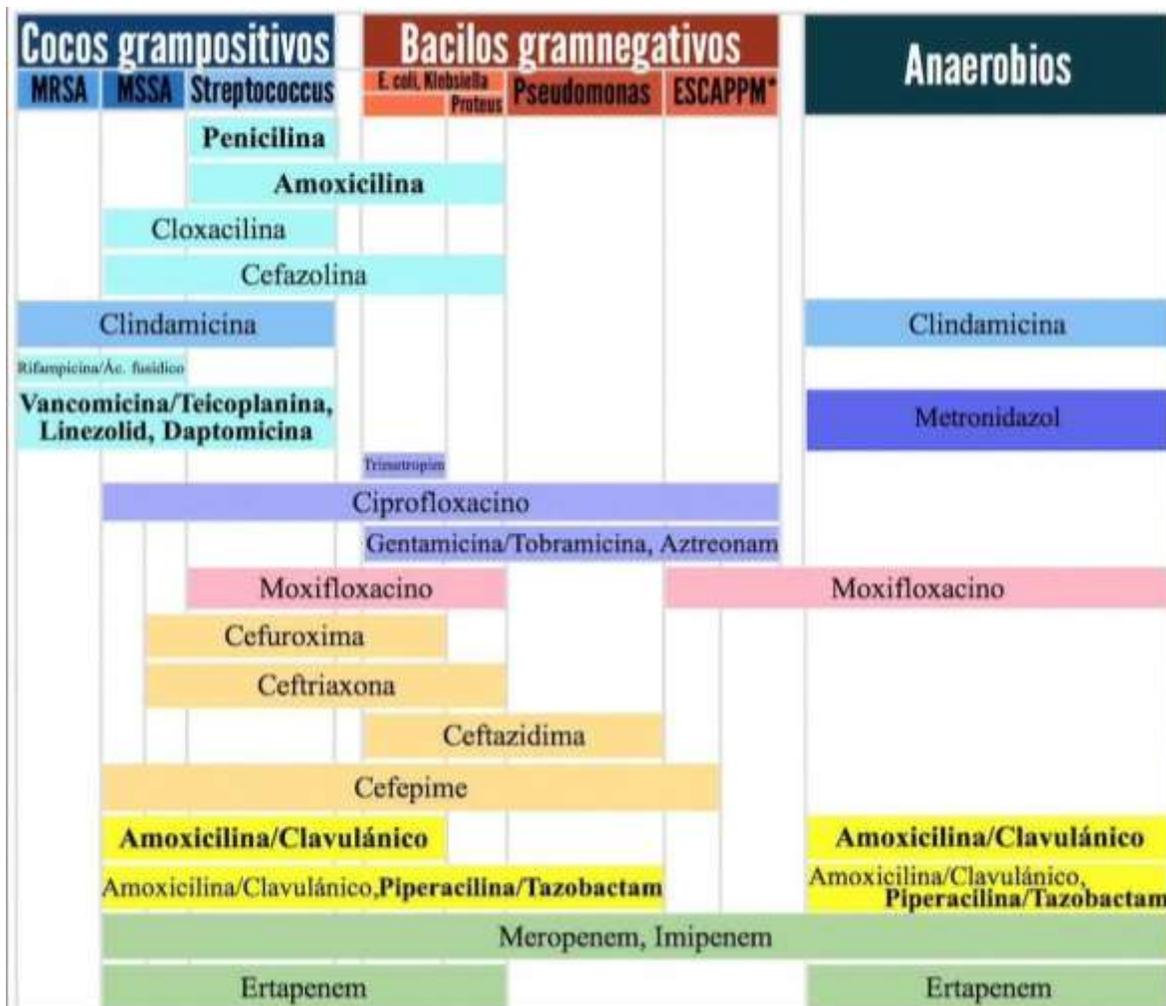


Figura 22 Diferentes espectros de antibióticos para diferentes géneros bacterianos (Toro, 2012)

7.9.2 Según el mecanismo de acción

Es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana. Se dividen en inhibidores de la formación de la pared bacteriana, inhibidores de la síntesis proteica, inhibidores de la duplicación del DNA, inhibidores de la membrana citoplasmática, e inhibidores de vías metabólicas.

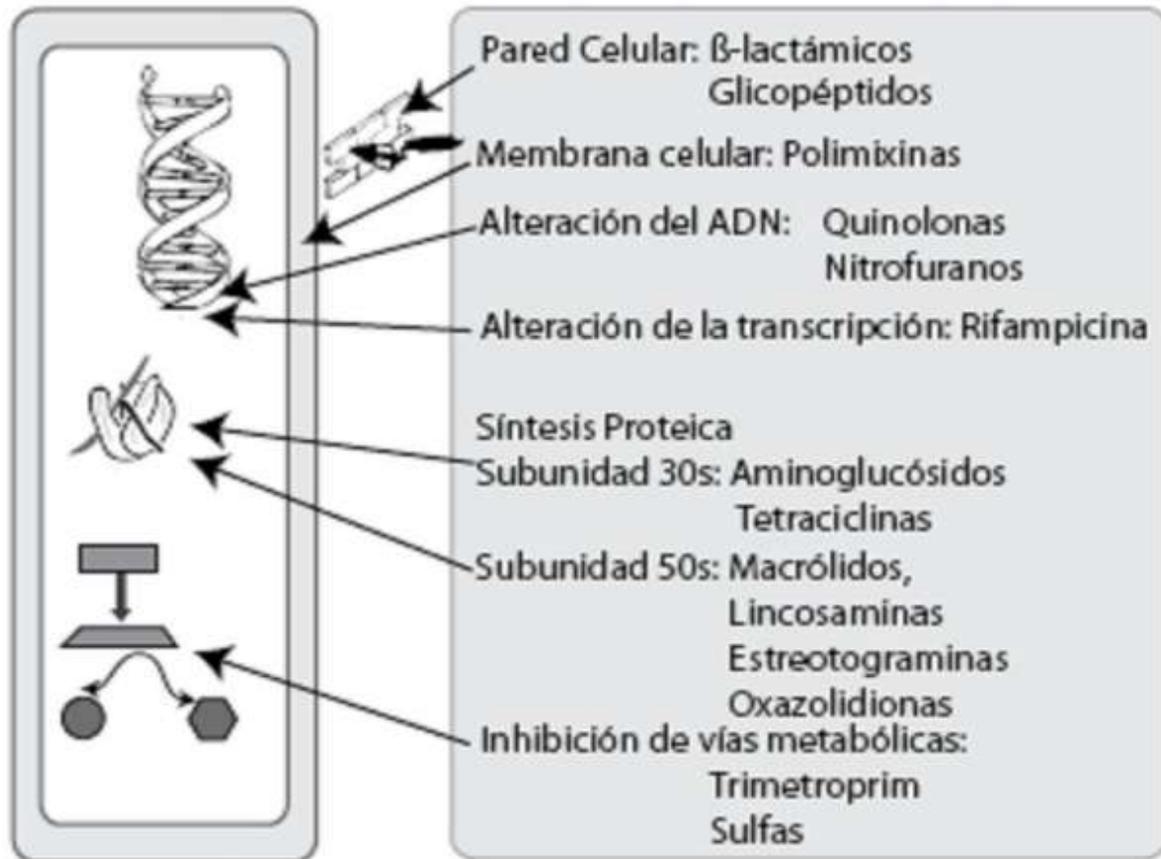


Figura 23 Sitio de acción de los antimicrobianos con un ejemplo de un antibiótico del grupo (Bado, 2009)

7.9.3 Antibióticos que inhiben la síntesis de pared celular

La pared celular protege la integridad anatomofisiológica de la bacteria y soporta su gran presión osmótica interna. La ausencia de esta estructura condicionaría la destrucción del microorganismo, inducida por el elevado gradiente de osmolaridad que suele existir entre el medio y el citoplasma bacteriano. La síntesis de la pared celular se desarrolla en 3 etapas, sobre cada una de las cuales pueden actuar diferentes compuestos: la etapa citoplasmica, donde se sintetizan los precursores del peptidoglucano; el transporte a través de la membrana citoplasmica, y la organización final de la estructura del peptidoglucano, que se desarrolla en la parte más externa de la pared (Morales Araya, 2000).

Existe una línea de antibióticos conocidos como β -lactámicos, que reúne cinco grandes grupos de antibióticos de uso clínico, penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, monobactámicos, ácido clavulánico y carbapenémicos, todos poseen una estructura común, el anillo β -lactámico. (Sheldon, 2005)

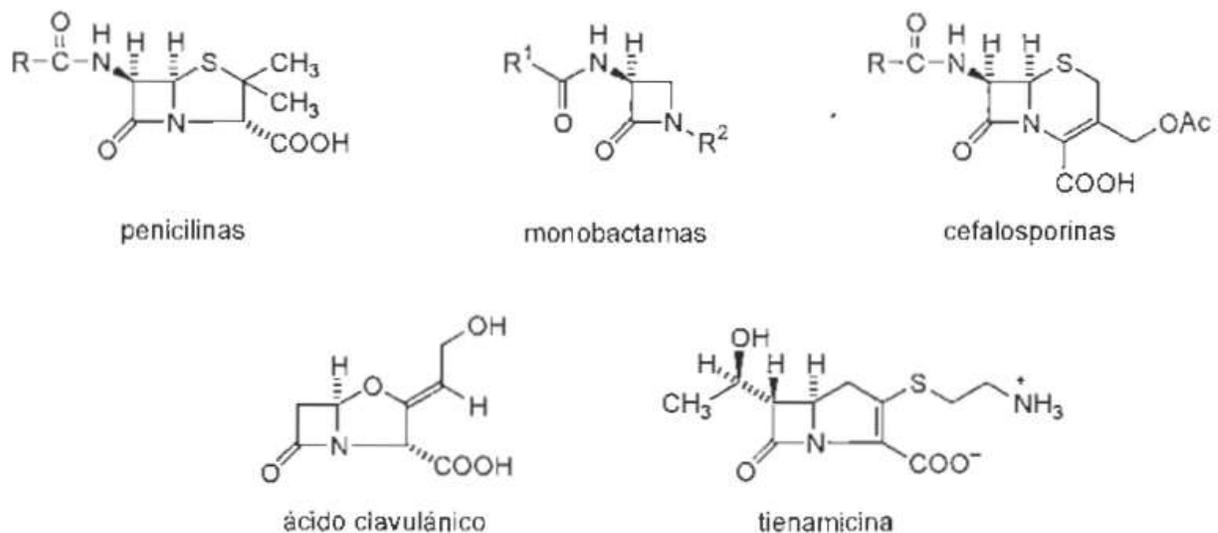


Figura 24 Estructura general de los antibióticos β -lactámicos más representativos (Bado, 2009)

La acción de las penicilinas está relacionada con el desarrollo de la pared celular bacteriana durante el proceso de división celular. Las penicilinas inhiben el crecimiento bacteriano por interferencia con el proceso de biosíntesis de la pared celular. Puesto que esta estructura no existe en las células eucariotas, este modo de acción condiciona su selectividad por las células bacterianas haciéndolas no tóxicas. Son uno de los fármacos más seguros conocidos en medicina. Las penicilinas actúan durante la formación de la estructura tridimensional de peptidoglicano. (Williams, 2016)

Estos antibióticos inhiben la maduración del peptidoglicano (maduración de la pared es la formación de enlaces cruzados pentaglicina entre cadenas del peptidoglicano) que es catalizada por una proteína ligadora de penicilina (PBP) con actividad doble de carboxipeptidasa y transpeptidasa. Las penicilinas son bactericidas. Sin embargo, son susceptibles de ser destruidos por la acción de enzimas producidas por las bacterias, las β -lactamasas. Tienen la propiedad de romper el anillo betalactámicos de las penicilinas de origen natural. Es por esto que se han desarrollado otras penicilinas semisintéticas con el fin de conferirles resistencia ante estas proteínas también llamadas penicilinasas. (Muñoz, 2005)

Uno de los mecanismos de acción más aceptados para las penicilinas es el basado en su similitud estructural con la conformación adoptada por el fragmento D-Ala-D-Ala que interviene en la formación de los enlaces cruzados. Así las penicilinas son reconocidas erróneamente como sustrato por la transpeptidasa, cuyo centro activo queda acilado por reacción con el sistema de β -lactama.

Las penicilinas se dividen en diferentes grupos. El primer grupo incluye a las penicilinas G y V. Las penicilinas G más utilizadas son la penicilina G procaínica y

la penicilina G benzatínica, estas tienen un amplio espectro de acción. El segundo grupo se conoce como penicilinas penicilinas-resistente, o isoxazolilpenicilinas, e incluye a la meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina y nafcilina, cuentan con espectro de acción principalmente en cocos Gram (+). El tercer grupo se les llama aminopenicilinas, y sus ejemplos clásicos son la ampicilina y la amoxicilina. Tienen un espectro similar a las penicilinas G y V, pero son inactivados por la lactamasa β . Y por último el cuarto grupo son las penicilinas contra *Pseudomonas spp.*, e incluye a las carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. (Girón Matute, 2008)

7.9.4 De acuerdo a su farmacocinética y farmacodinamia

La farmacocinética estudia los procesos y factores que determinan la cantidad de fármaco presente en el sitio en que debe ejercer su efecto biológico en cada momento, a partir de la aplicación del fármaco sobre el organismo vivo. La curva farmacocinética y la vida media son ejemplos de variables farmacocinéticas. La farmacodinamia estudia las acciones y los efectos de los fármacos en el organismo. Su conocimiento proporciona información importante para predecir la acción terapéutica o toxicidad. Ejemplos farmacodinámicos clásicos incluyen la concentración inhibitoria mínima (CIM) esta concentración mínima de un antibiótico es requerida para impedir el crecimiento de un inóculo de 10^5 UFC/mL en fase de crecimiento tras la incubación de una noche. O también conocido como la concentración bactericida mínima (CBM).

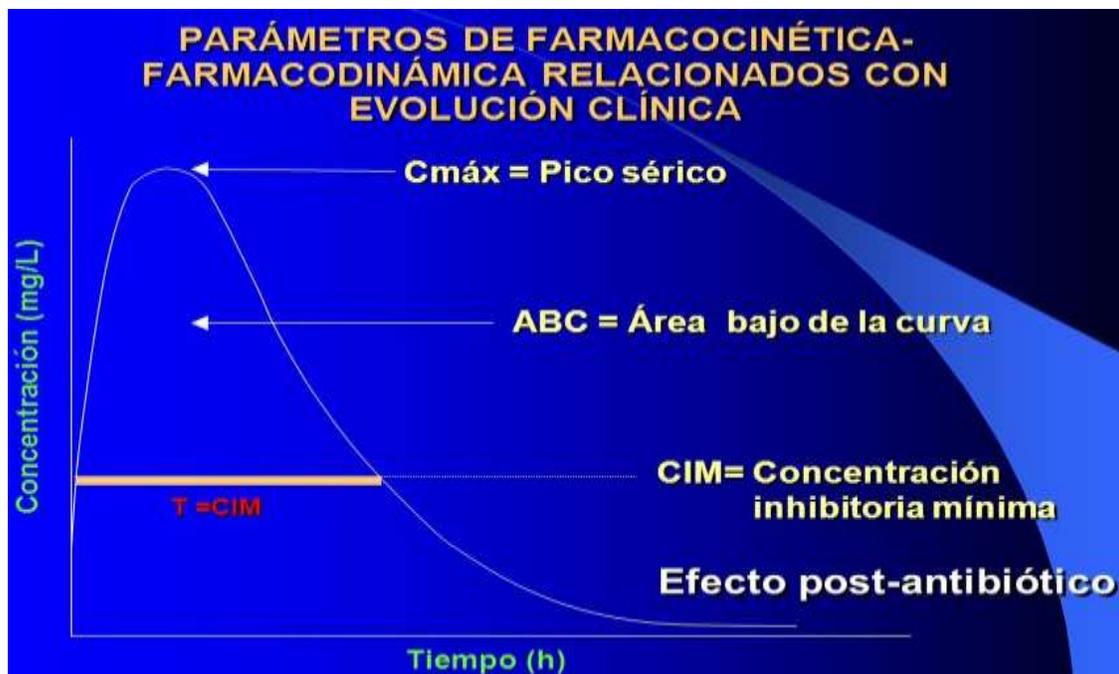


Figura 25 Representación gráfica de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos. (Carrillo & Bustos Zavaleta, 2013)

Para obtener un resultado exitoso debe existir una interacción específica entre el agente antimicrobiano y el microorganismo patógeno (farmacodinamia) en las concentraciones más adecuadas (farmacocinética).

El efecto postantibiótico (EPA) mencionado en la figura 20 suele ser otra variable a considerar y se define como la supresión del crecimiento bacteriano posterior a la exposición a un antibiótico *in vitro*. Por ejemplo, los fármacos inhibidores de la síntesis de la pared celular como los betalactámicos y la vancomicina tienen un corto EPA sobre cocos Gram positivos y mínimo para Gram negativos. (Carrillo & Bustos Zavaleta, 2013)

De acuerdo a estos parámetros, existen dos grandes grupos de antibióticos para esta clasificación.

- a) Los agentes concentración-dependientes: logran su mayor efecto bactericida cuando alcanzan concentraciones mayores a la CIM (concentración de inhibición mínima), es decir, a mayor concentración, mayor actividad bactericida. Por ejemplo; Aminoglucósidos, Daptomicina, Fluorquinolonas, Metronidazol, Azitromicina, Cetónicos.
- b) Los antibióticos tiempo-dependientes: su concentración debe superar la CIM durante el 40%-60% del intervalo de administración. Por ejemplo; Betalactámicos, Vancomicina. (Albelo Noda, 2006)

7.9.5 Antibióticos inhibidores de la síntesis proteica

La síntesis proteica es uno de los procesos más frecuentemente afectados por la acción de los antimicrobianos, y su inhibición selectiva es posible gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas. Los ribosomas bacterianos están formados por dos subunidades (30S y 50S), que contienen ARN ribosómico (ARNr 16S en la subunidad 30S, y ARNr 5S y ARNr 23S en la subunidad 50S) y diversas proteínas llamadas S ("small" o pequeña, en la subunidad 30S) o L ("large" o grande, en la subunidad 50S). En esta estructura diferentes componentes pueden ser lugares de unión para los antimicrobianos (p. ej., determinados nucleótidos para las oxazolidinonas, algunas proteínas S para las tetraciclinas o proteínas L para el cloranfenicol). La mayoría de los antibióticos de este grupo tiene actividad bacteriostática, aunque los aminoglucósidos se comportan como bactericidas. La acción bactericida o bacteriostática también va a depender de las concentraciones del antimicrobiano, y del microorganismo afectado. (Herrera-González, García-Tovar, & Rojas, 2016)

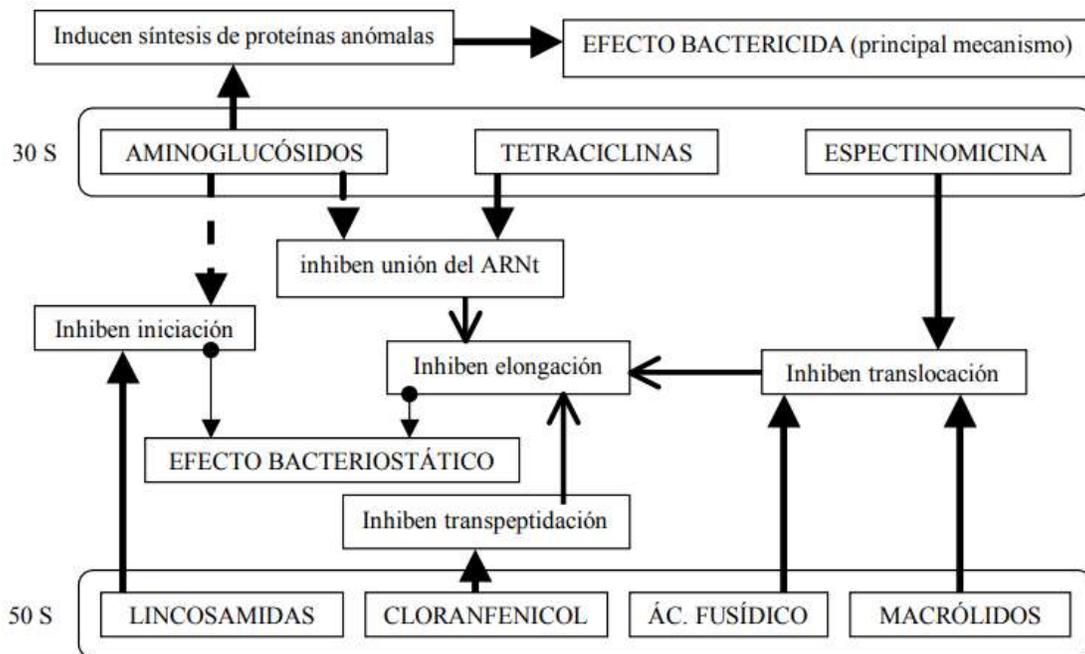


Figura 26 Esquema de antibióticos que alteran la síntesis de proteínas (E. A. Vives, 2019)

7.9.6 Antibióticos que actúan en el metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos

Muchos agentes antimicrobianos pueden interferir a diferentes niveles en la síntesis de los ácidos nucleicos. Pueden inhibir la síntesis de nucleótidos o causar una interconversión de nucleótidos, pueden interferir con polimerasas involucradas en la replicación y transcripción del ADN. Un grupo numeroso de agentes interfieren con la síntesis de purinas y pirimidinas dando lugar a interconversión de nucleótidos o actuando como análogos de nucleótidos e incorporarse a la cadena de polinucleótidos.

La inhibición de la replicación del DNA puede provocarse por antimicrobianos que inhiben la actividad de la DNA girasa, involucrada en el rompimiento y reunión de tiras de DNA. La girasa está constituida por dos componentes, A y B. El ácido nalidíxico, una quinolona, se une al componente A de la DNA girasa e inhibe su acción. El ácido nalidíxico tiene acción antimicrobiana sólo contra especies gramnegativas, aunque recientemente se ha sintetizado un derivado carboxil fluorinado que inhibe bacterias Gram positivas. La subunidad B de la DNA girasa puede ser inhibida por agentes como la novobiocina, un antibiótico de uso restringido debido a su toxicidad. (López Molina, UNAM, 2019)

Un ejemplo de antibióticos que inhiben a la DNA girasa son las quinolonas, representado en la figura_

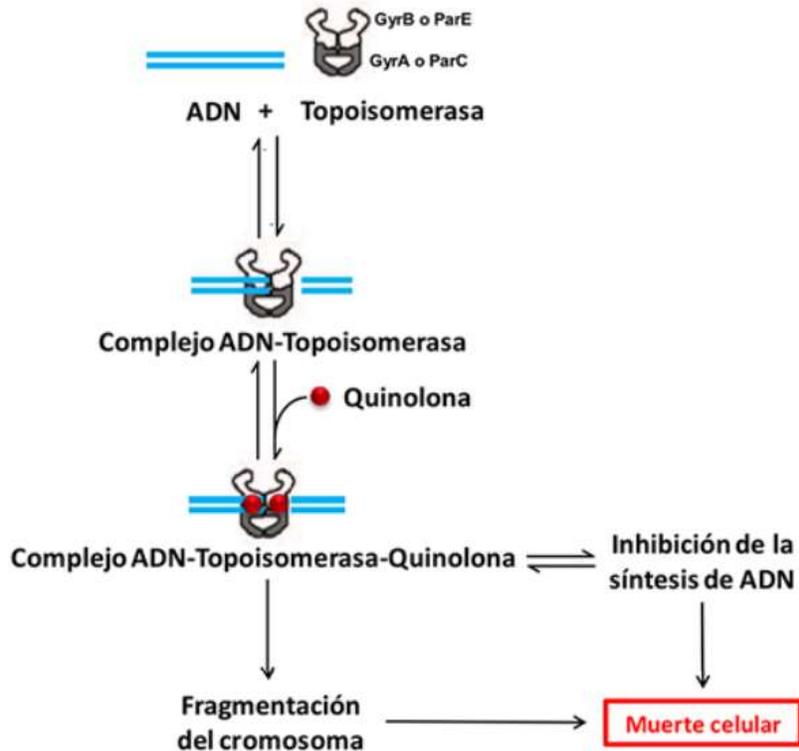


Figura 27 Mecanismo de acción de las quinolonas sobre la DNA girasa, causando la inhibición de la síntesis del DNA (Víctor M. Chávez-Jacobo, 2015)

7.9.7 Bloqueo de la síntesis de factores metabólicos

Las sulfamidias son estructuralmente similares al ácido p-aminobenzoico (PABA). De esta manera logran inhibir competitivamente a la dihidropteroato sintentasa, y así inhiben el crecimiento bloqueando reversiblemente la síntesis del ácido fólico Su espectro es amplio, cubriendo tanto Gram negativas y positivas, además de algunas Enterobacterias como *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Salmonella* y *Shigella*. A este grupo pertenecen la sulfadiazina, sulfametoxazol y sulfadoxina, entre otros, los cuales tienen actividad bacteriostática. Este grupo mencionado, se usa comúnmente en combinación con el trimetoprim, que inhiben la reductasa del ácido dihidrofólico bacteriano. Dicha combinación favorece un sinergismo entre estos que resulta en una actividad bactericida, distinta a la que ocurre cuando la sulfamida actúa sola. (Calvo, 2009) Un ejemplo de antibiótico inhibidor de metabolitos o la estructura de los ácidos nucleicos, son las sulfamidias, actúan mediante la inhibición reversible de la enzima bacteriana dihidropteroato sintasa, lo que bloquea la síntesis de metabolitos necesarios para la obtención de bases nitrogenadas, impidiendo la proliferación del microorganismo, como se muestra en la figura 28.

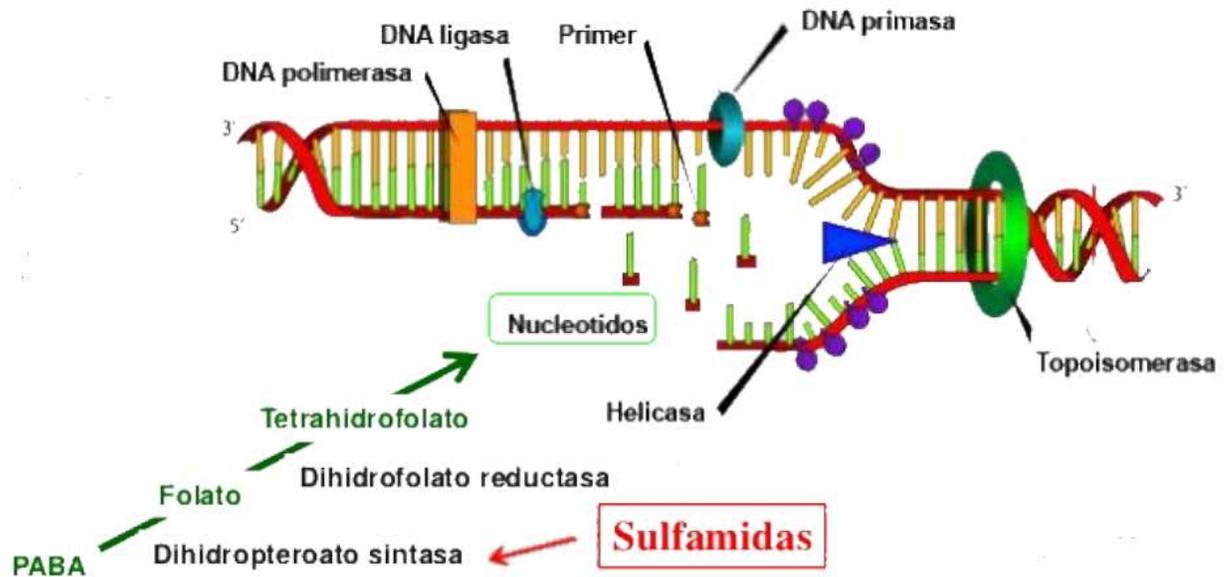


Figura 28 Mecanismo de acción de las sulfamidas. (Cámara, 2008)

7.9.8 Antibióticos activos en la membrana citoplasmática

La membrana citoplásmica es vital para todas las células, ya que interviene activamente en los procesos de difusión y transporte activo, y de esta forma controla la composición del medio interno celular. Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad, y provocan la salida de iones potasio, elementos esenciales para la vida bacteriana, o la entrada de otros que a altas concentraciones alteran el metabolismo bacteriano normal. Los antimicrobianos que actúan en esta estructura se comportan como bactericidas, incluso en bacterias en reposo, y pueden tener alta toxicidad sobre las células humanas, al compartir algunos componentes de la membrana citoplásmica. A este grupo pertenecen las polimixinas, los lipopéptidos, los antibióticos poliélicos (activos frente a hongos) y 2 grupos de escaso interés clínico (ionóforos y formadores de poros). (Calvo, 2009)

Un ejemplo de este grupo de antibióticos, son las polimixinas, como se representa en la figura_. El mecanismo de acción de las polimixinas. A: Inicialmente se genera una atracción electrostática entre la polimixina, de carga neta positiva, y el lípido A, de carga negativa, lo que genera el desplazamiento repulsivo de los cationes divalentes que estabilizan el LPS, a lo que sigue la inserción del antibiótico a través de sus residuos hidrófobos en la membrana externa; B: Una vez inserta la polimixina, se genera una alteración estructural de la membrana citoplasmática que llevaría a la lisis bacteriana por pérdida de la resistencia osmótica. LPS: lipopolisacárido; G: glucosamina; P: fosfato; Mg^{2+} : ion magnesio; Ca^{2+} : ion calcio. Intencionalmente no se esquematizó el core ni el antígeno O.

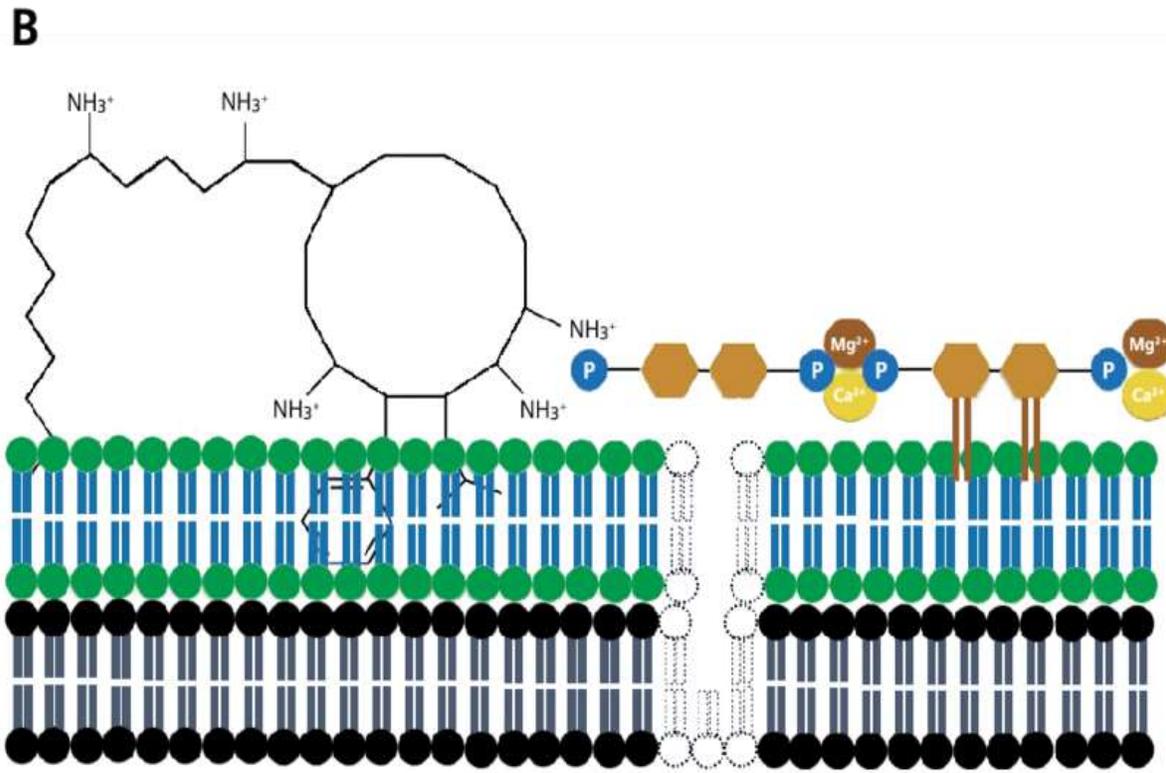
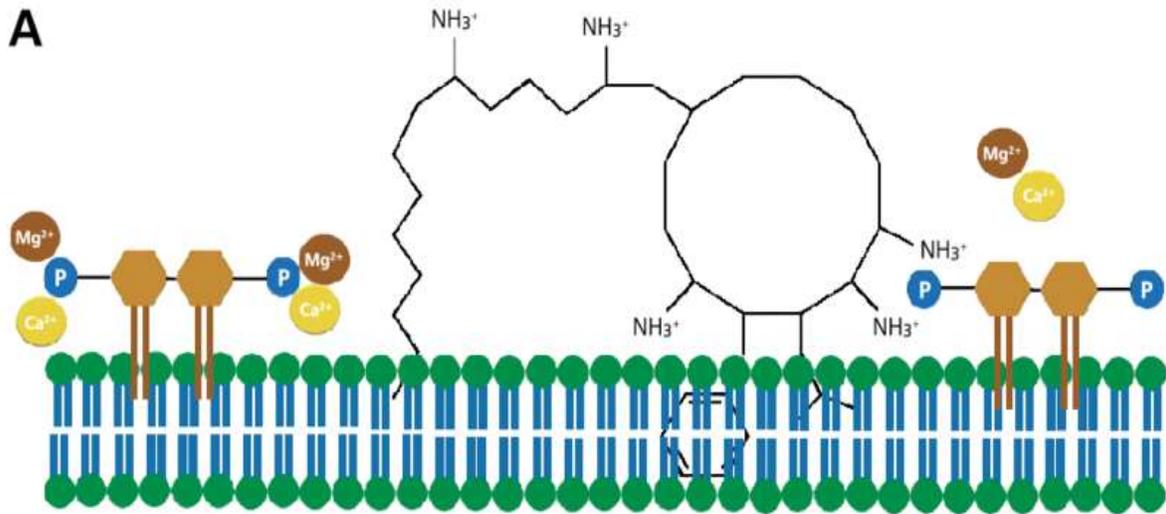


Figura 29 Esquema del mecanismo de acción de las polimixinas. (Gerardo, 2019)

7.9.9 Antibióticos que bloquean mecanismos de resistencia

Los más importantes son los inhibidores de β -lactamasas de serina, que incluyen ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Carecen (habitualmente) de acción antibacteriana intrínseca de verdadera importancia clínica, pero se unen irreversiblemente a algunas β -lactamasas, protegiendo de su acción a los antibióticos β -lactámicos. El sulbactam, además, es activo frente a *A. baumannii*. Aunque se conocen sustancias que bloquean in vitro las bombas de expulsión activa o las enzimas modificadoras de aminoglucósidos, ninguna de ellas ha podido introducirse en terapéutica. (López Molina, UNAM, 2019)

7.10 Ceftolozano/tazobactam

Ceftolozane/tazobactam, también conocido como Zerbaxa® es una combinación compuesta por, ceftolozano que es una cefalosporina de nueva generación con actividad antipseudomonas, está asociado a un inhibidor de β -lactamasas (tazobactam). Ceftolozane ejerce su actividad bactericida al unirse a proteínas fijadoras de penicilinas (PBP por sus siglas en ingles), lo que inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana y causa la muerte celular. Tazobactam es un inhibidor de β -lactamasas, relacionado estructuralmente con las penicilinas, es un inhibidor de muchas β -lactamasas de clase A, como las enzimas CTX-M, SHV y TEM. (MSD, 2019)

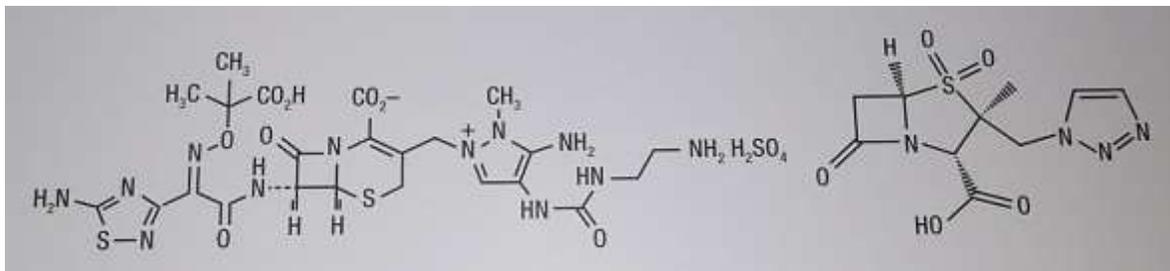


Figura 30 Estructura química de ZERBAXA® (MSD, 2019)

Ceftolozane es una cefalosporina oxiiimino que se parece mucho a la Ceftazidima estructuralmente; sin embargo, también comparte muchas similitudes con otras cefalosporinas de espectro extendido, como la Ceftriaxona y la Cefepima. Ceftolozane contiene un 7 aminotiazolidiazol, que proporciona una mayor actividad contra los organismos gramnegativos, así como un grupo alcoximino, que proporciona estabilidad frente a muchas betalactamasas. (Murano K, 2008)

La adición de una cadena lateral voluminosa (un anillo de pirazol) en la posición 3 evita la hidrólisis del anillo de β -lactamasas a través de un impedimento estérico. Esta cadena lateral, en particular, contribuye a la estabilidad del ceftolozano en presencia de AmpC β -lactamasa, una cefalosporinasa frecuentemente producida por *P. aeruginosa*. Los sustituyentes en el anillo de pirazol se modificaron en un

esfuerzo por maximizar la actividad antipseudomona. (Cluck, Lewis, Stayer, Justin, & Moorman, 2015)

El Ceftolozano, al igual que otros β -lactámicos, se une a las proteínas de unión a la penicilina (PBP), lo que resulta en una alteración del “cross-linking” del peptidoglicano. La inhibición del cross-linking conduce a la interrupción de la síntesis de la pared celular y la eventual lisis celular. El perfil de unión a PBP es importante porque es un determinante clave del perfil de actividad de una β -lactamasa. En comparación con la ceftazidima, se demostró que el ceftolozano tiene al menos el doble de afinidad por las PBP 1b, 1c, 2 y 3. (Moyá B, 2010)

Tazobactam es un inhibidor de la penicilina sulfona β -lactamasa, que confiere protección al anillo β -lactámico. La adición de tazobactam a ceftolozane facilita la mejora de la actividad contra otras Enterobacterias, incluyendo la mayoría de los productores de espectro de lactamasa b (lactato-B) y algunos anaerobios. (Drawz SM, 2010)

Ceftolozane/ tazobactam tiene adecuada penetración en epitelio pulmonar. Ceftolozane solo presenta mayor estabilidad en la presencia de Amp C que otras cefalosporinas, aunque en una menor medida que Cefepime. La combinación con tazobactam aporta actividad contra organismos productores de BLEE. Ceftolozane/ tazobactam es susceptible a hidrólisis por carbapenemasas como metalobetalactamasas y carbapenemasas de *K. pneumoniae* (KPC), pero se mantiene con actividad contra otras formas de resistencia como bombas de eflujo y pérdida de porinas. Por lo tanto *P. aeruginosa* cuyas principales formas de resistencia son la Amp C, pérdida de porinas y bombas de eflujo se mantiene altamente susceptible a ceftolozane/ tazobactam. Esta combinación representa una alternativa a colistina. (Cluck, Lewis, Stayer, Justin, & Moorman, 2015)

La dosis aprobada por la FDA para cUTI (infección del tracto urinario comunitaria), y para cIAI (infección intraabdominal comunitaria) es de 1.5 gramos IV cada 8 horas. Se recomienda administrar durante 7 días para las infecciones en la terapia intensiva y de 4 a 14 días en combinación con metronidazol 500 mg IV cada 8 horas para tratamiento de cIAI. Para neumonía asociada a ventilación por *P. aeruginosa* la dosis es de 3 gramos iv cada 8 horas por 14 días. (Munita J, 2017)

La versatilidad de Ceftolozane-Tazobactam es secundaria a su falta de susceptibilidad a los mecanismos comunes de resistencia que se ven comúnmente en los organismos Gram negativos, incluida la producción de β -lactamasas, la pérdida de porina y las bombas de flujo de salida. La alteración de los PBP y los cambios de membrana tampoco parecen afectar negativamente la actividad del ceftolozano. Quizás el aspecto más importante de la versatilidad de este agente es

su actividad mejorada contra las cepas de *P. aeruginosa* y de la familia Enterobacteriaceae con fenotipos resistentes. (Farrell DJ, 2013)

7.10.1 Farmacocinética y farmacodinamia de Ceftolozano-Tazobactam

La farmacocinética y farmacodinamia que sigue Ceftolozane-Tazobactam, inicia con;

- Absorción y distribución; Demuestra poca unión a proteínas plasmáticas, en volumen de distribución promedio en equilibrio dinámico (estado estable) en hombres adultos sanos después de una dosis única de 1.5g vía intravenosa fue de 13.5litros (21%) para el Ceftolozano y de 18.2litros (25%) para el Tazobactam, similar al volumen de líquido extracelular.
- Biotransformación; El ceftolozano se elimina por orina, el anillo β -lactámico del Tazobactam se hidroliza para formar el metabolito 1 farmacológicamente inactivo.
- Eliminación; Es eliminado por acción del riñón, se ha demostrado que el 95% de las dosis del medicamento son excretados en orina, La vida media de eliminación es de aproximadamente 3 horas para el Ceftolozano y 1 hora para Tazobactam. Después de una dosis única de Ceftolozano-Tazobactam, la depuración renal de Ceftolozano (3.41-6.69 litros/hrs) fue similar a la depuración plasmática (4.10-6.73 litros/hrs) y similar a la tasa de filtración glomerular para la fracción no unida, sugiriendo que este es eliminado vía riñón, por acción de la filtración glomerular.

La farmacodinamia, es igual que otros agentes β -lactámicos, el tiempo en el que la concentración plasmática de ceftolozano excede la concentración mínima inhibitoria (CMI) del patógeno ha demostrado ser el mejor predictor de eficacia en modelos de infección en animales. Para tazobactam el índice de farmacodinamia asociado con la eficacia fue determinado como el porcentaje del intervalo de dosis durante el cual, la concentración plasmática de tazobactam supera un valor umbral (%T>umbral). La concentración umbral que se requiere, depende del organismo y de la cantidad y tipo de β -lactamasa producida.

(MSD, 2019) (Cluck, Lewis, Stayer, Justin, & Moorman, 2015)

8 Objetivo general

Evaluar la susceptibilidad a Ceftolozano/Tazobactam (Cefalosporina de 5ª generación) en diferentes cepas bacterianas aisladas en un Hospital de Tercer Nivel: Enterobacterias multirresistentes (*Klebsiella spp* y *E. coli.*) y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, mediante el método de Kirby Bauer / E-TEST.

9 Objetivos específicos

- Siguiendo los criterios de inclusión, exclusión y eliminación, se recopilarán cepas bacterianas que presenten características de multirresistencia, obtenidas en el ámbito hospitalario.
- Comprobar la eficacia de la combinación de Ceftolozano/Tazobactam, en cepas catalogadas como resistentes.
- Dar a conocer la importancia de llevar a cabo un correcto uso de los antibióticos, para así evitar el crecimiento de los casos de resistencia bacteriana, así como la prevalencia de las IAAS.

10 Justificación del problema

Enterobacterias como *Klebsiella spp* y *Escherichia coli.* Y la familia *Pseudomonadaceae* principalmente el género *Pseudomonas spp*, son unos de los principales microorganismos causantes de infecciones asociadas a la atención sanitaria (IAAS) antes conocidas como intrahospitalarias. En los últimos años están aumentando las resistencias a antibióticos como los carbapenémicos y las cefalosporinas de tercera generación (los mejores antibióticos disponibles para tratar las bacterias multirresistentes) y las infecciones producidas por estas cepas se han asociado a un aumento de la mortalidad.

Por lo que se genera una falla de respuesta clínica que se traduce en mayor frecuencia de efectos adversos asociados a antibióticos, incremento en la morbilidad y mortalidad, causados por intoxicaciones por malas dosificaciones, reacciones alérgicas. En los últimos años ha habido un aumento en la incidencia de cepas multidrogresistentes.

La OMS elaboró una tabla en febrero 2017 que divide en tres categorías con arreglo a la urgencia en que se necesitan nuevos antibióticos: prioridad crítica, alta o media. De acuerdo a las categorías, los tres agentes patógenos estudiados se encuentran dentro del grupo uno que corresponde a prioridad crítica, a causa de que son especialmente peligrosas en hospitales.

11 Hipótesis

Al evaluar la susceptibilidad de cepas multidrogasresistentes (*E. coli*, *Klebsiella spp* y *Pseudomonas aeruginosa*), se espera que se presencia de una inhibición sobre las cepas multirresistentes por acción de la combinación de antibióticos Ceftolozano/Tazobactam.

12 Criterios de inclusión

Pacientes derechohabientes del IMSS, de ambos sexos, mayores a 18 años, con resultado de resistencia, obtenido por el sistema Vitek de Biomeriux, como se muestra en el anexo 1, realizado en el laboratorio de bacteriología del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, del mes de septiembre a diciembre del 2018.

13 Criterios de exclusión

Cepas repetidas del mismo paciente

Bacterias que no integran parte del grupo E-E.S.K.A.P. E (*E. coli*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter cloacae*.)

Cultivos positivos para más de un microorganismo multirresistentes durante el mismo periodo de tiempo.

14 Criterios de eliminación

Cepas cuyo registro de resultados no estuvo en la base del sistema.

15 Metodología

1. Aislamiento de cepas multirresistentes

- Las cepas fueron aisladas de diferentes cultivos (urocultivo, hemocultivo, lavado bronco alveolar, secreción de herida, semen, punta de catéter, secreción traqueal, expectoración y líquido cefalorraquídeo) y servicios del hospital (nefrología, medicina interna, cuidados intensivos, microcirugía, unidad de trasplante renal, geriatría y CPCA) ver anexo 1.
- Las bacterias se identifican por acción del sistema Vitek de Biomeriux y con su antibiograma determinar CMI correspondiente.

2. Evaluación de cepas multirresistentes y cepas ATCC vs Ceftolozano/Tazobactam

- Reacondicionamiento de las cepas obtenidas de muestras clínicas con resultado positivo de multiresistencia a antibióticos y de las cepas ATCC, sembrándolas en tubos con 5ml de caldo BHI, mediante un inóculo pesado, llevándolo a incubación por 24hrs a 37°C.
- Sembrado en agar MacConkey, por la técnica de dilución americana mediante el asa calibrada de 0.001ml, llevándolo a incubación por 24hrs a 37°C.
- Posterior al crecimiento de las cepas en agar MacConkey de la casa comercial BD®, se llevó a cabo la evaluación de la susceptibilidad contra Ceftolozano/Tazobactam.
- En tubos de ensayo de 100mmx13mm, se adiciono 3ml de solución salina fisiológica de concentración 0.45%, ajustando el Nefelómetro a 0 con un tubo con agua destilada.
- Una vez ajustado a 0, mediante un hisopo se tomará una pequeña cantidad de muestra para poder ajustarlo al 0.5 de Macfarlán, como se muestra en la siguiente figura 30 Ajuste al 0.5 de Macfarlán.



- Sembrado masivo en agar Müller Hinton con el hisopo previamente humedecido con el tubo ajustado al 0.5 de Macfarlán, colocar tira o sensidisco de antibiótico al centro de la caja y llevar a incubación por 24hrs a 37°C.
- Interpretación de los resultados empleando, los siguientes criterios (presentes en la siguiente tabla) presentes en los insertos del antibiótico, para poder determinar la susceptibilidad, sensible, intermedio o resistente.

Tabla 7 Criterios para determinar el resultado de susceptibilidad de las cepas bacterias empleando tiras o sensidiscos

Para las tiras reactivas		Para los sensidiscos
Para Pseudomonas	Para Enterobacterias	Resistente halo de inhibición <17 mm
Sensible <1 µg/ml	Sensible <0.5 µg/ml	Sensible halo de inhibición >18mm
Intermedio 2 µg/ml	Intermedio 1 µg/ml	
Resistente >1 µg/ml	Resistente >2 µg/ml	

3. Conservación de las cepas multirresistentes

Una vez que se evaluó la susceptibilidad de las cepas frente a las tiras de la prueba de E-test, se realizó lo siguiente;

- Preparación de medio de cultivo líquido, en este caso Infusión Cerebro Corazón BHI (por sus siglas en inglés “Brain Heart Infusion”), se sembraron con inóculo pesado y llevaron a la estufa por 24hrs a 37°C.
- Posteriormente en tubos Eppendorff estéril de 600µL, añadir 400µL de solución crio preservación (medio Müller-Hinton + glicerina al 20%).
- Con el asa estéril, se toma inóculo pesado de las cepas, agregando el contenido de los tubos Eppendorff.
- Homogeneizar
- Llevar a congelación a -70°C.

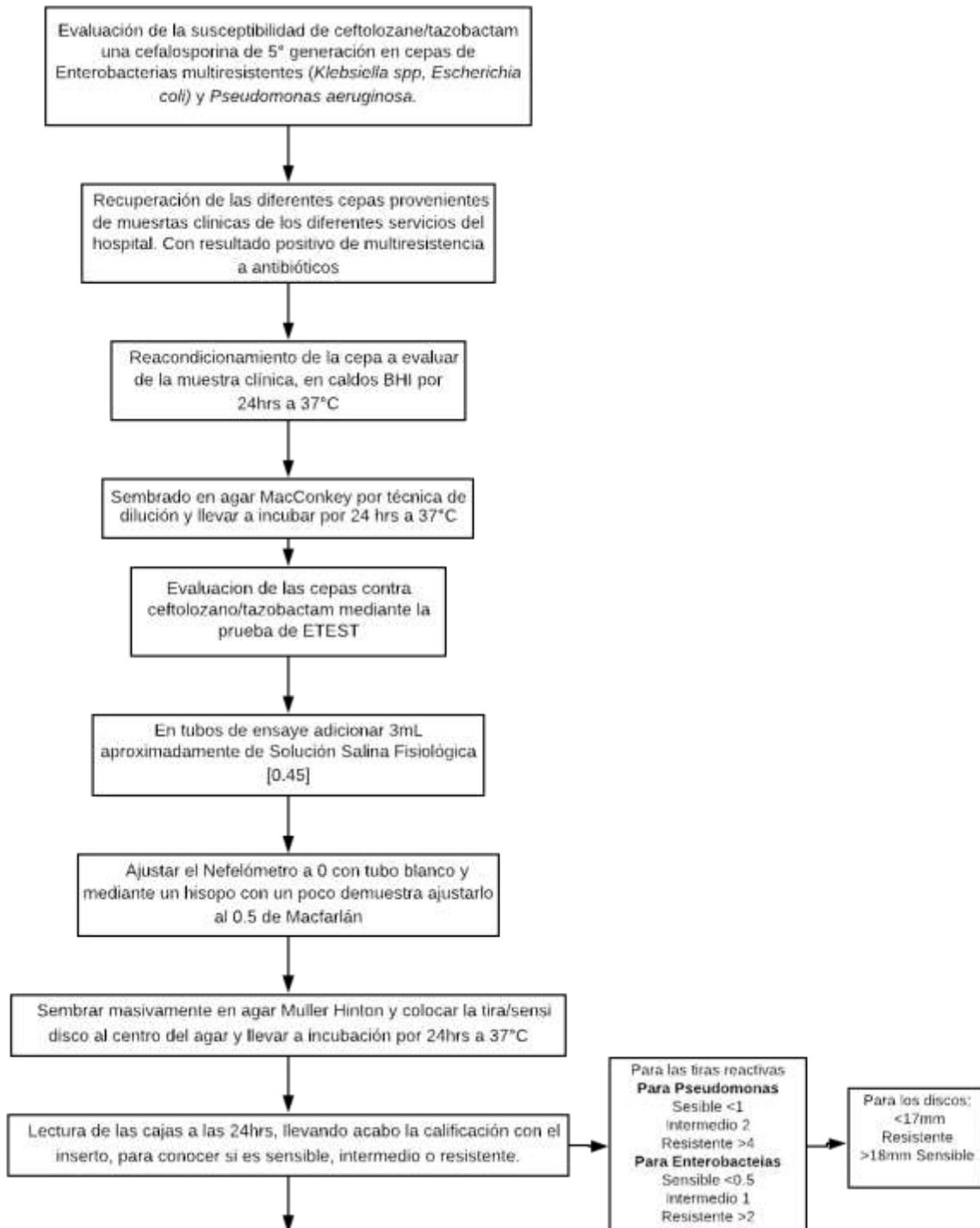
4. Recolección de datos

Una vez realizadas las pruebas de susceptibilidad, se recolectaron los datos en una base (hoja de Excel), registrando: sexo, edad, servicio del hospital, resultado de susceptibilidad (sensible, intermedio y resistente) y género bacteriano.

5. Análisis estadístico de los resultados obtenidos

Agrupamiento de datos por servicio, muestra, sexo, edad, obtención de porcentajes de sensibilidad, resistencia. Cálculo de prevalencia.

Diagrama de flujo resumido para la evaluación de la susceptibilidad



16 Descripción de las variables

Tabla 8 Descripción de variables

Variable	Tipo	Definición	Unidad de medición
Edad al diagnóstico	Cuantitativa discreta	Tiempo de vida de una persona desde su nacimiento	Años, meses, días
Sexo	Cualitativa nominal	Genero asignado que identifica a los seres humanos como masculino o femenino	Masculino Femenino
Sensibilidad antibiótica	Cualitativa ordinal	Cualidad de la cepa bacteriana de ser inhibida o no en su crecimiento por la acción de un antibiótico	Sensible Intermedio Resistente
Tipo de muestra	Cualitativa nominal	Muestra biológica obtenida de los pacientes	Orina, sangre, LCR, secreción de herida, absceso, lavado broncoalveolar, espermocultivo, drenaje de sonda, exudado nasal, expectoración, Aspirado bronqueal, punta de catéter.
Cepa multirresistentes	Cualitativa nominal	Resistente a más de un antibiótico, en las pruebas de susceptibilidad por el sistema Vitek.	Multidrogorresistentes y susceptible
Servicio del hospital	Cualitativa nominal	Área específica del hospital de donde proviene la muestra.	Nefrología, geriatría, UCI, medicina interna, unidad de trasplante renal, otorrino, gastroenterología, microcirugía.

17 Resultados

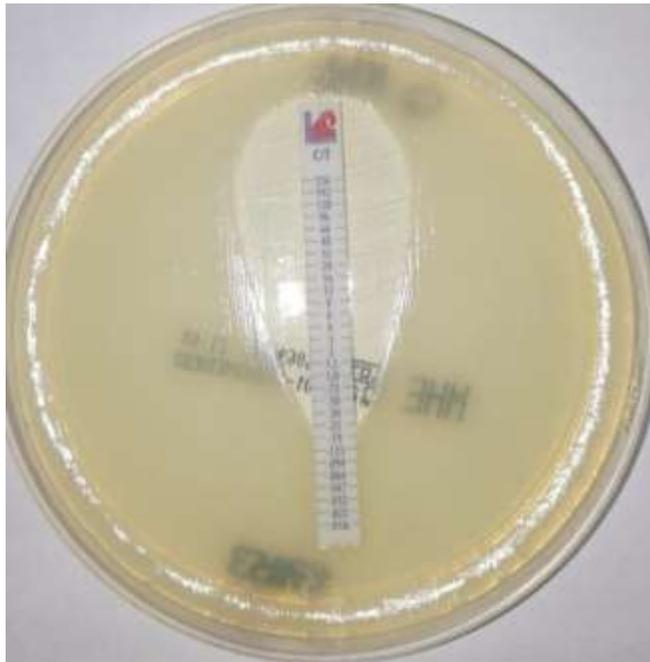


Figura 31 Resultado de susceptibilidad de la cepa ATCC de *Klebsiella pneumoniae* 700603

Con respecto a la figura 31, muestra un resultado de 0.19 μ g/ml, siendo este un resultado de SENSIBILIDAD

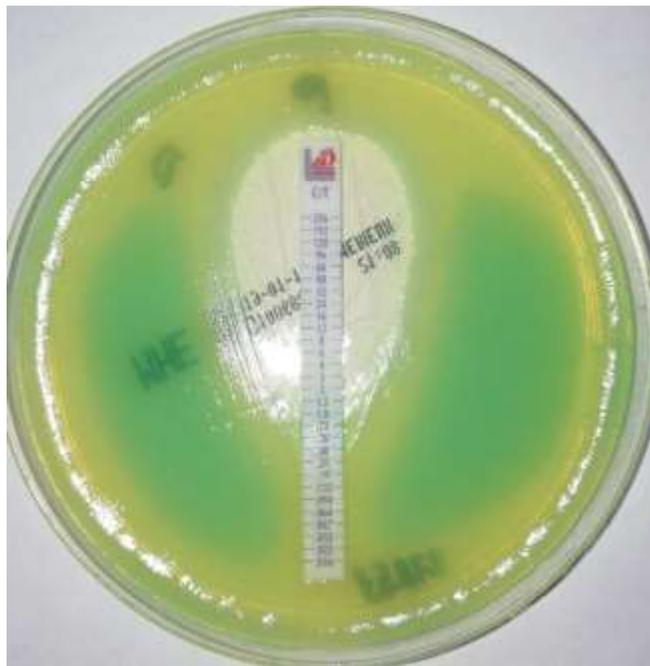


Figura 32 Resultado de susceptibilidad de la cepa ATCC de *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

Con respecto a la figura 32, muestra un resultado de 1.5 µg/ml, siendo este un resultado de RESISTENCIA

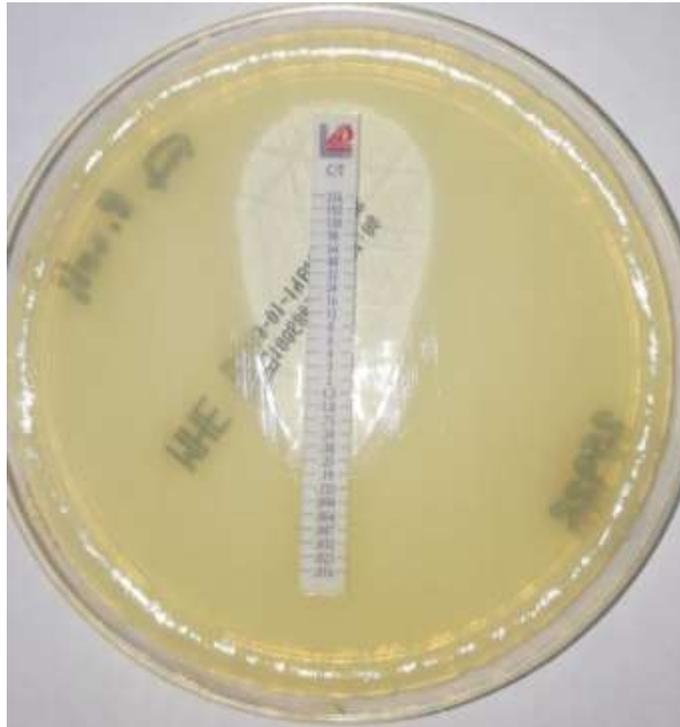


Figura 33 Resultado de susceptibilidad de la cepa ATCC de E.coli 25922.

Con respecto a la figura 33, muestra un resultado de 0.38 µg/ml, siendo este un resultado de SENSIBILIDAD

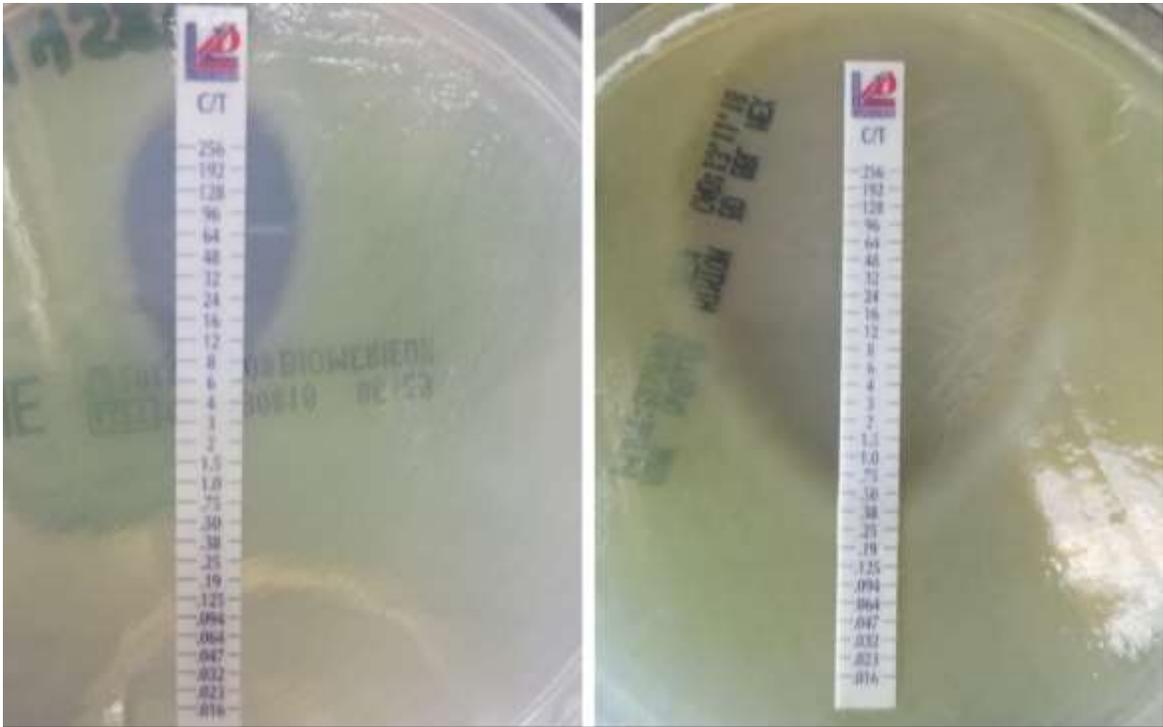


Figura 34 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Ceftolozano / Tazobactam en cepas de *P.aeruginosa* por la prueba de E-test.

Con respecto a la imagen 34 del lado izquierdo encontramos un resultado de RESISTENTE con una concentración de 6µg/ml y del lado derecho tenemos que es SENSIBLE con una concentración de 0.56µg/ml.



Figura 35 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Cefotolozano-Tazobactam en cepas de *Klebsiella pneumoniae*, mediante la prueba de E-test.

Con respecto a la figura 35 del lado izquierdo encontramos un resultado de RESISTENTE con una concentración de 16 $\mu\text{g/ml}$ y del lado derecho tenemos que es SENSIBLE con una concentración de 0.38 $\mu\text{g/ml}$.



Figura 36 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Cefotolozano-Tazobactam en cepas de *Escherichia coli* mediante la prueba de E-test.

Con respecto a la figura 36 del lado izquierdo encontramos un resultado de RESISTENTE con una concentración de 96 $\mu\text{g/ml}$ y del lado derecho tenemos que es SENSIBLE con una concentración de 0.25 $\mu\text{g/ml}$.



Figura 37 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Cefotolozano-Tazobactam en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, mediante el uso de sensi-discos (método de Kirby Bauer).

Con respecto a la figura 37 del lado izquierdo encontramos un resultado de RESISTENCIA donde no se aprecia desarrollo de un halo y del lado derecho hay un resultado de SENSIBILIDAD con un diámetro en el halo de inhibición de 3mm.

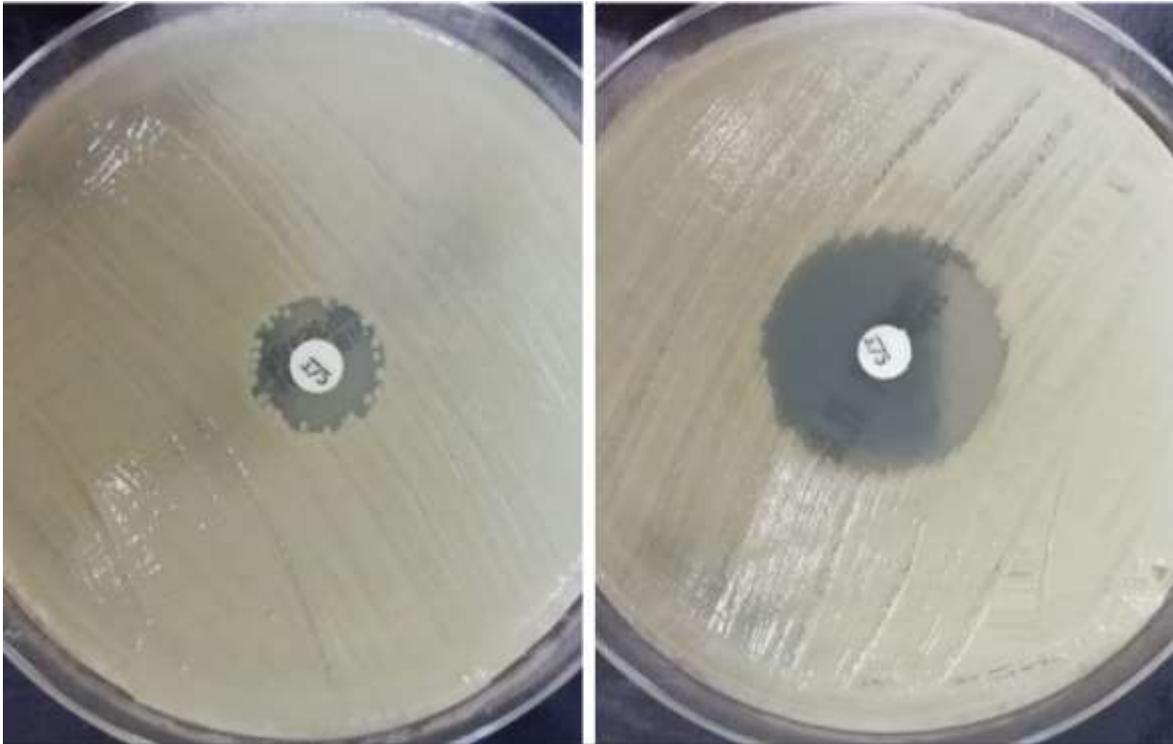
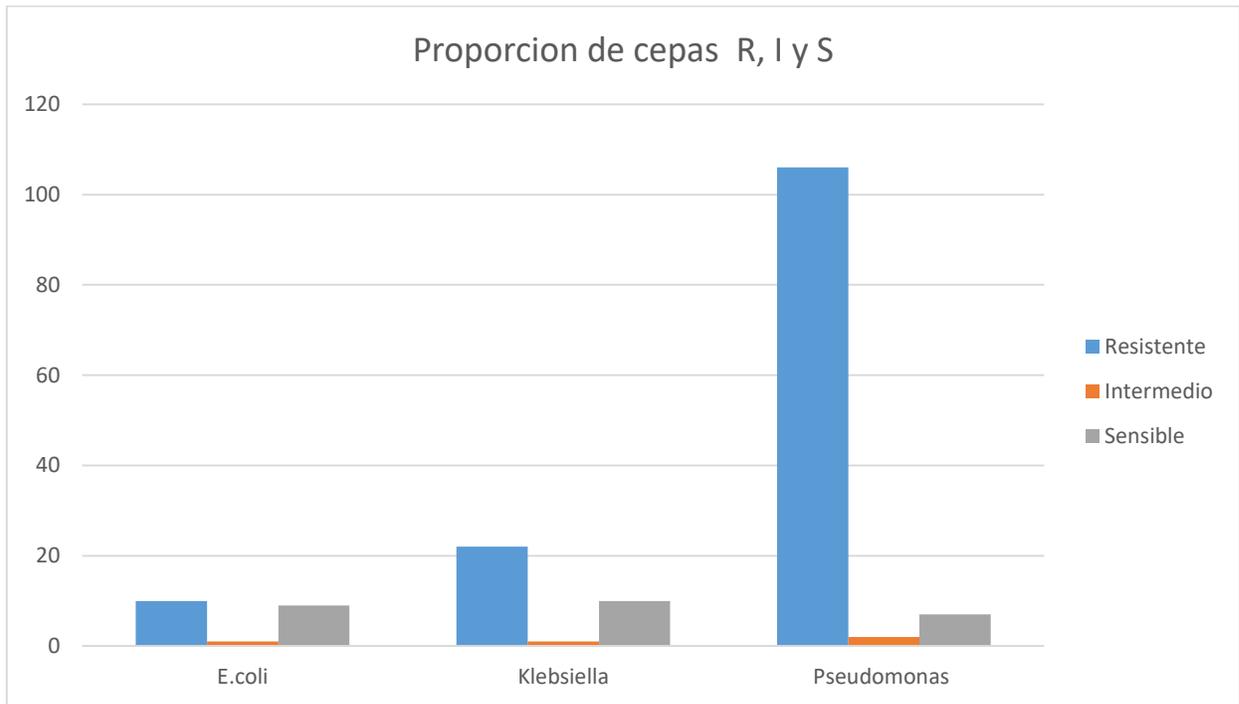


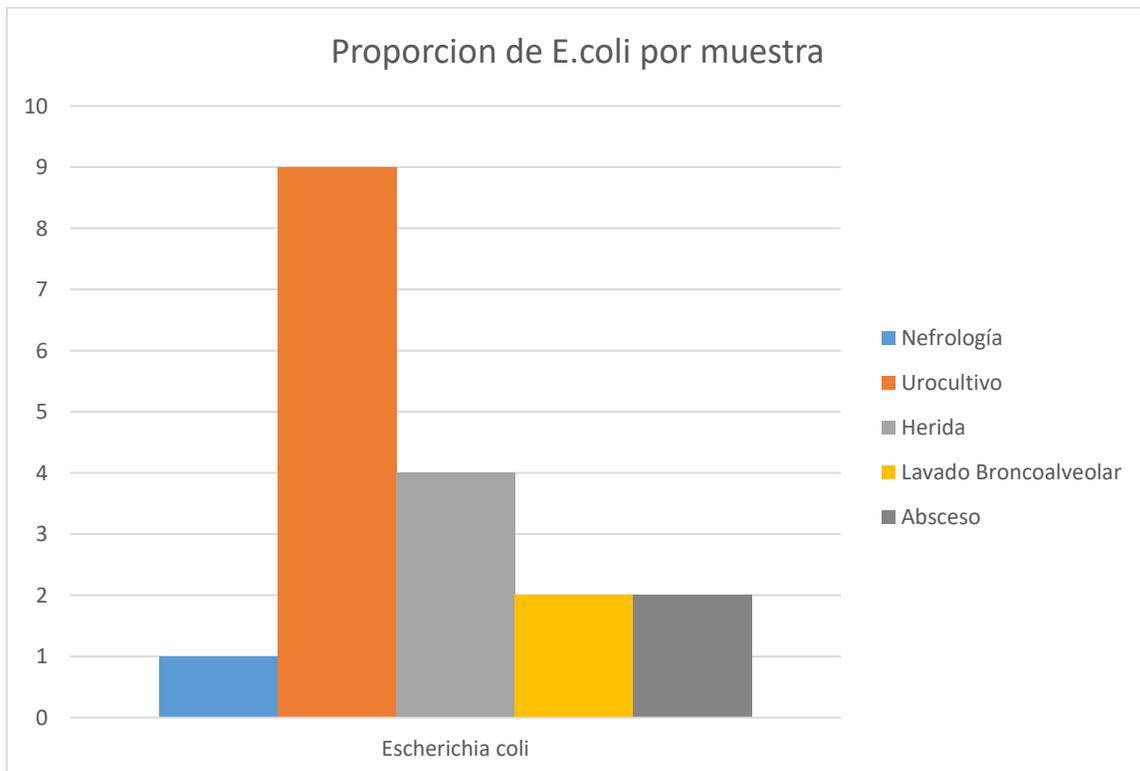
Figura 38 Resultado de la prueba de susceptibilidad a Cefotolozano-Tazobactam en cepas de Klebsiella pneumoniae, mediante el uso de sensi-discos (método de Kirby Bauer).

Con respecto a la figura 38 del lado izquierdo encontramos un resultado de RESISTENCIA donde se aprecia el desarrollo de un halo de 1.5mm y del lado derecho tenemos que es SENSIBILIDAD con un diámetro en el halo de inhibición de 3mm. Colonias, puede ser clonas resistentes, este fenómeno es conocido como clones de alto riesgo (por sus siglas en inglés high-risk-clones [HRC]). Esto es co-selección de plásmidos híbridos que portan genes de resistencia y virulencia de manera concomitante, un ejemplo muy característico es el clon de Escherichia coli ST131 (O25:H4) productor de CTX-M. (Bou, Relación entre resistencia y virulencia en bacterias de interés clínico, 2014)

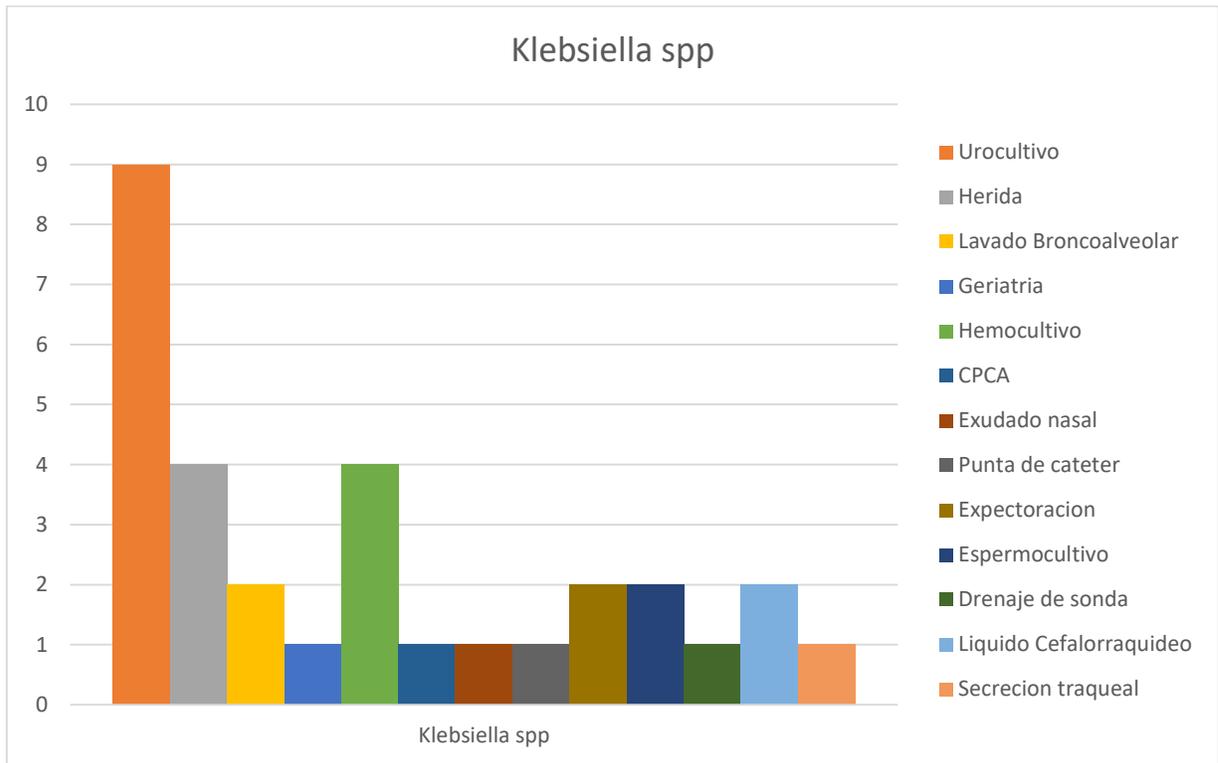
Gráfica 1 Comparación de los resultados entre las diferentes especies evaluadas.



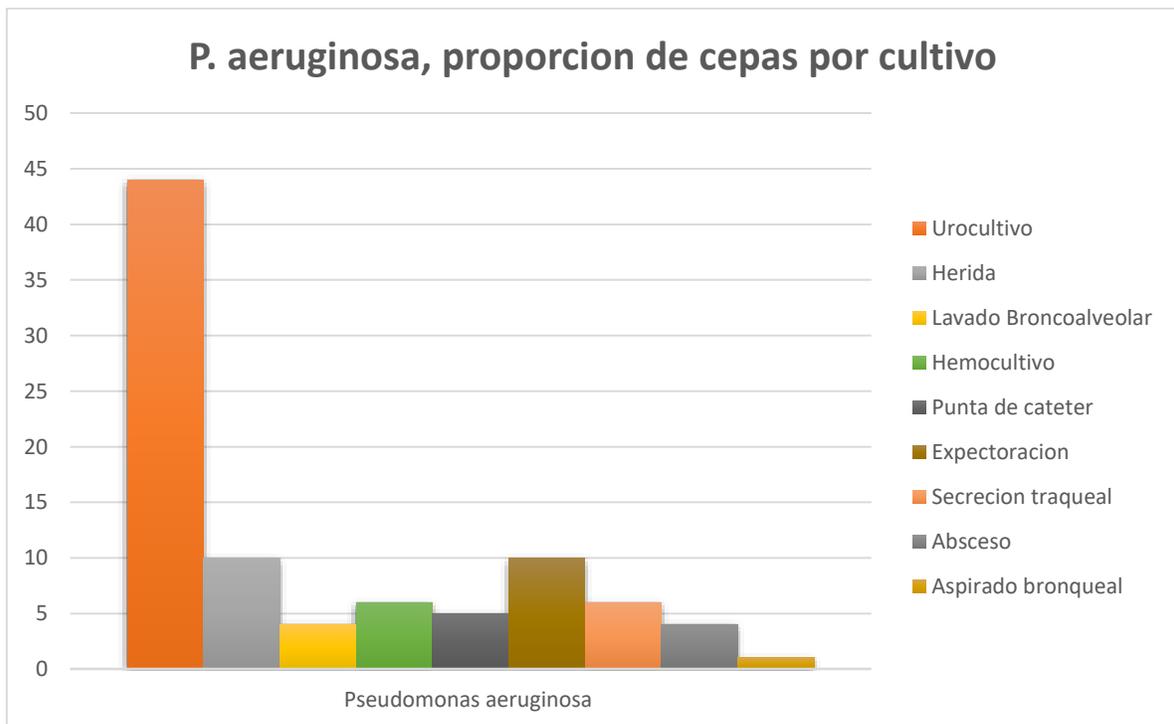
Gráfica 2 Porcentaje de E.coli en diferentes cultivos y servicios del Hospital



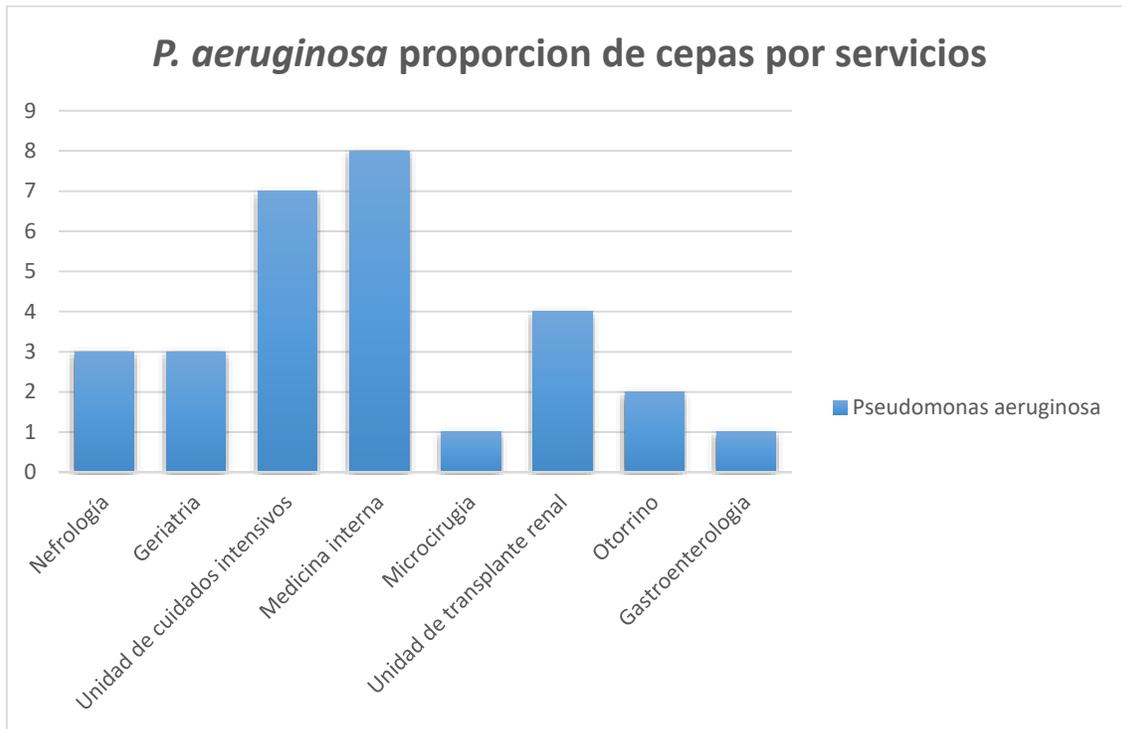
Gráfica 3 Porcentaje de *Klebsiella spp*, en diferentes cultivos y servicios del hospital



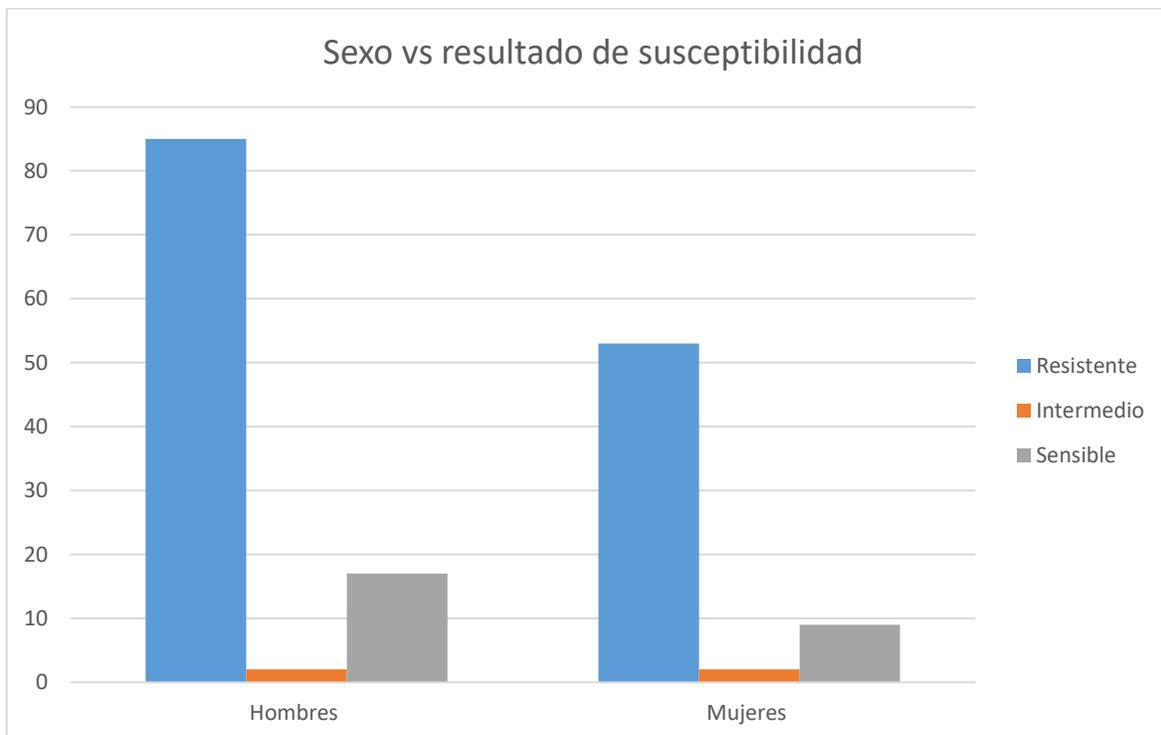
Gráfica 4 Porcentaje de *Pseudomonas aeruginosa* en diferentes cultivos



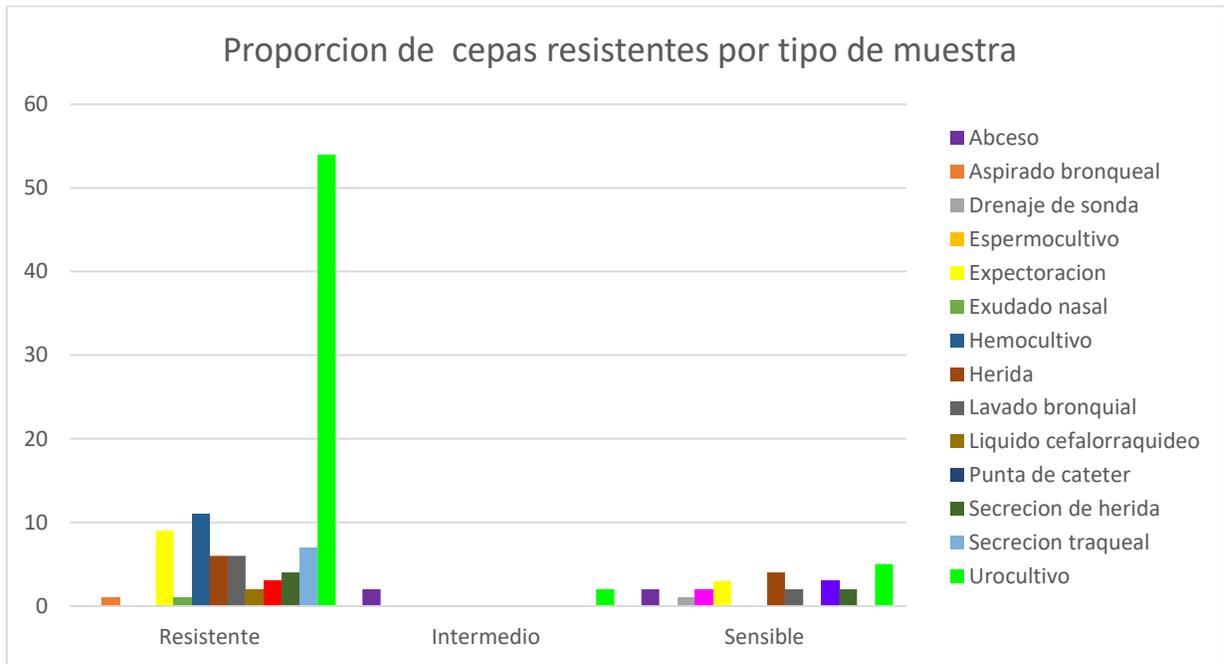
Gráfica 5 Porcentaje de *P.aeruginosa* en diferentes servicios del hospital



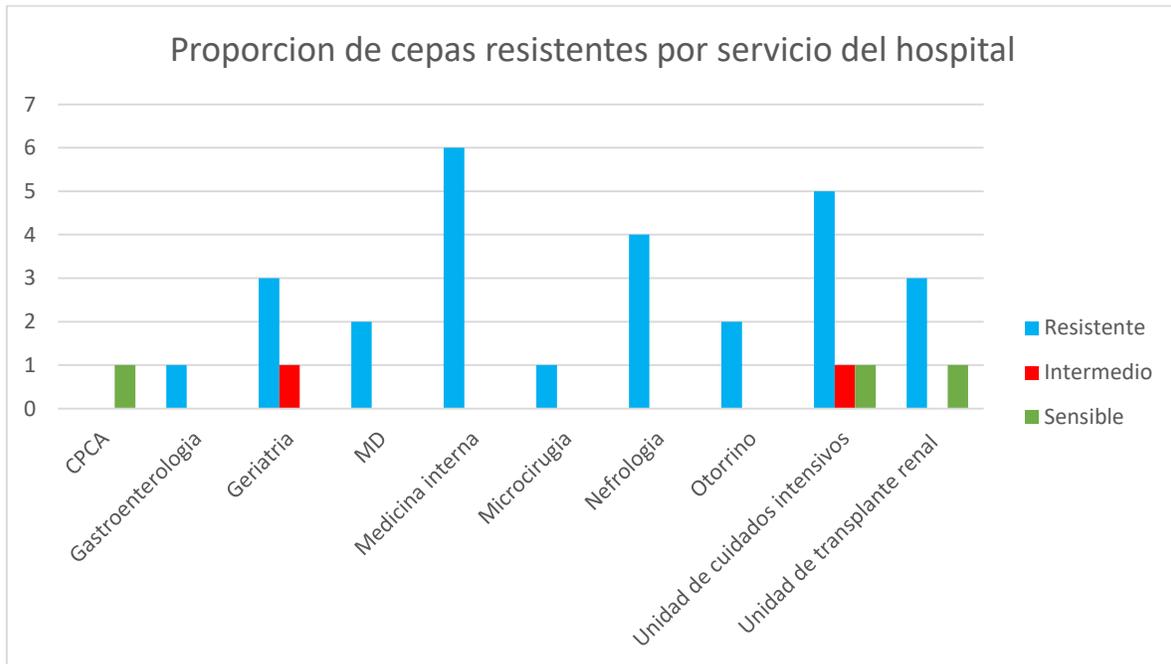
Gráfica 6 Proporción de susceptibilidad contra el genero



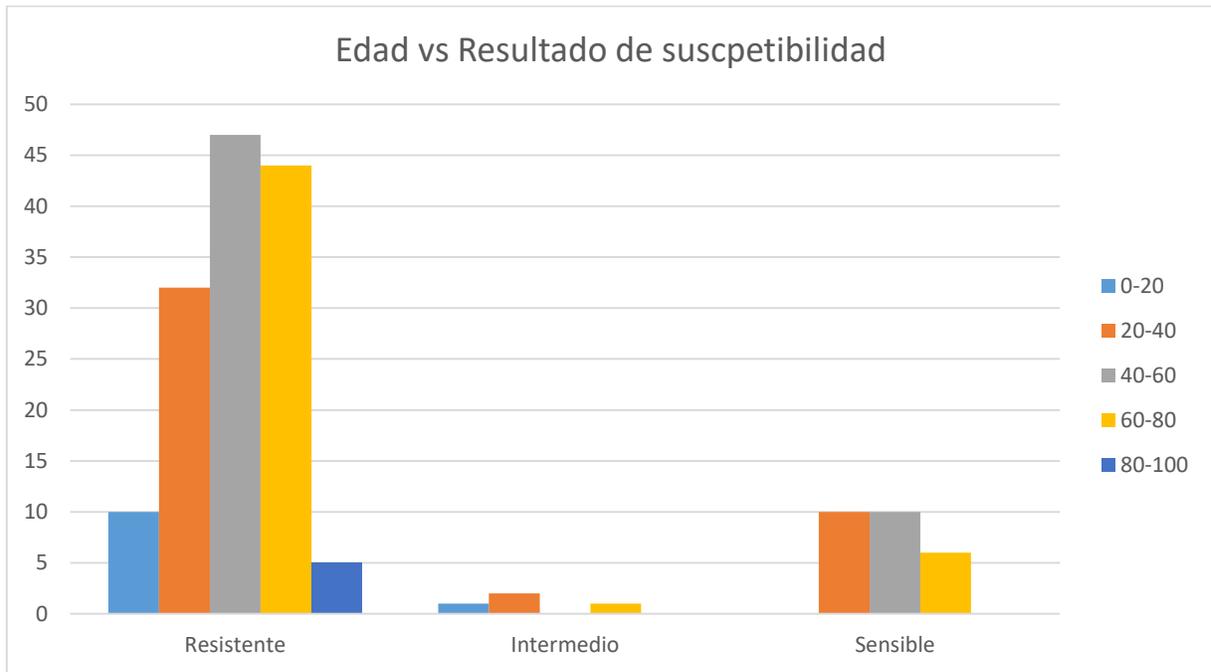
Gráfica 7 Proporción de cepas resistentes por tipo de muestra



Gráfica 8 Proporción de cepas resistentes por servicios del hospital



Gráfica 9 Proporción de cepas resistentes en base a la edad



**Tabla de contingencia: PREVALENCIA EN GENERAL DE RESISTENCIA A
CEFTOLOZANO/AZOBACTAM**

VARIABLE	N(%)	SUSCEPTIBILIDAD			PREVALENCIA	IC (95%)
		R	Int	S		
SEXO	168 (100%)					
HOMBRES	104 (62%)	85	2	17	62%	(54%-68%)
MUJERES	64 (38%)	53	2	9	38%	(31%-45%)
EDAD						
0-20	11 (6.5%)	10	1	0	6.50%	(3.7%-11.3%)
20-40	44 (26%)	32	2	10	26%	(20%-33%)
40-60	57 (34%)	47	0	10	34%	(27%-41%)
60-80	51 (30%)	44	1	6	30%	(23%-37%)
80-100	5 (3%)	5	0	0	3%	(1%-6%)
SERVICIOS	32 (100%)					
CPCA	1 (3%)	0	0	1	3%	(0.55%-15%)
Gastroenterología	1 (3%)	1	0	0	3%	(0.55%-15%)
Geriatría	4 (12%)	3	1	0	12%	(4%-28%)
MD	2 (7%)	2	0	0	7%	(1.7%-20%)
Medicina interna	6 (19%)	6	0	0	19%	(8%-35%)
Microcirugía	1 (3%)	1	0	0	3%	(0.55%-15%)
Nefrología	4 (12%)	4	0	0	12%	(4%-28%)
Otorrino	2 (7%)	2	0	0	7%	(1.7%-20%)
Unidad de cuidados intensivos	7 (22%)	5	1	1	22%	(11%-38%)
Unidad de trasplante renal	4 (12%)	3	0	1	12%	(4%-28%)
MUESTRA	136 (100%)					
Abceso	8 (6%)	6	0	2	6%	(3%-11%)
Aspirado bronqueal	1 (1%)	1	0	0	1%	(0.13%-4%)

Drenaje de sonda	1 (1%)	0	0	1	1%	(0.13%-4%)
Espermocultivo	2 (1%)	0	0	2	1%	(0.4%-5%)
Expectoracion	11 (8%)	10	0	1	8%	(0.4%-13%)
Exudado nasal	1 (1%)	1	0	0	1%	(0.13%-4%)
Hemocultivo	11 (8%)	11	0	0	8%	(0.4%-13%)
Herida	10 (7%)	6	0	4	7%	(0.4%-13%)
Lavado bronquial	8 (6%)	6	0	2	6%	(3%-11%)
Liquido cefalorraquideo	2 (1%)	1	0	1	1%	(0.4%-5%)
Punta de cateter	6 (4%)	3	0	3	4%	(2%-9%)
Secrecion de herida	7 (5%)	5	0	2	5%	(2%-10%)
Secrecion traqueal	7 (5%)	7	0	0	5%	(2%-10%)
Urocultivo	61 (44%)	54	2	5	44%	(36%-53%)

Tabla 9 PREVALENCIA EN GENERAL DE RESISTENCIA a CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM

18 Análisis Estadístico

Mediante la tabla 9 titulada “Prevalencia en general de resistencia a Ceftolozano/Tazobactam”, también conocida como tabla de contingencia se realizó un análisis estadístico por partes, sexo, edad, servicio y tipo de muestra.

Obteniendo se los siguientes resultados.

1. Genero vs Susceptibilidad (Chi²)
X-squared = 0.021076
Grados de libertad = 1
p-value = 0.8846
2. Edad vs Susceptibilidad (F de Fisher)
p-value = 0.2258
alternative hypothesis: two.sided
3. Muestra vs Susceptibilidad (F de Fisher)
p-value = 0.001499
alternative hypothesis: two.sided
4. Servicios vs Susceptibilidad (F de Fisher)
p-value = 0.2452
alternative hypothesis: two.sided

19 Discusión

En los últimos años ha existido un problema de salud que ha ido en aumento, la resistencia bacteriana, esto es la capacidad de las bacterias para soportar el efecto de los antibióticos sobre ellas. Las bacterias que originalmente eran sensibles al efecto de un medicamento antimicrobiano y que posteriormente no lo son, se consideran bacterias multirresistentes. (OMS, Instituto Nacional de Salud Pública, 2019)

Es un fenómeno muy preocupante porque las infecciones por microorganismos resistentes pueden causar la muerte del paciente, transmitirse a otras personas y generar grandes costos tanto para los pacientes como para la sociedad. Se ve facilitada por el uso inadecuado de los medicamentos, como, por ejemplo, al tomar antibióticos para tratar infecciones víricas como el resfriado o la gripe, o al compartir el tratamiento con otros pacientes. Los medicamentos de mala calidad, las prescripciones erróneas y las deficiencias de la prevención y el control de las infecciones son otros factores que facilitan la aparición y la propagación de la farmacorresistencia. La falta de empeño de los gobiernos en la lucha contra estos problemas, las deficiencias de la vigilancia y la reducción del arsenal de instrumentos diagnósticos, terapéuticos y preventivos también dificultan el control de la farmacorresistencia. (OMS, Organización Mundial de la Salud, 2019)

Desde el uso masivo de los antibióticos se ha constatado a nivel mundial un aumento muy importante de la prevalencia de la resistencia. Algunos ejemplos son la reciente diseminación de Enterobacterias productoras de Carbapenemasas (EPC) a nivel mundial, que amenaza a los betalactámicos más activos, las carbapenemasas. La creciente (cualitativa y cuantitativamente) resistencia a Ceftriaxona, Cefixima y fluoroquinolonas, complica demasiado el tratamiento de la gonorrea. (Bolan, Sparling, & Wasserheit, 2012)

En los últimos 30 a 40 años se han descubierto seis mecanismos de resistencia que han tenido un impacto en las IAAS, todas estas con alta complejidad genética; a) Dehidrofolato-reductasas (DFHRs), b) Betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), c) Nuevas proteínas fijadoras de penicilina (PBPs), d) Topoisomerasas mutantes, e) Aminoglucósidos modificados por enzimas y f) Nuevas enzimas con alteraciones de la pared celular. Esto hace que el perfil fenotípico sea difícil de interpretar y el tratamiento muy difícil de abordar. (Canton-Moreno & Cobo, 2009)

Entre los diversos factores que han contribuido al incremento significativo de la aparición de resistencia bacteriana se puede mencionar la presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso terapéutico, la utilización generalizada de antibióticos en pacientes inmunocomprometidos y en la unidad de cuidados intensivos, el uso de dosis o duración inadecuada y el desconocimiento

de los perfiles de sensibilidad de los microorganismos aislado, la resistencia bacteriana tiene una base genética intrínseca y una adquirida. (Pérez & Robles, 2016)

Al existir esta resistencia a los antibióticos, como se presenta en las gráficas de resultados para las tres especies evaluadas, se generan lo que se llamaban Infecciones Nosocomiales (IN) o intrahospitalarias, hoy conocidas como Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), estas son un problema recurrente y de gran relevancia en las instituciones de salud.

Para poder combatir este enorme problema a la resistencia antimicrobiana, como consecuencia del uso inadecuado de los antibióticos, la Organización Mundial de la Salud (OMS), propone diversas estrategias, que se definen como un conjunto de intervenciones coordinadas para mejorar y medir el uso apropiado de antibióticos mediante la selección del agente, dosis, duración y vía de administración óptimos.

La recomendación para el hogar:

- Utilizar los antibióticos únicamente cuando los haya prescrito un médico
- Completar el tratamiento prescrito, aunque ya se sienta mejor
- No dar los antibióticos sobrantes del tratamiento a otras personas ni reutilizarlos
- Recordar que los antibióticos no deben utilizarse para tratar gripas o resfriados de origen viral
- Para el profesional de la salud
- Mejorar la prevención y el control de las infecciones
- Prescribir y dispensar antibióticos solo cuando vean verdaderamente necesarios
- Prescribir y dispensar los antibióticos adecuados para cada enfermedad.

(INSP, 2019)

De acuerdo a la estructura química de Ceftolozano/Tazobactam, sabemos que es una combinación de dos antibióticos, donde Ceftolozano es un betalactámico que pertenece al grupo de las cefalosporinas, ejerciendo su actividad bactericida uniéndose a las llamadas proteínas de unión a las penicilinas (PBP) estas tienen actividad transpeptidasa, transglucosilasa y carboxipeptidasa, pertenecientes a *P.aeruginosa* por ejemplo PBP1b, PBP1c y PBP3 (esta última aplica para *E.coli*), estas dan lugar a la inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana principalmente a nivel de la formación del peptidoglucano y por consiguiente la muerte celular, la modificación de las PBP, la hiperproducción o la adquisición de PBPs resistentes, son algunos de los métodos por los cuales se adquiere la resistencia, debido a que impiden la entrada a través de las porinas. (Daza, 1998)

Las PBP concretamente las transpeptidasas presentan una similitud estructural con el extremo D-alanina-D-alanina del pentapéptido que enlaza las cadenas de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina del peptidoglucano. En presencia del antibiótico, las transpeptidasas hidrolizan el enlace amida del anillo beta-lactámico y se forma un éster estable entre el compuesto hidrolizado y un grupo hidroxilo de la serina del sitio activo de la enzima. Con ello se inhibe la transpeptidación, se desestabiliza la pared celular y finalmente se produce la lisis bacteriana mediada por autolisinas. (Karen & George, 2010)

Mientras que Tazobactam es un β -lactámico estructuralmente relacionado con las penicilinas, debido a que es un derivado de la sulfona del ácido penicilánico. Posee una pequeña actividad antibacteriana, pero tiene afinidad por las PBP de tipo II de las bacterias Gram negativas. Inhibe muchas β -lactamasas de clase A, incluyendo las enzimas CTX-M (cefotaximasas), SHV (la variable de sulfhidrilo) y TEM (betalactamasa de espectro extendido de tipo temoniera.) Dichas enzimas se encuentran presentes en *Escherichia coli* y *Klebsiella spp*, principalmente, cumplen funciones que suelen conferir resistencia en forma variada a penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, carbapenems, ácido clavulánico y tazobactam. (Tercero, 2008) Principalmente tenemos a TEM-1 y TEM-2 y SHV-1, las cuales están clasificadas en el grupo 2b de la clasificación de Bush, atacan a los mismos beta-lactámicos. Tienen una alta afinidad por ampicilina y amoxicilina y las modifica rápidamente. (Susan, Joaquim, José Luis, & Theresa, 2011)

Estas enzimas derivan de genes cromosómicos que han sufrido mutaciones, movilización e integración de diferentes estructuras genéticas, siendo la mayoría de ellas codificadas por plásmidos. Son estos plásmidos o los integrones los que les proporcionan alta capacidad de expansión y prevalencia, mediante la transmisión horizontal entre diferentes especies y diferentes familias bacterianas. El principal factor que interviene en la alta prevalencia de las Enterobacterias productoras de BLEE es la diseminación clonal. Una muestra de ello es la rápida diseminación del clon *E. coli* 025:H4-ST131, asociada a infecciones urinarias y con la diseminación del gen_{bla}CTX-M-15. Este mismo problema ocurre en las Enterobacterias Productoras de Carbapenemasas (EPC), más claramente en la especie *Klebsiella* productora de SHV-5 o SHV12. (Salgado, Gilsanz, & Maseda, 2016)

Las BLEE provienen de una serie de mutaciones por parte de las enzimas TEM-1, TEM-2 o SHV-1, estas producen resistencia a cefotaxime, ceftazidime y otras cefalosporinas de amplio espectro y a aztreonam, pero no aportan resistencia a la acción de las cefamicinas o imipenem. (García, 2013)

Cómo se mencionó las β -lactamasas de clase A, son el principal mecanismo de resistencia de la mayoría de las Enterobacterias, con la ayuda de las bombas de expulsión, recordando que son adquiridas por acción de mecanismos genéticos

(Jacoby G. B., 2010). Cuentan con dos subgrupos de importancia clínica: las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) las cuales hidrolizan cefalosporinas de amplio espectro y antibióticos monobactámicos, son inhibidas por el ácido clavulánico. Las serin-carbapenemasas, con capacidad de hidrolizar toda clase de betalactámicos. (Cantón & Cercenado, 2011)

Las enzimas TEM, SHV y CTX-M; son inhibidas con mayor facilidad por la acción del tazobactam que por el ácido clavulánico y generan resistencia a monobactámicos, penicilinas y cefalosporinas.

Para el caso de *P. aeruginosa*, puede decirse que la resistencia es generada por la acción de enzimas β -lactamasas de tipo AmpC, otro mecanismo de resistencia mutacionales destacado o probable para *P. aeruginosa* es la represión o inactivación de la porina OprD, que junto con la expresión inducible de AmpC confiere resistencia a imipenem y sensibilidad disminuida al meropenem (antipseudomonas más usados). Esta inactivación de la porina OprD, actúa de manera sinérgica con la depresión de AmpC confiriendo resistencia a todos los betalactámicos, dicho lo anterior ceftolozane es una cefalosporina (con acción de betalactámicos) dichas enzimas producen su acción sobre ella, hidrolizando generalmente a las cefalosporinas de espectro reducido o cefalosporinas de tercera generación.

De igual manera otro posible mecanismo de resistencia que emplea *P. aeruginosa* podría ser las múltiples bombas de expulsión de la familia RND (División de Nodulación de Resistencia por sus siglas en inglés Resistance Nodulation Division), encontrando principalmente a MexAB-OprM y MexXY-OprM y en menor medida MexEF-OprN y MexCD-OprJ, contribuye de forma notable a los fenotipos de resistencia. Estas bombas se conforman por tres componentes: una proteína transportadora ubicada en la membrana interna, una proteína accesoria periplasmática y una proteína de membrana externa o porina, las cuales son energizadas por gradientes de protones.

MexAB-OprM es la que presenta un perfil de sustratos más amplio. Su expresión constitutiva juega un papel notable en la resistencia intrínseca y su hiperexpresión por mutaciones cromosómicas afecta a todos los antibióticos beta-lactámicos (excepto el imipenem) y a las fluoroquinolonas. Esta hiperexpresión de MexAB-OprM agregada a la inactivación de OprD es una de las causas más frecuentes de la resistencia clínica a meropenem (betalactámico). Estos sistemas de expulsión son los responsables de la "impermeabilidad" a la mayoría de los antibióticos. Dichas bombas pueden ser inducidas por antibióticos (especialmente ciprofloxacina), de igual forma por cambios mutacionales por más mínimo que sea (1 par de base nucleotídica). (Andrés Opazo C., 2009)

Otra sobre expresión puede ser de la bomba, MexEF-OprN, que confiere también resistencia a quinolonas y algunos betalactámicos, esta posee gran relación con el gen MexT, que está involucrado con las mutaciones que originan la pérdida de la porina OprD. De igual manera la sobre expresión de MexXY-OprM afecta a los β -lactámicos, las quinolonas, el meropenem y los aminoglucósidos sin afectar la acción del imipenem.

Además, se encuentran las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), las cuales confieren inhibición al tazobactam, lo cual no realizan las β -lactamasas de tipo AmpC. Esto puede ser por acción de las MBL (Metallo-lactamasas). Entre las BLEE destaca el tipo OXA, pertenecientes a la clase molecular D y al grupo funcional 2d, basado en la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros, confieren gran resistencia a betalactámicos como: ampicilina, cefalotina y sobre todo a cloxacilina, pueden afectar también a las cefalosporinas de tercera generación, especialmente a la cefotaxima y al aztreonam, como OXA-10, OXA-11, OXA-14, OXA-18 y OXA-28. (Artola, 2005)

La susceptibilidad presentada en las pocas cepas de *P. aeruginosa*, puede ser atribuido a que expresan el fenotipo de betalactamasas de tipo TEM, las cuales presentan mayor susceptibilidad al tazobactam que las derivadas SHV. (Livermore D. , 2000)

Comenzando con la primera gráfica titulada proporción de cepas en base al resultado de susceptibilidad podemos observar que la cepa de *Pseudomonas* es el principal patógeno que presenta resistencia, puede ser debido a su resistencia intrínseca que está mediada por su membrana externa y la presencia de bombas de expulsión como lo es MexAB-OprM, la cual tiene la capacidad de expulsar a antibióticos como Ceftolozane/Tazobactam. Como podemos apreciar en las gráficas 2, 3 y 4 que muestran la proporción de las cepas evaluadas en diferentes muestras, siendo los urocultivos los más presentes en las 3 cepas bacterianas. Por ejemplo, la alta incidencia de *E. coli* está relacionado con las cepas UPEC, debido a que poseen mayor capacidad de adherencia a las células del epitelio vaginal y urinario, mayor producción del antígeno capsular (antígeno K). Las fimbrias de tipo P y 1 actúan de manera sinérgica para facilitar la colonización del tracto urinario, en el caso de las demás cepas, estas no presentan este tipo de adherencias, para el caso de *Klebsiella* está presente acción de fimbrias mansarresistentes como adhesinas X. Esto puede ser debido a que *E. coli* forma parte de las cepas de Enterobacterias BLEE+, las cuales están teniendo incrementos en sus incidencias principalmente en personas cuya hospitalización o cirugía previa fuese de 3 a 12 meses, junto con un uso de antibióticos de al menos 30 días. Esto se relaciona también con las muestras obtenidas por la punta del catéter.

De acuerdo a la prueba de χ^2 obtuvimos diferencia significativa en la relación que existe entre el sexo y la susceptibilidad, debido a que este valor nos indicara que tan diferentes o cercanas son dos variables, el valor obtenido en la prueba fue de $\chi^2 = 0.0210176$, con un p-value de 0.8846, comparándolo con el valor de tablas para 1 grado de libertad y un p-value de 0.05, el valor es 3.84, esto nos dice que existe diferencias significativas entre dos variables debido a que el valor calculado es mucho menor al de tablas, en la gráfica 6, se ve la proporción de resultados resistentes y sensibles donde se evidencian las diferencias a simple vista está asociada más con los hombres teniendo una mayor incidencia sobre las mujeres, como se aprecia en la tabla 9. Esto puede deberse a dos cosas, que existe mayor cantidad de hombres en el estudio y a un punto de vista epidemiológico que de acuerdo a la OMS la salud se relaciona en 3 puntos importantes con el género; 1) los determinantes de la salud relacionados con el género, incluida la interacción con otros determinantes sociales y estructurales, 2) las conductas en la esfera de la salud en función del género y 3) la respuesta del sistema de salud en función del género. ((OMS), 2018)

En este caso se realizó una prueba de F de Fisher, donde los valores obtenidos del p-value fueron de 0.2258, en este caso es mayor al 0.01 (valor que nos permite saber si la hipótesis nula se rechaza o acepta) siendo este caso mayor se rechaza, por lo tanto en la susceptibilidad tenemos que las variables de edad y resistencia son las de mayor índice o destacables. Esto se puede justificar con en gráfico 9, donde se observa que entre los 40 y 80 años es donde más prevalencia de cepas multirresistentes existen, esto puede estar relacionado con los puntos previamente descritos por las OMS y a su vez desde un punto de vista inmunológico, donde los estados de maduración del sistema intervienen, así como la respuesta es cada vez menos eficaz conforme a la edad aumenta. Por esto es apreciable la existencia de pacientes con 60 u 80 años, con estos padecimientos, que a su vez se encuentra la relación con los determinantes socioeconómicos, debido a que mucha gente es de bajo recursos o con difícil acceso a instalaciones médicas que puedan cumplir sus necesidades, relacionando esto con el hecho económico y que no todos pueden costear los tratamientos. Muchas veces esto también se ve reflejado en el hecho que se ha estado mencionando son bacterias con alta incidencia en los hospitales siendo las áreas de mayor cuidado donde los pacientes, suelen ser más susceptibles.

Para las gráficas 7 y 8, podemos observar los servicios del hospital y el tipo de muestra que presentan mayor índice de cepas multirresistentes.

Para el caso de los servicios podemos observar que cuidados intensivos es el área con mayor porcentaje de incidencia de cepas con un 22%, de los servicios presentados en este trabajo y dentro de este se encuentran diferentes tipos de

muestras que son las que evidencian mayor incidencia dentro del área de Cuidados Intensivos. Para decir que estos valores tienen significancia estadística se realizó una prueba de F de Fisher donde los resultados del p-value son 0.2452, en este caso el valor de p es mayor al 0.01, siendo que una variable cuenta con mayor proporción de datos. Y se aprecia con los resultados. Esto es debido a que en estas áreas los pacientes cuentan con diferentes factores que pueden favorecer la presencia de dichos microorganismos, como: estado inmunológico, pacientes con traumatismos graves, procedimientos altamente invasivos, tratamientos médicos. (Pérez Matera, 2000)

Se volvió a realizar una tercera prueba de Fisher donde se demostró que, el p value fue de 0.001499, siendo este caso menor al 0.01, demostrando que existe una muestra que es la que aporta mayor incidencia al estudio, siendo los urocultivos (44%), puntas de catéter (4%), expectoraciones (8%) y las heridas (8%). Este tipo de muestras son más frecuentes en dichas áreas porque, se vuelven zonas de fácil contagio por ser expuestas y por el tratamiento de una amplia gama de antibióticos diversos, donde estos ocasionan una posibilidad para aumentar el riesgo de contracción de una infección por alguna cepa multirresistente, a su vez existe los contactos con las vestimentas desechables las cuales se cree pueden tener funciones de vectores para dichas transmisiones. Como se observó los urocultivos son las principales fuentes de origen de las tres cepas, esto se debe a que estas especies bacterianas son de los patógenos urinarios más comunes, en las infecciones urinarias constituyen una de las causas más frecuentes en enfermedades infecciosas y caracterizada por altas tasas de incidencia y morbilidad en áreas pediátricas y adultos, predominando en mujeres que hombres. Dicho patógenos logran colonizar los tractos urinarios gracias a factores de patogenicidad como la presencia del antígeno K, aerobactina, fimbrias de tipo I y P y hemolisina. Debido a estos factores y diversos mecanismos, principalmente por el ascenso retrógrado, apoyándose con las fimbrias tipo P, las cuales cuentan con un receptor tipo Manosa, el cual es encontrado mayoritariamente en *E. coli*. (Jian, Linda, & Shortliffe, 2005)

20 Conclusión

La recolección y selección de las cepas bacterianas multirresistentes de ámbito hospitalario, se llevó acabo de manera correcta, gracias a la previa evaluación de susceptibilidad, por los equipos Vitek. Se evaluó de manera correcta la susceptibilidad frente a una nueva combinación de antibióticos, Ceftolozano/Tazobactam, demostrando que, para poder administrar un tratamiento más completo y específico, se requiere de una serie de pruebas complementarias principalmente de tipo molecular que nos permitan conocer el mecanismo específico por el cual la bacteria genera resistencia, como por ejemplo técnicas moleculares como PCR con el sistema Verigene® (Nanosphere). Se dio a conocer la importancia de llevar a cabo un correcto uso de los antibióticos, para así evitar el crecimiento de los casos de resistencia bacteriana.

El análisis de los datos confirmó que las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), desencadenaran altos costos humano y material, y requiere aumentar las medidas para su prevención, principalmente a nivel educativo. Donde se deberán de proponer y emplear mejores y nuevas estrategias para evitar el aumento de ellas.

Con ayuda de las pruebas estadísticas se encontró que existen relaciones entre la variables y se les pudo dar la correcta interpretación, para así llevarlas al análisis, dichas pruebas ayudan a la detección de las relaciones entre las variables ayudando a comprender nuevas metodologías que podrían prevenir estos incrementos en las incidencias de las IAAS.

21 Bibliografía

- (OMS), O. M. (23 de Agosto de 2018). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/gender>
- (OMS), O. M. (19 de Abril de 2017). Una atención más limpia es una atención más segura. Obtenido de <http://www.who.int/gpsc/background/es/index.html>.
- (WHO), W. H. (12 de Abril de 2019). Una atención más limpia es una atención más segura. Obtenido de <http://www.who.int/gpsc/background/es/>
- Abreu O, A. C. (2011). *Tratamiento de las enfermedades infecciosas*. Washington, D.C: OPS.
- Acuña, G. (2003). Evolución de la terapia antimicrobiana: lo que era, lo que es y lo que será. *Chil Infect*, 7-9.
- Adriana Callicó, B. C. (2005). Caracterización fenotípica y serológica de aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *VacciMonitor*, 90-93.
- Albelo Noda, A. (2006). Principios farmacodinámicos: un uso más racional de los antimicrobianos. *American Journal of Infection Control*, 15-20.
- Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 629-697.
- Aloush, V. (2006). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob agents chemotherapy*, 43-48.
- Álvarez D, M. S. (2002). Capsular polysaccharide is a major complement resistance factor in lipopolysaccharide O side chain-deficient *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Infectology Immunology*, 953-955.
- Alvo, A. V. (2016). Conceptos básicos para el uso racional de antibióticos en otorrinolaringología. *Otorrinolaringología*, 136-140.
- Anderl JN, Z. J. (2004). Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicilin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*, 1251-1256.
- Andrés Opazo C., S. M. (2009). Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. *Rev Chil Infect*, 499-503.
- Angeles Rodríguez, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud publica Mexico*, 464-475.
- Arakawa, Y. (2007). 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clinical infectious diseases*, 88-94.

- Arias-Flores, R., Rosado-Quilab, U., Vargas-Valerio, A., & Grajales-Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev Med Inst Mex Seguro social*, 20-14.
- Artola, B. S. (2005). Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). *Revista Electrónica de Medicina Intensiva* , 13-20.
- Avila C, C. M. (1999). Prevalencia de infecciones nosocomiales en niños: encuesta de 21 hospitales en México. *Instituto Nacional de Salud Pública. México*, 18-25.
- Ávila C., C. M. (1999). Prevalencia de infecciones nosocomiales en niños: encuesta de 21 hospitales en México. *Salud Pública México*, 18-25.
- Bado, I. (2009). Principales grupos de antibióticos. *Manual of Clinical Microbiology*, 1-4.
- Basualdo, J. A. (2008). Antibióticos y Antimicrobianos. *Agroveter Market Animal Health*, 6-10.
- Baylis, C., Penn, C., Thielman, N., & Gillespie, S. (2008). Escherichia coli and Shigella. *Principles and practice of clinical bacteriology* , 340-345.
- Becerra G, P. A. (2009). Mecanismo de resistencia antimicrobiana en bacterias . *ENF INF Microbiol*, 70-75.
- Becerra Gerardo, P. A. (2010). Mecanismos de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enf Inf Microbiol* , 70-76.
- Belloso, W. H. (2008). Historia de los antibióticos. *Hospital Italiano de Buenos Aires*, 102-106.
- Ben Haj Khalifa A, M. D. (2011). Factores de virulencia de Pseudomonas aeruginosa: Mecanismos y modos de regulación. *Ann Biol Clin*, 393-400.
- Bentacor, L., Cadea, M., & Flores, K. (2006). Capítulo 4. Genética bacteriana, Instituto de higiene universidad de la republica de Uruguay . En *Temas de bacteriología y virología*. (págs. 59-65). Uruguay .
- Biberstein, E. y. (1990). *Tratado de microbiología veterinaria* (Vol. Primero). España: ACRIBIA S.A.
- Bolan, G., Sparling, F., & Wasserheit, J. (2012). The emerging threat of untreatable gonococcal infection. *England Journal Medical*, 485-487.
- Bou, G. (2014). Relación entre resistencia y virulencia en bacterias de interés clínico. *La Coruña*, 1-3.

- Bou, G., Olmos Fernández, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezaste, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Elsevier Doyma*, 601-608.
- Brenner, D. K. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 2). Michigan, Estados Unidos: Springer. Recuperado el 7 de Abril de 2019
- Brooks G., B. J. (2006). *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. Mac Graw Hill.
- Brooks, G. (2013). Enteric Gram-Negative Rods (Enterobacteriaceae). En K. Carroll, J. Butel, S. Morse, & T. Mietzner, *Medical Microbiology* (págs. 231-233). United States: McGrawhill.
- Bush, K. F. (2010). Epidemiological Expansion Structural Studies, and Clinical Challenges of New β -Lactamases from Gram-Negative Bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 65, 455-469.
- Cabrera C, G. R. (2007). resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica del Valle*, 149-150.
- Cabrera, C., Gómez, F., & Zuñiga, A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 149-158.
- Callow, J. ,. (2006). Biofilms. *Prog Mol Subcell Biol*, 141-145.
- Calvo, J. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol*, 44-52.
- Cámara, O. M. (2008). SULFAMIDAS. ASPECTOS FARMACOLÓGICOS Y QUÍMICO – FARMACÉUTICOS. *Facultad de Farmacia Universidad Complutense de Madrid*, 3-4.
- Cantón, E., & Cercenado, R. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos . *Procedimientos en Microbiología Clínica* , 13-28.
- Cantón, R. (2006). Mecanismos de multiresistencia e importancia actual en microorganismos Gram positivos y negativos. *Enf Inf Microbiol Clinical*, 3-16.
- Canton-Moreno, R., & Cobo, J. (2009). Consumo de antimicrobianos y resistencia en el hospital: una relación difícil de medir y compleja de interpretar. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 437-440.
- Carrascoso, G. (2015). Tesis doctoral; Características microbiológicas y clinico-epidemiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa oxa-48

en el contexto de un borte hospitalario. *Facultad de Farmacia, departamento de microbiologia II.*

- Carrillo, R., & Bustos Zavaleta, M. (2013). Los parámetros en la prescripción de antibióticos. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 4-6.
- Cavaco, L. (2008). Prevalence of quinolone resistance mechanisms and associations to minimum inhibitory concentrations in quinolone-resistant *Escherichia coli* isolated from humans and swine in Denmark. *Microbial Drug resistance journal*, 163-169.
- Chan K., Y. W. (2007). Pyogenic liver abscess caused by *Klebsiella pneumoniae*: analysis of the clinical characteristics and outcomes of 94 patients. *China Medical Journal*, 136-139.
- Cifuentes M, S. F. (2014). Susceptibilidad antimicrobiana en Chile 2012. *Revista chilena de infectología* , 123-130.
- Cluck, D., Lewis, P., Stayer, B., Justin, S., & Moorman, J. (2015). Ceftolozane-Tazobactam: A new-generation cephalosporin. *Am J Health-Syst Pharm*, 2135-2140.
- Contreras, C., & Ochoa, T. (2010). Allelic variability of critical virulence genes (*eae*, *bfpA* and *perA*) in typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* . *Journal Medical Microbiology*, 122-125.
- Cordero Lobaton, J. A. (2010). Identificación de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en hemocultivos de pacientes pediátricos con sepsis. *Facultad de medicina UNAM* , 14-20.
- Corp, M. S. (13 de mayo de 2019). ZERBAXA, *manual de usuario*. Obtenido de <http://ecdc.erupa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2013.pdf>.
- Daza, P. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 57-67.
- Depardieu, F. (2007). Modes and modulations of antibiotic resistance gene. *Clinical Microbiology Reviews*, 79-114.
- Dery, K. (2003). The aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase type Ib encoded by Tn1331 is evenly distributed within the cell's cytoplasm. *Antimicrobial agents chemotherapy*, 2897-2902.
- Diez, E. J. (2005). Intervenciones de promoción de la salud basadas en modelos teóricos. *Medicina Clínica*, 193-197.

- Donlan RM, C. J. (2003). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. . *Clin Microbiol Rev* , 43-48.
- Drawz SM, B. R. (2010). Three decades of beta lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Review*, 160-165.
- Driscoll JA, B. S. (2008). Epidemiología, Mecanismos de Infección, Virulencia, Resistencia y Tratamiento de las Infecciones por P. aeruginosa. *Infectología*, 351-368.
- E. A. Vives, M. V. (20 de Agosto de 2019). *Farmacología II*. Obtenido de <https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/05/inhibidores-de-la-sintesis-proteica-ribosomal.pdf>
- Echeverri Toro, L. M. (2010). Klebsiella pneumoniae como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *IATREIA*, 240-246.
- Endtz, H. (1991). Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 199-208.
- FACENA-UNNE. (14 de Abril de 2019). *Genetica Bacteriana*. Obtenido de SlideShare: <https://es.slideshare.net/sosatina/genetica-bacteriana-2065784>
- Fang, C., Lai, S., Yi, W., Hsueh, P., & Liu, K. (2010). The function of wyz_K1 (magA), the serotype K1 polymerase gene in Klebsiella pneumoniae cps gene cluster. *Journal Infectology*, 1268-1270.
- Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A., & Viviana., V.-R. L. (2016). Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena. *Chilena de infectología*, 438-450.
- Farmer, J. (1995). *Enterobacteriaceae: introduction and identification: Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: Murray PR.
- Farmer, J. (2005). Enterobacteriaceae: general characteristics. En P. Murray, *Manual of microbiology* (págs. 1317-1359). London, England: Arnold Health Sciences Publishing.
- Farrell DJ, F. R. (2013). Antimicrobial activity of ceftolozane/tazobactam tested against Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa with various resistance patterns isolated in US hospitals (2011-2012). *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 6305-6310.
- Flemming HC., W. J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Review Microbiology*, 623.
- Forbes, B. S. (2009). *Bailey & Scott; Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires, Argentina.: Panamericana.

- Fresnadillo Martínez, M. G. (2010). Los carbapenems disponibles: propiedades y diferencias. *Infec. Microbiol. Clin.* 28, 53-55.
- Garay UA, G. R.-R.-C. (2010). Factores de riesgo específicos en cada tipo de infección nosocomial. *Enf Inf Microbiol*, 91-94.
- García, M. M. (2013). Betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Medicina*, 40-44.
- Garua, J. (2011). Principles of internal medicine. *Curr Opin Infect Dis*, 202-208.
- Gerardo, G.-R. (2019). Colistín en la era post-antibiótica. *Revista chilena de infectología*, 33-34.
- Girón Matute, W. I. (2008). Antimicrobianos. *Revista de la Facultad de Ciencias y Medicina de Honduras*, 71-73.
- Gloria, S. (2009). Pseudomonas aeruginosa. *Instituto de Biotecnología, UNAM*, 135-136.
- González Ayala, S. E., & Cecchinini, D. (28 de Agosto de 2015). *Organización Panamericana de la Salud*. Obtenido de <http://new.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroETAs/modulo2/modulo2x.html>
- Grkovic, S. (2005). Regulation of bacterial drug export systems. *Microbiol Mol Biol*, 671-675.
- Hawkey, P. (2009). Identification of Enterobacteriaceae. *Division of Immunity and Infection*, 342-350.
- Hernández Manjarrez, Á. (7 de Julio de 2013). *UNAM Boletín DGCS-443*. Obtenido de http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2012_443.html
- Hernández, A. (2017). *Infecciones nosocomiales por Pseudomonas aeruginosa multiresistente incluido carbapenémicos: factores predictivos y pronósticos*. España: Murcia.
- Herrera-González, S., García-Tovar, L. E.-T., & Rojas, O. C.-C. (2016). Efectos adversos de los antibióticos sobre la mitocondria y su asociación con variantes genéticas del ADN mitocondrial en población mexicana. *División Ciencias de la Salud*, 15-20.
- Heymann, D. (2004). Control of Communicable Diseases Manual. En P. Murray, *Manual of Microbiology* (págs. 36-40). Washington, DC: American Public Health Association.
- Hocquet, D. (2006). Involvement of the MexXY-OprM efflux system in emergence of cefepime resistance in clinical strains of Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrobial agents Chemotherapy*, 1347-1351.

- INSP. (12 de Mayo de 2019). Obtenido de Resistencia bacteriana a los antibioticos : <https://www.insp.mx/avisos/3476-resistencia-bacteriana.html>
- Jacoby, G. (2005). The new beta-lactamases. *The New England Journal of Medicine*, 352-380.
- Jacoby, G. B. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. . *Antimicrob agents chemother*, 969-976.
- Jian, F., Linda, M., & Shortliffe, D. (2005). Urinary tract infection in children: etiology and epidemiology. *Urologics clinics of north American*, 517-526.
- Johnson, A. (2006). First case of septicemia due to Enteric Group 58 (Enterobacteriaceae). *Clinical Microbiology*, 5195-5200.
- Jorgensen, J., & Turnidge, D. (2007). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Manual of clinical microbiology*, 1152-1155.
- Juan C, O. A. (2011). Carbapenemasas en especies de genero Pseudomonas . *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 19-25.
- Kansal R, B. S. (2011). Adhesin degradation accelerates delivery of heat-labile toxin by enterotoxigenic E. coli. *Journal Biology and chemistry*, 286-289.
- Karen, B., & George, J. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.*, 969-976.
- Kitchel, B. R. (2010). Genetic Factors Associated with Elevated Carbapenem Resistance in KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. . *Antimicrob. Agents Chemother.* 54 , 4201-4207.
- Kohler, T. (2000). Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrobial agents chemotherapy*, 424-427.
- Kuri, P. A. (2012). Evolución de la Salud Pública y de la medicina preventiva. . *Salud Pública y Medicina Preventiva.* , 36.
- Lasa, I. J. (2005). Biofilms bacterianos e infección. *SciELO*, 7-13.
- Le, J. C. (2010). Clonal Dissemination of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase KPC-3 in Long Beach, California . *J. Clin. Microbiol.* 48, 623-625.
- Leavitt, A. C.-V. (2009). Ertapenem Resistance among Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates. *J clinical microbiol*, 969-974.
- Li B., Z. Y. (2014). Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiology*, 1071-1081.

- Lister PD, W. D. (2009). Antibacterial-resistance Pseudomonas aeruginosa clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev*, 582-590.
- Livermore, D. (2000). Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis.*, 7-16.
- Livermore, M. (2000). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology reviews*, 557-580.
- Llobet E, M.-M. V. (2015). Deciphering tissue-induced Klebsiella pneumoniae lipid A structure. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 369-375.
- Lluque, A., Mercado, E., Riveros, M., Alvarado, L., Salazar, E., & Ochoa, T. (2010). Comparación entre el Diagnóstico Serológico y el Diagnóstico por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para Escherichia coli Enteropatógena (EPEC). *Gastroenterología Peru*, 32-35.
- Lopardo, H. A. (2016). Cocos y Bacilos Gram Negativos. En H. A. Lopardo, *Introducción a la microbiología clínica* (págs. 69-72). Buenos Aires, Argentina: Universidad de la Plata .
- López JA., R. J. (2009). Enterobacterias y otros bacilos Gram negativos. *Microbiología de las Infecciones Humanas*, 130-140.
- López Molina, J. (14 de 03 de 2019). *Clasificación de los factores de patogenicidad*. Obtenido de Facultad de Medicina UNAM: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/patogenicidad.html>
- López Molina, J. (9 de mayo de 2019). *UNAM*. Obtenido de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/terapeutica.html>
- López Vargas, J. A. (2009). K. pneumoniae: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *IATREIA*, 157-161.
- Lorenzo Velázquez, P. (2008). *Farmacología Básica y Clínica*. México: Panamericana.
- Luján Roca, D. (2014). Pseudomonas aeruginosa: un adversario peligroso. *Acta bioquím. clin. latinoam*, 150-153.
- Mah TF, O. G. (2002). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol*, 34-39.
- Mandell, G. (2010). *Enfermedades infecciosas principios y practica*. Madrid: Elsevier.

- March C, C. V.-G. (2018). Role of bacterial surface structures on the interaction of *Klebsiella pneumoniae* with phagocytes. *PLoS ONE*, 11-20.
- Marchetti ML., E. J. (2011). Resistencia bacteriana a los antimicrobianos ocasionada por bombas de eflujo. Impacto en la multirresistencia. *ANALECTA VET*, 40-53.
- Mariana, G. (28 de Enero de 2019). *Lifeder*. Obtenido de Lifeder: <https://www.lifeder.com/enterobacterias/>
- Markey, B. L. (2013). Clinical Veterinary Microbiology. *Mosby ELSEVIER*, 67-70.
- Marreno J, L. M. (2015). Infeccion del tracto urinario y resistencia antimicrobiano en la comunidad. *Rev Cubana de Medicina General Integral*, 78-83.
- Martínez A, Z.-Z. I. (2009). Clinical impact of the over-expression of efflux pump inhibitors. *Curr Drug Targets*, 797-800.
- Martinez-Martinez, L. (2007). Association of ESBL with other resistance mechanisms. *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica*, 38-47.
- Mazariego K, C. A. (2010). Longus, a type IV pilus of enterotoxigenic *Escherichia coli*, is involved in adherence to intestinal epithelial cells. *Journal Bacteriology*, 2791-2800.
- Miller GH, S. F. (1999). The most frecuente aminoglycosideresistance mechanisms changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? *Clin Infect Dis*, 46.
- Montúfar-Andrade, F. E. (2015). Experiencia clínica con infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa, en una institución de enseñanza universitaria en Medellín, Colombia. *ELSEVIER*, 1-58.
- Morales Araya, M. d. (2000). Antimicrobianos: una revisión sobre mecanismos de acción y desarrollo de resistencia . *Acta Médica Costarricense*, 3-4.
- Moreno C, G. R. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Otorrinolaringología Cirugía Cabeza y Cuello*, 189-195.
- Morschhauser, J., Kohler, G., Ziebuhr, W., & Blum-Oehler., G. (2001). Evolution of microbial pathogens. *London Biology Science*, 695-700.
- Mosquito, S. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Peru medica*, 648-656.
- Moyá B, Z. L. (2010). Affinity of the new cephalosporin CXA-101 to penicillin-binding proteins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 54-58.

- MSD. (13 de Mayo de 2019). *Zerbaxa*. Obtenido de www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe.2013.pdf
- Msuda N, S. E. (2002). Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* . *Antimicrob agents chemother*, 44-46.
- Munita J, A. S. (2017). Multicenter Evaluation of Ceftolozane/Tazobactam for Serious Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical infec Dis*, 1-5.
- Muñoz, K. D. (2005). Los antibióticos y su situación actual. *REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA*, 21-25.
- Murano K, Y. T. (2008). Structural requirements for the stability of novel cephalosporins to AmpC beta lactamase based on 3D-structure. *Bioorg Med Chem.* , 2261-2265. .
- Murray, P. (2000). Manual of clinical microbiology . *Antibacterial agents*, 1281-1307.
- Navarro, F. (2010). Interpretive reading of enterobacteria antibiograms. *Enferm Infec Microbiol Clin*, 638-645.
- Nordmann, P. (2008). Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clinical Microbiology Infections*, 42-52.
- Ochoa, S. A. (2013). Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapénemicos, asociados con la formación de biopelículas. *Medicgraphic*, 138-150.
- Ochoa-Hein, E., & Galindo-Fraga, A. (2018). Paquetes preventivos para evitar infecciones nosocomiales (IAAS). *Revista Médica*, 334-336.
- OMS. (3 de Diciembre de 2015). *World Health Organization*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
- OMS. (5 de Mayo de 2019). *Instituto Nacional de Salud Publica* . Obtenido de <https://www.insp.mx/avisos/3476-resistencia-bacteriana.html>
- OMS. (6 de Mayo de 2019). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de <https://www.who.int/features/qa/75/es/>
- OMS. (12 de 02 de 2019). *World Health Organization* . Obtenido de World Health Organization : <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>

- Paciel, D. (2011). Enterobacterias productoras de KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemasa). *In press*, 1-9.
- Patel, J. (2001). 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Molecular Diagnosis*, 313-321.
- Patrick, R. M. (2007). *Manual of Microbiology*. Washington, DC: AMS Press.
- Pérez Granados, R. (2005). *Microbiología Tomo I*. Madrid: Paraninfo.
- Pérez Matera, J. (2000). Infecciones en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). *Revista Científica Salud Uninorte*, Vol 12, 1-4.
- Pérez, H., & Robles, A. (2016). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Gale*, 180-185.
- Pérez, N., Pavas, N., & Rodríguez, E. I. (2011). Resistencia a los antibióticos en Escherichia coli con beta-lactamasas de espectro extendido en un hospital de la Orinoquia colombiana. *Infectología*, 147-150.
- Picazo, J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *Procedimientos en Microbiología Clínica*, 3-7.
- Ponce de León, S. e. (2018). Estado Actual de la Resistencia Antimicrobiana en México. *Elsevier*, 8-9.
- Ponce de León-Rosales, S., Molinar-Ramos, F., Dominguez-Chertt, G., Rangel, F., & Vazquez-Ramos, V. (2000). Prevalence of infections in intensive care units in México; a multicenter study. *Critical Care Medicine*, 1316-1321.
- Poole K, V. J. (2004). Efflux mediated multi-resistance in Gram negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*, 12-20.
- Poole, K. (2002). Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa and related organisms. *Microbiology Biotechnology*, 64-255.
- Poole, K. (2007). Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current Pharmaceutical biotechnology*, 77-98.
- Poriel, L. (2007). Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiology*, 501-512.
- Puerta, G. (2010). Enterobacterias. *Unidad de Enfermedades Infecciosas*, 3426-3431.
- Puerta-García, A. (2010). Enterobacterias . *Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna*, 3427.
- Quintana, A. (2005). Antibioticos, bases microbiologicas del uso de antimicrobianos. *Manual of Clinical Microbiology*, 13-15.

- Ray Sherris, G. R. (2005). *Medical microbiology: An introduction to infectious diseases*. U.S.A: McGraw Hill.
- Resar R, G. F. (2012). Using care bundles to improve health care quality IHI innovation series white paper . *Cambridge Institute for Healthcare Improvement*, 51-60.
- Reyes, R., & Ramírez Saad, H. (2010). Mecanismos involucrados en la variabilidad del antígeno O de bacterias Gram negativas. *Revista Latinoamericana de microbiología*, 32-35.
- RHOVE. (2015). Informe Anual.
- Riera E, C. G.-C. (2011). Pseudomonas aeruginosa carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact in the activity of imipenem, meropenem and doripenem . *Journal Antimicrob Chemother*, 2022-2025.
- Rincón-León HA., N.-F. (2016). Tendencias de resistencia antimicrobiana en patógenos aislados de infecciones nosocomiales. *Rev Med Inst Mex Seguro Social*, 32-40.
- Ríos-Mondragón L., P.-G. R. (2012). Perfiles de resistencia antimicrobiana en hemocultivos en un hospital de tercer nivel. *Rev Saínd Milt Mex*, 7-12.
- Rodríguez Salgado, M. (2017). Frecuencia de infecciones asociadas a la atención de la salud en los principales sistemas de información de México. *Boletín CONAMED-OPS*, 2-7.
- Rodríguez, E. (9 de Marzo de 2012). *Antibióticos*. Obtenido de https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/154530/mod_resource/content/1/Antibioticos.pdf
- Rodríguez, J. (2008). Clinical significance of extended spectrum beta-lactamases. *Expert Rev Anti infect Ther*, 671-683.
- Rojas N, C. E. (2008). *Bacteriología Diagnóstica*. Costa Rica: Mac Graw Hill.
- Rojas N., C. E. (2007). *Bacteriología Diagnóstica*. Costa Rica: Facultad de Microbiología.
- Rojas, O., Villafaña, J. G., & Nungaray, J. (2007). ANÁLISIS DE RUTAS METABÓLICAS EN Pseudomonas aeruginosa PARA LA PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE GLUCOSA USANDO MODOS ELEMENTALES. *e-Gnosis*, 8-9.
- Romeau, B., Salazar, P., Armando, N., & Daysi., L. (2008). Utilidad del sistema VITEK en la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de ecosistemas dulceacuícolas.

Revista de Microbiología y virología de la Facultad de Biología de Cuba, 3-9.

- Romero, R. (2008). *Microbiología y Parasitología Humana*. México D.F: Panamericana.
- Romeu, B. (2012). Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de Importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana. *Departamento de Microbiología y Virología*, 19-23.
- Ronald, J. (2001). Global aspects of antimicrobial resistance among key bacterial pathogens. *Antimicrobial program*, 32-56.
- Roy K, H. G. (2010). Enterotoxigenic *Escherichia coli* EtpA mediates adhesion between flagella and host cells. . *Nature*, 594-598.
- Ruiz-López IK, D.-H. J.-R. (2008). Resistencia en bacterias aisladas en pacientes con IAAS. *Enf Inf Microbiol*, 15-21.
- Salgado, P., Gilsanz, F., & Maseda, E. (2016). Aproximación terapéutica empírica a la infección por gramnegativos resistentes. Valor de los factores de riesgo. *Rev Esp Quimioter*, 26-30 .
- Salud, I. N. (2019 de Abril de 12). *Secretaría de salud 2011*. Obtenido de http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dess/descargas/estudios_especiales/NOSOCOMIAL_IF.pdf
- Sato T, S. Y. (2005). Structural features of *Escherichia coli* heat stable enterotoxin that activates membrane associated guanylyl cyclase. . *Clinical Microbiology*, 200-203.
- Scheutz, F. (2009). *Escherichia coli*; The probacteria part b the gammaproteobacterias. *Springer*, 607-623.
- Seral C, P. M. (2010). Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 12-20.
- Sheldon, A. (2005). Antibiotic resistance: a survival strategy. *Clinical Laboratory Society*, 170-172.
- Stahlhunt SG, S. C. (2012). Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. *FEMS Immunology Medical Microbiology*, 350-354.
- Steimle A, A. I. (2016). Structure and function: Lipid A modifications in commensals and pathogens. *J. Med. Microbiol.* , 290.

- Struve C, B. M. (2009). Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *Infectology Immunity*, 4055-4060.
- Suárez, C. J. (2008). Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas*, 85-93.
- Susan, M., Joaquim, R., José Luis, B., & Theresa, J. O. (2011). MECANISMOS MOLECULARES DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* , 648-656.
- Tafur, J. D. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Centro Internacional de Investigaciones Médicas*, 1-11.
- Tapia-Rombo KA, D.-C. I.-C. (2012). Características de las infecciones nosocomiales en el recién nacido con cultivo positivo. *Rev Invest Clin*, 508-515.
- Tártara, S. G. (2013). Pátogenos emergentes- tercera parte "*Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (KPN-KPC)". *Médica Infectóloga Universitaria UBA.*, 103-109.
- Tauschek M, G. R. (2007). Identification of a protein secretory pathway for the secretion of heat-labile enterotoxin by an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *PNAS*, 99-103.
- Tercero, E. (2008). Las Betalactamasas. *Facultad de medicina Marroquin* , 1-3.
- Tinoco, J. C., Salvador-Moysen, J., Pérez-Prado, M. C., Santillan-Martinez, G., & Salcido-Gutierrez, L. (2000). Epidemiología de las infecciones nosocomiales en un hospital de segundo nivel. *SciELO*, 6-10.
- Todar, K. (02 de Abril de 2019). *Todar's Online Textbooks of Bacteriology*. Obtenido de http://www.textbookofbacteriology.net/e.coli_4.html
- Toro, C. V. (2012). Mecanismos de acción de los antibióticos. *Programa de Microbiología y Micología* , 2-3.
- Truant, A. (2002). *Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology*. ASM Press, 521-524.
- UNR. (20 de Agosto de 2019). Obtenido de Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas:
https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/154530/mod_resource/content/1/Antibioticos.pdf

- Vallés, J. y. (2006). Neumonía por *Pseudomonas aeruginosa*. . *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 30-36.
- Velásquez Jaramillo, S. (2000). Prueba Épsilon (Etest). *CES Medicina* , 32-36.
- Víctor M. Chávez-Jacobo, M. I.-D.-S. (2015). Resistencia bacteriana a Quinolonas: Determinantes codificados en plásmidos. . *Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.*, 4-9.
- Vidal, J., Román Canizález, A., & Jiménez Guitiérrez, J. (2008). Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *E.coli* enteropatógena. *SCIELO*, 15-19.
- Vignoli, R. (2010). Principales grupos de antibióticos. *Temas de bacteriología y virología médica*, 631-633.
- Vila, J. (2007). Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Chemotherapy*, 1205-1210.
- Villegas MV, K. J. (2008). Prevalence of extended-spectrum b-lactamases in South America. *Clinical microbiology infections*, 154-158.
- Volcy, C. (2008). Historia de los conceptos de causa y enfermedad: paralelismo entre la Medicina y la Ftopatología. *IATREIA*, 415-417.
- Walsh T.R, T. M. (2006). Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? . *Clin Microbiol Rev*, 306-215.
- Willey, J., Woolverton, C., & Sherwood, L. (2019). *Prescott's Microbiology*. Estados Unidos: Mc Graw Hill.
- Williams, A. (2016). *Principles of Medicinal Chemistry*. United States: Lippincott.
- Winn, W. C., & Koneman, E. W. (2008). *Diagnóstico microbiológico*. Panamericana.
- Woolverton, C. J. (2019). Estructura celular bacteriana. En J. Willey, & L. Sherwood, *Prescott's Microbiology* (pág. 58). Estados Unidos: Mc Graw Hill.
- Zavascki AP, C. R. (2005). Risk factor for imipenem-resistant *P.aeruginosa* a comparative analysis of two case-control studies in hospitalized patients. *Journal Hosp Infect*, 96-100.

22 Anexo

Anexo 1. Hoja de resultados de un paciente masculino de 32 años, del área de cuidados intensivos, cultivo lavado broncoalveolar, muestra de resistencia bacteriaba en un Pseudomonas aeruginosa y Klebsiella pneumoniae



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
"Dr. Bernardo Sepulveda Gutierrez"
 Licencia Sanitaria 06 AM 09 006 067
LABORATORIO CENTRAL DE ANALISIS CLINICOS
HOJA DE RESULTADOS

Paciente: [Redacted]
NSS: [Redacted] **Agregado Médico:** [Redacted]
Edad: 32 años **Sexo:** M
Servicio Solicitante: UCI **Folio de la Orden:** [Redacted]
Fecha de Solicitud: 4 de octubre de 2018 14:15:38 **Cama:** 14
Fecha de la Cita: 4 de octubre de 2018 14:15:38 **N. de Consultorio:** 0
Médico Solicitante: [Redacted] **Fecha de última validación:** 04-oct-2018 13:16:51
Diagnostico: Sin Diagnostico Codificado **Tipo de Paciente:** Hospitalizado Piso
Com Dx Presuntivo: DX PBLE NEUMONIA

Bacteriología

Copia de Laboratorio

Tipo de Muestra: Cultivo - Lavado Broncoalveolar
Resultado: CON DESARROLLO

Microorganismos detectados:

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae</i>
	CMI	Interpretación	CMI	Interpretación
Ampicilina			>=32	Resistente
Ampicilina/Sulbactam			>=32	Resistente
Aztreonam			>=64	Resistente
Cefopime	16	Intermedio	>=64	Resistente
Cefixima			>=64	Resistente
Ceftazidima	>=64	Resistente	>=64	Resistente
Ceftriaxona			>=64	Resistente
Cefuroxima Acetil			>=64	Resistente
Cefuroxima Sodica			>=64	Resistente
Ciprofloxacino	1	Sensible	>=4	Resistente
Cloranfenicol				
Colistin			2	Sensible
Gentamicina	>=16	Resistente		
Imipenem	>=16	Resistente		
Levofloxacina			4	Intermedio
Meropenem	>=16	Resistente	>=16	Resistente
Minociclina				
Moxifloxacina			>=8	Resistente
Nitrofurantoina			256	Resistente
Piperacilina			>=128	Resistente
Piperacilina Tazobactam	64	Intermedio	>=128	Resistente
Tetraciclina				
Tigeciclina	>=8	Resistente	>=8	Resistente
Tosamocina	>=16	Resistente		
Trimetoprima			<=20	Sensible
Sulfametoxazol				

Resultados revisados y validados por: GBP. CLAUDIA IVETTE MARTINEZ GARCIA
Fecha y hora de validación: 11/10/18 13:16


Dra. Isabel Castillo Mercado
RESPONSABLE SANITARIO

a