



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA
ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**IMPACTO DEL USO DE CARBAPENÉMICOS EN LA APARICIÓN DE
BACIOS GRAMNEGATIVOS PRODUCTORES Y NO PRODUCTORES DE
CARBAPENEMASAS EN PACIENTES ONCOLÓGICOS**

TESINA

**QUE PARA OBTENER EL:
GRADO DE ESPECIALISTA**

**EN:
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**PRESENTA:
SUGEHILY ZARCO MARQUEZ**



**TUTORA
M.en F. MARIA DEL CONSUELO VELAZQUEZ ACOSTA**

[CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, 2023]



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente: M en C Luis Manuel Perea Mejía

Vocal: Dra Verónica Viñuela Berni

Secretario: Dr. Hugo Antonio Hernández Pérez

1er. Suplente M en C Carlos Alberto Eslava Campos

2do. Suplente: Dr. Alberto García Lozano

Trabajo realizado en el Instituto Nacional de Cancerología, Laboratorio de Microbiología

Tutor:

M.en F. Maria del Consuelo Velazquez Acosta

Sustentante:

Q.B.P. Sugehily Zarco Márquez

RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema de salud pública cada vez más complejo y se considera una de las peores amenazas en todo el mundo; el desarrollo de esta resistencia antimicrobiana en las bacterias es consecuencia de la adaptación evolutiva. Además hay múltiples factores asociados a su diseminación, entre ellos el uso desmedido y poco regulado de los antibióticos en la medicina humana, veterinaria, agricultura, ganadería y la industria.

Para el año 2050 la OMS estima que las llamadas “superbacterias” matarán anualmente a 10 millones de seres humanos.

Los carbapenémicos son antibióticos betalactámicos de mayor espectro, sus cualidades los hacen importantes en el tratamiento empírico, en monoterapia de numerosas infecciones nosocomiales graves incluso de algunas infecciones adquiridas en la comunidad y en la terapia dirigida contra bacterias gram negativas multirresistentes.

En el presente trabajo se encontraron 80 bacilos gramnegativos resistentes de un total de 8856 muestras a uno o más carbapenémicos; a 77 se realizó la prueba de inactivación de carbapenémico modificada publicada en las guías del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) 2023; de las 77 cepas de bacilos gramnegativos 49 (64%) fueron productores de enzimas carbapenemasas y 28 (36%) no productores. El antibiótico de tipo carbapenémico mayormente administrado a estos pacientes fue el meropenem para ambos casos tanto productores como no productores, y se realizó un análisis estadístico de relación prueba χ^2 de los

antibióticos administrados de tipo carbapenémico a pacientes hospitalizados y ambulatorios de este hospital oncológico con la aparición de bacilos gramnegativos productores y no productores de carbapenemasas, de un periodo de seis meses (enero-junio 2023) mediante el programa estadístico SPSS versión 25, en el cual se obtuvo como resultado que no existe relación entre los bacilos gramnegativos productores y no productores de carbapenemasas con la aplicación de antibióticos de tipo carbapenémico previo a su evento de infección.

ÍNDICE

RESUMEN	2
1.INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 Antecedentes.....	6
1.2 Betalactámicos.....	7
1.2 Clasificación de los betalactámicos	8
1.4 Carbapenémicos.....	15
1.5 Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias gramnegativas.....	17
1.6 Mecanismos de resistencia a carbapenémicos	19
1.7 Betalactamasas y Carbapenemasas	19
1.8 Estudios de betalactamasas y carbapenemasas en México ...	22
2. JUSTIFICACIÓN.....	25
3. HIPÓTESIS.....	25
4. OBJETIVOS	26
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	26
4.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
5.1 Tipo de estudio.....	27
5.2 Área de estudio.....	27
5.3 Materiales.....	27
5.3.1 Muestras	27
5.4 Criterios.....	27
5.4.1 Inclusión.....	27
5.4.2 Exclusión.....	28
5.4.3 Eliminación.....	28
5.5 Aspectos éticos	28
5.6 Variables.....	28
5.7 Proceso	29
5.8 Análisis estadístico	32
6. RESULTADOS	36
7. DISCUSIÓN.....	47
8. CONCLUSIONES.....	50

9. ANEXOS	52
Anexo 1. Flujo de trabajo para identificación de bacilos gramnegativos.....	52
Anexo 2. Caracterización de la resistencia a carbapenémicos en bacilos gramnegativos Interpretacion de antibiograma (<i>Enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa</i>).....	53
Anexo 2 continuación. Caracterización de la resistencia a carbapenémicos en bacilos gramnegativos.Técnica de Kirby Bauer (<i>Enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa</i>).....	55
Anexo 3. Método de inactivación de carbapenémico modificado (mMIC) CLSI 2023	56
Anexo 4. Técnica de hibridación para determinar tipo de enzimas carbapenemasas.....	58
10. BIBLIOGRAFÍA.....	63

1.INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Las enfermedades infecciosas siguen siendo, una de las causas más importantes de muerte en la humanidad (Álos, 2015). La introducción de los antibióticos en la práctica clínica permitió disminuir de forma importante y notable la morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Gonzalez et al., 2019).

Sin embargo, durante las últimas décadas, se está llegando a una etapa de descontrol, por un crecimiento acelerado de la resistencia antimicrobiana debido a múltiples factores como el uso inadecuado de los antibióticos (OPS, 2021). Al mismo tiempo, es escaso el descubrimiento de nuevas clases de antibióticos. Todo ello ha llevado a los especialistas a anunciar que estamos en la era post-antibiótica (Alonso et al; 2022)

La resistencia antimicrobiana se define como la capacidad de un microorganismo para resistir a los efectos de los antibióticos; es una característica inherente de la bacteria o puede ser una capacidad adquirida durante el proceso infeccioso (Giono et al; 2020).

La aparición de la resistencia antimicrobiana ha hecho que el tratamiento de enfermedades infecciosas, se vuelva una tarea complicada y desafiante para el médico que debe brindar opciones terapéuticas, racionales y basadas en evidencias para mejorar la salud de los pacientes (Gonzalez et al., 2019).

El impacto sobre los pacientes particularmente vulnerables (con inmunodeficiencias o enfermedades crónicas) es más evidente, lo que resulta en una enfermedad prolongada y una mayor mortalidad (Perozo, 2014).

El desarrollo de resistencia a los antimicrobianos es acelerado por la presión selectiva ejercida por uso y abuso de los agentes antimicrobianos en los seres humanos y animales. La falta de nuevos antimicrobianos para reemplazar a los que actualmente funcionan de manera ineficiente, trae mayor urgencia a la necesidad de proteger la eficacia de los medicamentos existentes (Perozo, 2014).

Entre los antibióticos comúnmente utilizados para tratar las infecciones ocasionadas por bacilos gramnegativos se incluyen los siguientes.

1.2 Betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos, constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, inhibidores de las penicilinasas y carbapenémicos) y la más utilizada en la práctica clínica; su mecanismo de acción es la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana (Suarez y Gudiol, 2009). Tienen en común el anillo betalactámico (Figura 1) (Astocondor; 2018). Algunas modificaciones de la molécula original han dado lugar a compuestos con mayor espectro antimicrobiano, pero la progresiva aparición de resistencias limita su uso empírico y su eficacia en determinadas situaciones (Suarez y Gudiol, 2009).

Hoy en día, los betalactámicos siguen siendo los antibióticos más utilizados debido a su eficacia comparativamente alta, bajo costo, facilidad de administración y efectos secundarios mínimos (Wilke et al; 2005).

Se trata de antibióticos de acción bactericida lenta, con actividad dependiente del tiempo, que en general tienen buena distribución y escasa toxicidad (Suarez y Gudiol, 2009).

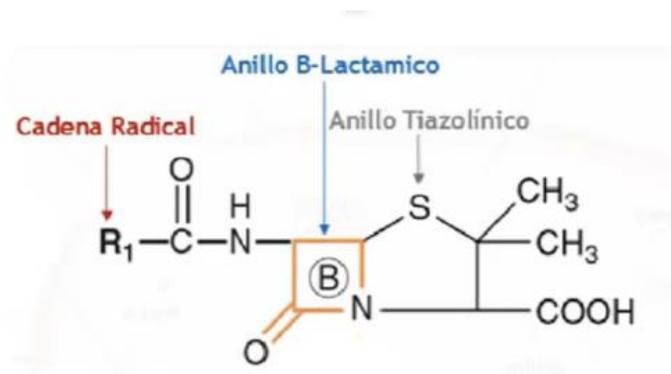


Figura 1. Estructura química de la penicilina resaltando anillo betalactámico el cual es componente en común de varios betalactámicos y consiste en un anillo heterocíclico de 4 átomos, tres de carbono y uno de nitrógeno y una cadena lateral.

1.2 Clasificación de los betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos pueden clasificarse de acuerdo a su espectro de acción, y estructura química (Cruz y Diaz; 2010)

Los primeros antibióticos betalactámicos conocidos pertenecen al grupo de las penicilinas, y su estructura básica consiste en el anillo betalactámico (esencial para la actividad antibacteriana), anillo tiazolidínico que originan el ácido 6-aminopenicilánico, una cadena lateral en la posición 6 del anillo que es determinante del espectro y la farmacocinética (Figura 1) (Alpizar, 2000).

Las penicilinas las podemos dividir según su actividad antibacteriana y tenemos a las siguientes clases (tabla 1)

- Penicilinas naturales como la penicilina G que tiene buen actividad frente a microorganismos como *Streptococcus pyogenes* y *Treponema pallidum* su administración es intravenosa, su vida media es corta por lo que se añade procaina o benzatina para que la concentración se mantenga horas o semanas (Gomez et al; 2015)
- Isoxazolilpenicilinas son activas fundamentalmente sobre grampositivos, pero resistentes a la penicilinasa producida por *Staphylococcus aureus*.
- Penicilinas semisintéticas o aminopenicilinas se desarrollaron en la década de 1960 en este grupo se incluye la ampicilina que es bactericida tanto para bacterias grampositivas y gramnegativas, pero por su limitada absorción oral 40% se busco otra molécula con mejor biodisponibilidad como la amoxicilina con 75% de absorción oral (Gomez et al; 2015).
- Penicilinas resistentes a penicilinasas como la meticilina que tenia como objetivo el tratamiento de infecciones por *Staphylococcus aureus* productor de penicilinasa, en la actualidad este antibiótico ha sido reemplazado por otras penicilinas mas estables como oxacilina y dicloxacilina.(Gomez et al; 2015).

Tambien a este grupo pertencen las carboxipenicilinas y ureidopenicilinas las cuales amplían el espectro a los gramnegativos, pero la actividad sobre los grampositivos puede ser menor (carboxipenicilinas, ureidopenicilinas) o nula (amidopenicilinas). (Arnau et al., 2013)

- Inhibidores de betalactamasas, son compuestos de diferente origen (sintético o natural) y estructura química, los más importantes son de naturaleza betalactamica (Figura 2) como el ácido clavulánico combinado con amoxicilina y dos derivados sulfónicos del ácido penicilánico el sulbactam que combinado con ampicilina aumenta su actividad antibacteriana y tazobactam combinado con piperacilina; los tres compuestos tienen una actividad muy similar y mejoran la cobertura frente a *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y algunas enterobacterias (Barcelona et al; 2008)

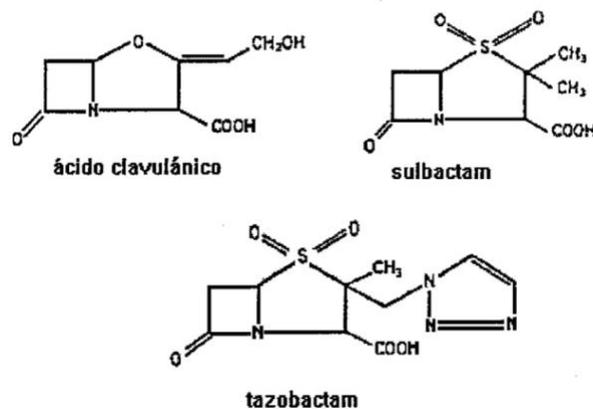


Figura 2. Estructura química de los principales inhibidores de betalactamasas los cuales comparten el anillo betalactámico; para el ácido clavulánico esta característica permite a la molécula actuar con las enzimas betalactamasas de algunas bacterias comportandose como un inhibidor suicida. (Gomez et al; 2015)(Cruz y Diaz; 2010)

- Otros antibióticos betalactámicos son las cefalosporinas que su estructura básica consiste en un núcleo cefémico (fusión de un anillo betalactámico y otro dihidrotiazínico, esencial para la actividad antibacteriana) y dos cadenas

laterales (Figura 3) las cuales son importantes por que le confieren espectro de acción y su farmacocinética (Arnau et al., 2013).

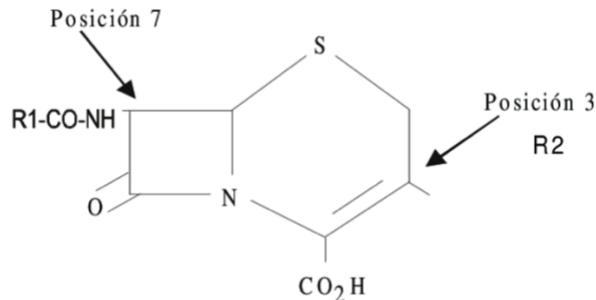


Figura 3. Estructura química básica de las cefalosporinas poseen un anillo betalactámico fusionado con un anillo dihidrotiazínico constituyendo el núcleo *cefem* (Mella et al; 2001)

Estas cefalosporinas son muy parecidas a las penicilinas, ejercen su acción inhibiendo la síntesis de pared celular sólo que han mostrado tener una buena resistencia a las enzimas betalactamasas (Rivas et al; 2002)

Existe una amplia gama de clasificaciones, entre ellas la clasificación por su estructura química, la cual agrupa a las cefalosporinas de acuerdo a sus sustituyentes presentes en el carbono 7 de la cadena lateral, teniendo cuatro grupos: cefalosporinas sustituidas y no sustituidas en la cadena lateral; α -amino cefalosporinas y aril-oxiimino cefalosporinas. (Mella et al; 2001)

Otra clasificación agrupa a estos compuestos de acuerdo a su desarrollo histórico o cronología y algunas características microbiológicas y estructurales en común, las agrupa en las denominadas generaciones (Gomez et al; 2015)(Tabla1), los miembros de una generación comparten una actividad antibacteriana similar (Rivas et al; 2002).

Por lo que en esta clasificación tenemos a las cefalosporinas de primera generación son de administración oral y parenteral (Rivas et al; 2002) desde un punto de vista farmacológico se caracterizan por sus cortos tiempos de vida media, baja penetración al líquido cefalorraquídeo y excreción por vía urinaria (Mella et al; 2001)

Las cefalosporinas de segunda generación de estas también se cuenta con orales y parenterales, ofrecen una cobertura más extensa que las cefalosporinas de primera generación ya que incrementan su actividad contra microorganismos gramnegativos, en especial: *Haemophilus influenzae* y *Neisseria sp.*(Rivas et al; 2002)

En esta generación existe un subgrupo en donde se incluyen moléculas como las cefamicinas que químicamente son 7-alfa metoxi-cefalosporinas teniendo a la cefoxitina como la más potente de este subgrupo (Rivas et al; 2002), además de cefotetan y cefmetazole que son activos contra el grupo de *Bacteroides fragilis* (Mella et al; 2001)

En las cefalosporinas de tercera generación se cuenta con varias moléculas que tienen propiedades diferentes entre ellas, los denominados agentes aminotiazólicos en donde se incluye a la cefotaxima y la ceftriaxona ambas con administración parenteral (Gomez et al; 2015). Estas cefalosporinas resultan más eficaces in vitro frente a los bacilos gramnegativos y frente a cocos grampositivos (excepto *Staphylococcus aureus*) que los fármacos de primera y segunda generación.(Rivas et al; 2002)

Las generaciones de cefalosporinas aumentaron la actividad frente a bacilos gramnegativos, pero perdieron eficacia contra cocos grampositivos, por lo que esta

limitación sirvió para el impulso a desarrollar las cefalosporinas de cuarta generación (Gomez et al;2015). Las cuales surgen en 1992, son compuestos zwitteriónicos que tienen en la posición 3 un sustituyente portador de un centro de amonio cuaternario que es responsable de su mayor espectro (Rodriguez et al; 2013)

Aquí se incluyen el cefepime y el cefpirone las dos de administración parenteral tienen un amplio espectro de acción comparadas con las de tercera generación y tienen una gran estabilidad contra enzimas betalactamasas mediadas cromosomalmente y por plásmidos (Rivas et al; 2002)

En el caso de las llamadas cefalosporinas de quinta generación buscan resolver el problema de poca o ausencia de actividad contra los cocos grampositivos como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* resistente o no a meticilina, aquellos con sensibilidad reducida o con resistencia a vancomicina, con resistencia a linezolid y sensibilidad disminuida a daptomicina (Olarte et al;2018) y en este grupo tenemos a la ceftarolina esta molécula se originó por la modificación estructural de ceftazopran una cefalosporina de cuarta generación (Laudano; 2011)

- Los monobactámicos son otros betalactámicos en donde solo está incluida una molécula llamada aztreonam el cual presenta un espectro reducido, ya que solo es activo frente a Enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa* (Hamon et al; 2021). Este monobactámico es importante por que se puede administrar a personas con hipersensibilidad tipo 2 a penicilinas o cefalosporinas, atraviesa la barrera hematoencefálica por lo que puede ser una alternativa en dosis altas para el tratamiento de meningitis por bacilos gramnegativos (Gomez et al; 2015)

Tabla 1. Clasificación de los betalactámicos con ejemplo de algunos fármacos importantes de cada uno. (Arnau et al., 2013)

GRUPO	SUBGRUPO	FÁRMACO
PENICILINAS	Bencilpenicilinas	Bencilpenicilina (penicilina G) Fenoximetilpenicilina (penicilina V)
	Isoxazolilpenicilinas	Cloxacilina
	Aminopenicilinas	Amoxicilina, ampicilina, bacampicilina,
	Amidinopenicilinas	Pivmecilinam
	Carboxipenicilinas	Ticarcilina
	Ureidopenicilinas	Mezlocilina, piperacilina
INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS	Ácido clavulánico	Amoxicilina + ácido clavulánico
	Sulbactam	Ampicilina + sulbactam
	Tazobactam	Piperacilina + tazobactam
MONOBACTÁMICOS	No tiene	Aztreonam
CEFALOSPORINAS	Primera generación orales	Cefradoxilo, cefalexina, cefradina
	Primera generación parenterales	Cefalotina, cefapirina, cefazolina
	Segunda generación orales	Cefaclor, cefuroxima-axetilo cefprozilo
	Segunda generación parenterales	Cefamandol, cefonicida, cefoxitina cefuroxima
	Tercera generación orales	Cefixima, cefpodoxima-proxetilo ceftibuteno
	Tercera generación parenterales	Cefminox, cefoperazona, Cefotaxima, ceftazidima Ceftrizoxima, ceftriaxona
	Cuarta generación parenterales	Cefepima cefpiroma
	Quinta generación	Ceftarolina
CARBAPENÉMICOS	No tiene	Ertapenem, Meropenem, imipenem, Doripenem

1.4 Carbapenémicos

Dentro de los betalactámicos tenemos a los carbapenémicos que son los antibióticos betalactámicos de más amplio espectro, más actividad y con mayor resistencia a las enzimas betalactamasas (Moreno; 2013) incluidas las betalactamasas de espectro extendido BLEE (Gomez et al; 2015)

El desarrollo de los carbapenémicos fue en 1976 con el descubrimiento de la tienamicina producto del metabolismo de *Streptomyces cattleya*.(Moreno; 2013)

A pesar de sus propiedades antibacterianas la tienamicina era químicamente inestable, en soluciones acuosas, se hidrolizaba en medios con pH mayor a 8 por lo que se desarrolló un derivado estable la N-formimidoil tienamicina o también llamado imipenem. (Moreno ; 2013)

El imipenem, presentaba el inconveniente de ser inactivado por la dehidropeptidasa I renal (DHP-I), a nivel de tubulo proximal por lo que se asoció (1:1) a un inhibidor de esta enzima, la cilastatina (Moreno; 2013). Esta asociación imipenem/cilastatina fue el primer carbapenémico autorizado en la terapéutica humana, posteriormente se introdujeron meropenem, el ertapenem y el doripenem (Fresnadillo et al., 2010). Este carbapenémico tiene una vida media corta de una hora por lo que su administración se recomienda hacer a dosis de 500-1000 mg cada 6 horas(Gomez et al: 2015)

El meropenem tiene un espectro parecido al imipenem activo contra Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, es estable a la dehidropeptidasa I pero su vida media es un poco más larga de 1.8 horas (Moreno; 2013)

El doripenem es el carbapenémico que apareció al final de los otros carbapenémicos es muy similar al meropenem en cuanto a su espectro antimicrobiano ya que tiene actividad frente a grampositivos y es más efectivo para *Pseudomonas aeruginosa* (Gomez et al; 2015).

El ertapenem fue aprobado en 2002 por la por la European Agency for the Evaluation of Medical Products (EMA), tiene propiedades que lo diferencian de otros carbapenémicos, como la falta de necesidad de un inhibidor de la dehidropeptidasa y una vida media larga, lo que le hace adecuado para el tratamiento empírico de las infecciones graves adquiridas en la comunidad que para las infecciones intrahospitalarias, y su administración en una sola dosis diaria (Gobernado y Acuña 2007).

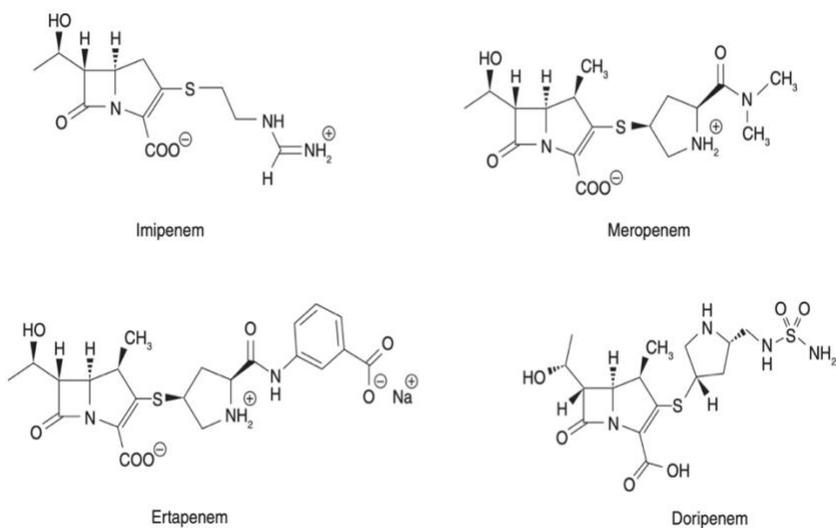


Figura 4. Estructura química de los carbapenémicos disponibles (Fresnadillo et al., 2010) Actualmente son cuatro los principales para uso clínico. Estos se diferencian por sustituciones en las posiciones del carbono 1 y 2 (Falco y Aranaga; 2015).

1.5 Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias gramnegativas

Es importante mencionar que las bacterias gramnegativas tienen diversos mecanismos de resistencia a los antibióticos y estos mecanismos están en constante evolución y pueden propiciar falla terapéutica, por lo que es indispensable conocer los mecanismos de resistencia más prevalentes en estas bacterias (Tafur et al., 2008).

Los bacilos gramnegativos pueden adquirir resistencia a los betalactámicos mediante 3 mecanismos diferentes ,y en ocasiones, pueden ir asociados a otros mecanismos que pueden causar resistencia a otras familias de antibióticos (Martin, 2002). Los principales mecanismos implicados en la resistencia son los siguientes:

1. Producción de enzimas (betalactamasas). Las bacterias expresan enzimas que pueden realizar cambios estructurales en los antibióticos, lo que provoca que pierdan su función (Tafur et al; 2008). Este es el mecanismo principal frente a los betalactámicos, especialmente en gramnegativos aunque también pueden producirlas grampositivos y anaerobios (Suarez y Gudiol, 2009).

Los genes que codifican estas betalactamasas puede estar en plásmidos o en el cromosoma bacteriano (Tafur et al; 2008). También existen betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), que son capaces de hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación y el monobactámico aztreonam (Suarez y Gudiol, 2009).

- 2.- Alteración de las proteínas fijadoras de penicilina que son el sitio blanco de los betalactámicos (Martin, 2002), como mutaciones, hiperexpresión y modificación de la afinidad; estas alteraciones pueden dificultar la unión del antibiótico betalactámico al sitio blanco, lo que disminuye la actividad del antibiótico (Suarez

y Gudiol, 2009). Este mecanismo de resistencia a betalactámicos puede estar presente también en microorganismos grampositivos como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Enterococcus faecium* (Suarez y Gudiol, 2009).

3.- Disminución en la permeabilidad de la membrana y bombas de expulsión (Suarez y Gudiol, 2009). En las bacterias gramnegativas la membrana externa actúa como una barrera, los betalactámicos necesitan atravesar esta membrana por unos canales llamados porinas que forman canales hidrófilos que permiten a las bacterias la captación selectiva de nutrientes esenciales (Falco y Aranaga; 2015). Se ha visto que las principales porinas en la familia Enterobacteriaceae implicadas en el transporte de antibióticos pertenecen a la familia OmpF y OmpC. Y alguna modificación en estas porinas puede originar resistencia a antibióticos. (Falco y Aranaga; 2015).

Las bombas de expulsión o flujo son estructuras proteicas capaces de expulsar del citoplasma y del periplasma bacteriano compuestos tóxicos para la bacteria, como los antibióticos (Falco y Aranaga; 2015). La expresión de estas bombas puede ser permanente ya que se expresan constitutivamente o intermitente ya que su expresión puede inducirse ((Falco y Aranaga; 2015).

Estos transportadores o bombas de expulsión se pueden clasificar en seis familias: ABC (*ATP binding cassette*), MF (*major facilitator*), MATE (*multidrug and toxic efflux*), RND (*resistance nodulation division*), SMR (*small multidrug resistance*) y DMT (*drug/metabolite transporter superfamily*) (Tafur et al; 2008).

1.6 Mecanismos de resistencia a carbapenémicos

La resistencia a los carbapenémicos es inusual, es menor que la que aparece a otros betalactámicos, es carácter local, en forma de brotes hospitalarios, aunque su incidencia va en aumento (Moreno, 2013). Esta resistencia puede deberse a alteraciones en la permeabilidad de la membrana, bombas de flujo o inactivación por betalactamasas estos mecanismos son responsables de la resistencia de las bacterias gramnegativas mientras que para las bacterias grampositivas las modificaciones del sitio blanco son las responsables de la resistencia (Moreno, 2013). En gramnegativos, puede ocurrir que cepas de *Pseudomonas aeruginosa* son sensibles a imipenem y resistentes a meropenem y doripenem, cepas de *Proteus spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.* o *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes a imipenem y sensibles a los otros carbapenémicos o de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter spp.* o *Citrobacter spp.* resistentes a imipenem y meropenem y sensibles a doripenem. De ello se deriva la necesidad de incluir en el antibiograma a todos los carbapenémicos (Martin, 2002).

1.7 Betalactamasas y Carbapenemasas

Las enzimas betalactamasas rompen el enlace amida del anillo betalactámico inactivando el antibiótico, son producidas por los bacilos gramnegativos como un mecanismo de resistencia (Rada et al., 2018).

Fueron clasificadas por Ambler de acuerdo a sus aminoácidos en cuatro clases A, B, C y D. Las clases A, C y D hidrolizan sus sustratos mediante una serina (serinoenzimas) y las de clase B son metaloenzimas que requieren de al menos un ion zinc para la hidrólisis del betalactámico (Bush y Jacoby, 2010).

La otra clasificación la realizaron Bush y Jacoby se basa en la capacidad de las enzimas para hidrolizar diferentes sustratos y su inhibición por diferentes compuestos como el (EDTA) ácido etilendiaminotetraacético (Lepe y Martinez, 2002). A esta clasificación se agregaron el grupo 1 de las cefalosporinas clase C, grupo 2 clases A y D, carbapenemasas de tipo serino de amplio espectro y resistentes a los inhibidores y metolobetalactamasas del grupo 3 (Bush y Jacoby, 2010). Para las carbapenemasas que tienen su acción sobre los antibióticos de tipo carbapenémico y sobre otros antibióticos de tipo betalactámicos tenemos de tipo A y tipo B (Tabla 2) (Bush y Jacoby, 2010).

Tabla 2. Clasificación de las betalactamasas

Grupo Bush-Jacoby (2009)	Clase molecular	Inhibidas por		Sustratos preferidos	Principales características	Enzimas representativas
	subclase	AC	EDTA			
1	C	No	No	Cefalosporinas	Mejor hidrolisis de cefalosporinas que bencilpenicilina	AmpC, P99, ACT-1, CYM-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	No	No	Cefalosporinas	Hidrolisis incrementada hacia ceftazidima y otros oximinobetalactámicos	GC1, CMY-37
2a	A	Si	No	Penicilinas	Mejor hidrolisis de bencilpenicilina que cefalosporinas	PC1
2b	A	Si	No	Penicilinas, cefalosporinas	Hidrolisis similar de bencilpenicilinas y cefalosporinas	TEM-1, TEM-2, SHV
2be	A	Si	No	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactam	Hidrolisis incrementada hacia ceftazidima y otros oximinobetalactámicos	TEM-3, SHV-2, CTXM-1, PER-1, VEM-1

2br	A	No	No	Penicilinas	Resistencia a ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	A	No	No	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactam	Hidrolisis aumentada hacia oximino-betalactámicos combinados con resistencia a AC, sulbactam y tazobactam	TEM-50
2c	A	Si	No	Carbenicilinas	Hidrolisis incrementada de la carbenicilina	PSE-1 CARB-3
2ce	A	Si	No	Carbenicilinas cefepime	Hidrolisis incrementada de la carbenicilina, cefepime	RTG-4
2d	D	Variab le	No	Cloxacilina	Hidrolisis incrementada de cloxacilina o de la oxacilina	OXA-1 OX-10
2de	D	Variab le	No	Cefalosporinas de espectro extendido	Hidrolisis cloxacilina o oxacilina y oximinobetalactámicos	OXA-11 OXA-15
2df	D	Variab le	No	Carbapenémicos	Hidrolisis cloxacilina o oxacilina y carbapenémicos	OXA-23 OXA-48
2e	A	Si	No	Cefalosporinas de espectro extendido	Hidrolisis de cefalosporinas, Inhibido por AC pero no por aztreonam	CepA
2f	A	Variab le	No	Carbapenémicos	Hidrolisis incrementada de carbapenémicos, oximinobetalactámicos, cefamicinas	KPC, IMI-1 SME-1
3^a	B (B1)	No	Si	Carbapenémicos	Hidrolisis de espectro extendido incluyendo carbapenémicos pero no monobactam	IMP-1, VIM-1 CrA, IND-1
	B (B3)					L1, Cau-1
3B	B (B2)	No	Si	Carbapenémicos	Hidrolisis preferentemente de carbapenémicos	CphA Sfh-1

AC: ácido clavulánico

Tomado de: (Mosquito et al., 2011)

1.8 Estudios de betalactamasas y carbapenemasas en México

La investigación sobre la resistencia bacteriana a los antibióticos en México se dirigió inicialmente, en las infecciones gastrointestinales, infecciones hospitalarias, brotes, epidemias o de patógenos persistentes (Rodríguez et al., 2014).

Rodríguez Noriega et al. (2014) en su investigación “La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973- 2013” realizó una revisión de la literatura científica relacionada con la resistencia bacteriana a los antibióticos realizada por investigadores mexicanos y registrada en Medline-PubMed entre 1973 y julio de 2013.

En dicha revisión se encuentran reportes sobre la producción de betalactamasas de espectro extendido, de metalobetalactamasas y carbapenemasas así como los sitios de aislamiento de bacterias productoras de BLEE en hospitales mexicanos entre el 2004 y el 2008, en los cuales se presentaron bacteriemias e infecciones urinarias por *Klebsiella pneumoniae* productoras de SHV-5 y TLA-1. También se informa la diseminación de una *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE SHV-5 y TEM-1, y de los plásmidos responsables de su diseminación; de *Serratia marcescens* productora de SHV-5, el cual causó un brote en 1999; y de la evolución durante 10 años de *Klebsiella pneumoniae* productoras de diferentes BLEE, principalmente SHV-5, en un hospital especializado de adultos en la Ciudad de México.

En la revisión se informó un hallazgo importante en la descripción de una metalobetalactamasa de tipo VIM-2 localizada en un integrón en las enterobacterias *Enterobacter cloacae* y en *Klebsiella oxytoca*, y una VIM-23 en *Enterobacter cloacae*

encontradas en un paciente quemado de un hospital en Guadalajara (Castanheira et al., 2011).

Mencionando otras investigaciones dedicadas al estudio de la resistencia antimicrobiana en México se encuentran:

El "Plan Universitario contra la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA)", coordinado desde el Programa Universitario de Investigación en Salud, de la UNAM, que colabora desde el año 2017 con una red de hospitales y laboratorios clínicos, recolectando y analizando los datos de las bacterias aisladas de muestras de hemocultivos y urocultivos con resistencia antimicrobiana; además informan el consumo de antibióticos en las instituciones participantes. En el cual, las tendencias reportadas en su primer y segundo reporte 2017 y 2018 destacan la elevada resistencia de bacterias gramnegativas, que deja pocas opciones terapéuticas y el alarmante nivel de resistencia de *Acinetobacter baumannii* (Ponce De Leon et al., 2018).

La red INVIFAR que por su siglas es la red temática de investigación y vigilancia de la farmacorresistencia. En una de sus publicaciones llamada "Drug resistance phenotypes and genotypes in Mexico in representative gram-negative species: Results from the infivar network" publicado en 2021, en donde colaboraron 52 centros de los cuales 43 fueron laboratorios de hospitales públicos y 9 laboratorios de hospitales privados; se estudiaron los resultados de identificación y susceptibilidad mediante una plataforma llamada WHONET para analizar los datos de distribución de la resistencia a los antimicrobianos para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* complejo, *Acinetobacter baumannii* complejo y *Pseudomonas aeruginosa* de

muestras de sangre, orina y muestras respiratorias. El estudio reporta que NDM-1 es el gen codificante de carbapenemasas más frecuente en México en Enterobacteriaceae,. Además, existe una alta circulación de BLEE tipo CTX-M-15 tanto en *Escherichia coli* como en *Klebsiella pneumoniae* (Garza et al., 2021).

JUSTIFICACIÓN

Los carbapenémicos son antibióticos betalactámicos de amplio espectro que se utilizan para tratar infecciones bacterianas graves. Sin embargo, el uso empírico excesivo de estos antibióticos es un factor para la selección de bacterias resistentes, lo que ha creado un problema de salud pública, la Organización Mundial de la salud estima que para el año 2050 los antibióticos tendrán poco o ningún efecto contra bacterias multidrogoresistentes. Por esta razón es importante saber, el tipo de microorganismo y susceptibilidad presente en infecciones ya sea de tipo intrahospitalario o ambulatorio, así como una selección correcta en la administración de antibióticos. En el presente trabajo se presenta información epidemiológica acerca de los bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos ya sea por la producción o no producción de enzimas carbapenemasas de pacientes oncológicos hospitalizados y ambulatorios, de esta forma se apoyará el desarrollo y aplicación de estrategias eficaces para reducir la aparición y propagación de la resistencia.

3. HIPÓTESIS

El uso de antibióticos de clase carbapenémicos empírica previo a la infección presentada en los pacientes se relaciona con la selección de bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas en pacientes oncológicos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar si la administración de antibióticos de clase carbapenémico en los pacientes oncológicos previo a una infección durante su estancia hospitalaria, contribuye con la selección de bacilos gramnegativos productores y no productores de carbapenemasas.

4.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar e identificar género y especie las cepas de bacilos gramnegativos de pacientes oncológicos del Instituto Nacional de Cancerología de enero a junio del 2023, mediante espectrometría de masas.
- Identificar a los bacilos gramnegativos productores de enzimas carbapenemasas mediante la prueba de inactivación de carbapenémico (mMIC) (Método modificado Inactivación de Carbapenémico) descrito en la CLSI 2023.
- Realizar técnica de hibridación reversa para identificar tipo de carbapenemasas que producen los bacilos gramnegativos con prueba de inactivación de carbapenémico positiva.
- Consultar esquema de antibióticos empíricos de tipo carbapenémico que recibieron los pacientes que tuvieron cepas de bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos mediante el expediente electrónico (INCANET) sistema informático donde se visualiza el expediente clínico digital.

- Realizar el análisis estadístico de frecuencias y análisis de relación con el uso de antibióticos vs detección de carbapenemasas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de estudio

Estudio observacional retrospectivo transversal

5.2 Área de estudio

Se realizó en el Instituto Nacional de Cancerología, hospital de tercer nivel.

5.3 Materiales

5.3.1 Muestras

80 cepas resistentes a carbapenémicos de 8856 muestras de pacientes del Instituto Nacional de Cancerología hospitalizados y de consulta externa, colectadas de enero a junio del 2023 en el servicio de laboratorio clínico; las muestras debían cumplir los criterios establecidos por el laboratorio de microbiología (5.7 proceso) donde fueron procesadas, estos requisitos son revisados en el área preanalítica del laboratorio clínico.

5.4 Criterios

5.4.1 Inclusión

Muestras con los bacilos gramnegativos (de abril a junio) con resultados intermedios o resistentes a uno o más carbapenémicos en el antibiograma obtenido por el equipo automatizado vitek 2 ,

Bacilos gramnegativos aislados de muestras de pacientes en los meses de enero a marzo recuperados del cepario y con resultado de intermedios o resistentes a uno o más carbapenémicos en el antibiograma obtenido por el equipo automatizado vitek 2

5.4.2 Exclusión

Bacilos gramnegativos de muestras de pacientes que no cuenten con datos de administración de antibióticos en el sistema informático INCANET.

Bacilos gramnegativos a los cuales no se recomienda la prueba de inactivación de carbapenémico modificada (mMIC).

5.4.3 Eliminación

Muestras que después de ser analizadas no contienen bacilos gramnegativos con resistencia a algún carbapenémico.

5.5 Aspectos éticos

No fue necesario solicitar aprobación del comité de ética del Instituto ya que el trabajo es parte de la rutina en el área de microbiología.

5.6 Variables

Tabla 3. Operacionalización de variables de estudio

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA
Sexo	Cualitativa	Condición biológica que distingue al hombre de mujer	0 MUJER 1 HOMBRE	Frecuencia y porcentaje
Tipo de cáncer	Cualitativa	Tipo de cáncer de acuerdo a su servicio	Gastrointestinal Ginecológico Hematológico Urológico	Frecuencia y porcentaje
Origen biológico o sitio anatómico	Cualitativa	Se refiere a la procedencia anatómica de la muestra de donde se obtuvieron los BGN	Hemocultivo Urocultivo Secresión Heridas quirúrgicas Líquido pleural Líquido peritoneal	Frecuencia y porcentaje

Servicio	Cualitativa	Servicio al cual 29electrónico los pacientes no importando si son de consulta externa u hospitalizados	Hematología Urología Ginecología Infectología Enfermería Piel y partes blandas	Frecuencia y porcentaje
BGN	Cualitativa	BGN encontrados con resistencia a uno o más carbapenémicos	Variedad de Géneros y especie	Frecuencia y porcentaje
Prueba mMIC	Cualitativa	Prueba que se realiza para detectar si los BGN con resistencia a uno o más carbapenémicos es productor o no de enzimas carbapenemasas	0 no productor 1 productor	Porcentaje
Tipo de carbapenemas	Cualitativa	Tipo de carbapenemasas obtenida mediante hibridación	Diferentes tipos NDM OXA IMP GES VIM	Frecuencia
Administración de antibiótico de tipo carbapenémico	Cualitativa	Condición que se verificó en expediente 29electrónico	0 no administrado 1 si administrado	Frecuencia y porcentaje
Mortalidad	Cualitativa	Condición biológica activa de sobrevivencia	Si murió No murió	Frecuencia y porcentaje

5.7 Proceso

El análisis comienza con:

1. Las muestras microbiológicas que obtiene el personal de enfermería o personal médico son recibidas en el laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Cancerología (INCAN). Las cuales previamente fueron revisadas en el área de recepción de muestras por el personal de laboratorio clínico (etapa preanalítica)

en cuanto a las características que deben de cumplir como nombre completo del paciente, expediente completo, sitio anatómico, fecha de toma ,hora de toma , estar en el contenedor estéril o bien en el medio de transporte adecuado; y que de acuerdo con su sitio anatómico u origen biológico (sangre, orina, esputo, líquidos estériles, heridas quirúrgicas, etc) son registradas por el personal del área de microbiología (etapa analítica) en la bitacora correspondiente según el tipo de muestra al que pertenece, se asigna un número interno de acuerdo a su bitacora y estas muestras son sembradas en diferentes medios de cultivo como agar sangre, agar MacConkey y agar chocolate.

2. Las muestras se incubaron de 24 a 48 horas o hasta 5 días dependiendo el origen biológico.
3. Se realizó la interpretación de los cultivos como positivo o negativo , de acuerdo al origen del cultivo ; ejemplo si se realizó la interpretación de un urocultivo este debe contar con 100 000 Unidades formadoras de colonias/mL (Figura 5)



Figura 5. Representacion de un urocultivo positivo en agar MacConkey

4. Se resembraron las cepas bacterianas en agar sangre para identificar el género y especie mediante la tecnología de espectrometría de masas en equipo vitek MS o pruebas fenotípicas automatizadas en equipo vitek 2. (Figura 6)



Figura 6. Lado izquierdo equipo para identificación por espectrometría de masas vitek MS de casa comercial Biomerieux; lado derecho equipo para identificación por pruebas bioquímicas Vitek 2 casa comercial Biomnerieux.

5. Se realizó lectura de antibiograma y selección de bacilos gramnegativos resistentes o intermedios a uno o más antibiótico de clase carbapenémico. (Anexo 1 y 2)
6. Se realizó método modificado para inactivación de carbapenémico (mMIC) descrito en CLSI 2023.(Anexo 3)
7. Se realizó técnica hibridación reversa para identificar tipo de enzimas carbapenemasas de las cepas resistentes a carbapenémicos con prueba positiva de inactivación (mMIC) (Anexo 4).
8. Se ejecutó la recopilación de datos sobre la administración de antibióticos de clase carbapenémicos de los pacientes con bacilos gramnegativos y además se agregaron datos demográficos de los pacientes.

9. Se realizó el análisis de frecuencias de la población y se realizó el análisis de relación con la prueba de χ^2

5.8 Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico Statistical package for social sciences (SPSS) versión 25 para obtener las frecuencias y porcentajes de todas las variables cualitativas.

Se realizó un análisis de relación con la prueba de χ^2 entre la administración de antibióticos de tipo carbapenémico y la producción o no de carbapenemasas de bacilos gramnegativos encontrados en muestras de pacientes oncológicos de diferentes servicios hospitalizados y consulta externa en un periodo de 6 meses mediante la prueba de χ^2 . Se consideró significativo un valor de $P < 0.05$.

Figura 7. Flujo general de trabajo



Figura 7. Flujo general de trabajo parte 2



Figura 7. Flujo general de trabajo parte 3



6. RESULTADOS

En el gráfico 1 se representa la distribución de los bacilos gramnegativos en la población de estudio resistente a uno o más carbapenémicos encontrados por medio del antibiograma en el equipo Vitek 2, con respecto al género, 33 mujeres que corresponde al 41% de la población de estudio 47 hombres que corresponde al 59% de la población de estudio.

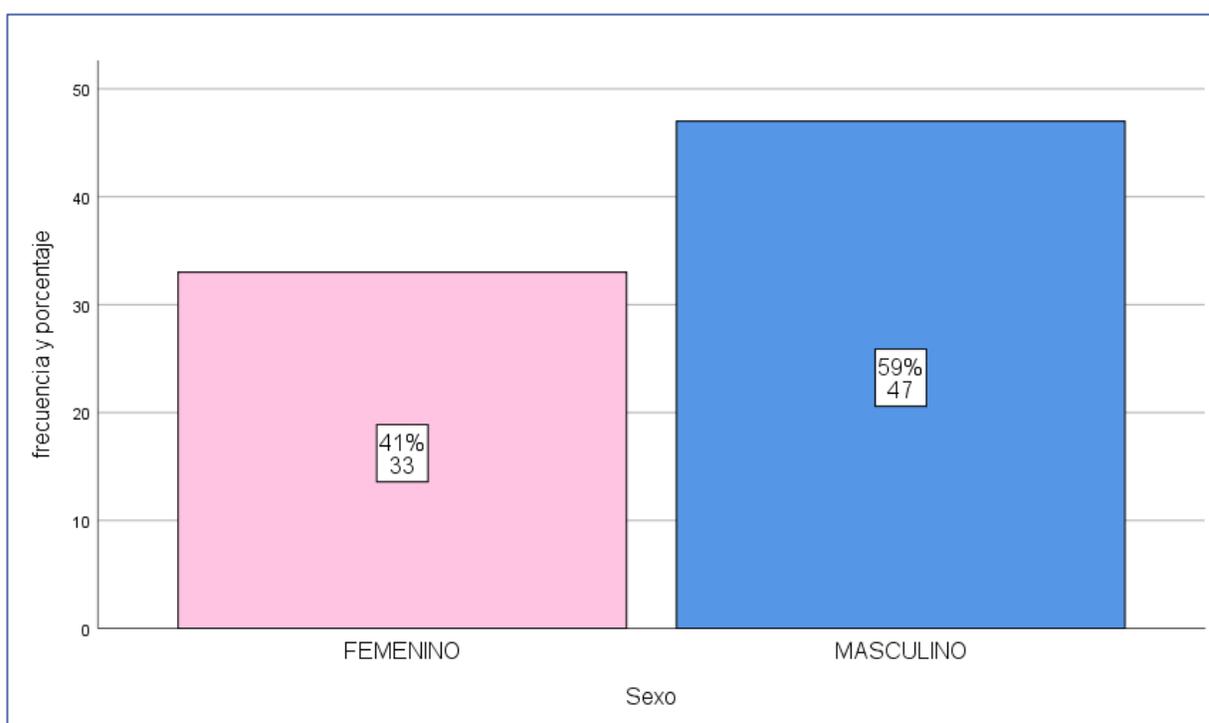


Gráfico 1 Distribución de acuerdo al género de bacilos gramnegativos resistente a uno o más carbapenémicos.

En el gráfico 2 se presenta la distribución en frecuencia y porcentaje de los bacilos gramnegativos aislados de pacientes oncológicos de acuerdo a la localización del cáncer. El cual se clasificó en solo 4 tipos gastrointestinal, hematológicos, ginecológicos y de urología si el paciente presentaba un cáncer de estómago, páncreas, intestino, órganos a fines se clasificó como gastrointestinal, en los pacientes hematológicos están los diferentes tipos de leucemias y linfomas , para los pacientes ginecológicos se refiere a cáncer de ovario, endometrio y sitios anatómicos a fin y en pacientes de urología se refiere a pacientes de próstata y testículo.

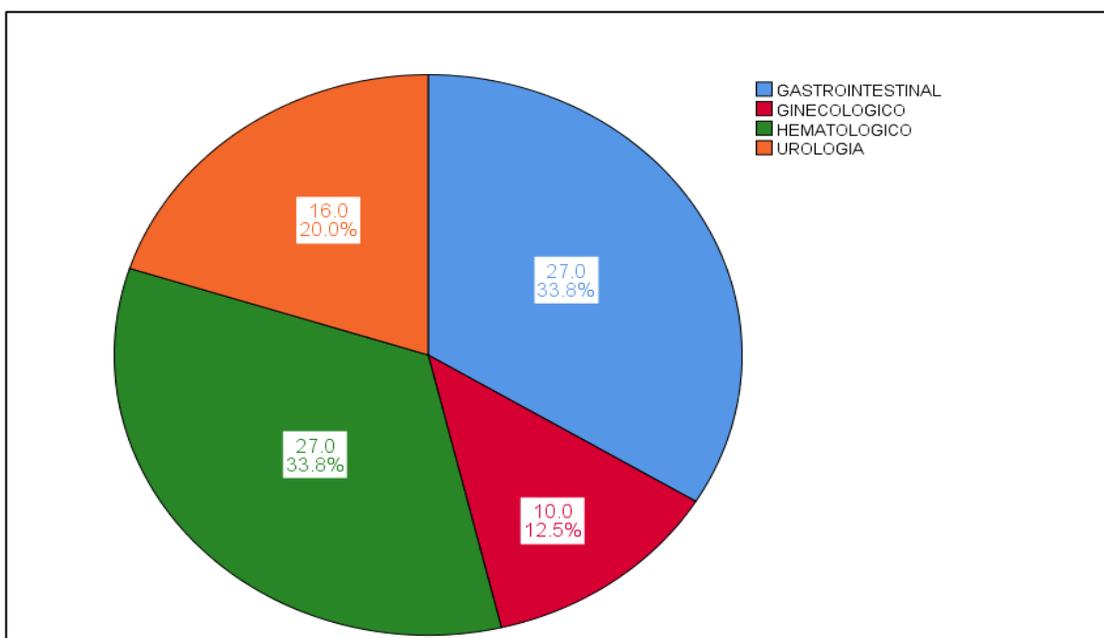


Gráfico 2. Distribución de pacientes de acuerdo a su tipo de cáncer.

Del servicio de hematología y gastroenterología se tuvieron 27 pacientes con bacilos gramnegativos resistentes a uno o más carbapenémicos que corresponde a 33.8%, seguido del servicio de urología con 16 pacientes que corresponde a 20% y del servicio de ginecología 10 pacientes (12.5%) con bacilos gram negativos resistentes a carbapenémicos.

En el gráfico 3 esta representada la distribución en frecuencia y porcentaje del origen biológico o bien sitio anatómico del cual fueron recolectadas las muestras de los pacientes oncológicos con bacilos gramnegativos con una o más resistencia a los antibióticos de clase carbapenémico; y se encontró el mayor porcentaje 41% (n=33), seguido hemocultivos de 28% (n=22), herida de abdomen 8% (n=6). Líquido biliar, secreción de otros sitios anatómicos y secreción bronquial con 4% cada uno (n=3), otros tipos de muestra representan el 8%.

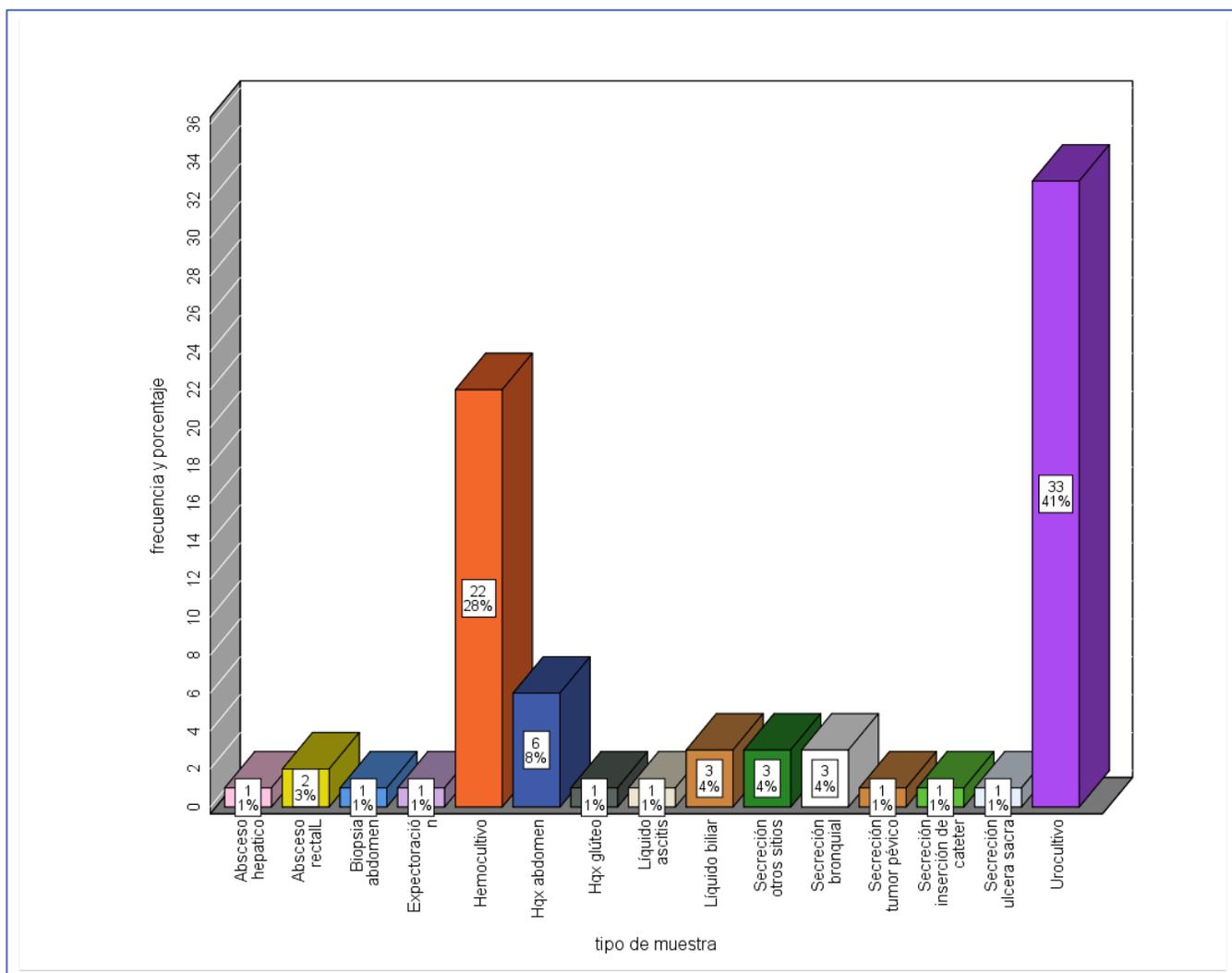


Gráfico 3. Distribución del origen biológico las muestras.

En el gráfico 4 se representa la distribución de los bacilos gramnegativos resistentes a uno o más carbapenémicos por servicio hospitalario al cual pertenecen los pacientes se obtuvo el mayor porcentaje en el servicio de hematología con 31% (n=25) seguido del servicio de gastroenterología con un 25% (n=20), urología con 24%(n=19). Ginecología 13% (n=10), cirugía plástica 3% (n=2) y otros servicios representan el 4% (n=4).

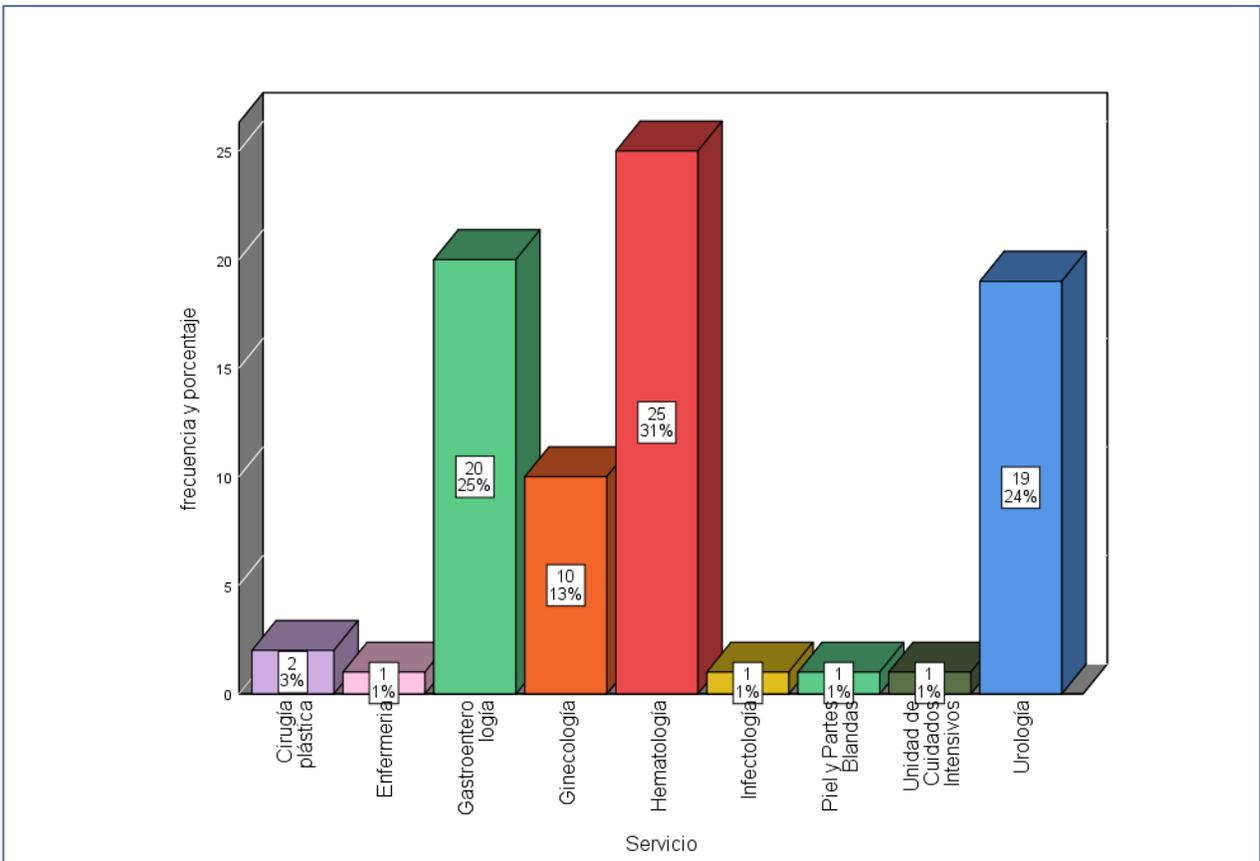


Gráfico 4. Distribución de los bacilos gramnegativos resistentes a uno o más carbapenémicos por servicio hospitalario de los pacientes.

En el gráfico 5 se observa la distribución de los bacilos gramnegativos con resistencia a uno o más carbapenémicos aislados en los pacientes oncológicos, se obtuvo con el porcentaje mas alto *Escherichia coli* con 58% (n=46) seguido de *Pseudomonas aeruginosa* con 31% (n=25), *Klebsiella pneumoniae* con 4% (n=3), *Enterobacter cloacae* 3% (n=2) y otros bacilos gramnegativos juntos representan el 4% (n=4) con 1% cada uno.

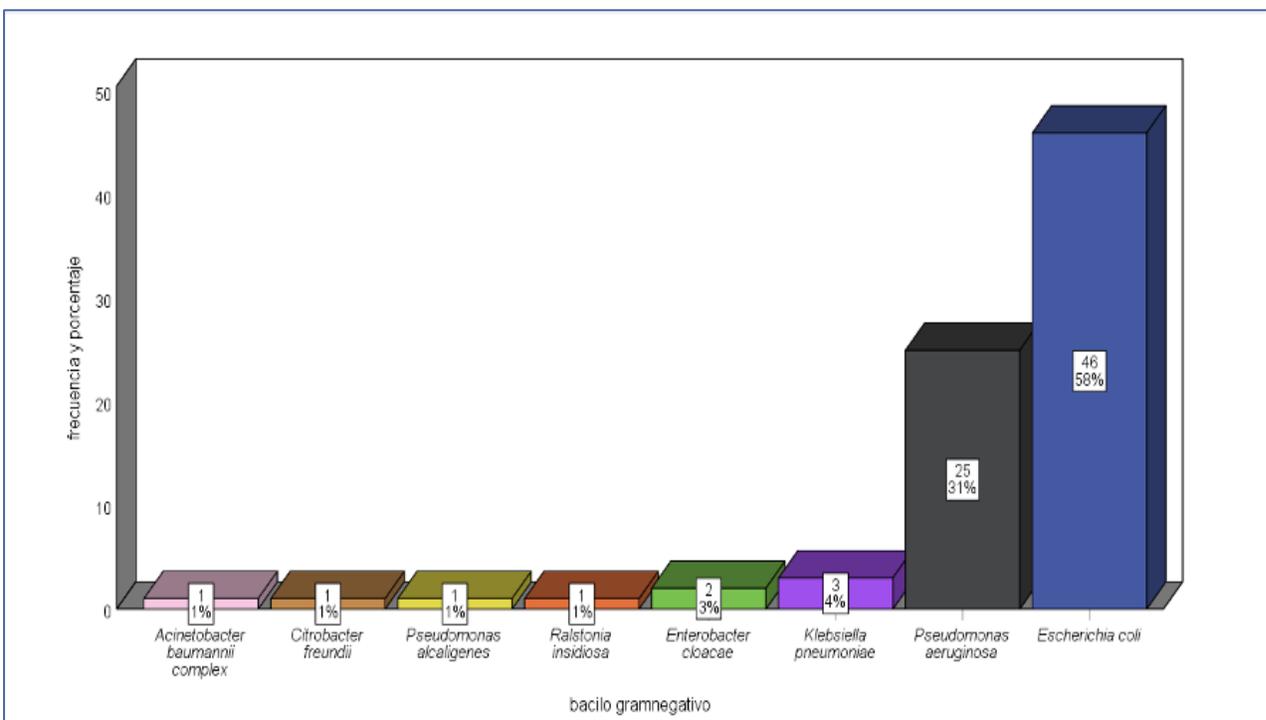


Gráfico 5. Género y especies de bacilos gramnegativos con resistencia a uno o más carbapenémicos aislados en los pacientes oncológicos.

En el gráfico 6, porcentaje y frecuencia de bacilos gramnegativos productores y no productores de carbapenemasas de acuerdo a la prueba de método de inactivación de carbapenémico (mMIC) de la CLSI 2023 , se muestra que 49 bacilos tuvieron una prueba positiva de inactivación de carbapenémico y 28 bacilos con prueba negativa de inactivación de carbapenémico.

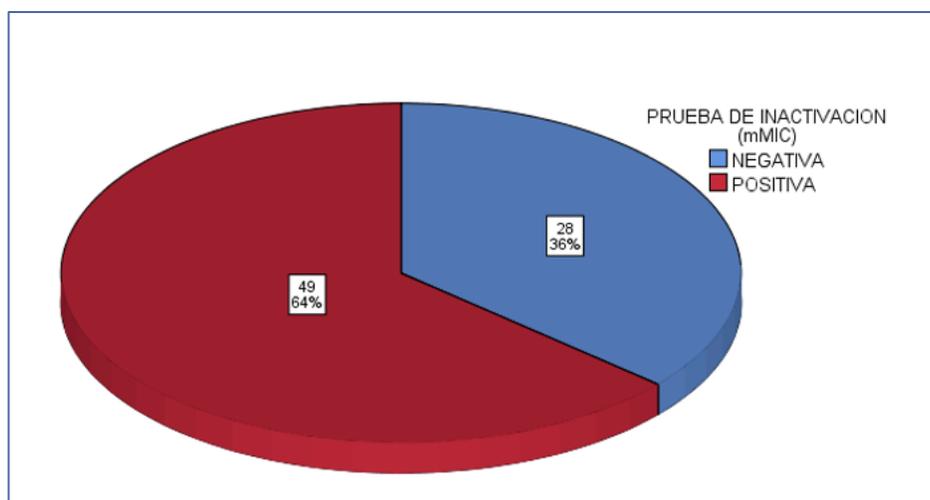


Gráfico 6. Porcentaje de bacilos Gram negativos productores y no productores de carbapenemasas de acuerdo a la prueba de mMIC

Enfatizando que esta prueba solo se realizó a 77 de los 80 bacilos gramnegativos ya que 3 que fueron excluidos para esta prueba por no estar recomendada por la CLSI. Los bacilos gram negativos excluidos de esta prueba fueron: *Pseudomonas alcaligenes*, *Ralstonia insidiosa* y *Acinetobacter baumannii* complejo.

Con respecto al gráfico 7 de los bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas se encontró al tipo NDM en mayor porcentaje con un 69% (n=34) , seguido de OXA-48 con 16% (n=8), VIM y GES con 6% (n=3) cada una y 2% (n=1) de una combinación de dos enzimas carbapenemasas NDM con OXA-48 en un bacilo gramnegativo el cual fue *Escherichia coli*.

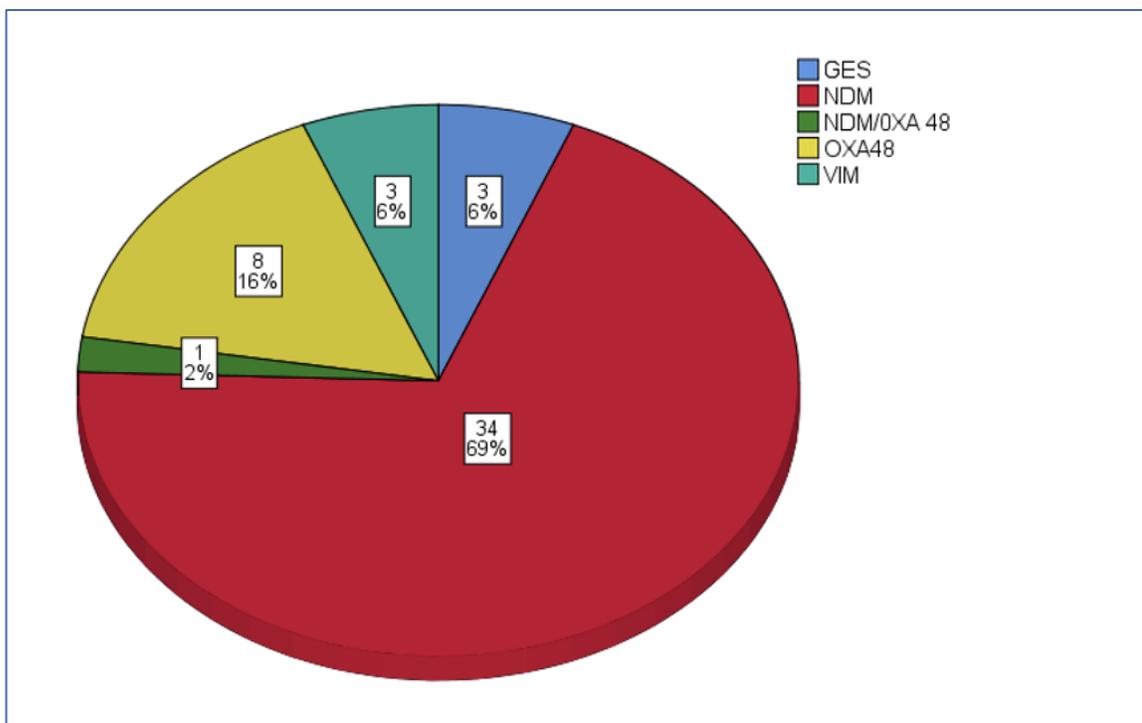


Gráfico 7. Tipo de carbapenemasas encontradas con la técnica de hibridación. La técnica de hibridación reversa (HibrySpot) permite identificar los diferentes tipos de enzimas betalactamasas, betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas.

En el gráfico 8 Se observa la frecuencia y porcentaje de los antibióticos administrados empíricamente de tipo carbapenémico en los pacientes oncológicos de los cuales se aislaron los bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas se observa que el meropenem fue el antibiótico mayormente administrado en estos pacientes con un porcentaje de 47% (n=23), en estos pacientes también se observó la administración de antibióticos de otras familias no carbapenémicos los cuales tuvieron un porcentaje de 37%(n=18) .

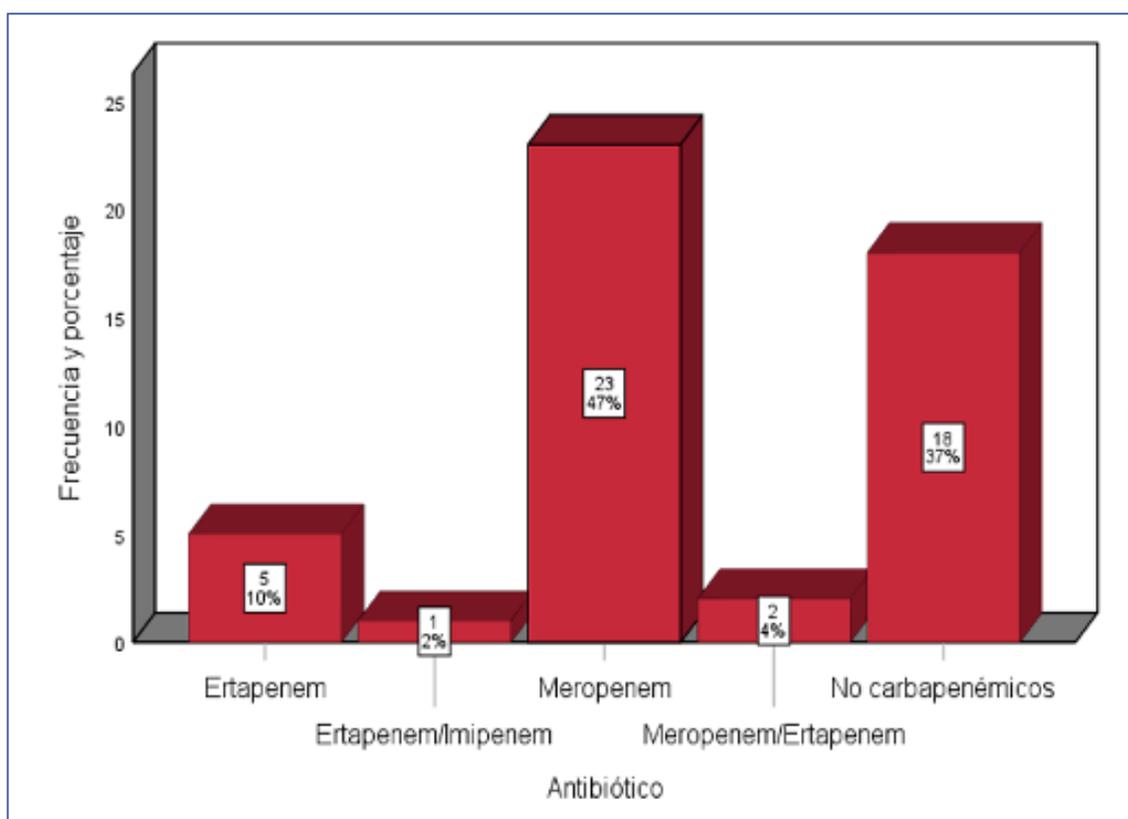


Gráfico 8. Carbapenémicos administrados a pacientes con bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas.

En el gráfico 9 se representa la frecuencia y porcentaje de los antibióticos administrados a los pacientes oncológicos con bacilos gramnegativos no productores de carbapenemasas, en el cual se observó que de los antibióticos de tipo carbapenémico el meropenem fue el mayormente administrado con un 29% (n=8), seguido del ertapenem con un 21%(n=6); pero también encontramos que los antibióticos de otras familias (no carbapenémicos) se administraron mayormente que los carbapenémicos en un porcentaje de 39% (n=11).

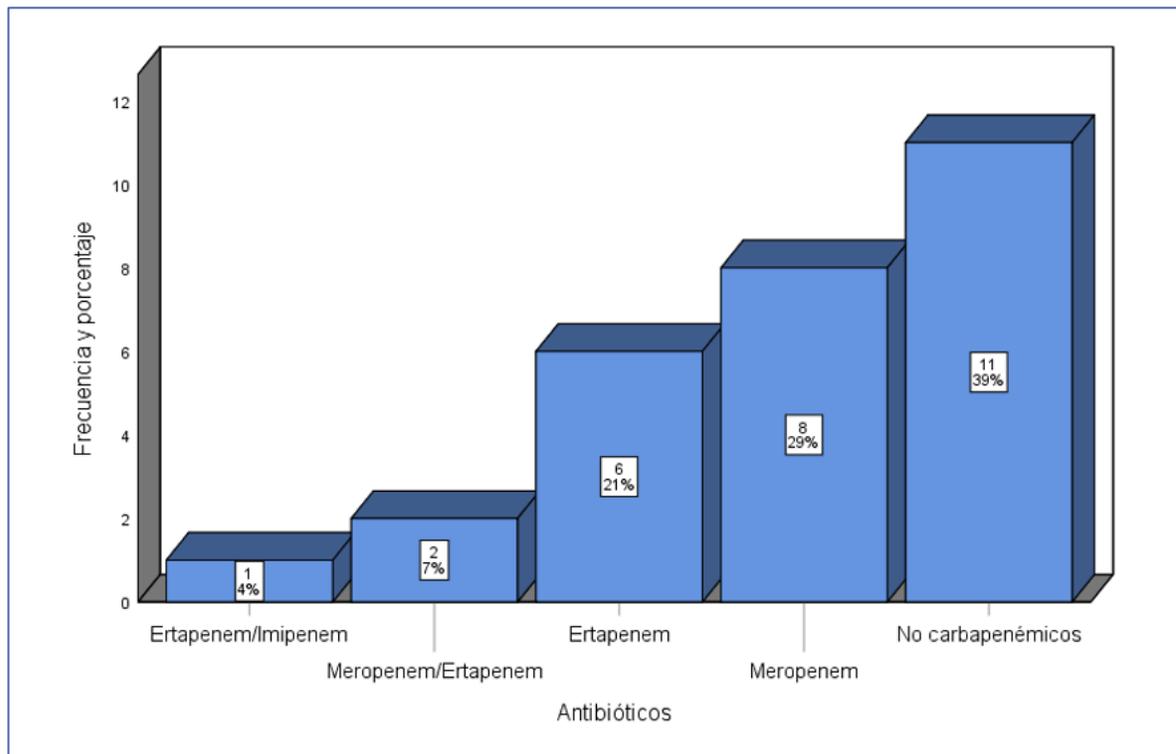


Gráfico 9. Carbapenémicos administrados en pacientes con bacilos gramnegativos no productores de carbapenemasas

Para el análisis de relación (Figura 8) en donde se estableció si la relación de administración empírica de antibióticos de tipo carbapenémico con el número de bacilos gramnegativos productores y no productores de enzimas carbapenemasas de acuerdo a prueba de inactivación de carbapenémico (mMIC) (77 bacilos) se realizó un análisis χ^2 obteniéndose un valor de $p= 0.466$ (Figura 9)

Figura 8. Prueba χ^2 relación carbapenémicos vs producción o no de carbapenemasas

Tabla cruzada PRUEBA DE INACTIVACION (mMIC)*ADMINISTRACION DE ANTIBIÓTICO CARBAPENÉMICO							
Recuento		ADMINISTRACION DE ANTIBIÓTICO CARBAPENÉMICO					Total
		Ertapenem	Ertapenem/ mipenem	Meropenem	Meropenem/E rtapenem	No carbapenémico	
PRUEBA DE INACTIVACION (mMIC)	Negativa	6	1	8	2	11	28
	Positiva	5	1	23	2	18	49
Total		11	2	31	4	29	77

Figura 9. Prueba cruzada relación carbapenémicos vs mMIC.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3.577 ^a	4	.466
Razón de verosimilitud	3.569	4	.468
N de casos válidos	77		

Por ultimo en el estudio se observó la mortalidad de los pacientes con estos bacilos gramnegativos lo que se puede observar en el gráfico 10, de los 80 pacientes con bacilos gram negativos 23.7% (n=19) fallecieron y 76.2% (n=61) sobrevivieron al evento de infección, aún siendo estos bacilos resistentes a uno o más carbapenémicos.

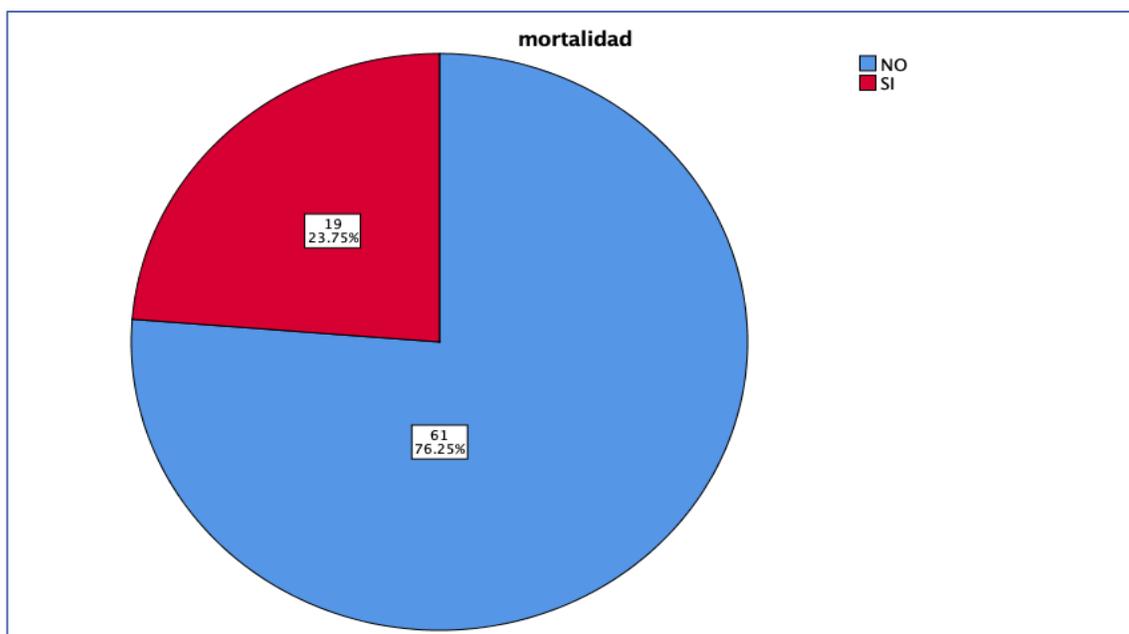


Gráfico 10. Mortalidad de pacientes oncológicos con resistencia a uno o más carbapenémicos.

7. DISCUSIÓN

De un total de 8856 muestras de seis meses se aislaron 2001 bacilos gramnegativos de los cuales se encontraron 80 (3.9%) bacilos gramnegativos resistentes a uno o más carbapenémicos, a los cuales 77 se les corrió la prueba de inactivación de carbapenémico modificada descrita en la CLSI 2023, encontrándose 49 bacilos gramnegativos productores de enzimas carbapenemasas y 28 bacilos gramnegativos no productores de enzimas carbapenemasas.

Se encontró a *Escherichia coli* como el bacilo gramnegativo más frecuente aislado en los seis meses del estudio (58%) en las muestras con resistencia a uno o más carbapenémicos resaltando que en este microorganismo es por lo general el más encontrado en infecciones nosocomiales en México de acuerdo a un estudio realizado por el Instituto Mexicano de Seguro Social (Arias et al., 2016). Además que otros autores mencionan a esta enterobacteria con una frecuencia de 56% en cultivos de orina de pacientes oncológicos (Velazquez et al., 2016) destacando que en este estudio los urocultivos tuvieron una alta prevalencia n=33 (41%) y recordando que en México son la tercera causa de morbilidad con promedio de más de 4 millones de casos anuales (Ahumada et al., 2022), la importancia de esta información en estos pacientes con cáncer es que tienen mayor riesgo de infecciones debido a la inmunosupresión condicionada por la enfermedad *per se*, así como por el tratamiento, además de que algunos pacientes pueden presentar obstrucción anatómica del tracto urinario secundaria al tumor (Velazquez et al., 2016)

El tipo de enzima carbapenemasa encontrado con más porcentaje (69%) en este estudio fue NDM que coincide con la publicación de la red INVIFAR “Drug resistance phenotypes and genotypes in Mexico in representative gram negative species: Results from the infivar network publicado en 2021” donde menciona que la clase NDM es la más frecuente en México (Garza et al., 2021). Esta carbapenemasa es importante por que su presencia limita o anula las opciones terapéuticas para combatir a las bacterias productoras de estas enzimas. El subtipo más frecuente de esta enzima es la NDM-1 codificada por el gen plasmidico bla_{NDM-1}, este subtipo es una carbapenemasa transferible perteneciente a la clase molecular B de la clasificación de Ambler, caracterizandose por presentar zinc en su sitio activo y e hidrolizar a todos los betalactámicos (Resurrección et al; 2017)

El antibiótico empíricamente administrado mas frecuentemente a los pacientes con bacilos gram negativos productores de enzimas carbapenemasas y no productores fue el meropenem 47% (n=23) y 29% (n=8) respectivamente, aunque es importante mencionar que otros antibióticos de clase no carbapenémico tambien representaron un porcentaje más elevado 39% en los pacientes con bacilos gram negativos no productores de enzimas carbapenemasas en comparación con el meropenem.

Es relevante señalar que los pacientes a los que se les aislaron estos bacilos gram negativos clinicamente tuvieron infección por eso se usaron empíricamente estos antibióticos y recordar que el meropenem debe ser administrado por vía intravenosa lo que normalmente se requiere la hospitalización de los pacientes, lo que puede

causar una diseminación de la resistencia en el hospital, además de elevar costos de hospitalización por el tiempo prolongado del tratamiento.

En cuanto al análisis de relación entre la administración empírica de antibióticos de tipo carbapenémico y la producción o no de carbapenemasas por los bacilos gramnegativos encontrados en muestras de pacientes oncológicos de diferentes servicios hospitalizados y consulta externa en un periodo de 6 meses mediante la prueba de χ^2 , se obtuvo un valor de $P= 0.466$ por lo que no se consideró significativo este valor. Lo que indica que no hay una influencia en la administración de antibióticos de tipo carbapenémico en la producción de mecanismos de resistencia como la producción de enzimas carbapenemasas o la no producción de estas enzimas en los bacilos gramnegativos, se considera que puede deberse a que la prescripción de estos antibióticos y todos los demás está revisada en su mayoría por infectólogos que reciben la interconsulta del paciente. Además que estos pacientes reciben otras clases de antibióticos como quinolonas, aminoglicosidos, y al tener una enfermedad de base como lo es el cáncer están monitoreados para no usar indiscriminadamente los antibióticos y evitar infecciones por bacterias multidrogorresistentes.

8. CONCLUSIONES

Se identificaron 80 cepas de bacilos gramnegativos resistentes a uno o más carbapenémicos de pacientes oncológicos del Instituto Nacional de Cancerología de enero a junio del 2023 de un total de 8856 muestras., mediante la tecnología de espectrometría de masas en equipo viteck MS o pruebas fenotípicas en vitek 2 de las cuales *Escherichia coli* tuvo el mayor porcentaje de frecuencia.

De 77 bacilos gramnegativos a los cuales se les realizó la prueba de inactivación de carbapenémico identificamos 49 cepas de bacilos gram negativos productores de carbapenemasas y 28 bacilos gram negativos no productores de carbapenemasas mediante el método modificado de inactivación de carbapenémico (mMIC) descrito en la CLSI 2023.

El tipo de carbapenemasa que producen los bacilos gramnegativos encontrado con la frecuencia más elevada fue NDM mediante la técnica de hibridación reversa.

Se encontró que el meropenem fue el antibiótico más frecuentemente administrado a los pacientes que tuvieron cepas de bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos mediante el expediente electrónico INCANET (sistema informático donde se visualiza el expediente clínico digital)

No se encontró relación entre el uso de antibióticos de tipo carbapenémico vs detección de carbapenemasas.

Estos datos epidemiológicos encontrados en el Instituto Nacional de Cancerología nos hacen referencia a que la prescripción de antibióticos está regulada de manera

correcta por los médicos infectólogos, pero además el laboratorio de microbiología contribuye de manera importante al comunicar y divulgar la epidemiología del hospital, para seguir contribuyendo a la racionalización correcta de los antibióticos y así evitar la diseminación de la resistencia antimicrobiana.

9. ANEXOS

Anexo 1. Flujo de trabajo para identificación de bacilos gramnegativos

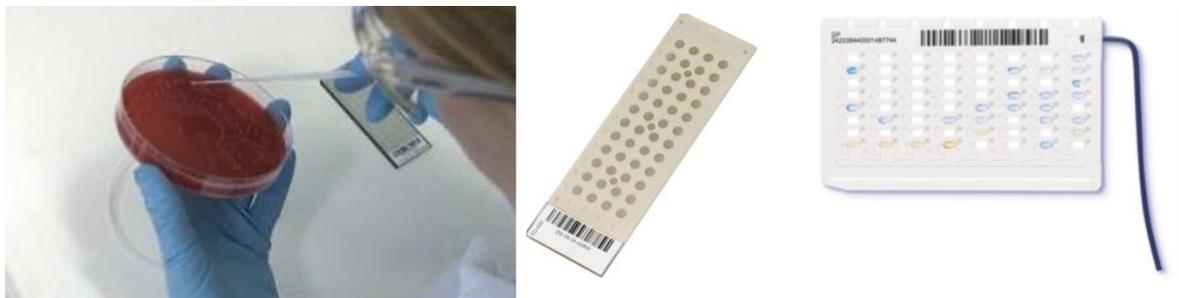
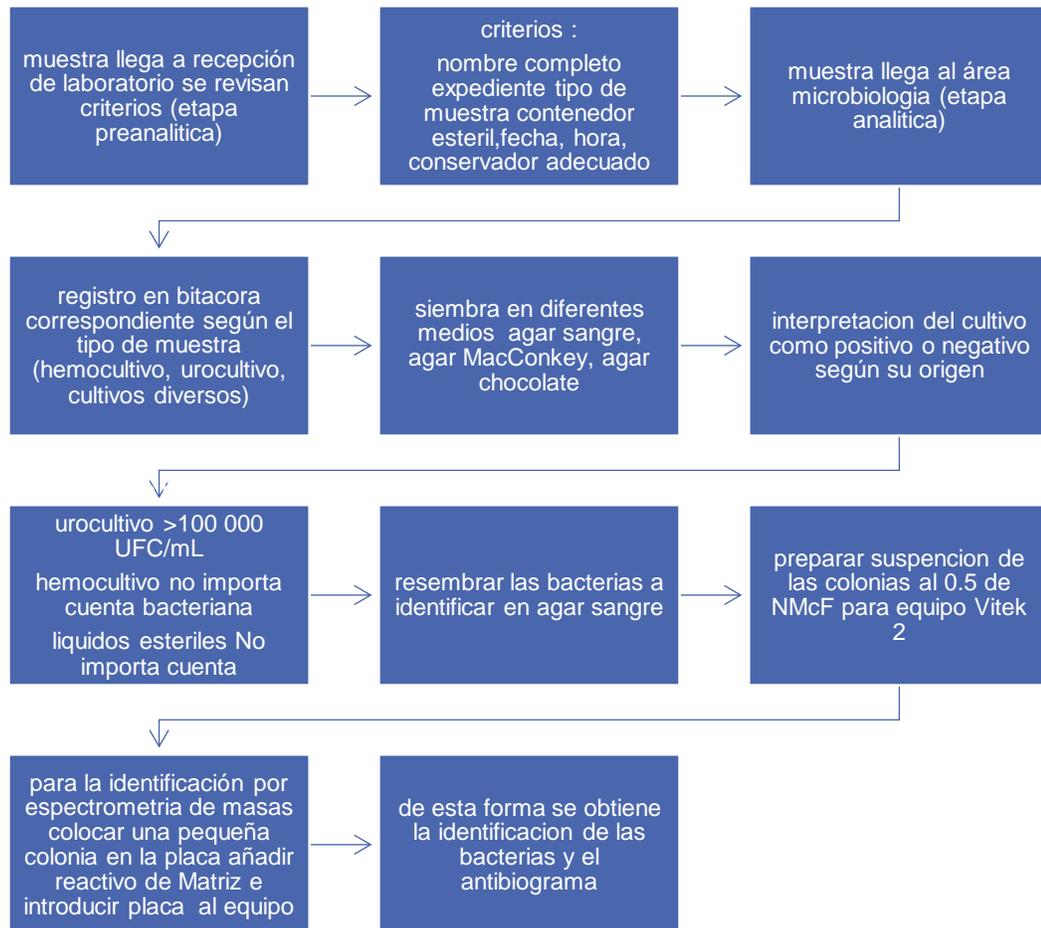


Figura 10. Imágenes de las placas de Vitek Ms y tarjeta de vitek 2 que se utilizan para identificación y antibiograma respectivamente.

Anexo 2. Caracterización de la resistencia a carbapenémicos en bacilos gramnegativos Interpretación de antibiograma (*Enterobacterias* y *Pseudomonas aeruginosa*)

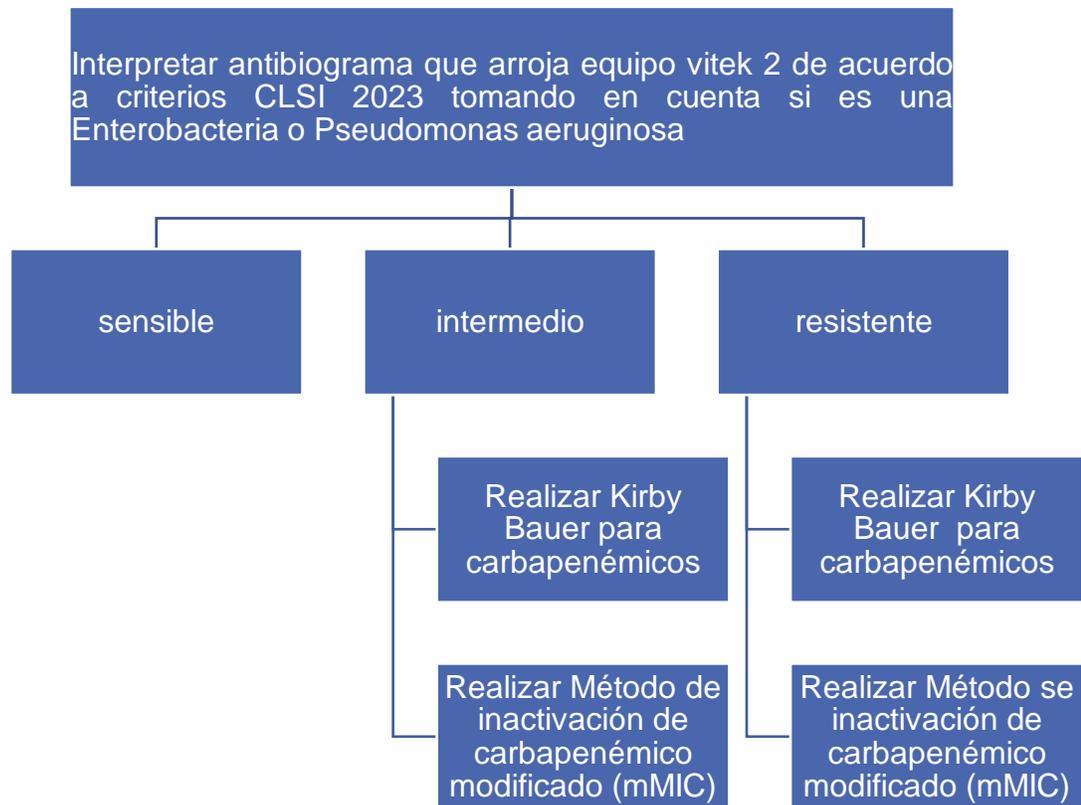


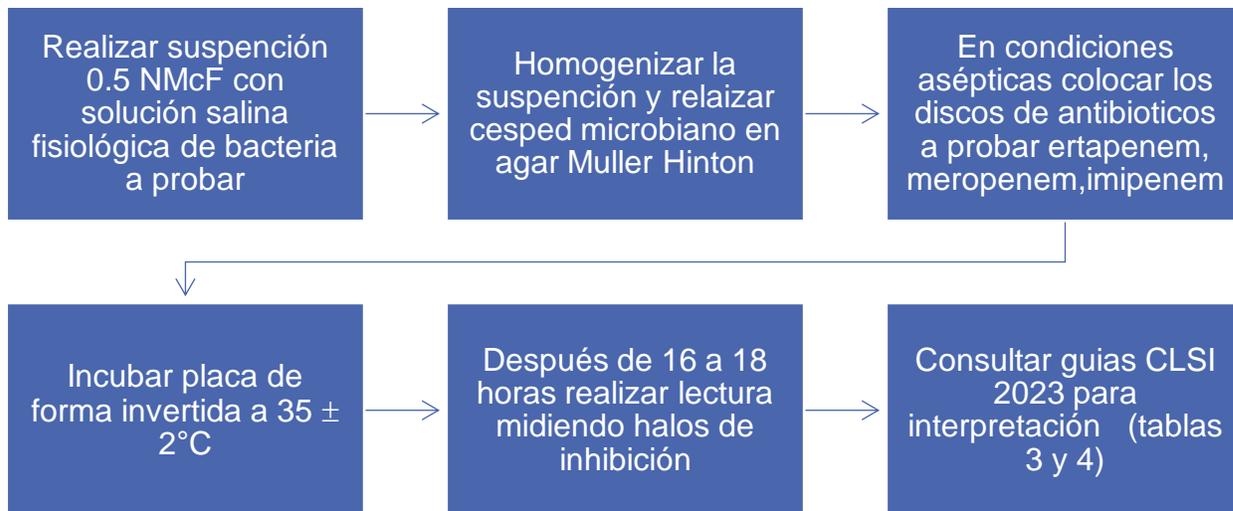
Tabla 3. Puntos de corte para interpretacion de carbapenémicos en Enterobacterias de acuerdo a guias de CLSI 2023 .

Enterobacterias									
Antibiótico	disco de antibiótico	Categorías y punto de corte en (mm)				Categorías y punto de corte en CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
		S	SDD	I	R	S	SDD	I	R
Ertapenem	10 μg	≥ 22	---	19-21	≤ 18	≤ 0.5	---	1	≥ 2
Meropenem	10 μg	≥ 23	---	20-22	≤ 19	≤ 1	---	2	≥ 4
Imipenem	10 μg	≥ 23	---	20-22	≤ 19	≤ 1	---	2	≥ 4

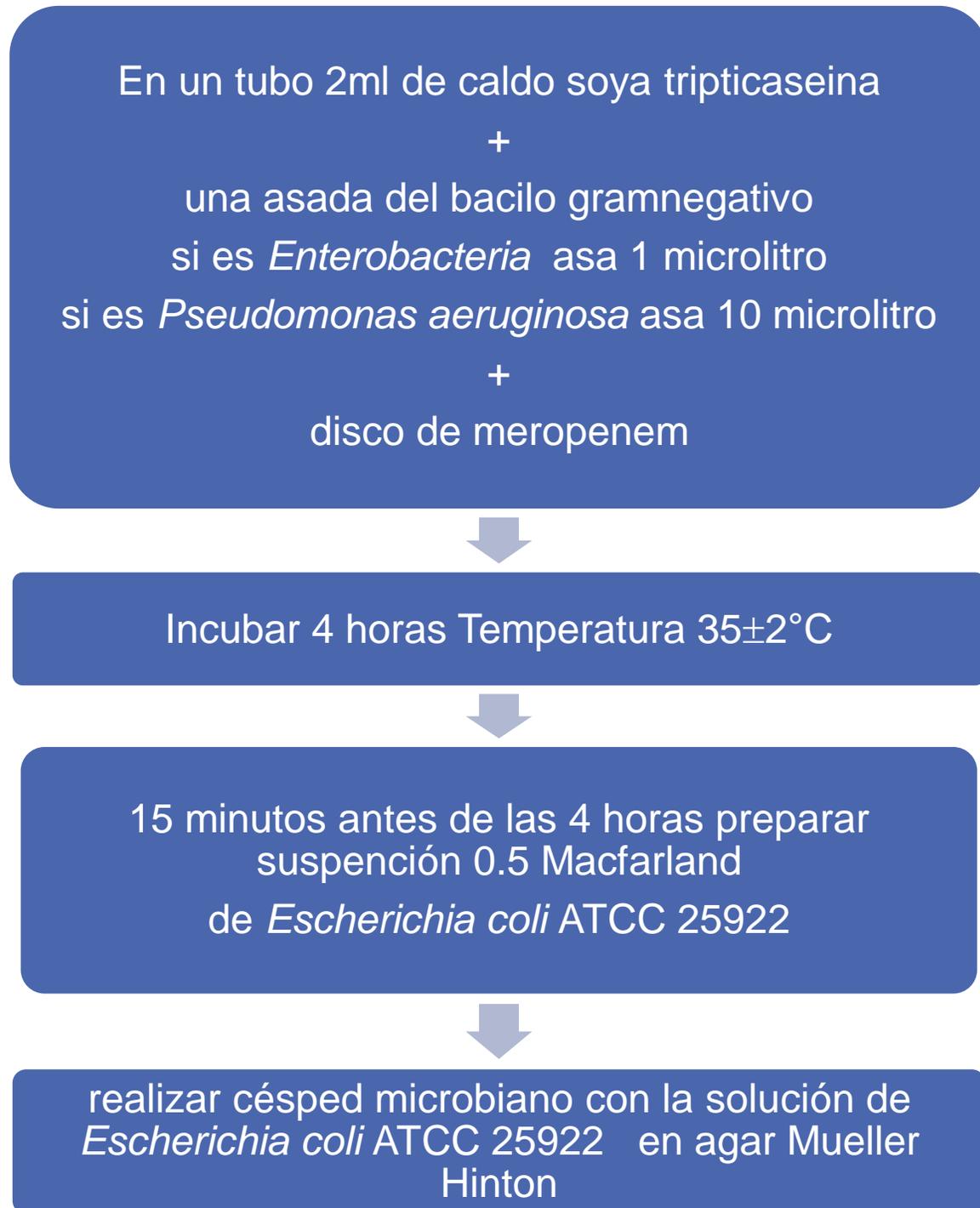
Tabla 4. Puntos de corte para interpretacion de carbapenémicos en *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo a guias de CLSI 2023

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
Antibiótico	disco de antibiótico	Categorías y punto de corte en (mm)			Categorías y punto de corte en CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
		S	I	R	S	I	R
Meropenem	10 μg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8
Imipenem	10 μg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8

Anexo 2 continuación. Caracterización de la resistencia a carbapenémicos en bacilos gramnegativos. Técnica de Kirby Bauer (*Enterobacterias* y *Pseudomonas aeruginosa*)



Anexo 3. Método de inactivación de carbapenémico modificado (mMIC)
CLSI 2023



Sacar el disco de meropenem que se estaba incubando y colocarlo sobre la el césped microbiano en el agar Mueller Hinton



Invertir la placa e incubar de 18 a 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$



Lectura e interpretación



Positiva si halo de inhibición 6-15 mm CEPA PRODUCTORA DE CARBAPENEMASAS

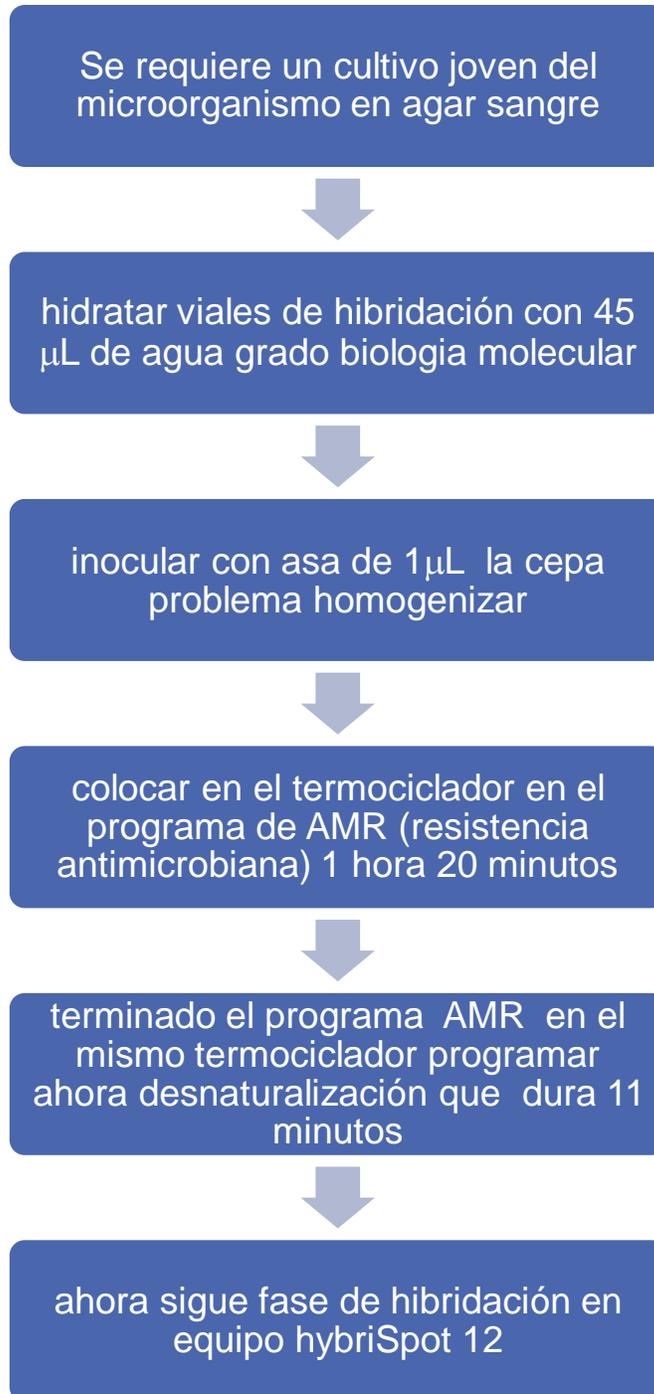


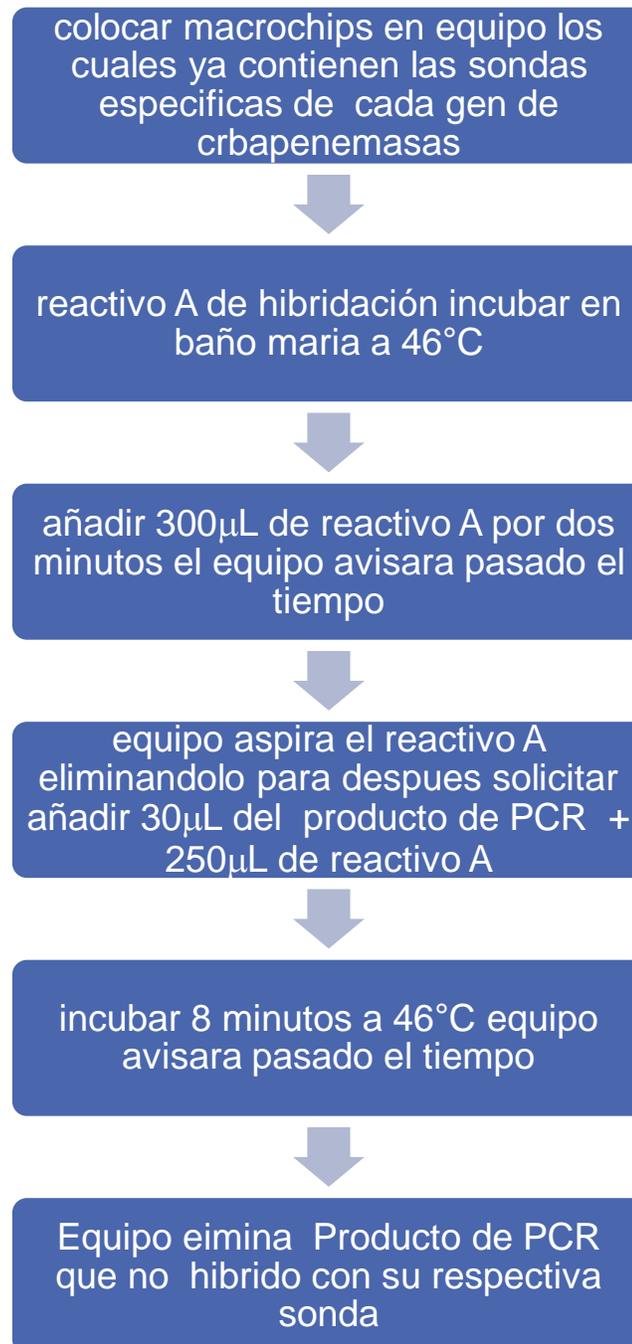
Negativa si halo de inhibición mayor a 16 sin colonias satelites CEPA NO PRODUCTORA DE CARBAPENEMASAS

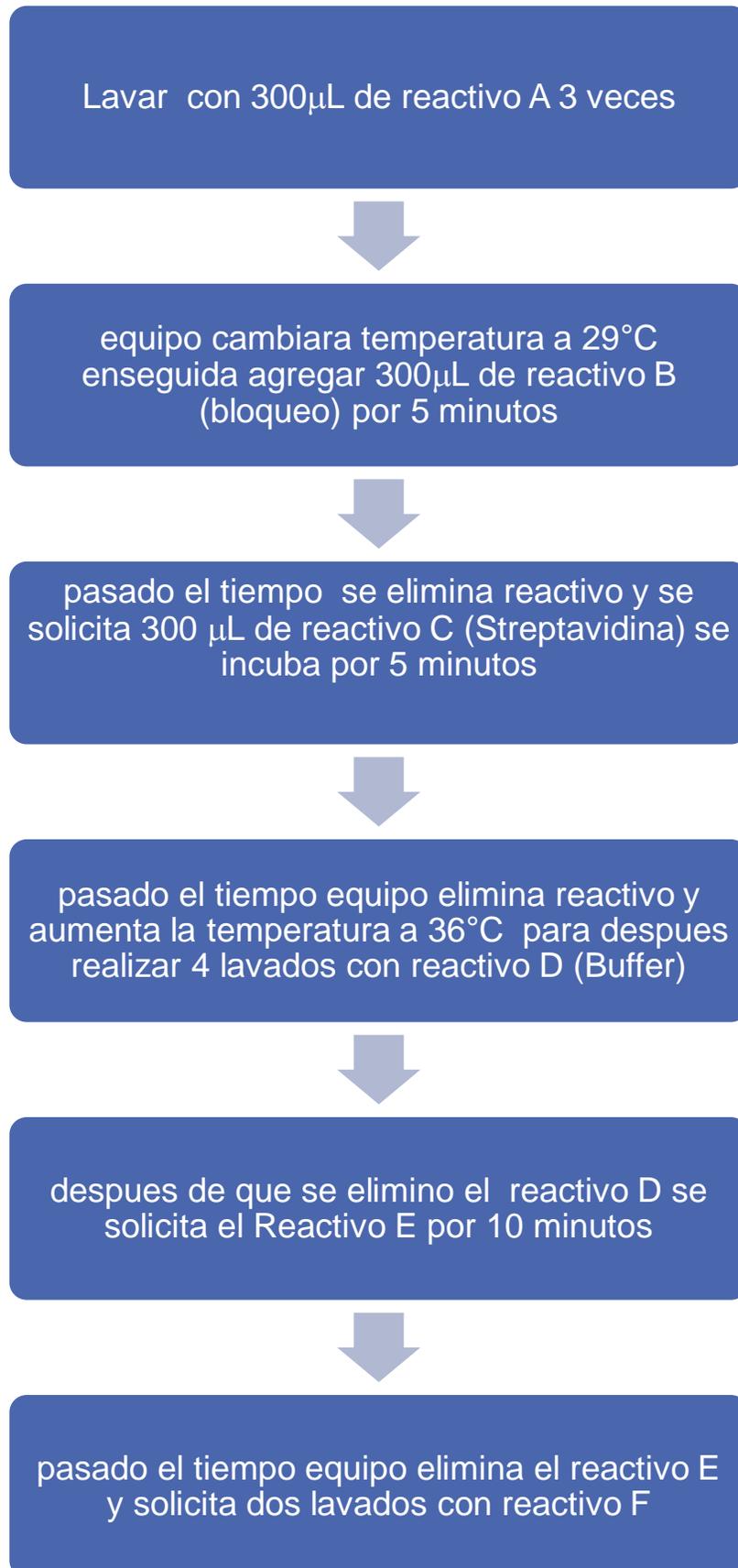


Indeterminada si
halo de inhibición mide 16-18 mm
halo con diametro >19 con presencia de colonias puntiformes
en este caso no se puede confirmar o descartar la presencia de carbapenemasas

Anexo 4. Técnica de hibridación para determinar tipo de enzimas carbapenemasas







se retiran los macrochips
para su lectura



en software hibrisoft



en donde se captura una
imagen y el software nos
indica que tipo de
carbapenemasas estan en
la muestra

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	B			kpc	spm			vanB	blaSHV-5	B
B	B			sme	ndm			vanA	ges	oxa23_like
C	Cl			nmc/ imi	sim			mecA	vim	oxa24 _like
D	BG				imp_like				gim	oxa48_like
E				blaSHV	blaSHV-5				kpc	oxa51_like
F		SA		blaCTX	blaSHV-SK	B			spm	oxa58_like
G				ges	oxa23_like	Cl			sme	ndm
H				vim	oxa24 _like	BG			nmc/ imi	sim
I			mecA	gim	oxa48_like				blaSHV-SK	imp_like
J			vanA		oxa51_like		SA		blaSHV	
K		B	vanB		oxa58_like				blaCTX	

Figura 11. Plantilla de las sondas de hibridación, de esta manera están acomodadas en el Macrochip

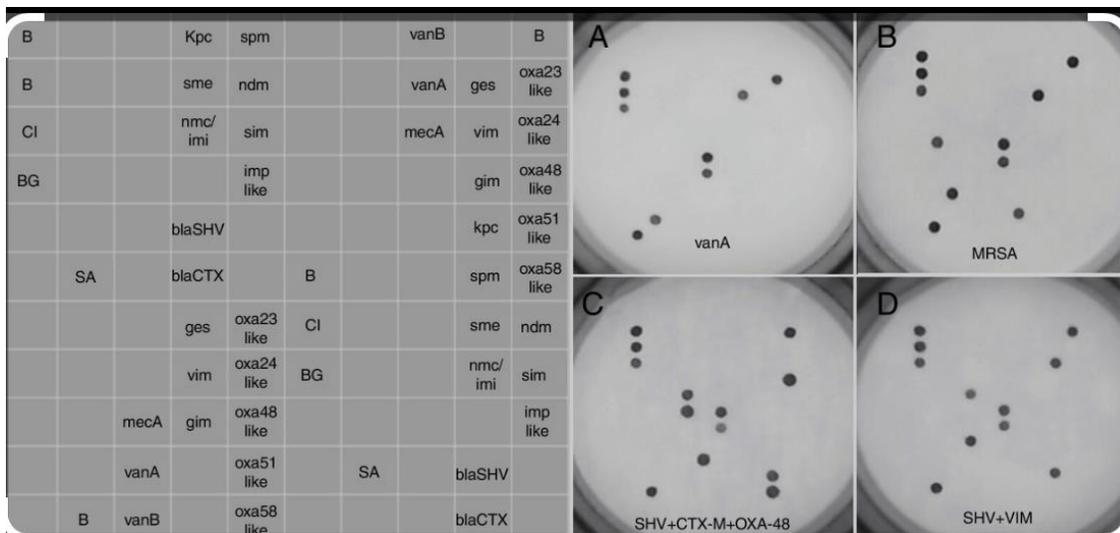


Figura 12. Ejemplo de resultados en equipo hibrySpot en donde se pueden determinar varios genes de resistencia al mismo tiempo.

10. BIBLIOGRAFÍA

Alós Ignacio Jorge Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global Elsevier vol. 30. Núm 10 (2015), pp.692-699 Recuperado de DOI: 10.1016/j.eimc.2014.10.004

Alonso Márques Isabel, Castillo Lopez Ma. Angeles, Jimenez Belenguer Ana Isabel. Estudio de la resistencia a antibioticos carbapenémicos en muestras y aislados de vegetales procedentes de cultivo ecológico. Tesis de fin de grado en biotecnología, Universidad Politecnica de Valencia. Escuela tecnica superior de ingenieria agronomica y del medio natural.(2022).

Ahumada Cota Ricardo Ernesto, Olalde Ramírez Sarahí, Hernández Chiñas Ulises, Acevedo Monroy Salvador Eduardo, Eslava Campos Carlos Alberto. Infecciones del tracto urinario en México, un problema de salud pública. Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química, vol 8 Núm 8 (2022), pp. 728-734

Alpízar Olivares Yulién. La penicilina y sus derivados como agentes desencadenantes de la respuesta inmune. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia, vol.16 Núm 2 (2000), pp. 99-104

Arias Flores Rafael , Rosado Quaib U., Vargas Valerio A., Gragales Muñiz C. Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, [S.l.], vol. 54. Núm. 1 (2016), pp. 20-24, ISSN 2448-5667.

Arnau de Bolós J. M., Castells Cervelló X., Rigau Comas D., Vallano Ferraz A. Antibióticos betalactámicos (I) Medicine Programa de Formación Médica Continuada Acreditado (2013),, vol. 8, pp. 3356-3368, ISSN 0304-5412.

Astocondor-Salazar, L. Betalactamasas: La Evolución del Problema. Rev Peru Investig Salud. (2018) ;Volumen, Num 2, pp. 42-49

Barcelona Laura; Marin Marcelo; Stambouliau Daniel. Betalactámicos con inhibidores de betalactamasas: Amoxicilina-sulbactam. Medicina (Buenos Aires), (2008) Vol.68 Núm 1, pp. 65-74. ISSN 0025-7680

Barrantes Jiménez Kenia, Chacón Jiménez Luz. y Arias Andrés Maria. El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. Población y Salud en Mesoamérica, (2022), vol 19 Núm 2 Recuperado DOI: 10.15517/psm.v0i19.47590.

Bush K., y Jacoby G. Updated Functional Classification of Beta-Lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy, (2010), pp. 969-976

Castanheira Mariana, Deshpande Lalita, Mendes Rodrigo E., Rodriguez Noriega Eduardo, Ronald Jones N, Morfin Otero Rayo, Comment on: Role of changes in the L3 loop of the active site in the evolution of enzymatic activity of VIM-type metallo- β -lactamases, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, (2011), vol. 66 Núm 3 pp. 684-685. Recuperado DOI 10.1093/jac/dkq393

Cruz Cruz, Elso, Díaz Ramón, Grettel. Modelación molecular de antibióticos betalactámicos: una preocupación de todos. *MediSur*, (2010). Vol. 8, Nume.1, pp. 13-19

Falco Restrepo, Aura Dayana del Carmen, Carlos Andrés Aranaga Arias. (2015). "Resistencia a Los antibióticos Beta-lactámicos Carbapenems Mediada Por El Gen BlaKPC En Klebsiella Pneumoniae". *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental* Vol.6 Núm 2: pp109-18.

Fresnadillo Martínez María José, García García María Inmaculada, García Sánchez Enrique, García Sánchez José Elías. Los carbapenems disponibles: Propiedades y diferencias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, (2010), vol. 28, Núm. 2 pp. 53-64, DOI:10.1016/S0213-005X(10)70031-8.

García Sánchez Jose Elias, Fresnadillo Martínez María Jose, García García María Inmaculada. Carbapenémicos y monobactámicos. García Rodríguez JA, García Sánchez JE, Gobernado M, Picazo JJ, Prieto J, editores. *Antimicrobianos en medicina*. 2.^a ed. Barcelona: Prous Science, (2006), pp. 173-87.

Garza González E, Bocanegra Ibarias P, Bobadilla Del Valle M, Ponce De León Garduño L.A, Esteban Kenel V, Silva Sánchez Jesus, et al; Fenotipos y genotipos de resistencia a medicamentos en México en especies gramnegativas representativas: Resultados de la red infivar. *MÁS UNO* (2021). vol 16 Núm 3 Recuperado de DOI: 10.1371/journal.pone.0248614

Giono Cerezo Silvia, Santos Preciado J. I., Morfín Otero Rayo, Torres López F. J., Alcántar Curiel. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Medica de Mexico*, (2020), vol. 156, Núm 2 pp.171-178. Recuperado DOI: 10.24875/GMM.M20000358

Gobernado Serrano Miguel, Acuña Constanza. Ertapenem. *Revista Española de Quimioterapia*. (2007); Vol. 20: Núm 3 pp 277-299. ISSN-e 0214-3429

González Mendoza Jorge, Maguiña Vargas Ciro, González Ponce Flor de María. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana*, (2019), vol. 36 Núm 2 pp.145-151 .

A. Hamon, F. Bastides, A. Lefort, Betalactámicos, EMC - Tratado de Medicina, (2021), Vol 25, Num 2, pp 1-7. Recuperado DOI ISSN 1636-5410

Laudano JB. Ceftaroline fosamil: a new broad-spectrum cephalosporin. *J Antimicrob Chemother*. (2011), Vol 3: Num 3, pp.11-8. Recuperado DOI: 10.1093/jac/dkr095. PMID: 21482565.

Lepe J.A, Martinez Martinez L. Mecanismos de Resistencia en bacterias Gram negativas. *Medicina Intensiva* (2002), vol 46, Núm.7 pp.392-402

Martin N, G. Resistencia Bacteriana a β -lactámicos: Evolución y Mecanismos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* (2002), vol 21, Núm.1 pp. 107-116.

Mella M, Sergio, Zemelman, M, CLAUDIA, BELLO T, HELIA, DOMINGUEZ Y, MARIANA, GONZALEZ R, GERARDO, & ZEMELMAN Z, RAUL. (2001). Propiedades microbiológicas, clasificación y relación estructura-actividad de cefalosporinas e importancia de las cefalosporinas de cuarta generación. *Revista chilena de infectología*, Vol.18, Num 1, pp. 7-19.

Moreno Monge Karla Maricela. Carbapenémicos: Tipos y Mecanismos de Resistencia Bacterianos. *Revista Medica Costa Rica* (2013), vol 608, pp. 599-605.

Mosquito S., Ruiz J., Bauer J., Ochoa T. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichiacoli* asociadas a diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* (2011), vol.28 Núm.4, pp.648-656.

Olarte-Luis, Tatiana, Cáceres-Galíndez, Dolli, & Cortés, Jorge Alberto. (2018). Nuevas cefalosporinas. *Revista chilena de infectología*, 35(5), 465-475.

OPS. (31 de 03 de 2021). Organización Panamericana de la Salud. Obtenido de <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>.

Ponce de León S, et al. Estado Actual de la Resistencia Antimicrobiana en México. Reporte de los Hospitales de la Red del PUCRA: Resistencia antimicrobiana y Consumo de antibióticos. Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad de México, Agosto de 2018.

Perozo Mena M Armindo. Resistencia a los Antibióticos ¿Amenaza Global, estamos llegando a la era Post-antibiótico?. (2018) Scielo vol. 42, Núm 1, pp. 5-7.

Rada A. M., Hernández Gómez C., Restrepo E., Villegas M. V. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias gram negativas en Colombia, 2021-2016. *Biomédica* vol. 39 Núm 2 (2018), pp 199-220.

Resurrección Delgado Cristhian, Montenegro Idrogo Juan José, Chiappe Gonzalez Alfredo, Vargas Gonzales Renzo, Cucho Espinoza Carolina, Mamani Condori, Dick Henry, y Huaroto Valdivia Luz María. Klebsiella pneumoniae nueva Delhi metalo-betalactamasa en el Hospital Nacional Dos de Mayo: Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, vol 34 Núm 2 (2017), pp. 261-267. ISSN 1726-4634

Rivas, KB, Rivas, MA, Dávila, EL, & Rodríguez, M. (2002). Cefalosporinas: De la Primera a la Cuarta Generación. *Revista de la Facultad de Medicina*, 25(2), 142-153.

Rodríguez Noriega E., León Garnica G., Petersen Morfín S., Pérez Gómez H. R., González Díaz E., Morfín Otero Rayo. La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*.(2014), vol. 34 Núm 1, pp. 181-190.

Rodríguez Riera, Z., Tolón-Murguía, B. I., & López-López, M. A. (2013). Antibióticos cefalosporánicos: Actualidades y perspectivas. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, Vol,44 Núm1.

Suárez Cristina, Gudiol Frances. Antibióticos betalactámicos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2009), vol. 27 Núm. 2, pp. 116-129.

Tafur José David, Torres Julián Andrés, Villegas María Virginia. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Asociación Colombiana de Infectología, vol. 12 Núm 3, pp. 227-232.

Wilke MS, Lovering AL, Strynadka NC. Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. Curr Opin Microbiol. (2005), vol 8 Num 5, pp. 525-533. Recuperado DOI: 10.1016/j.mib.2005.08.016. PMID: 16129657.

Velázquez Acosta Consuelo, Cornejo Juárez Patricia, Volkow Fernández Patricia. Resistencia bacteriana de cultivos de orina en un hospital oncológico: seguimiento a diez años. Instituto Nacional de Salud Pública de México (2016) ,vol. 58, Núm. 4, pp. 446-452.