



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
**HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA**  
**DR ERNESTO RAMOS BOURS**

**T E S I S**

**IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE AGENTES PATÓGENOS PROCARIONTES Y  
SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN PACIENTES CON PIE DIABÉTICO DEL  
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA**

**QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE CIRUGÍA GENERAL**

**PRESENTA:**  
**JORGE ALBERTO BLANCO VARGAS**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: NOHELIA G. PACHECO HOYOS**  
Universidad de Sonora/Hospital General del Estado de Sonora  
**CODIRECTOR DE TESIS: MARCO JOSÉ SERRATO FÉLIX**  
Hospital General del Estado de Sonora  
**COMITÉ TUTOR: GERARDINA NUBES ORTIZ**  
Universidad de Sonora  
**RODOLFO ANTONIO ORDUÑO TREJO**  
Hospital General del Estado de Sonora  
**JOAQUÍN SÁNCHEZ GONZÁLEZ**  
Hospital General del Estado de Sonora

**Hermosillo Sonora, junio 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## FIRMAS DE AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ DIRECTIVO DE TESIS

Los presentes hemos revisado el trabajo del médico residente de cuarto año Jorge Alberto Blanco Vargas, lo encontramos adecuado para continuar con su proceso de titulación para obtener el grado de médico especialista en Cirugía General.



**Nohelia G. Pacheco Hoyos**  
Tutor principal



**Marcos José Serrato Félix**  
Codirector  
Hospital General del Estado de Sonora "Dr. Ernesto Ramos Bours"

**Gerardina Nubes Ortiz**  
Codirector

Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas; UNISON



**Joaquín Sánchez González**  
Miembro de comité tutorial  
Hospital General del Estado de Sonora "Dr. Ernesto Ramos Bours"



**Rodolfo Antonio Orduño Trejo**  
Miembro de comité tutorial  
Hospital General del Estado de Sonora "Dr. Ernesto Ramos Bours"

### LIBERACIÓN DE TESIS

La División de Enseñanza e Investigación del Hospital General del Estado de Sonora Dr. Ernesto Ramos Bours, hace constar que realizó la revisión del trabajo de tesis del médico residente: **JORGE ALBERTO BLANCO VARGAS**; cuyo título es: **"IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE AGENTES PATÓGENOS PROCARIONTES Y SU RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN PACIENTES CON PIE DIABÉTICO DEL HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA"**. Con base en los lineamientos metodológicos establecidos por el Hospital General del Estado "Dr. Ernesto Ramos Bours," se considera que la tesis reúne los requisitos necesarios para un trabajo de investigación científica y cumple con los requerimientos solicitados por la Universidad Nacional Autónoma de México. Por lo tanto, la División de Enseñanza e Investigación acepta el trabajo de tesis para ser sustentado en el examen de grado de especialidad médica; aclarando que el contenido e información presentados en dicho documento son responsabilidad del autor de la tesis.

**ATENTAMENTE**

  
**DR. MAURICIO BELTRÁN RASCÓN**  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E  
INVESTIGACIÓN  
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO



  
**M en C. NOHELIA G. PACHECO**  
COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA  
DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO

C.c.p. Archivo  
NGPH

## **AGRADECIMIENTOS**

- Agradezco a la UNAM por el apoyo y la oportunidad de cursar la especialidad.
- A la Secretaria de Salud del Estado de Sonora por permitirme colaborar en la atención del paciente
- Al Hospital General del Estado de Sonora el cual fue mi hogar durante este periodo de residencia otorgándome la oportunidad de aprender no solo de sus pacientes sino también del personal que labora en dicho lugar.
- Al comité de tesis por su disponibilidad, apoyo y tiempo para permitirme desarrollar la tesis.

## **DEDICATORIA**

A mis padres:

*Que gracias a sus consejos, comprensión, amor y palabras de aliento me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia y el coraje para conseguir mis objetivos.*

A mis hermanos:

*Gracias por el apoyo, cariño y por estar en los momentos más importantes de mi vida. Este logro también es de ustedes.*

A mis maestros:

*Por la enseñarme lo maravilloso que se puede lograr con dos manos y un gran corazón.*

A mi asesor:

*Por el tiempo dedicado y paciencia en la elaboración de mi tesis.*

A ti;

*Gracias por el apoyo, comprensión, y confianza que me has dado en momentos difíciles.*



## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN</b>	<b>11</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>14</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODO</b>	<b>27</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>32</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>36</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>39</b>

## RESUMEN

Aproximadamente 20% de los pacientes diabéticos presentan un cuadro de pie diabético en el transcurso de su vida. La infección de las heridas del pie de los enfermos diabéticos es un problema de salud pública en todo el mundo. Esto constituye una complicación muy grave que puede conducir a la amputación parcial o total de la extremidad afectada. Se presenta un estudio prospectivo descriptivo en donde se evaluaron 12 muestras tomadas a pacientes con pie diabético. La identificación de las especies procariontes se realizó mediante medios de cultivos generales y específicos, selectivos. Posteriormente se comprobó la identidad de dichas muestras mediante métodos de pruebas bioquímicas y su morfología con tinción de Gram. Las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron *E. coli* y *S. aureus*. Esto indica una concordancia con la literatura reportada. Ciprofloxacino es el antibiótico que presenta menor sensibilidad para las especies más frecuentes. Por otro lado, las especies muestran alta sensibilidad a metronidazol y ceftriaxona. Se considera buena alternativa levofloxacino-clindamicina como antibiótico empírico en pacientes con pie diabético infectado.

## INTRODUCCIÓN

La infección del pie diabético, sobre todo si se asocia a isquemia, es la causa más frecuente de amputación de la extremidad inferior en la población general, de ingreso hospitalario y de disminución de la calidad de vida en los diabéticos. El 15% de los diabéticos van a sufrir a lo largo de su vida una infección del pie, con una incidencia anual del 1-4%, precedida en más del 80% de los casos de una úlcera en el pie.

Las infecciones del pie diabético que afectan a piel y tejidos blandos, y al hueso, con o sin repercusión sistémica son la causa más frecuente de hospitalización de los diabéticos (25%). Esto conlleva al requiriendo de manejo médico y/o quirúrgico. Por lo tanto, es importante determinar si se está cursando con proceso infeccioso para poder iniciar antibioticoterapia empírica adecuada con la intención de delimitar el proceso infeccioso. No detectar y actuar a tiempo ante un pie diabético infectado conlleva a mayor riesgo de amputación, sepsis, falla orgánica y defunción, así como de aumento de días de hospitalización.

Se tiene esquemas de antibiótico para uso empírico, pero de acuerdo a los resultados clínicos poco favorables de los pacientes con infección de pie diabético y a la resistencia bacteriana, se pretende aislar las bacterias de las heridas infectadas para determinar qué gérmenes son los más frecuentes. De acuerdo a estos resultados se podrá crear un esquema de antibiótico para manejo empírico de la infección de pie diabético.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

El pie diabético es una entidad nosológica consecuencia de la cronicidad y, generalmente, del bajo control metabólico de la diabetes (ADA 2015). También es uno de los problemas más frecuentes y devastadores de la diabetes mellitus (20%). En la mayor parte de los casos implica el riesgo de pérdida de la extremidad (Mendoza R). Además, constituye un serio problema de salud tanto por los altos costos del tratamiento y por ser de las principales causas de morbilidad, mortalidad y discapacidad (Rodríguez Bolaños RA).

Aproximadamente 20% de los pacientes diabéticos presentan un cuadro de pie diabético en el transcurso de su vida (Martínez J FR). La infección de las heridas del pie de los enfermos diabéticos es un problema de salud pública en todo el mundo. Esto constituye una complicación muy grave que puede conducir a la amputación parcial o total de la extremidad afectada.

El diagnóstico de la infección es clínico, no microbiológico ni molecular. Sin embargo, es necesario conocer la etiología de la infección para administrar un tratamiento antimicrobiano dirigido que cubra todos los patógenos implicado. Sin embargo, en la actualidad es importante conocer la composición molecular ya que hoy en día la resistencia antibiótica toma un papel importante en el éxito del tratamiento. Por ejemplo, en enfermos con tratamiento antibiótico reciente, hospitalización previa o que residen en unidades de cuidados crónicos, se aíslan con más frecuencia microorganismos multirresistentes.

La resistencia a los antibióticos está aumentando en todo el mundo a niveles peligrosos. Día tras día están apareciendo y propagándose en todo el planeta nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro nuestra capacidad para tratar las enfermedades infecciosas comunes. Un creciente número de infecciones, como la neumonía, la tuberculosis, la septicemia, la gonorrea o las enfermedades de

transmisión alimentaria, son cada vez más difíciles y a veces imposibles de tratar, a medida que los antibióticos van perdiendo eficacia. Si no se toman medidas urgentes, el mundo está abocado a una era post-antibióticos en la que muchas infecciones comunes y lesiones menores volverán a ser potencialmente mortales.

El principal problema que plantea la interpretación de los cultivos de estos enfermos, y por tanto el diagnóstico etiológico de la infección, es la exposición de las lesiones a la microbiota habitual de la piel, dificultando la diferenciación de conceptos microbiológicos como contaminación, colonización crítica e infección. Sin llegar a un tratamiento antibiótico por la resistencia, con este no lograr aislar al patógeno involucrado, por eso de la importancia de la identificación molecular.

Los métodos microbiológicos clásicos implican, generalmente, el uso de un apropiado cultivo de preenriquecimiento y enriquecimiento, el aislamiento en medios selectivos y la posterior confirmación mediante pruebas bioquímicas morfológicas y/o serológicas. Todo esto es laborioso y la obtención de resultados puede tomar días o semanas. Adicionalmente, presentan baja sensibilidad. Aunado a ello, se ha demostrado que algunas células bacterianas pueden entrar en un estado viable pero no cultivable (VPNC), lo que imposibilita el uso de los métodos de cultivo como herramienta de diagnóstico. Una serie de métodos moleculares alternativos, rápidos y sensibles para la detección, identificación y cuantificación de patógenos en las infecciones como en el pie diabético han sido desarrollados para superar estos inconvenientes.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Identificar mediante métodos bioquímicos la identidad biológica de los agentes patógenos procariontes y su resistencia a antibióticos en pacientes con pie diabético del Hospital General del Estado de Sonora.

### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

Establecer estado actual de la resistencia bacteriana de los principales antibióticos en el mercado con respecto a paciente con pie diabético infectado en el Hospital General del Estado de Sonora.

Establecer un esquema de antibiótico en pacientes con pie diabético infectado en el Hospital General del Estado de Sonora.

## **MARCO TEÓRICO**

### **Definición de pie diabético**

El pie diabético es una alteración clínica de base etiopatogénica neuropática inducida por la hiperglucemia sostenida, en la que con o sin coexistencia de isquemia y previo desencadenante traumático, produce lesión y/o ulceración del pie (WHO, 1994). El Working Group on the Diabetic Foot, en 2007, definió al pie diabético como la “infección, ulceración o destrucción de tejidos profundos del pie, asociadas con neuropatía o enfermedad arterial periférica en las extremidades inferiores de los pacientes con diabetes”.

Pie diabético: Es la infección, ulceración o destrucción de tejidos profundos del pie asociados con neuropatía y/o enfermedad arterial periférica en la extremidad inferior de las personas con diabetes.

### **Epidemiología**

La diabetes mellitus es una enfermedad de elevada prevalencia (6% de la población), existiendo un porcentaje similar de pacientes que presentándola no están diagnosticados, lo que ha multiplicado seis veces el número de diabéticos en los últimos 40 años. Además, existe un incremento con la edad, alcanzando el 11% en mayores de 65 años. En México, la atención médica de un paciente con DM, incluidas sus complicaciones, representa un gasto de 700 a 3500 dólares anuales para el sistema público.

La frecuencia internacional reconocida en países desarrollados respecto a la ulceración en pie diabético corresponde a un acumulado de 5.8% a 3 años requiriendo amputación en el 15%. Por otro lado, los datos relacionados con la epidemiología del pie diabético en Latinoamérica son escasos y diversos; no obstante, la complicación es causa frecuente de internamiento y origina un alto nivel de ocupación de camas hospitalarias (castro, 2009).

La mayoría de los pacientes desarrolla problemas de pie diabético a partir de la cuarta década de la vida que se incrementan con la edad. De los diabéticos 15% desarrollará úlceras en el pie y de éstos entre 15 y 20% sufrirá amputación, la mayoría (70-80%) precedida por úlceras crónicas; hasta dos tercios sufrirán una segunda amputación en los 12 meses posteriores a la primera. Aproximadamente 20% de los pacientes diabéticos presentan un cuadro de pie diabético en el transcurso de su vida y cerca de 20% de esa cifra termina en amputación.

### **Fisiopatología**

Aunque las lesiones del pie diabético pueden parecer diferentes, la vía a la ulceración del pie y sus complicaciones son muy similares, siendo diversos los factores que la determinan. La neuropatía, presente en más del 90% de las úlceras, tiene un papel principal en el desarrollo y progresión del pie diabético. Provoca un pie insensible y deformado, alterando la biomecánica de la marcha, desarrollando hiperqueratosis (callos), donde se concentra la presión plantar, y donde, por un pequeño traumatismo, se produce una úlcera.

La isquemia por obstrucción arterial, que existe en el 50% de las úlceras, y la infección, son las que determinarán el pronóstico de la úlcera y de la extremidad.

Existen unos factores predisponentes, neuropatía asociada en mayor o menor grado a macro y microangiopatía, que provocan un pie vulnerable, de alto riesgo; unos factores precipitantes o desencadenantes, generalmente un traumatismo mecánico, que producen una úlcera o necrosis y unos factores agravantes que determinan el pronóstico de la extremidad, que son la infección, que provocará daño tisular extenso, la isquemia que retrasará la cicatrización y la neuropatía que evitará el reconocimiento tanto de la lesión como del factor precipitante.

La forma más frecuente de neuropatía es la polineuropatía metabólica, simétrica, distal, crónica, de aparición insidiosa, somática (sensitivo-motora) y autonómica. Afecta predominantemente a miembros inferiores. Existen anomalías funcionales a nivel capilar, puesto que la última responsable de la necrosis tisular es el fracaso de la función de la microcirculación, que en diabéticos es debido a una interacción de los efectos que sobre ella tienen la neuropatía, la macroangiopatía y la propia microangiopatía.

La neuropatía sobre todo, asociada en ocasiones a la isquemia, junto con el resto de los factores descritos, son los que sitúan al pie diabético en riesgo de ulceración. El factor principal son los traumatismos mecánicos, térmicos o químicos, siendo los más frecuentes los mecánicos, generalmente por zapatos mal ajustados en las úlceras neuroisquémicas o por sobrecarga de presión en los callos formados en las neuropáticas.

### **Factores de riesgo para el desarrollo de infección del pie diabético**

- Herida que se extiende hasta hueso
- Presencia de úlcera en el pie por más de 30 días
- Historia recurrente de úlceras
- Causa traumática de úlcera en el pie
- Presencia de enfermedad vascular periférica (índice brazo-tobillo < 0.9)
- Previa amputación de la extremidad inferior
- Neuropatía sensitiva periférica
- Insuficiencia renal y trasplante renal
- Caminar descalzo

## Clasificación

### CLASIFICACIÓN DE WAGNER



Estadio	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
A	Lesión preulcerosa o postulcerosa; sin discontinuidad de la piel	Úlcera superficial	Úlcera profunda que penetra hasta el tendón o la cápsula	Herida que penetra en el hueso o la articulación
B	+ infección	+ infección	+ infección	+ infección
C	+ isquemia	+ isquemia	+ isquemia	+ isquemia
D	+ infección e isquemia	+ infección e isquemia	+ infección e isquemia	+ infección e isquemia

**Sistema de clasificación de heridas de la universidad de Texas. Tomado de Armstrong et al; 1998.**

**Sociedad americana de enfermedades infecciosas y grupo de trabajo internacional para la clasificación de la infección de pie diabético**

Clinical Manifestation of Infection	PEDIS Grade	IDSA Infection Severity
No symptoms or signs of infection	1	Uninfected
Infection present, as defined by the presence of at least 2 of the following items:		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Local swelling or induration</li> <li>• Erythema</li> <li>• Local tenderness or pain</li> <li>• Local warmth</li> <li>• Purulent discharge (thick, opaque to white or sanguineous secretion)</li> </ul>		
Local infection involving only the skin and the subcutaneous tissue (without involvement of deeper tissues and without systemic signs as described below). If erythema, must be >0.5 cm to ≤2 cm around the ulcer. Exclude other causes of an inflammatory response of the skin (eg, trauma, gout, acute Charcot neuro-osteoarthropathy, fracture, thrombosis, venous stasis).	2	Mild
Local infection (as described above) with erythema > 2 cm, or involving structures deeper than skin and subcutaneous tissues (eg, abscess, osteomyelitis, septic arthritis, fasciitis), <b>and</b> No systemic inflammatory response signs (as described below)	3	Moderate
Local infection (as described above) with the signs of SIRS, as manifested by ≥2 of the following: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Temperature &gt;38°C or &lt;36°C</li> <li>• Heart rate &gt;90 beats/min</li> <li>• Respiratory rate &gt;20 breaths/min or PaCO<sub>2</sub> &lt;32 mm Hg</li> <li>• White blood cell count &gt;12 000 or &lt;4000 cells/μL or ≥10% immature (band) forms</li> </ul>	4	Severe <sup>a</sup>

## Diagnóstico

Se debe descartar la existencia de infección en cualquier herida del pie de un paciente diabético e identificar signos clínicos locales (y en ocasiones sistémicos) de infección, además de fundamentar el diagnóstico con la presencia de dos o más de los siguientes signos: inflamación, induración, eritema perilesional, hiperestesia, dolor, calor local y exudado purulento. También se pueden observar otros datos como las características de la úlcera, la presencia de exudado no purulento pero de mal olor, tejido ce granulación friable o descolorida o herida con bordes en socavado.

Los estudios de laboratorio y gabinete son limitados para el diagnóstico de la infección, pero deben buscarse como complemento en búsqueda de alteraciones sistemas secundarias a la infección. Los cultivos no deben tomarse para determinar el diagnóstico de infección, sino para conocer la bota bacteriana y la sensibilidad antimicrobiana.

## **¿Cuándo y cómo se deberían obtener muestras para cultivo de una herida de un paciente con pie diabético?**

Para heridas clínicamente infectadas, no se recomienda obtener muestra de la herida para cultivo. En heridas infectadas, se recomienda obtener muestra para cultivo previo a inicio de terapia empírica de antibiótico. Se recomienda tomar muestra de cultivo del tejido profundo de la herida y/o biopsia por curetaje.

Los cultivos obtenidos con hisopos son superficiales y cultivan microorganismos colonizadores, las muestras de tejido profundo tienen más probabilidades de cultivar el agente patógeno real y pueden ayudar a optimizar la selección de antibióticos.

## **Estudios de imagen para evaluar la infección del pie diabético**

Se recomienda que todos los pacientes que se presentan con infección nueva de pie diabético deben tener una radiografía del pie afectado para buscar anomalías óseas, así como para la búsqueda de gas en tejidos blandos.

Se recomienda el uso de resonancia magnética como estudio de primera elección para pacientes quienes requieren imágenes adicionales, particularmente cuando se sospecha absceso de tejidos blandos o el diagnóstico de osteomielitis es incierto.

## **Tratamiento**

Heridas no infectadas

Debido a la falta de evidencia de la eficacia y el conocimiento de efectos adversos clínicos, microbiológicos y económicos de la terapia con antibióticos, las guías clínicas actuales están en desacuerdo en la prescripción de antibióticos en heridas clínicamente no infectadas.

Heridas infectadas

Medidas generales

El tratamiento de la infección del pie diabético requiere una combinación de varias intervenciones. La terapia de antibióticos es necesaria, pero no suficiente. Usualmente se combina debridación, presión negativa y uno o más procedimientos quirúrgicos. El manejo quirúrgico a menudo incluye limpieza, remoción de tejido neurótico, callos y drenaje de colecciones purulentas. Pacientes con insuficiencia arterial clínicamente significativa pueden requerir revascularización.

Antibióticos

Heridas clínicamente no infectadas no deben ser tratadas con esquema de antibióticos.

Se recomienda prescribir terapia con antibióticos a todas las heridas infectadas.

Seleccionar un régimen de antibiótico en base a la severidad de la infección y la probabilidad de los agentes etiológicos.

Infección leve

El tratamiento de estos casos incluye antibióticoterapia empírica, con monoterapia enfocada a cubrir cocos aeróbicos Gram positivos (dicloxacilina, clindamicina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefalosporinas, quinolonas), así como limpieza y desbridamiento de la herida. Por lo general no es necesaria la hospitalización.

## Infección moderada

Estos pacientes pueden tratarse de modo inicial en forma intrahospitalaria con la aplicación de antibióticos intravenosos, reposo absoluto y desbordamiento urgente. Una vez controlado en proceso infeccioso, se puede continuar con antibióticos orales en forma ambulatoria. En estos casos, el antibiótico debe cubrir brota polimicrobiana con fármacos de amplio espectro o combinaciones: cefalosporinas, quinolonas, amoxicilina-ácido clavulánico, piperaciclina-tazobactam, linezolid y ertapenem. En estos casos la administración debe prolongarse por dos a cuatro semanas.

## Infección grave

Debido a que estas lesiones ponen en peligro la extremidad y la vida del paciente, el tratamiento de los pacientes con infección grave debe ser intrahospitalario y multidisciplinario. Los antibióticos recomendados deben administrarse por vía intravenosa, seleccionados en forma empírica con base en la combinación de doble o triple esquema de quinolona con clindamicina, imipenem-cilastina, vancomicina y ceftazidima con o sin metronidazol.

La presencia de un pie séptico no siempre es indicación de amputación. El tratamiento multidisciplinario debe enfocarse a la estabilidad metabólica, control de las comorbilidades, administración empírica de antibióticos, y combinación de intervenciones quirúrgicas de urgencia para erradicar el tejido necrótico y revascularizar cuando este indicado para mejorar la percusión arterial y lograr como objetivo final el salvamento de la extremidad.

## **Resistencia bacteriana**

La CDC y OMS definen resistencia a los antibióticos como la capacidad de las bacterias de resistir los efectos de un antibiótico. La resistencia a los antibióticos ocurre cuando las bacterias se modifican de

una manera que reduce la eficacia de los medicamentos, las sustancias químicas u otros agentes diseñados para curar o prevenir las infecciones. Las bacterias sobreviven y se siguen reproduciendo y causando daño.

¿Por qué debe importarme la resistencia a los antibióticos?

La resistencia a los antibióticos ha sido llamada uno de los problemas de salud pública más apremiantes en el mundo. La resistencia a los antibióticos puede hacer que las enfermedades que antes se trataban fácilmente con antibióticos se conviertan en infecciones peligrosas y se prolongue el sufrimiento de niños y adultos. Las bacterias resistentes a los antibióticos frecuentemente son más difíciles de matar y más caras de tratar. En algunos casos, las infecciones resistentes a los antibióticos pueden llevar a la discapacidad grave o incluso a la muerte.

Aunque algunas personas piensan que son las personas quienes se vuelven resistentes a ciertos fármacos, en realidad son las bacterias, no las personas, las que se hacen resistentes a los fármacos.

¿Por qué las bacterias se están volviendo resistentes a los antibióticos?

El uso excesivo y el uso indebido de antibióticos puede promover el desarrollo de bacterias resistentes a estos. Cada vez que una persona toma antibióticos, mueren las bacterias que son sensibles al antibiótico (o sea, las bacterias que este todavía puede atacar) pero quedan vivas las bacterias resistentes, que pueden crecer y reproducirse. De esta manera, el uso de antibióticos puede aumentar la cantidad de bacterias que son resistentes a fármacos.

Los antibióticos no son eficaces contra las infecciones virales como el resfriado común, la influenza, la mayoría de los dolores de garganta, la bronquitis y muchas infecciones sinusales (de los senos paranasales) y de oído. El uso extenso de antibióticos para estas enfermedades es un ejemplo de

cómo el uso excesivo de antibióticos puede promover la propagación de resistencia a los antibióticos. El uso correcto de antibióticos es clave para controlar la propagación de esta resistencia.

¿De qué manera se vuelven resistentes a los antibióticos las bacterias?

Las bacterias se pueden volver resistentes a los antibióticos de varias maneras. Algunas bacterias pueden “neutralizar” a un antibiótico al cambiarlo de una manera que lo hace inocuo. Otras han aprendido a desplazar al antibiótico fuera de las bacterias antes de que tenga la oportunidad de actuar. Algunas bacterias pueden cambiar su estructura exterior para que el antibiótico no tenga forma de unirse a las bacterias que está destinado a matar.

Después de estar expuestas a antibióticos, a veces pueden sobrevivir algunas de las bacterias porque encuentran una forma de resistirlo. Aunque solo una de las bacterias se vuelva resistente a los antibióticos, puede reproducirse y reponer a todas las que murieron. Esto significa que la exposición a los antibióticos proporciona presión selectiva, lo que hace que las bacterias sobrevivientes tengan más probabilidades de ser resistentes. Las bacterias también se pueden volver resistentes a través de la mutación de su material genético. La resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad.

### **Identificación molecular de microorganismos asociados a Pie Diabético en el Hospital General del Estado de Sonora**

La infección de las heridas del pie de los enfermos diabéticos es un problema de salud pública en todo el mundo y constituye una complicación muy grave que puede conducir a la amputación parcial o total de la extremidad afectada.

El diagnóstico de la infección es clínico, no microbiológico ni molecular. Sin embargo, es

necesario conocer la etiología de la infección para administrar un tratamiento antimicrobiano dirigido que cubra todos los patógenos implicados, pero también la composición molecular ya que hoy en día la *resistencia antibiótica* toma un papel importante en el éxito del tratamiento. Por ejemplo, en enfermos con tratamiento antibiótico reciente, hospitalización previa o que residen en unidades de cuidados crónicos, se aíslan con más frecuencia microorganismos multirresistentes.

El principal problema que plantea la interpretación de los cultivos de estos enfermos, y por tanto el diagnóstico etiológico de la infección, es la exposición de las lesiones a la microbiota habitual de la piel, dificultando la diferenciación de conceptos microbiológicos como contaminación, colonización crítica e infección. Sin llegar a un tratamiento antibiótico por la resistencia, con este no lograr aislar al patógeno involucrado, por eso de la importancia de la identificación molecular.

Los métodos microbiológicos clásicos implican, generalmente, el uso de un apropiado cultivo de preenriquecimiento y enriquecimiento, el aislamiento en medios selectivos y la posterior confirmación mediante pruebas bioquímicas morfológicas y/o serológicas. Todo esto es laborioso, la obtención de resultados puede tomar días o semanas y, adicionalmente, presentan baja sensibilidad. Aunado a ello, se ha demostrado que algunas células bacterianas pueden entrar en un estado viable pero no cultivable (VPNC), lo que imposibilita el uso de los métodos de cultivo como herramienta de diagnóstico. Una serie de métodos moleculares alternativos, rápidos y sensibles para la detección, identificación y cuantificación de patógenos en las infecciones como en el pie diabético han sido desarrollados para superar estos inconvenientes.

## **Métodos moleculares para la detección e identificación de patógenos en el Pie Diabético**

Los principales avances en los ensayos de detección de patógenos, basados en ácidos nucleicos, se produjeron a partir de 1980. Los primeros métodos de identificación molecular fueron la hibridación ADN-ADN, el análisis de secuencias del ADNr 16S, la hibridación con una sonda específica y el análisis RFLP o ribotipificación. En contraste con las características fisiológicas y bioquímicas, la identificación molecular se basa en la composición constitutiva de los ácidos nucleicos más que en los productos de su expresión. Estos métodos moleculares se utilizan a menudo en asociación con la identificación microbiológica convencional.

El descubrimiento de la PCR, la clonación, la secuenciación y la tecnología de detección por fluorescencia, así como la accesibilidad a una gran cantidad de información en la web ayudó al desarrollo de nuevas herramientas moleculares, cuyo uso ha aumentado enormemente la habilidad para detectar y cuantificar bacterias patógenas en agua y alimentos, entre estas, muchas bacterias emergentes, como por ejemplo; *Escherichia coli* O157, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter* spp., las cuales han representado una seria amenaza para la salud pública mundial. La segunda generación de métodos moleculares para la detección e identificación de géneros y especies son la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la PCR múltiple, la secuenciación de genes específicos, el análisis de restricción del ADN ribosomal amplificado, entre otros.

Recientemente, se ha dado un paso hacia las plataformas moleculares más sofisticadas para la identificación de microorganismos patógenos, incluyendo sistemas de amplificación *in vitro* en tiempo real, biosensores y microarreglos, los cuales han sido desarrollados o se están desarrollando para su uso como métodos rápidos en la detección de patógenos. Además, en la actualidad la tendencia en la

biología molecular es la secuenciación de genomas completos para la comprensión de los procesos evolutivos en las especies.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Diseño del estudio

Se trabajó con un proyecto descriptivo prospectivo

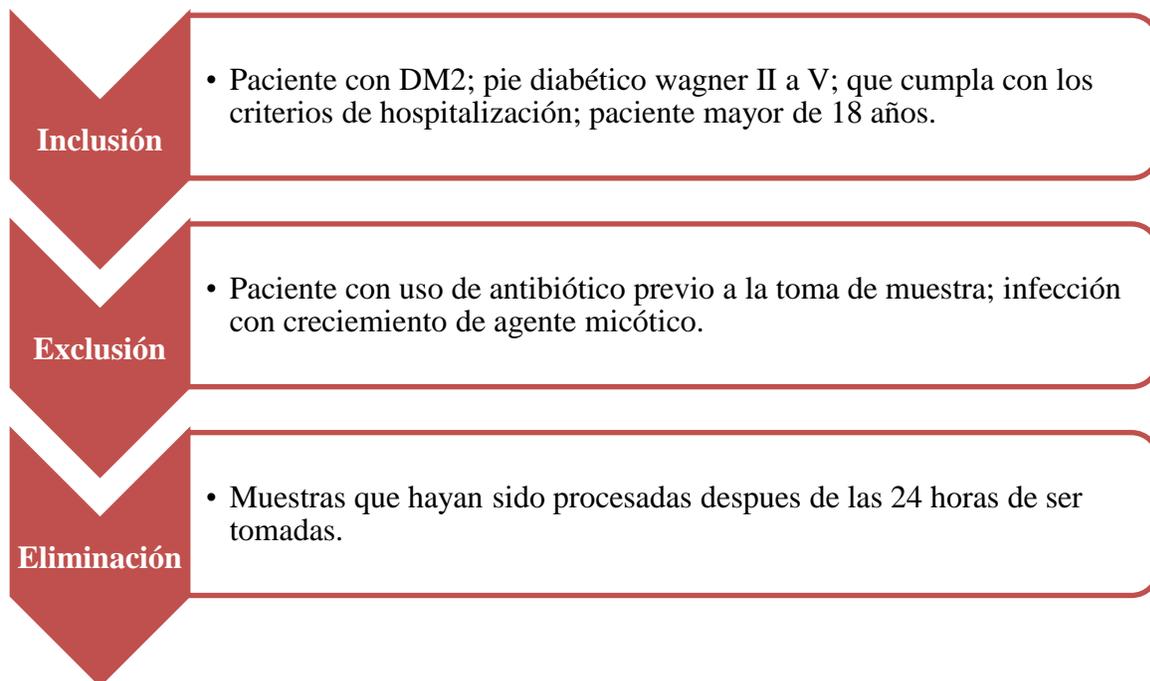
### Población y periodo de estudio

El estudio se realizó con pacientes con pie diabético Wagner de II a V que acudieron al servicio de urgencias del Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours” en el periodo comprendido de marzo a junio de 2019.

### Criterios de muestreo y elección del tamaño de muestra

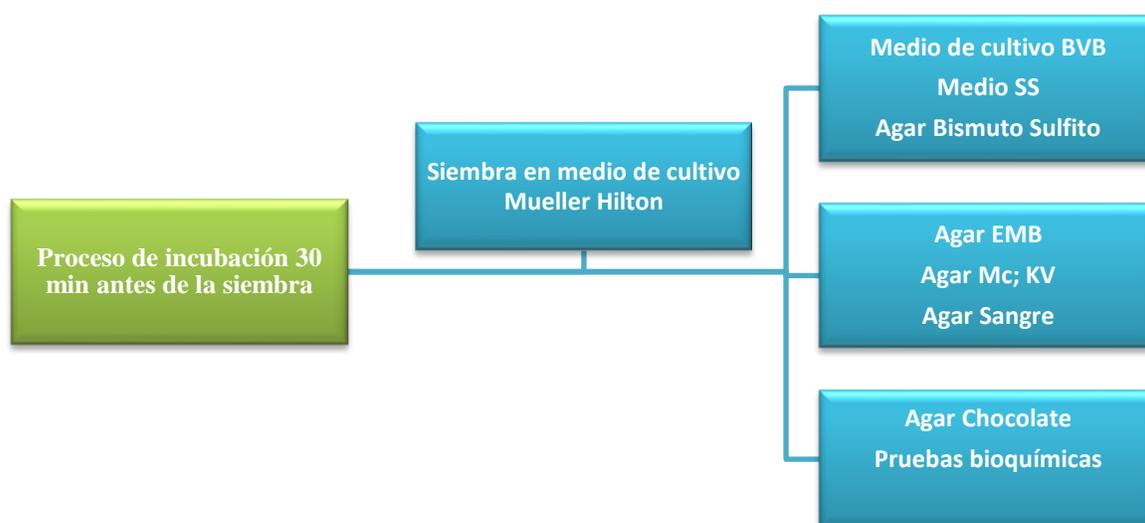
Se utilizó el método de muestreo no probabilístico obteniendo en su totalidad 12 muestras que llegaron durante el periodo de estudio. Las muestras fueron de pacientes seleccionados con heridas infectadas. Previo consentimiento informado, se tomó la muestra de la herida la cual se conservó en frasco estéril con solución salina al 0.9%.

### Criterios de selección



## Descripción metodológica del estudio

Para la identificación de los agentes patógenos se realizó una toma de muestra por raspado de herida con la ayuda de un isopo estéril. Posteriormente, se colocó la muestra en solución salina 09%% y fueron transportadas en un contenedor térmico a 20°C a las instalaciones del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora; específicamente al laboratorio de microbiología. Cada una de las muestras fue sembrada conforme al siguiente esquema:



Para la comprobación bioquímica de las especies previamente sembradas en los medios se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas:

Medio de cultivo	Especificaciones
<b>MIO</b>	Prueba de movilidad, Indol y descarboxilación de lisina
<b>LIA</b>	Evaluación de descarboxilación de lisina y acidez
<b>Citrato de simmons</b>	prueba la capacidad de un organismo para usar citrato como única fuente de carbono e iones de amonio como única fuente de nitrógeno.
<b>KIA</b>	Utilizado para la diferenciación de enterobacterias con base a la fermentación de lactosa y glucosa, además de la formación de ácido sulfhídrico.
<b>TSI</b>	Utilizada para la evaluación de la fermentación de azúcares, específicamente lactosa, sacarosa y glucosa. Además, se evalúa la producción de H <sub>2</sub> S
<b>Prueba de oxidasa y catalasa</b>	Evaluación de las enzimas oxidasa y catalasa
<b>Prueba manitol</b>	Utilizada para evaluar la fermentación de manitol
<b>Prueba glucosa y maltosa</b>	Utilizada para evaluar la producción de ácido
<b>SIM</b>	Medio para la identificación de la movilidad de la bacteria
<b>RMVP</b>	Comprobación de productos ácidos y neutros de las bacterias

La identificación morfológica de los agentes aislados se corroboró y evaluó mediante una tinción de GRAM (ver anexos).

#### Evaluación de la resistencia antibiótica

La prueba de resistencia se realizó con el medio Mueller Hilton. Para la prueba se colocaron 50 µL de cada antibiótico en cada uno de los pozos. Los antibiogramas se realizaron por duplicado. Se utilizó DMSO al 10% con Tween 80 al 0.5% v/v como control negativo y Ciprofloxacina como control positivo (5mg/10mL de agua destilada). Las placas fueron incubadas a 37°C por 18-24 horas. Después de la incubación, se midieron y registraron los halos de inhibición. La sensibilidad se clasificó de acuerdo al diámetro de inhibición de crecimiento con base a las especificaciones descritas por Celikel N. y Kavas G., (2008):

Especificaciones del halo	Categoría
< 8mm	- No se presenta sensibilidad
9-14 mm	+ Sensible
15-19	++ Altamente sensible
> 20 mm	+++ Extremadamente sensible

### Categorización de las variables según la metodología

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador
Especie	Dependiente	Cualitativa	Especie descrita y comprobada bioquímicamente
Resistencia	Dependiente	Cualitativa	No sensible Sensible Altamente sensible Extremadamente sensible

### Recursos empleados

#### Físicos

Placas petri para medio de cultivo; placas petri con partición triple para prueba de resistencia; medios de cultivo: agar Mueller Hilton; agar EMB; agar BVB; agar SS; agar sangre; agar MIO; KIA; LIA; TSI; SS; RPV. Isopo estéril; autoclave; tubo de ensayo 15X150; asa de nicromo.

#### Humanos

Personal para toma de muestra; personal encargado de transporte de muestra; personal encargado de realizar cultivo; personal encargado de realizar prueba de resistencia; analista; médico especialista en cirugía general; miembros del comité de tesis; médico residente de cuarto año de cirugía general.

#### Financieros

Los materiales para la toma de muestra fueron proporcionados por el Hospital General del Estado de Sonora. Para la identificación los costos fueron solventados por el laboratorio de microbiología del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS). El costo de las pruebas de antibióticos fueron cubiertos por el personal investigador autor de este trabajo.

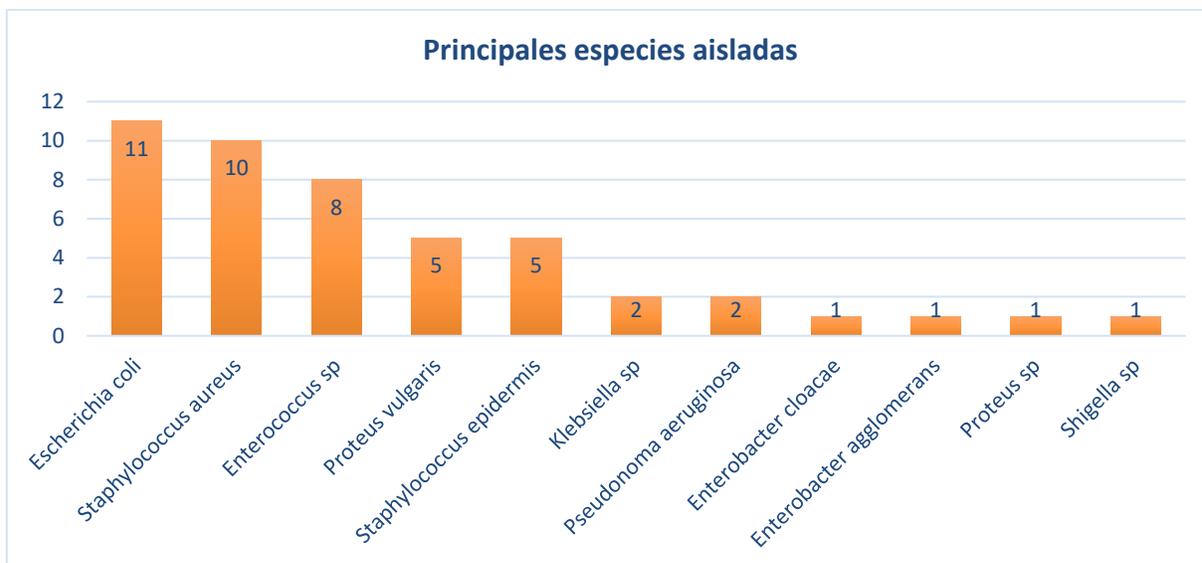
### **Aspectos éticos de la investigación**

El presente estudio se realizó considerando los criterios descritos en la declaración de Helsinki y los aspectos éticos que demanda para la investigación médica con seres humanos. Además, se respetaron los acuerdos especificados en la Ley General del Salud en materia de investigación médica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para las muestras reportadas se aislaron 11 especies de agentes procariontes cuya confirmación se realizó mediante los resultados de las pruebas bioquímicas y de la tinción de Gram. Las especies con mayor frecuencia de ocurrencia fueron *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* seguidas de *Enterococcus* sp. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Macias Hernández et al., para otros hospitales de México en pacientes de pie diabético. En este estudio no se evalúa la presencia de hongos y levaduras. No obstante, la exploración visual de una gran parte de los pacientes sugiere la presencia de dichos organismos en los pacientes tratados. Anteriormente, se han reportado en los servicios de oftalmología del Hospital General del Estado de Sonora asociaciones simbióticas entre especies de bacterias y hongos que han causado complicaciones a los pacientes.

<b>Especie</b>	<b>Frecuencia</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	11
<i>Enterococcus</i> sp	8
<i>Klebsiella</i> sp	2
<i>Proteus vulgaris</i>	5
<i>Proteus</i> sp	1
<i>Pseudonoma aeruginosa</i>	2
<i>Staphylococcus epidermis</i>	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Shigella</i> sp	1



La evaluación de sensibilidad se realizó utilizando los antibióticos levofloxaxino, clindamicina, ceftriaxona, metronidazol y ciprofloxacino. Para ello se tomó en cuenta las recomendaciones de la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Los resultados reportados consideran los diámetros de halos de inhibición se presentan con base a su sensibilidad para las bacterias más frecuentes y se presentan en la siguiente tabla:

Antibiótico	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus sp</i>
<b>Levofloxaxino</b>	9.15 (+)	10.32 (+)	12.22 (+)
<b>Clindamicina</b>	10.75 (+)	10.15 (+)	13.54 (+)
<b>Ceftriaxona</b>	14.10 (++)	15.42 (++)	14.58 (++)
<b>Metronidazol</b>	2.63 (-)	22.25 (+++)	28.75 (+++)
<b>Ciprofloxacino</b>	3.5 (-)	2.61 (-)	30.21 (+++)

No sensible (-); sensible (+); altamente sensible (++) y extremadamente sensible (+++)

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. Mucho se ha dicho y escrito en estos últimos años sobre el aumento alarmante,

a nivel global, en el número de bacterias de relevancia médica que son resistentes a uno o varios antibióticos debido al abuso y mal uso de antibióticos. Todo esto resultado de la conducta poco responsable del hombre al manejo de las infecciones y puede tener consecuencias drásticas para la humanidad. Sin embargo, con las nuevas tecnologías, se cuenta con el conocimiento y las herramientas para poder hacer frente al problema y ganar la guerra contra la resistencia antibiótica.

En nuestros servicios de salud la resistencia antibiótica se asocia a un aumento de la morbilidad, estancia hospitalaria y los costos de la atención, por lo que es imprescindible tomar diversas medidas para su control. Una de las tendencias en la lucha de la resistencia antibiótica es general información acerca del problema, identificar las bacterias con resistencia antibiótica, evitar la diseminación de estas bacterias ya que constituye un punto crítico en la calidad de los servicios de salud. Además, es un reto importante para los profesionales y las sociedades reguladoras involucradas en su manejo.

No hay que dejar de lado la Estrategia Mundial de la OMS para la Contención de la Resistencia a los Antimicrobianos, donde recomienda realizar intervenciones para retrasar la aparición de resistencia a tales fármacos, así como reducir su diseminación, la vigilancia en las regulaciones.

Actualmente la tendencia en el aumento de la resistencia antibiótica es porque se pueden adquirir sin receta médica para uso humano o veterinario, esto induce la aparición y propagación de la resistencia antibiótica. Todo esto en países que no tienen regulaciones estrictas y/o normalizadas. Es importante mencionar que, si no se toman medidas urgentes,

el mundo está abocado a una era post-antibióticos en la que muchas infecciones comunes y lesiones menores volverán a ser potencialmente mortales.

## CONCLUSIONES

- ▶ Las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron *E. coli* y *S. aureus*. Esto indica una concordancia con la literatura reportada.
- ▶ Ciprofloxacino es el antibiótico que presenta menor sensibilidad para las especies más frecuentes. Por otro lado, las especies muestran alta sensibilidad a metronidazol y ceftriaxona.
- ▶ Se considera buena alternativa levofloxacino-clindamicina como antibiótico empírico en pacientes con pie diabético infectado.

## LITERATURA CITADA

I. Blanes et al. Documento de consenso sobre el tratamiento de las infecciones en el pie del diabético, angiología 2012, 31-59.

Peters y Lipsky, Med Diagnosis and Management of Infection in the Diabetic Foot. Med Clin Am (2013) 911-946.

Amjad et al. Bacteriology of diabetic foot in tertiary care hospital; frequency, antibiotic susceptibility and risk factors. J Ayub Med Coll Abbottabad 2017; 29.

Wu et al. Empirical antibiotic treatment in diabetic foot infection: A study focusing in a culture and antibiotic sensitivity in a population from southern China. The international journal of lower extremity wounds 2017, 173-182.

Barwell et al. Diabetic foot infection: Antibiotic therapy and good practice recommendations. Int J Pract. 2017.

Manual para el diagnóstico y tratamiento del pie diabético, hospital Alberto Sabogal 2014.

Tapia-Rangel JC y cols. Incidencia de amputaciones en pie diabético. Rev Mex Angiol 2015; 43 (1): 9-13.

E. Cervantes- García and P. M. Salazar-Schettino. Clinical and surgical characteristics of infected diabetic foot ulcers in a tertiary hospital of Mexico, 2017 vol. 8.

Hingorani et al. The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine. Journal of vascular surgery 2016.

Ronald Belczyk. The diabetic foot. Miscellaneous Topics.

L. Herranz. Índice tobillo brazo para la evaluación de la enfermedad arterial periférica. Av Diabetol 2005; 224-226.

Torres-Valenzuela A y cols. Perfiles clínico y epidemiológico de los pacientes con pie diabético. Rev Esp Méd Quir 2015; 20: 294-301.

Manejo integral del pie diabético en adultos en el segundo nivel de atención. GPC.

## ANEXOS

### DESCRIPCIÓN DE TINCIÓN GRAM

**Tomado de: Paul D. Hoeplich, M. D. Tratado de enfermedades infecciosas. Tomo I. Pág. 77. Edición Revolucionaria. La Habana Cuba 2982.**

1. Preparar una extensión delgada y uniforme sobre el portaobjetos y dejar secar sin calentar. En el caso de las muestras obtenidas con gasas o algodones por frotamiento hay que hacer girar la muestra, apretando firmemente en una pequeña zona del portaobjetos. Si se trata de líquidos como orina o cefalorraquídeos se coloca una gota en el centro del portaobjetos y se deja secar sin extender. Los materiales más densos, como el pus y los esputos, pueden extenderse uniformemente, evitando sobre todo que queden zonas excesivamente gruesas.
2. Pasar el portaobjetos por una llama de gas varias veces con el fin de matar las bacterias y fijarlas a este.
3. Cubrir el portaobjetos con solución de cristal violeta; añadir inmediatamente 2-3 gotas de solución de bicarbonato de sodio y mezclar, inclinando el portaobjetos o soplando sobre él. Dejar teñir durante 30-60 segundos.
4. Inclinarse el portaobjetos para decantar el colorante y cubrir el cristal violeta con yoduro. Dejar en reposo durante 30-60 segundos.
5. La decoloración constituye el paso más crítico de la técnica. Inclinarse el portaobjeto para decantar la solución de yoduro, y lavarlo con acetona-alcohol, manteniéndolo en un ángulo de más de 15 grados, hasta que la solución deje colorearse de azul. No hay que intentar decolorar las zonas más gruesas de la extensión, ya que de esta forma

se decoloran excesivamente las zonas menos gruesas, que son precisamente las que podrán ser estudiadas en el microscopio.

6. Lavar inmediatamente el portaobjetos con agua fría corriente para eliminar el alcohol-acetona, y detener así la decoloración.
7. Cubrir el portaobjetos con safranina; dejar 15-30 segundos y lavar con agua corriente.
8. Secar con un paño la parte inferior del portaobjetos para eliminar los restos del colorante; dejar secar al aire.

### **RECOMENDACIONES PARA EL MANEJO Y ESTUDIO DE CULTIVO MICROBIOLÓGICO EN MEDICINA**

**Tomado de: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y  
Microbiología Clínica ISBN: 84-611-3539-3**

Obtención de la muestra tras la limpieza y desinfección –

Abscesos cerrados: se recomienda aspirar el pus con jeringa y aguja, preferiblemente a través de una zona de piel sana. Si así no se obtuviera una muestra, se puede inyectar suero salino estéril subcutáneo, y volver a aspirar. Una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se debe cambiar la aguja por otra estéril e inocular el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Alternativamente, se puede taponar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

- Heridas abiertas: con una torunda se debe muestrear un área de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> del tejido celular subcutáneo de los bordes de la herida o de la base de la lesión. No se debe frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda con suero salino estéril antes de realizar la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato. Se enviar en un medio de transporte específico.

No se deben tomar muestras de las lesiones que no presenten signos clínicos de infección, a no ser que sea como parte de un protocolo de vigilancia de la infección. Se recomienda tomar las muestras para cultivo antes de iniciar el tratamiento antibiótico empírico. Cuando la infección sea leve y se hayan administrado antibióticos previamente, los cultivos pueden ser innecesarios. Como se indicó anteriormente, también en estos enfermos se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la herida, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de infección. Se recomienda limpiar bien y realizar el desbridamiento de la lesión antes de tomar la muestra.

Recomendaciones para la lectura de los medios de cultivo:

Medios de cultivo	Primera lectura	Lectura diaria	Recuento	Tiempo de incubación	Subcultivo
<b>Aerobios</b>					
Muestras no invasivas	24 horas	Sí	48 horas	48 horas	---- <sup>1</sup>
Muestras invasivas	24 horas	Sí	48 horas	4 días	---- <sup>1</sup>
<b>Anaerobios</b>	48 horas	Sí	48 horas	5-7 días	---- <sup>1</sup>
<b>Caldo de enriquecimiento</b>	24 horas	Sí	----	4 días	---- <sup>2</sup>
<b>Situaciones especiales</b>					
Mordeduras	24 horas	Sí	48 horas	7-10 días	---- <sup>1</sup>
Actinomicosis	48 horas	Sí	----	2-4 semanas	---- <sup>1</sup>

<sup>1</sup>El microbiólogo debe valorar los subcultivo a otros medios y valorar los microorganismos

<sup>2</sup>Cuando se observe turbidez en el caldo, debe subcultivarse a medios sólidos:

a) si en las placas se aíslan <3 morfotipos bacterianos diferentes, debe realizarse una tinción de Gram del caldo buscando morfotipos no observados en las placas, subcultivando en su caso el caldo. Las placas para el subcultivo se elegirán en función de lo observado en la tinción de Gram

b) si en las placas originales no se observa crecimiento;

c) siempre que para el cultivo de la muestra sólo se haya inoculado caldo de enriquecimiento, como en el caso de fragmentos óseos.