



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS
EN CEPAS CLÍNICAS DE *Pseudomonas aeruginosa*.”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA

ALBA ALICIA AVILEZ MONZALVO

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS

Proyecto financiado por la DGAPA, PAPIIT 203723

Los Reyes Iztacala, Tlalneantla, Estado de México (FES Iztacala)

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.

*Un barco en el puerto está seguro,
pero ningún barco ha sido construido para eso.*

William G. T. Shedd

Dedicatoria

- ❖ A Alba chiquita, que soñaba con éste momento y lo veía muy muy lejano. Lo logramos y seguimos avanzando. Vamos por el siguiente nivel.
- ❖ Al equipo KFC (Kjeta, Chispa y Fluffy), que me acompañaron en mis desvelos de tareas y proyectos.
- ❖ A Estela Monzalvo, que me ha apoyado en todo momento y me motiva a seguir adelante. Mamá, me has enseñado a ser una mujer de bien, honesta, trabajadora, humilde y empática con mi entorno. Éste logro también es tuyo. Te amo.
- ❖ A Sofía Avilez, que entre risas y memes, hizo de la carrera y la realización de la tesis más amena. Hermana, éste logro también es tuyo. Te amo.

Agradecimientos

- ❖ A Dios, por rodearme de las personas adecuadas en todo momento y por darme las capacidades para terminar este proyecto.
- ❖ A la Dra. Gloria Luz Paniagua Contreras, que me recibió en el laboratorio de Análisis Clínicos y me permitió la realización del presente proyecto de investigación. Gracias por transmitirme su conocimiento y motivarme en momentos complicados.
- ❖ Al Dr. Eric Monroy Pérez, que me enseñó las técnicas de biología molecular fundamentales para la realización de éste proyecto y con paciencia me guío en la redacción de la tesis. Gracias por sus comentarios, asesoramiento y motivación.
- ❖ Al comité revisor del proyecto:
Dr. Felipe Vaca Paniagua
Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar
Biol. Susana Esther González Almazán
- ❖ A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por brindarme la oportunidad de formarme como bióloga en sus instalaciones con apoyo de excelentes profesores. Gracias por haber sido mi segundo hogar y darme los años más estresantes y divertidos de mi vida... Hasta ahora.
- ❖ A Pati, Susa, Martha y mis compañeros de laboratorio, que solidarios me apoyaron en todo momento. Con su compañía, el laboratorio se sentía aún más cálido.
- ❖ A Jorge Vargas, por ser leal confidente, motivarme y apoyarme en todo momento. Tu compañía hizo hilarantes las clases, memorables las prácticas de campo y placentero el día a día. Te quiero mucho.
- ❖ A mis amigos, Ilse, Arlette, Eileen, Naho, Dani, Perlita, Jacqui y Víctor, por inspirarme cada día. Gracias por su entusiasmo y optimismo, por las risas que hicieron de ésta etapa aún más especial. Los quiero mucho.
- ❖ A mi abuelita Alicia, gracias por todos tus cuidados y enseñanzas. Te quiero mucho.

ÍNDICE

Contenido

1. Abreviaturas.....	7
2. Resumen.....	8
3. Introducción.....	9
3.1 Características de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
3.2 Infecciones causadas por <i>P. aeruginosa</i>	9
3.2.1 Vía urinaria y genital.....	9
3.2.2 Heridas abiertas.....	10
3.2.3 Vía respiratoria - Neumosepsis.....	10
3.2.4 Torrente sanguíneo - Bacteriemia.....	10
3.2.5 Vía ótica.....	11
3.2.6 Periodontales.....	11
3.2.7 Queratitis.....	11
3.2.8 Ósea.....	12
3.3 Factores de virulencia.....	12
3.4 Resistencia a antibióticos.....	12
4. Antecedentes.....	16
5. Justificación.....	18
6. Objetivos.....	19
6.1 General.....	19
6.2 Particulares.....	19
7. Material y métodos.....	20
7.1 Aislamiento e identificación de <i>P. aeruginosa</i>	20
7.2 Extracción de DNA.....	20
7.3 Determinación de la resistencia a los antibióticos.....	21
7.4 Identificación de <i>P. aeruginosa</i> por PCR.....	22
7.5 Identificación de los genes de resistencia a los antibióticos.....	22
7.6 Electroforesis.....	22
8. Resultados.....	25
8.1 Pacientes estudiados.....	25
8.2 Distribución del género de los pacientes.....	25
8.3 Edad de los pacientes aislados.....	26
8.4 Identificación de <i>P. aeruginosa</i>	27
8.5 Detección del fenotipo de resistencia a los antibióticos en las cepas.....	27
8.6 Detección de los genes de resistencia a los antibióticos en las cepas.....	30
9. Discusión.....	39
9.1 Pacientes estudiados.....	39
9.2 Fenotipo de resistencia a los antibióticos.....	40

9.3 Frecuencia de los genes de resistencia a los antibióticos.....	41
10. Conclusiones.....	43
11. Literatura citada.....	44

1. Abreviaturas

AmpC.....	Adenosin monofosfato cíclico
BLEE.....	Betalactamasas de espectro extendido
CIM.....	Concentración inhibitoria mínima
DNA.....	Ácido desoxirribonucleico
HGR.....	Hospital General Regional
IMSS.....	Instituto Mexicano del Seguro Social
KPC.....	Klebsiella pneumoniae carbapenemasa
LasB.....	Enzima elastasa
MBL.....	Metalo- β -lactamasa
MDA.....	Malondialdehído
MDR.....	Multidrogorresistente
NADPH.....	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato
<i>OprD</i>	Porina de la membrana externa de <i>P. aeruginosa</i>
PCR.....	Reacción en cadena de la polimerasa
PDR.....	Androgo-resistente
SME.....	<i>Serratia marcescens</i> enzimática
XDR.....	Extremadamente resistente

2. Resumen

La emergencia de cepas hospitalarias de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogo-resistentes es un serio problema de salud que incrementa la mortalidad, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos con padecimientos como; neumonía, bacteriemia, infecciones del tracto urinario e infecciones quirúrgicas. La multidrogo-resistencia en las cepas ocurre principalmente por la presencia de genes que codifican para la resistencia a los antibióticos. Las características moleculares de los genes de resistencia a los antibióticos en cepas hospitalarias de *P. aeruginosa* en México han sido poco estudiadas, por lo que el propósito de este trabajo fue analizar la distribución de genes de resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, trimetoprim, sulfametoxazol y estreptomina en cepas hospitalarias de *P. aeruginosa*, y su relación con el tipo de infección. Se analizó un grupo de cepas nosocomiales de *P. aeruginosa* (n=100) aisladas de pacientes infectados del Hospital General Regional No. 72 del Instituto Mexicano del Seguro Social de la zona norte del Estado de México, municipio de Tlalnepantla de Baz, entre 2019 y 2022. Las cepas de *P. aeruginosa* y los genes de resistencia a los antibióticos fueron identificados mediante PCR y el fenotipo de resistencia a los antibióticos por el método de Kirby-Bauer. La mayoría de las cepas se aisló de pacientes con infecciones en vías urinarias (n=31), de heridas expuestas (n=14) y de infecciones en vías respiratorias (n=10). El resistograma mostró que los porcentajes de resistencia a los antibióticos más elevados fueron para carbenicilina (98/100), ampicilina y cefalotina (97/100), en cada caso, ciprofloxacino y trimetoprim/sulfametoxazol (96/100), cloranfenicol (91/100), en cada caso, cefotaxima (89/100), y netilmicina (86/100). Los genes con mayor frecuencia entre las cepas fueron; estreptomina (*aadA1*; 93/100), sulfonamida (*sul1*; 76/100), quinolonas (*qnr*; 65/100), trimetoprim (*dfrA1*; 52/100) y tetraciclina (*tetA*; 50/100), mientras que los genes con menor frecuencia fueron; cloranfenicol (*cmlA*; 18/100 y *cat1*; 11/100) y cefotaxima (*CITM*; 10/100). Se identificaron 71 diferentes patrones de asociación de los genes de resistencia a los antibióticos entre las cepas. Los resultados mostraron una elevada frecuencia del genotipo de resistencia a los antibióticos entre las cepas de *P. aeruginosa*, por lo que es importante mejorar los programas de tratamiento médico en los hospitales.

3. Introducción

3.1 Características de *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar, por la presencia de un flagelo polar en uno de los extremos permitiendo su movilidad en un solo sentido. El nombre del género fue propuesto por Walter Migula en 1894 y significa "falsa unidad"; proveniente del griego *pseudo*, que significa "falso", y del latín *monas* que significa "unidad simple". Schroeter en 1872, caracterizó a la bacteria por presentar halos de crecimiento con tonos azules-verdosos, como el cobre oxidado, dando así nombre a la especie. Posteriormente se descubrió que dicha coloración se debe a la producción de piocianina (Hugh y Leifson 1964; Paz-Zarza *et al.*, 2019). Entre los factores que favorecen el desarrollo de las biopelículas en *P. aeruginosa*, se encuentra la fermentación de los azúcares totales, azúcares reductores, así como la alta movilidad, que le confiere a la bacteria la capacidad para sobrevivir, persistir y colonizar en el hospedero (Ochoa *et al.*, 2013).

3.2 Infecciones causadas por *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa es considerada una de las bacterias patógenas oportunistas más frecuentes que ocasionan infecciones nosocomiales como neumonía, bacteriemia, infecciones del tracto urinario e infecciones quirúrgicas, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos con heridas recientes o abiertas. También afecta a plantas, siendo éstas portadoras de la bacteria e introduciéndolas en hospitales (Botelho *et al.*, 2019). Un estudio multicéntrico de resistencias bacterianas nosocomiales en México durante el 2017, indicó que de 477 registros, 115 fueron positivos a *P. aeruginosa* (Gutiérrez *et al.*, 2017). En relación a su mortalidad, se sabe que oscila entre 35%-70%, según la localización de las infecciones, pronóstico de la enfermedad de base, gravedad clínica inicial y también el tratamiento antibiótico no adecuado, el cual muchas veces favorece la resistencia bacteriana (Hernández *et al.*, 2018).

3.2.1 Vía urinaria y genital

Hay varias formas de que *P. aeruginosa* ingrese a la vía urinaria, las principales son la actividad sexual en lugares contaminados o sin protección (condón) entre persona infectada y persona sana, enfermedades metabólicas y, en el caso de las infecciones intrahospitalarias, la infección de la cateterización del tracto urinario, siendo éste el factor más común (Paz-Zarza *et al.*, 2019).

P. aeruginosa posee la capacidad de adaptarse, sobrevivir y crecer bajo condiciones de variabilidad de osmolaridad de la orina, siendo entre 200 y 300 mOsmol/l cuando incrementan su patogenicidad, aumentan la resistencia a la fagocitosis y se correlacionan con la producción de malondialdehído (MDA), siendo éste un marcador de daño tisular a nivel renal y de vejiga urinaria pues mide el estrés oxidativo celular (Mittal *et al.*, 2009).

3.2.2 Heridas abiertas

P. aeruginosa es la principal bacteria causante de infección en heridas abiertas, dicha infección ocurre a nivel intrahospitalario. Los pacientes con mayor índice de infección son los que presentan quemaduras o uso de catéter porque la piel ya no actúa como una barrera física eficaz contra los agentes patógenos. La infección por *P. aeruginosa* se complica pues es una bacteria que posee resistencia intrínseca a los antibióticos, provocando la pérdida de la extremidad infectada o incluso la muerte del paciente (Gholami *et al.*, 2016).

3.2.3 Vía respiratoria - Neumosepsis

Las neumosepsis son infecciones que constituyen un problema de gran importancia económica y social, además de ser un desafío para las instituciones de salud y el personal médico. Tiene gran importancia clínica y epidemiológica, ya que condicionan altas tasas de mortalidad (Galarza, 2008).

Inician siendo neumonías de primer nivel, pero al provocar una inmunodeficiencia en el paciente hospitalizado, lo hace susceptible a levaduras, hongos y bacterias, tales como la *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, entre otras, lo cual dificulta aún más los problemas para respirar, pero el principal problema de que *P. aeruginosa* se aloje en los pulmones, es que puede causar bacteriemias (entrar al torrente sanguíneo), extendiendo su presencia a otros órganos y causando otros diagnósticos en el paciente, como insuficiencia renal (Galarza, 2008).

3.2.4 Torrente sanguíneo - Bacteriemia

La bacteriemia es la presencia de bacterias viables en sangre, detectada mediante hemocultivo. Se ha descrito la bacteriemia como la principal causante de infecciones asociadas a la atención de la salud con gran impacto en la morbilidad y mortalidad de la población general, ya que se encuentran entre las 7 principales causas de mortalidad, provocando un importante impacto

económico para la atención en salud. Entre el 3 y 5% de todas las infecciones bacterianas y entre el 28 a 38% de las bacteriemias causadas por gérmenes Gram negativos el agente etiológico es *P. aeruginosa* (Gutiérrez *et al.*, 2017).

3.2.5 Vía ótica

La más común en ésta área es la “otitis del nadador”, se caracteriza por enrojecimiento de la entrada auditiva, provocado por diversas bacterias, pero *P. aeruginosa* ha sido identificada como la bacteria predominante. Se adquiere por nadar en aguas recreacionales, así como las piscinas con una alta carga de bañistas, cloración inadecuada y elevada temperatura, que estimulan el crecimiento de microorganismos (Jasso, 2028).

3.2.6 Periodontales

La periodontitis crónica es una patología caracterizada por la destrucción de los tejidos de soporte del diente. Existe evidencia científica de la presencia en bolsas periodontales de *P. aeruginosa*, bacteria que altera la microbiota subgingival. Ha sido asociada al fracaso en el tratamiento de la periodontitis, pérdida de piezas dentales y podría constituir un riesgo para la salud general de los pacientes, pues recordemos que la bacteria puede ingresar al torrente sanguíneo y causar mayores complicaciones (Invernizzi-Mendoza y Corbeta, 2020).

3.2.7 Queratitis

La queratitis es una inflamación de la córnea causada por residuos u objetos contaminados, que mayormente son lentes de contacto, maquillaje y accesorios de belleza. *P. aeruginosa* en específico, causa una progresión rápida, ya que secreta proteasas y toxinas, como parte de su metabolismo, las cuales abren sitios intercelulares que les permitirá penetrar más rápidamente al estroma corneal, provocando una respuesta inflamatoria más severa (Lliteras, 2008).

Las secuelas dependen de la evolución previa al tratamiento. Cuando el paciente acude al inicio de su sintomatología, las lesiones son epiteliales y podrán dejar leucomas muy superficiales y tenues, sin embargo, ya instaladas, las lesiones son severas, y dejarán grandes leucomas vascularizados con importante baja de la agudeza visual (Lliteras, 2008).

Sin tratamiento, en 24 horas las lesiones duplican su diámetro, presentando un infiltrado difuso, que abarca zonas amplias de estroma, secreción abundante, ocasionalmente cursan con hipopion

(material purulento en la cámara anterior del ojo), y se acompañan de reacción ciliar (el iris se pega a la cara anterior del cristalino), fotofobia, lagrimeo, así como dolor y ardor intensos. El tratamiento adecuado es con quinolonas que pudiesen combinarse con aminoglucósidos, en especial tobramicina para lo cual son sensibles 90 a 95% de las cepas estudiadas, sin embargo, generan una rápida resistencia a ellos (Lliteras, 2008).

3.2.8 Ósea

La osteomielitis es una inflamación de la médula ósea y el hueso circundante, la infección por *P. aeruginosa* es un acontecimiento poco frecuente, pues está asociada a pisar material infectado, pero también puede adquirirse en operaciones óseas con material mal esterilizado. La bacteria invade la médula ósea, dificultando su tratamiento y provocando la pérdida de la extremidad (Fick, 1993).

El síndrome de uña verde, es una forma de cromoniquia (cambio de coloración de las uñas), asociado a la piocianina que produce la *P. aeruginosa*, algunas veces en franjas transversales (Jasso, 2028).

3.3 Factores de virulencia

La patogenicidad de *P. aeruginosa* está mediada por factores de virulencia que incluyen toxinas, enzimas extracelulares, sideróforos y sistemas de secreción que incrementan la patogenicidad en el hospedero. Un factor de virulencia importante es la biopelícula, que es una matriz compleja que protege a la bacteria contra el sistema inmunológico y contra la acción de gran cantidad de antimicrobianos; otro factor es la enzima elastasa (LasB) que apoya el proceso de infección y colonización al dañar el tejido y degradar las proteínas inmunes, mientras que la piocianina es un activo redox azul que puede aceptar directamente electrones de agentes reductores como la enzima Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato (NADPH) y el glutatión reducido; finalmente, la proteasa alcalina escinde varias proteínas y altera la respuesta inmune del hospedero (González-Olvera *et al.*, 2019).

3.4 Resistencia a antibióticos.

Debido a los mecanismos de resistencia intrínseca, adquirida y adaptativa que caracterizan al patógeno, las alternativas terapéuticas de las infecciones que produce se limitan sólo a algunos

grupos de antibióticos. Sin embargo, la alta presión selectiva que ejercen los antimicrobianos en ambientes hospitalarios ha generado una rápida propagación y diseminación mundial de clonas de *P. aeruginosa* multidrogoresistentes (MDR) (Botelho *et al.*, 2019). La preocupación relacionada a esta bacteria ha sido destacada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en febrero del 2017 incluyó a *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos en la lista de patógenos con prioridad crítica, para los que se requiere nuevos antibióticos y que ha obligado a adoptar estrategias de tratamientos más agresivas (Guajardo-Lara *et al.*, 2021; Zárate *et al.*, 2021).

P. aeruginosa puede adquirir resistencia a través de mutaciones cromosómicas y la adquisición de genes de resistencia a los antibióticos, éste microorganismo tiene uno de los genomas bacterianos más grandes y posee una variedad significativa de genes adquiridos por transferencia horizontal, que a menudo se encuentran dentro de integrones y elementos genéticos móviles como transposones, secuencias de inserción, islas genómicas, fagos, plásmidos, elementos integradores y elementos conjugativos (Botelho *et al.*, 2019). Hay cuatro mecanismos principales de resistencia de *P. aeruginosa* a carbapenémicos: 1) Mutación del gen que codifica la proteína OprD, una porina de la membrana externa de *P. aeruginosa*, que reduce su expresión; 2) sobreproducción de betalactamasa adenosin monofosfato cíclico (β -lactamasa AmpC); 3) producción de carbapenemasas; de estas se describen las clase A (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC) y *Serratia marcescens* enzimática (SME), metalo- β -lactamasa (MBL) y oxacilinasas y; 4) sobreproducción de bombas de expulsión que toman betalactámicos como sustrato (Ochs *et al.*, 1999, Rostami *et al.*, 2018; Yin *et al.*, 2018 y Gómez *et al.*, 2005).

1) Las porinas son proteínas transmembranales que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones. OprD es una porina de membrana cuyo papel primitivo es permitir la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. Además, es capaz de permitir la entrada de carbapenémicos, aunque no de otros β -lactámicos. Estas cepas mutantes muestran un aumento de la concentración inhibitoria mínima (CIM), lo que las hace resistentes a carbapenémicos. Han demostrado un aumento de la CIM, que si bien no demuestran resistencia, si revelan disminución de la susceptibilidad. La resistencia exige dos mecanismos de resistencia ya mencionados: la mutación del gen que codifica la porina OprD y la activación de bombas de expulsión que toman betalactámicos como sustrato (Ochs *et al.*, 1999 y Gómez *et al.*, 2005).

2) Las betalactamasas son enzimas que hidrolizan el anillo β -lactámico de los antibióticos, de

esta manera destruyen el sitio activo del AB e impiden su actividad. Las betalactamasas se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de betalactámicos, es por esto que algunas subclasificaciones las denominan, penicilinasas, cefalosporinasas o carbapenemasas, dependiendo de la familia de betalactámicos que tenga mayor susceptibilidad a ser atacadas por la enzima. *P. aeruginosa* posee dos clases de betalactamasas: AmpC y las betalactamasas de espectro extendido (BLEE): AmpC, está codificada en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios betalactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. Cuando esto sucede, hay resistencia a penicilinas y cefalosporinas, el grado de resistencia depende del grado de represión de la AmpC. Ésta enzima, es inducida en cuestión de días, por tanto, antes del tratamiento, los betalactámicos parecen servir, pero clínicamente el paciente no mejora y se descubre posteriormente la inducción completa de la enzima. Las BLEE son codificadas por plásmidos, se adquieren mediante transporte de DNA extracromosomal y se manifiestan también por resistencia a penicilinas y cefalosporinas (Gómez *et al*, 2005).

3) Las carbapenemasas son enzimas que confieren resistencia a carbapenémicos. Las betalactamasas más frecuentemente adquiridas por plásmidos son la PSE-1 y la PSE-4. Otras BLEE incluyen la PER-1 que confiere franca resistencia a ceftazidima pero que pierde su poder al adicionar clavulanato. TEM, SHV y OXA, son BLEE que generan resistencia a monobactámicos, penicilinas, cefalosporinas, pero respetan carbapenémicos. Existen metalo-betalactamasas que tienen la capacidad de hidrolizar las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos pero no el aztreonam; estas son IMP y VIM recientemente descritas en Japón y Europa (Yin *et al.*, 2018 y Gómez *et al*, 2005).

4) Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana, que expulsan de la célula detergentes y sustancias anfipáticas que de otra manera destruirían la bacteria. Antes de la era de los antibióticos, *P. aeruginosa* ya poseía estos complejos enzimáticos. Este complejo llamado MexAB- OprM, se compone de una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa. Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración, betalactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de la "impermeabilidad" a la mayoría de los antibióticos. Las bombas de expulsión, tienen también la capacidad de ser inducidas por antibióticos, especialmente ciprofloxacina; además, los cambios mutacionales, incluso de una sola base nucleotídica en el DNA cromosómico de la bacteria, pueden

sobreexpresar estas bombas. La sobreexpresión de MexAB-OprM, compromete la acción de quinolonas, penicilinas, cefalosporinas e incluso meropenem pero no imipenem. La sobreexpresión de otra bomba de expulsión, MexEF-OprN, confiere resistencia a quinolonas y algunos betalactámicos, ésta última bomba tiene una importante particularidad debido a que su expresión está estrechamente relacionada con el gen *mex T*, que también está involucrado en la mutación que origina la pérdida de la porina OprD (Gómez *et al*, 2005).

4. Antecedentes

En 2022, Nasrin y colaboradores realizaron un estudio para identificar los serotipos de *P. aeruginosa* y la susceptibilidad ante 7 antibióticos. Analizaron mediante la prueba Kirby-Bauer y PCR, 370 cepas aisladas de sangre y líquido cefalorraquídeo de pacientes en 10 países (no incluido México) en 4 continentes. Del total de cepas, se destacó la resistencia a 3 familias de antibióticos: betalactámicos (aztreonam: 56%, meropenem: 22%, piperacilina-tazobactam: 22% y cefepime: 15%), quinolonas (levofloxacino: 42%) y aminoglucósidos (gentamicina: 14% y amikacina: 6%); 27% de las cepas fueron MDR.

Guajardo-Lara y colaboradores en 2021, aislaron 330 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de dos hospitales de la Ciudad de Monterrey, México. No especifican el origen de las cepas, pero mencionan que provienen de pacientes de cuidados intensivos. Las pruebas de susceptibilidad se realizaron mediante el sistema automático BD Phoenix, Kirby-Bauer y Xpert Carba-R-Cepheid. Del total de cepas, el 14.2% (n=47) fue resistente a betalactámicos: ceftolozane-tazobactam en un 76% y ceftazidima-Avibactam en un 38%. El 70% fueron clasificadas como XDR (extensamente drogo-resistentes) y 21% como MDR.

González-Olvera y colaboradores en 2019 reportaron los resultados de la evaluación de la resistencia a antibióticos de 92 cepas de *P. aeruginosa* que aislaron entre 2016 y 2017 de urocultivos, sondas, secreción de oído, vías respiratorias, heridas, hemocultivos, líquido cefalorraquídeo y cuero cabelludo de pacientes con enfermedades nosocomiales de 3 hospitales públicos de Gómez Palacio, Durango, México. Ante 21 antibióticos, el 28% de las cepas fue MDR y 23% XDR. Siendo el grupo de las quinolonas el medicamento con una resistencia antimicrobiana más alta (gatifloxacina: 42%) pero también la más baja (ciprofloxacina: 2%). El segundo antibiótico al que se presentó mayor resistencia fue trimetoprim en un 40%, seguido por nitrofurantoína en un 36%.

Pedraza en 2020, analizó 45 cepas procedentes de urocultivos, heridas quirúrgicas y secreción bronquial de pacientes hospitalizados en Pachuca, Hidalgo, México. El 56% de las cepas fue MDR, siendo las cefalosporinas de 3ª generación (betalactámicos) la familia con mayor resistencia en un 64%, seguida por carbapenémicos en un 51% y quinolonas en un 33%.

Ponce de León en 2018 analizaron la resistencia a los antibióticos en 423 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de hemocultivos de sangre y orina provenientes de 14 hospitales de diferentes Estados

de México: Jalisco, Nuevo León, Durango, Guanajuato, Estado de México y Ciudad de México, y encontraron que la resistencia más elevada fue a antibióticos betalactámicos: meropenem (33%), cefepime (22%), ceftazidima (21%); seguida de ciprofloxacino (20%) de la familia de las quinolonas, y continuando con antibióticos betalactámicos: piperacilina-tazobactam (19%) y ampicilina (15%).

En 2017, da Silva y colaboradores aislaron 100 cepas de *P. aeruginosa* a partir de secreción traqueal, urocultivo y hemocultivo, en 3 hospitales de Brasil. Mediante PCR identificaron la resistencia al grupo de antibióticos de los betalactámicos, buscando variantes del gen *bla*. Los genes *bla_{SPM-1}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* y *bla_{KPC}* no estuvieron presentes en ninguna cepa, solo *bla_{GES}* se presentó en un 4% (n=4). De éstas 4 cepas, reportaron que no solo presentaron resistencia a betalactámicos, sino también a 2 familias más: betalactámicos (meropenem e imipenem: 4%, aztreonam: 3%, piperacilina-tazobactam y ceftazidima: 2%, cefotaxima y ceftriaxona: 1%); aminoglucósidos (amikacina y gentamicina: 4%, tobramicina: 2%) y quinolonas (ciprofloxacino: 4%, norfloxacin: 2% y ofloxacin: 1%).

Mun y colaboradores en 2018 aislaron 53 cepas de *P. aeruginosa* a partir de urocultivos, heridas y hemocultivos, en un hospital en Malasia. Mediante tipificación de secuencias multilocus, identificaron genes de carbapenemasa betalactámicos: *bla_{IMP-1}*, *bla_{VIM-2}* y *bla_{NDM-1}*. El 6% de las cepas fue MDR, principalmente a los antibióticos metalo-beta-lactámicos: piperacilina-tazobactam, meropenem y doripenem (carbapenémicos) y ceftazidima (cefalosporinas); aminoglucósidos: gentamicina, netilmicina y amikacina; y quinolonas: ciprofloxacina.

En 2017, Liu y colaboradores aislaron 892 cepas de *P. aeruginosa* en un hospital de Taiwán, China, a partir de uro y hemocultivos; de las cuales el 10% fueron resistentes a ceftazidima, meropenem, imipenem y doripenem (betalactámicos). Se encontró la presencia de varios grupos del gen *bla*, entre ellos *bla_{SHV}*.

Zarate y colaboradores en 2021, en Perú, aislaron 97 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de orina, heces, sangre y secreción de heridas de pacientes en 3 hospitales. De las cuales, 7.2% fue resistente a la colistina.

5. Justificación

La composición del genotipo de resistencia a los antibióticos en cepas hospitalarias de *P. aeruginosa* en México ha sido poco estudiada y tratada de manera poco eficaz, por lo que el propósito de este trabajo fue analizar la distribución de genes de resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, trimetoprim, sulfametoxazol, quinolonas y estreptomicina en cepas nosocomiales de *P. aeruginosa* para poder prevenir, tratar y dar seguimiento de manera más eficiente por parte médica y paciente.

6. Objetivos

6.1 General

- Analizar la distribución de los genes de resistencia a los antibióticos en un grupo de cepas hospitalarias de *P. aeruginosa*.

6.2 Particulares

- Determinar el fenotipo de resistencia a los antibióticos por el método de Kirby-Bauer.
- Determinar la frecuencia de los genes de resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, trimetoprim, sulfametoxazol y estreptomicina en cepas de *P. aeruginosa*.
- Correlacionar la distribución de los genes de resistencia a los antimicrobianos según el tipo de infección.

7. Material y métodos

7.1 Aislamiento e identificación de *P. aeruginosa*.

Se analizó un grupo de cepas de *P. aeruginosa* previamente aisladas de pacientes con diferentes infecciones (neumonía, bacteriemia, infecciones de vías respiratorias, del tracto urinario, catéter y heridas quirúrgicas) del Hospital General Regional (HGR) No. 72 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de la zona norte del Edo. de México (Tlalnepantla), de agosto 2019 a diciembre 2022. Adicionalmente se obtuvo información como edad, antecedentes de infecciones, tratamiento previo con antibióticos, padecimiento actual o algún otro tipo de enfermedad. Las muestras fueron tomadas mediante hisopos estériles, de las infecciones o del esputo de pacientes infectados, se inocularon en agar de infusión cerebro-corazón (BHI, MCD Lab., México) y se incubaron a 37°C por 24 h. Al término las muestras se cultivaron en cajas con agar nutritivo (MCD Lab., México) con 5% de sangre de carnero (BD) y en agar selectivo de ceftrimida (MCD Lab., México). Las muestras de orina y de sangre fueron sembradas directamente en agar nutritivo con 5% de sangre de carnero y en agar selectivo de ceftrimida. Las cepas de *P. aeruginosa* fueron identificadas bioquímicamente mediante el sistema automatizado Vitek 2 Compact. Finalmente las cepas fueron guardadas en caldo Luria-Bertani (LB; DIBICO, México) con glicerol a 4°C.

7.2 Extracción de DNA

La extracción del DNA bacteriano se realizó por el método de ebullición, para lo cual las cepas fueron crecidas en agar ceftrimida por 24 h a 37°C. A partir del crecimiento bacteriano por medio de un asa estéril se tomaron varias colonias y se depositaron en un tubo de 16 x 150 mm que contenía 2 mL de agua desionizada. Se suspendieron las bacterias con ayuda de un Vórtex durante 20 seg. Posteriormente los tubos se llevaron a ebullición durante 20 min, concluido el tiempo se incubaron en hielo por 10 min (Paniagua *et al.*, 2020). Al término, 1 mL de cada muestra se colocó en un tubo Eppendorf estéril y se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 min. El sobrenadante que contenía el DNA bacteriano, se separó en otro tubo Eppendorf nuevo y estéril, y se almacenó a -20°C (Ooka *et al.*, 2009).

7.3 Determinación de la resistencia a los antibióticos.

La susceptibilidad en las cepas de *P. aeruginosa* a los siguientes 12 antimicrobianos; ampicilina, carbenicilina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cloranfenicol, nitrofurantoína, amikacina, gentamicina, netilmicina, ciprofloxacino, y trimetoprim con sulfamethoxazol se realizó por el método de difusión de disco de Kirby-Bauer (Bio-Rad, México). Para lo cual se tomaron 5 colonias de cada cepa crecida en agar EMB (Bioxon, México) y se inocularon sobre toda la superficie de agar Mueller Hinton (MH; Bioxon, México). Al Término y por medio de una pinza estéril se tomó un sensidisco con los 12 antimicrobianos a determinar, se colocó sobre el agar MH y se incubaron a 37°C por 24 horas. El antimicrobiano se difundió formando un gradiente de concentración, que inhibió o permitió su crecimiento. Dependiendo del diámetro del halo de inhibición de cada muestra (el cual se midió con un vernier) las cepas se clasificaron como susceptibles o resistentes (Tabla 1). La cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, y *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron utilizadas como controles para la reproducibilidad del método.

Tabla 1. Criterios de clasificación de la resistencia.

Antibiótico	Contenido del disco	Diámetro aceptable de la zona de inhibición (mm).
Amikacina	30 µg	18-26
Ampicillina	10 µg	27-31
Carbapenicilina	100 µg	18-24
Cefalotina	30 µg	15-21
Cefotaxima	30 µg	18-32
Ceftriaxona	30 µg	17-23
Cloranfenicol	30 µg	21-27
Gentamicina	10 µg	17-23
Netilmicina	30 µg	17-23
Nitrofurantoina	100 µg	17-23
Pefloxacin	5 µg	26-32
Trimethoprim +	1,25/23,75 µg	24-32

sulfamethoxazol		
-----------------	--	--

7.4 Identificación de *P. aeruginosa* por PCR

La identificación de *P. aeruginosa* se realizó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante la amplificación del gen 16S rDNA (Kaszab *et al.*, 2011). Para un volumen final de 20 μ L por mezcla de reacción, se agregaron en un tubo Eppendorf (1.7 mL) 12.5 μ L de la Taq DNA Polymerase Master Mix RED (Ampliqon), 1 μ L del oligonucleótido forward (10 pmol; GGGGGATCTTCGGACCTCA), 1 μ L del oligonucleótido reverse (10 pmol; TCCTTAGAGTGCCCACCCG) (Integrated DNA Technologies, USA), 3 μ L de DNA molde y 2.5 μ L de agua libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron las siguientes; Desnaturalización inicial a 95°C x 2 min., seguido de 25 ciclos (94°C x 25 s, 58°C x 40 s y 72°C por 40 s) y una extensión final de 72°C por 60 s. El tamaño del amplicón esperado fue de 956 pb. La cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 fue utilizada como control positivo.

7.5 Identificación de los genes de resistencia a los antibióticos.

La secuencia de los oligonucleótidos y las condiciones de PCR para detectar los genes de resistencia a los antibióticos en las cepas se realizó conforme a lo descrito previamente (Momtaz *et al.*, 2013; Tabla 2 y Tabla 3). Para un volumen final de 20 μ L por mezcla de reacción, se agregaron en un tubo Eppendorf (1.7 mL) 12.5 μ L de la Taq DNA Polymerase Master Mix RED (Ampliqon), 1 μ L del oligonucleótido forward (10 pmol), 1 μ L del oligonucleótido reverse (10 pmol) (Integrated DNA Technologies, USA), 3 μ L de DNA molde y 2.5 μ L de agua libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron conforme a Momtaz y colaboradores en 2013 (Tabla 2).

7.6 Electroforesis.

La visualización de los amplicones de PCR se realizó mediante electroforesis de agarosa al 2% utilizando como colorante fluorescente el Midori Green (Nippon Genetics). Las condiciones de corrimiento fueron: 120 Volts, 94 miliamperios, durante 30-40 min (Paniagua *et al.*, 2016). Los geles fueron visualizados en el sistema de Fotodocumentación El Logic (Kodak).

Tabla 2. Oligonucleótidos utilizados para amplificar los genes de resistencia a antibióticos en las cepas de *E. coli* uropatógena (Momtaz *et al.*, 2013, Sáenz *et al.*, 2004 y Rafiq *et al.*, 2019).

Antibiótico	Gen	Secuencia del oligonucleótido (5' - 3')	Tamaños de los amplicones (pb)
Betalactámicos	<i>bla_{SHV}</i>	(F) TCGCCTTGTGTATTATCTCCC	768
		(R) CGCAGATAAATCACCACAATG	
	<i>CITM</i>	(F) TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462
		(R) TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	
Cloranfenicol	<i>cmlA</i>	(F) CCGCCACGGTGTGTGTTGTTATC	698
		(R) CACCTTGCCTGCCCATCATTAG	
	<i>catI</i>	(F) AGTTCGTCAATGTACCTATAACC	547
		(R) TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC	
Estreptomicina	<i>aadA1</i>	(F) GCAGCGCAATGACATTCTTG	282
		(R) ATCCTTCGGCGCGATTTTG	
Gentamicina	<i>aac(3)-IV</i>	(F) CTTCAGGATGGCAAGTTGGT	286
		(R) TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	
Quinolonas	<i>qnr</i>	(F) ACTGCAAGTTCATTGAACAG	433
		(R) GATCTAAACCGTCGAGTTCG	
Sulfametoxazol	<i>sulI</i>	(F) TTCGGCATTCTGAATCTCAC	822
		(R) ATGATCTAACCCTCGGTCTC	
Tetraciclina	<i>tetA</i>	(F) GGTTCACTCGAACGACGTCA	577
		(R) CTGTCCGACAAGTTGCATGA	
	<i>tetB</i>	(F) CCTCAGCTTCTCAACGCGTG	634
		(R) GCACCTTGCTGATGACTCTT	
Trimetoprim	<i>dfrA1</i>	(F) GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC	367
		(R) GCACCTTGCTGATGACTCTT	

Tabla 3. Condiciones de amplificación de genes de resistencia en PCR (Momtaz *et al.*, 2013).

Antibiótico	Gen	Condiciones de amplificación
Betalactámicos	<i>bla_{SHV}</i> <i>CITM</i>	Desnaturalización inicial de 15 min. a 95°C, 30 ciclos (desnaturalización por 30 seg. a 94°C, alineación por 30 seg. a 58°C y extensión de 1 min. a 72°C). La extensión se prolonga por 10 min. a 72°C y finalmente, se enfría por 4 min. a 12°C.
Cloranfenicol	<i>cmA</i> <i>catI</i>	
Estreptomicina	<i>aadA1</i>	
Sulfametoxazol	<i>sulI</i>	
Gentamicina	<i>aac(3)-IV</i>	Desnaturalización inicial de 5 min. a 94°C, 30 ciclos (desnaturalización por 30 seg. a 94°C, alineación por 30 seg. a 50°C y extensión de 1 min. a 72°C). La extensión se prolonga por 10 min. a 72°C y finalmente, se enfría por 4 min. a 12°C.
Tetraciclina	<i>tetA</i> <i>tetB</i>	Desnaturalización inicial de 7 min. a 95°C, 30 ciclos (desnaturalización por 30 seg. a 95°C, alineación por 30 seg. a 56°C y extensión de 30 seg. a 72°C). La extensión se prolonga por 10 min. a 72°C y finalmente, se enfría por 4 min. a 12°C.
Trimetoprim	<i>dfrA1</i>	Desnaturalización inicial de 5 min. a 95°C, 30 ciclos (desnaturalización por 30 seg. a 92°C, alineación por 30 seg. a 50°C y extensión de 1 min. a 72°C). La extensión se prolonga por 10 min. a 72°C y finalmente, se enfría por 4 min. a 12°C.
Quinolonas	<i>qnr</i>	

8. Resultados

8.1 Pacientes estudiados

Las cepas de *P. aeruginosa* fueron aisladas de pacientes del HGR No. 72 del IMSS de la zona norte del Edo. de México (Tlalnepantla), con diversos tipos de infecciones (Figura 1). El origen de las cepas con la mayor frecuencia fue de urocultivo (31/100), seguido de herida (14/100) y secreción bronquial (10/100). También se encontró un 29% (29/100) de cepas cuyo origen clínico no fue posible identificar.

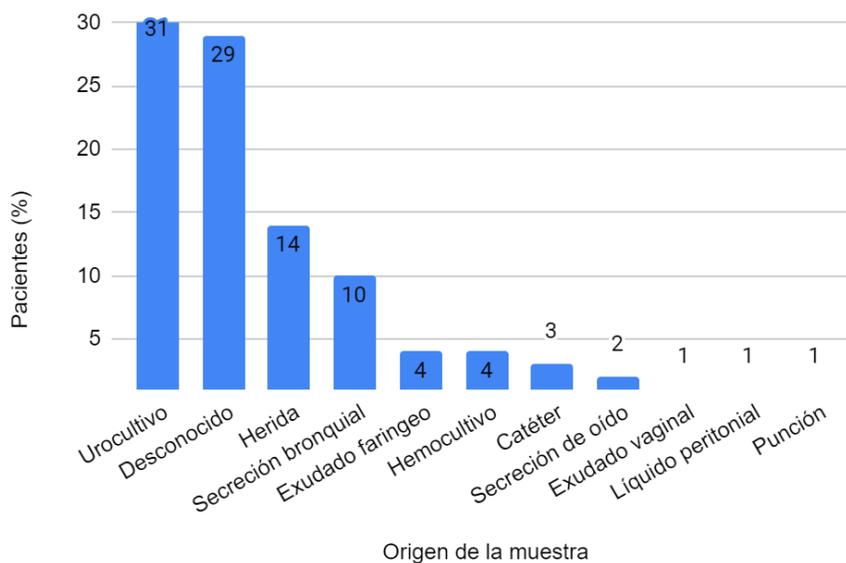


Figura 1. Origen de las cepas de *P. aeruginosa*

8.2 Distribución del género de los pacientes

El 46% (46/100) de las cepas fue aislada de mujeres y hombres, en cada caso; en el 8% (8/100) de los pacientes no se logró determinar el género (Figura 2).

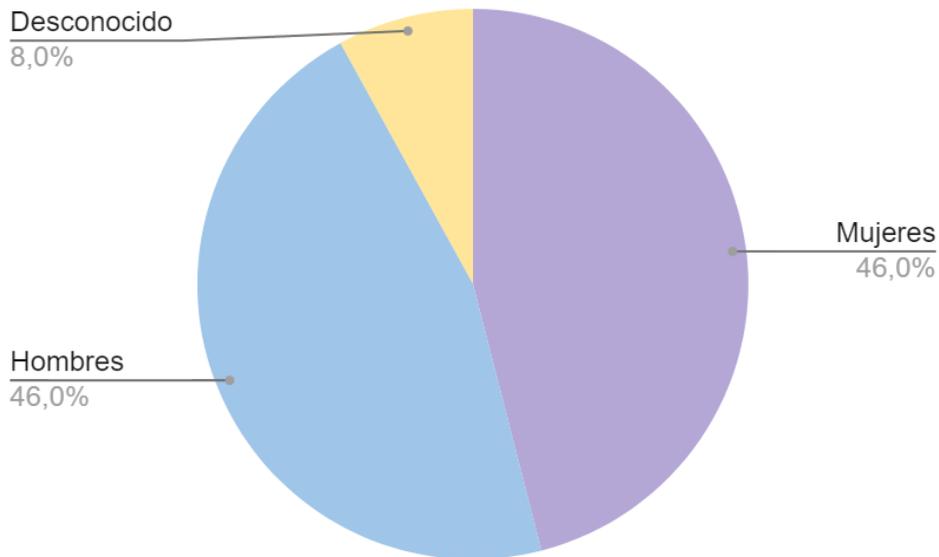


Figura 2. Distribución del género de los pacientes analizados.

8.3 Edad de los pacientes aislados

La distribución de edad de los pacientes se observa en la Figura 3. El rango de edad más abundante fue el de 41 a 60 años con un 32% (32/100), seguido por el rango de 61 a 80 años con 25% (25/100). El promedio de edad en las mujeres fue de 58 años (rango: 41 a 60 años) con un mínimo de 19 años y un máximo de 92; y en los hombres de 52 años (rango: 41 a 60 años) con un mínimo de 1 años y un máximo de 92.

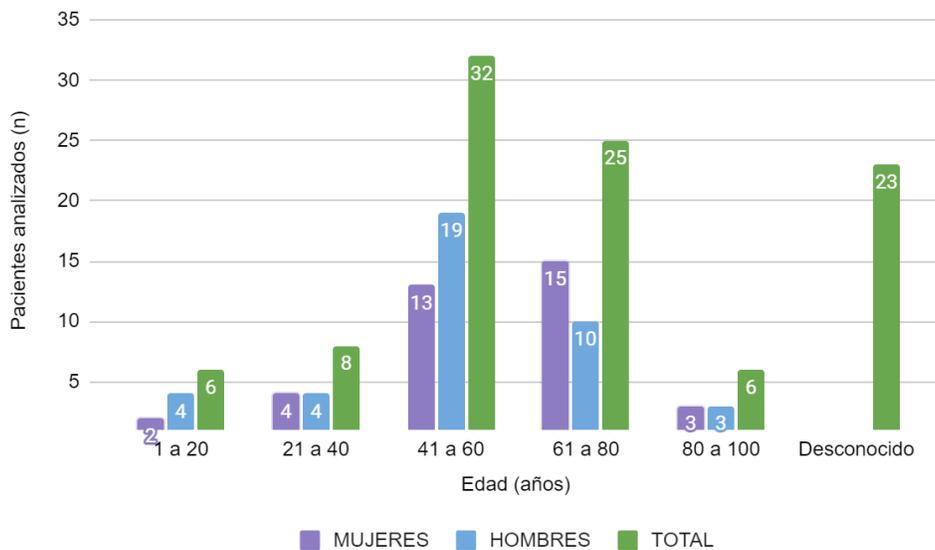


Figura 3. Distribución de pacientes analizados por rango de edad.

8.4 Identificación de *P. aeruginosa*

P. aeruginosa se identificó por PCR convencional mediante amplificación del gen *16S* rDNA (Figura 4).

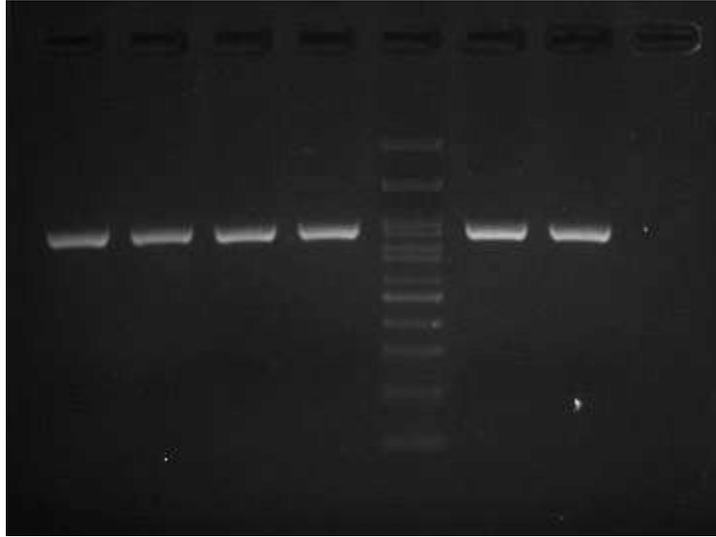


Figura 4. Amplificación por PCR del gen *16S* rRNA (956 pb). Carril 1, control positivo (ATCC 27853). Carriles 2-4 y 6-7 cepas de *P. aeruginosa*. Carril 5 MWM (100 pb). Carril 8, control negativo (sin DNA molde).

8.5 Detección del fenotipo de resistencia a los antibióticos en las cepas

El resistograma mostró que los porcentajes de resistencia a los antibióticos más elevados fueron para carbenicilina (98/100), ampicilina y cefalotina (97/100), en cada caso, ciprofloxacino y trimetoprim/sulfametoxazol (96/100), cloranfenicol (91/100), en cada caso, cefotaxima (89/100) y netilmicina (86/100; Figura 5 y Tabla 4).

Según el Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multidrogo-resistentes (MDR), extensamente drogo-resistentes (XDR) y pandrogo-resistentes (PDR) de Jiménez y colaboradores en 2019, en este estudio se encontró que el 15% (n=15) de las cepas analizadas fueron MDR, 38% (n=38) XDR y 44% (n=44) PDR. Solo el 3% de las cepas fueron resistentes a únicamente 2 antibióticos (carbenicilina y ampicilina; carbenicilina y cefalotina; respectivamente).



Figura 5. Método de Kirby-Bauer en *P. aeruginosa* frente a 12 antibióticos de 6 familias diferentes.

Tabla 4. Relación entre la procedencia de la cepa y su resistencia a antibióticos.

Familia	Antibiótico	No. de cepas	Origen de las cepas	% de Resistencia
Betalactámicos	Ceftriaxona (CRO)	51	Catéter, herida, ex. faríngeo, hemocultivo, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	51%
Aminoglucósidos	Gentamicina (GEN)	51	Catéter, herida, hemocultivo, punción, sec. bronquial, urocultivo, ex. faríngeo.	51%
Nitrofuranos	Nitrofurantoína (NIT)	52	Catéter, herida, hemocultivo, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo, ex. faríngeo.	52%
	Amikacina (AMK)	53	Catéter, herida, hemocultivo, punción, sec. bronquial,	53%

Aminoglucósidos			urocultivo, ex. faríngeo.	
	Netilmicina (NET)	86	Catéter, herida, hemocultivo, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo, ex. faríngeo.	86%
Betalactámicos	Cefotaxima (CTX)	89	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	89%
Anfenicoles	Cloranfenicol (CR)	91	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	91%
Quinolonas	Ciprofloxacino (CIP)	96	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	96%
Trimetoprim-S	Trimetoprim con sulfametoxazol (STX)	96	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	96%
Betalactámicos	Ampicilina (AMP)	97	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	97%

	Cefalotina (CF)	97	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	97%
	Carbenicilina (CB)	98	Catéter, herida, ex. faríngeo, ex. vaginal, hemocultivo, líq. peritoneal, punción, sec. bronquial, sec. ótica, urocultivo.	98%

8.6 Detección de los genes de resistencia a los antibióticos en las cepas

Los genes con mayor frecuencia entre las cepas fueron; estreptomycin (*aadA1*; 93/100), sulfonamida (*sul1*; 76/100), quinolonas (*qnr*; 65/100), trimetoprim (*dfrA1*; 52/100) y tetraciclina (*tetA*; 50/100) (Figuras 7-17), mientras que los genes con menor frecuencia fueron; cloranfenicol (*cmlA*; 18/100 y *cat1*; 11/100) y cefotaxima (*CITM*; 10/100). Los 11 genes se identificaron por PCR convencional en las cepas de *P. aeruginosa*.

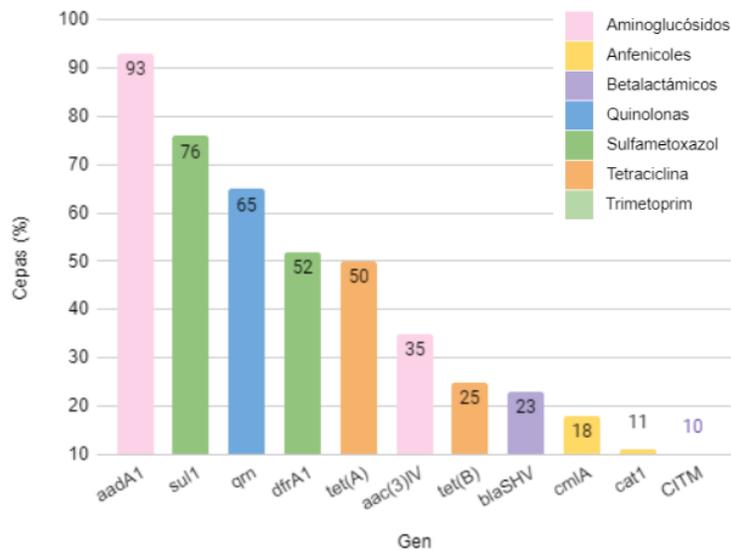


Figura 6 . Frecuencia de los genes de resistencia a los antibióticos en las cepas.

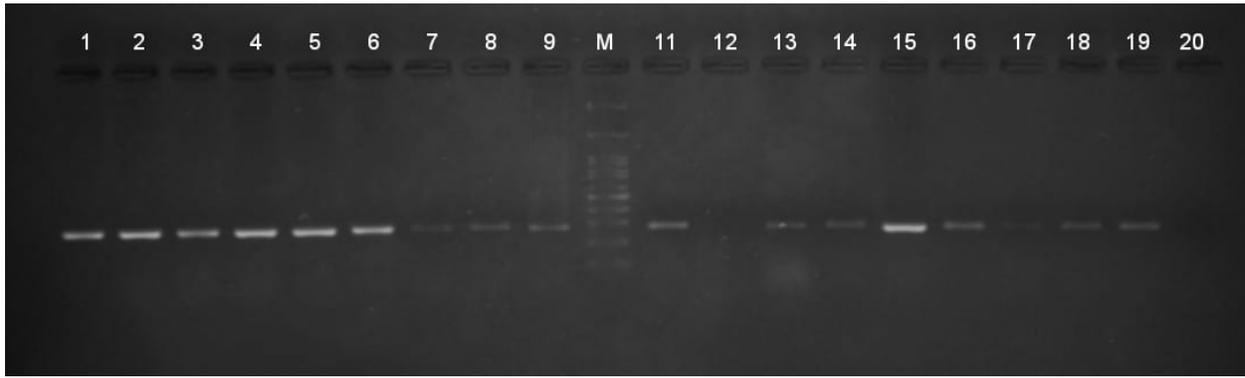


Figura 7. Amplificación por PCR del gen *aadA1* (282 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-9, 11, y 13-19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde). 1

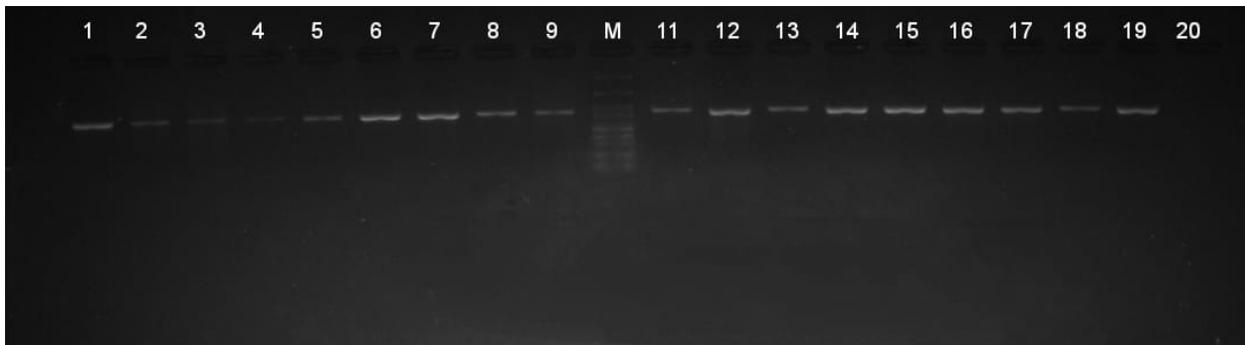


Figura 8. Amplificación por PCR del gen *sull* (822 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-9 y 11-19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

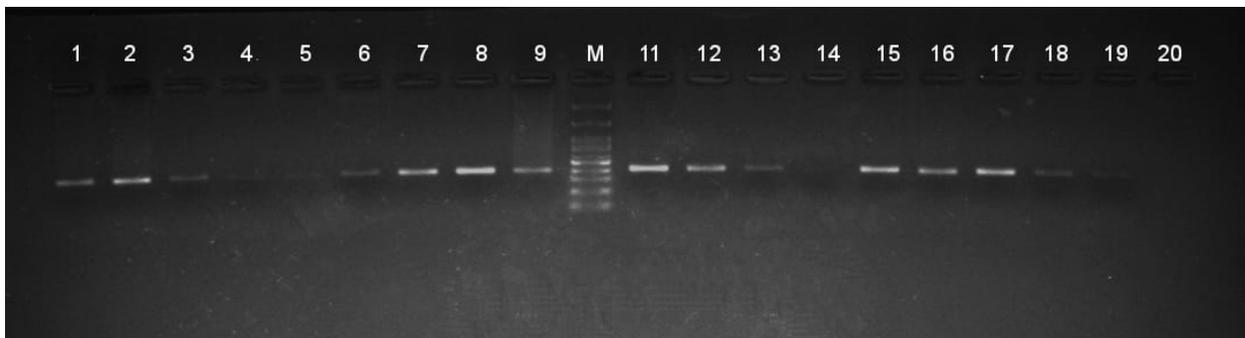


Figura 9. Amplificación por PCR del gen *qrn* (433 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-9, 11-13 y 15-19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

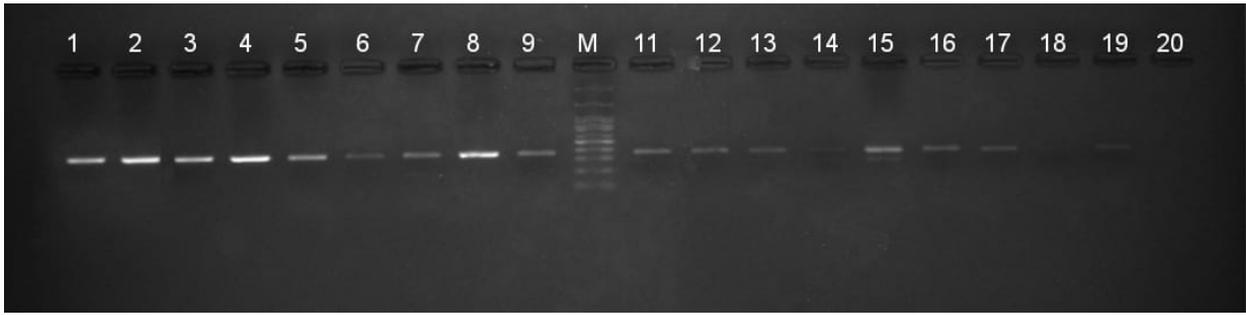


Figura 10. Amplificación por PCR del gen *dfrAI* (367 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-9, 11-13 y 15-17 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

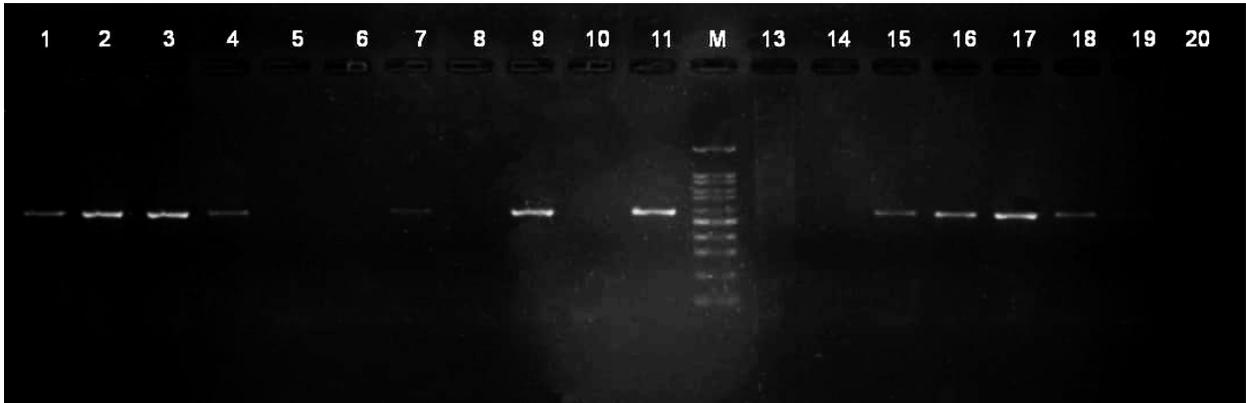


Figura 11. Amplificación por PCR del gen *tet(A)* (577 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-4, 7, 9, 11 y 15-18 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

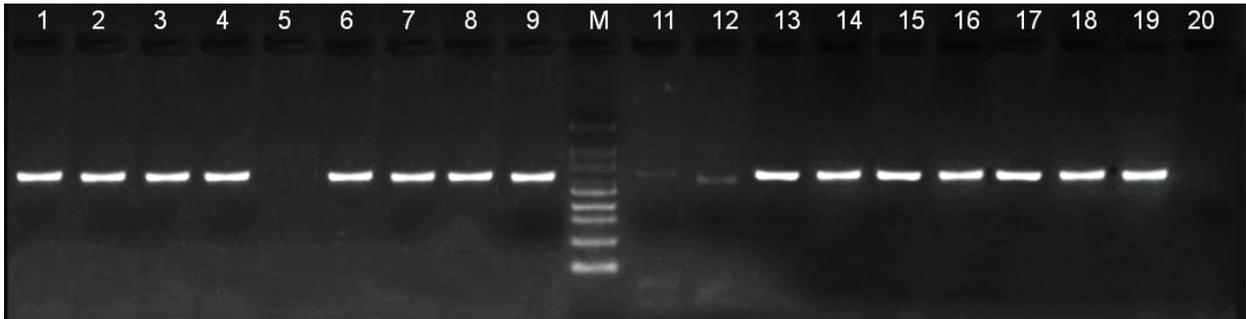


Figura 12. Amplificación por PCR del gen *tet(B)* (634 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-4, 6-9, 11-19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

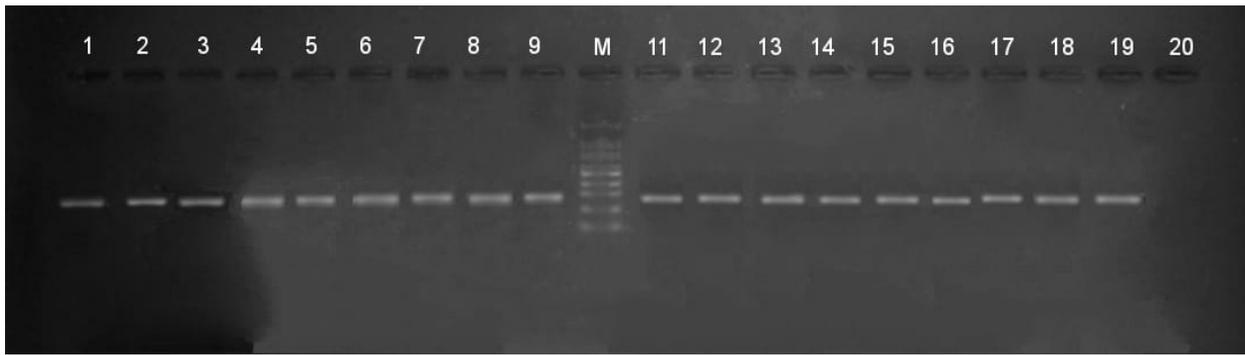


Figura 13. Amplificación por PCR del gen *aac(3)IV* (286 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2-9 y 11-19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

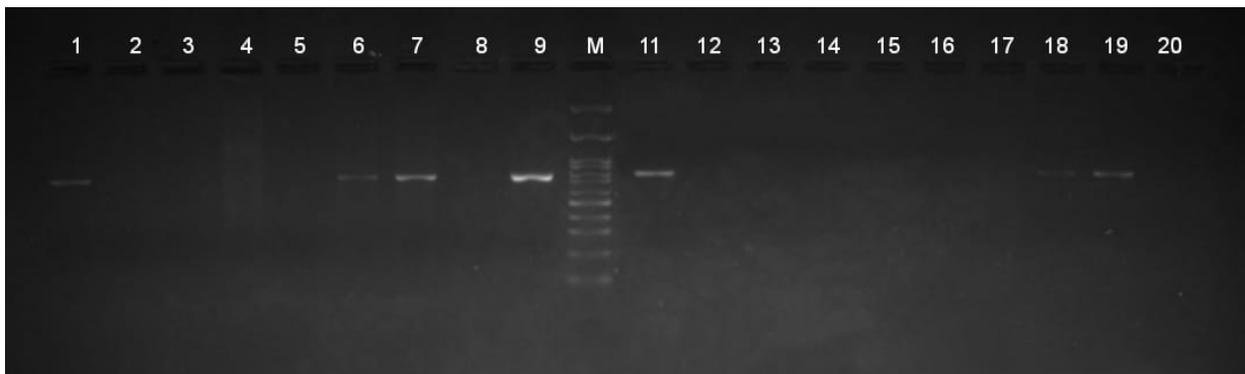


Figura 14. Amplificación por PCR del gen *bla_{SHV}* (768 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 6, 7, 9, 11, 18 y 19. cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).



Figura 15. Amplificación por PCR del gen *cmlA* (698 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 3, 4, 8, 12, 14, 15, 18 y 19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

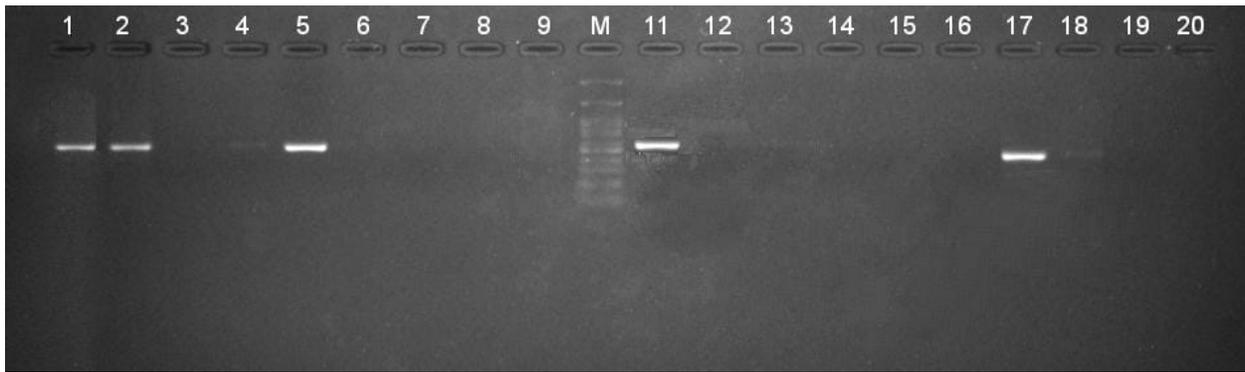


Figura 16. Amplificación por PCR del gen *cat* (547 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2, 4, 5, 11, 17 y 18 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).



Figura 17. Amplificación por PCR del gen *CITM* (462 pb). Carril 1, control positivo (cepa del cepario del laboratorio clínico). Carriles 2, 5, 6, 13 y 19 cepas positivas al gen. Carril 10 MWM (100 pb). Carril 20, control negativo (sin DNA molde).

8.7 Patrones de asociación de los genes de resistencia a los antibióticos

En este estudio se identificaron 72 diferentes patrones de asociación de los genes que codifican para resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, trimetoprim, sulfametoxazol y estreptomicina en las cepas de *P. aeruginosa* (Tabla 5). El patrón con más frecuencia entre las cepas fue *aadA1/aac(3)IV/sul1/dfrA1/qrn* en un 6%, donde todas las cepas provenían de urocultivos; *aadA1/sul1/qrn* en un 5%, donde dos cepas provenían de urocultivo, dos de cultivo de herida y de la otra se desconoce; *aadA1/aac(3)IV/sul1* en un 4%, donde todas las cepas se aislaron de urocultivos. Finalmente, en un 3% se identificaron los patrones: *aadA1/dfrA1*, provenientes de cepas de urocultivo, exudado vaginal y una desconocida; *aadA1/tet(A)/qrn*, todas las cepas aisladas de cultivo de herida; *aadA1/sul1/dfrA1/qrn*, cepas

aisladas de cultivo de herida, exudado faríngeo y una desconocida; y *aadA1/sul1/bla_{SHV}/tet(A)/dfrA1/qrn*, cepas provenientes de cultivo de secreción bronquial, exudado faríngeo y una desconocida (Tabla 5).

Tabla 5. Patrones de asociación de genes resistentes a antibióticos.

No. de patrón	Patrón de asociación de genes de antibióticos	Origen de las cepas	No.de cepas	Porcentaje
1	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/CITM/ cat1/tet(A)/tet(B)/dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
2	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/CITM/ cat1/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	Urocultivo	1	1
3	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/CITM/ cmlA/tet(B)/qrn</i>	Urocultivo	1	1
4	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/cat1/ tet(A)/dfrA1/qrn</i>	Desconocido	1	1
5	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/cmlA/ tet(A)/qrn</i>	Cult. Herida	1	1
6	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/cmlA/qrn</i>	Desconocido	1	1
7	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/tet(A)/ tet(B)/dfrA1/qrn</i>	Urocultivo	1	1
8	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/tet(A)/ dfrA1/qrn</i>	Desconocido	1	1
9	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/tet(A)/qrn</i>	Cult. Herida	1	1
10	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/bla_{SHV}/qrn</i>	Urocultivo	1	1
11	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/CITM/tet(A) /tet(B)/dfrA1/qrn</i>	Urocultivo	1	1
12	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/CITM/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	Catéter	1	1
13	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/cat1</i>	Urocultivo	1	1

14	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/cat1/cmlA/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
15	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/cmlA/tet(A)/tet(B)</i>	Urocultivo	1	1
16	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/cmlA/tet(A)/tet(B)/dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
17	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/tet(A)</i>	Urocultivo	1	1
18	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/tet(A)/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
19	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
20	<i>aadA1/aac(3)IV/CITM/tet(A)/dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
21	<i>aadA1/aac(3)IV/dfrA1/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
22	<i>aadA1/sul1</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
23	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/CITM/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
24	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/CITM/tet(A)/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
25	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/cat1/tet(A)/tet(B)/dfrA1/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
26	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/cmlA/tet(B)/dfrA1/qrn</i>	Sec.bronquial	1	1
27	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/cmlA/dfrA1/qrn</i>	Liq.peritoneal	1	1
28	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/tet(A)</i>	Hemocultivo	1	1
29	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/tet(A)/tet(B)/dfrA1/qrn</i>	Cult. Herida	1	1
30	<i>aadA1/sul1/cat1/cmlA/tet(B)/dfrA1/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
31	<i>aadA1/sul1/cat1/dfrA1/qrn</i>	Sec.bronquial	1	1
32	<i>aadA1/sul1/cmlA/tet(A)/tet(B)/qrn</i>	Sec.bronquial	1	1
33	<i>aadA1/sul1/cmlA/tet(A)/dfrA1</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
34	<i>aadA1/sul1/cmlA/tet(B)/dfrA1/qrn</i>	Catéter	1	1
35	<i>aadA1/sul1/cmlA/dfrA1/qrn</i>	Urocultivo	1	1

36	<i>aadA1/sulI/cmlA/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
37	<i>aadA1/sulI/tet(A)</i>	Ex. faríngeo	1	1
38	<i>aadA1/sulI/tet(A)/tet(B)</i>	Sec.bronquial	1	1
39	<i>aadA1/sulI/tet(A)/tet(B)/dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
40	<i>aadA1/sulI/tet(A)/tet(B)/dfrA1/qrn</i>	Cult. Herida	1	1
41	<i>aadA1/sulI/tet(A)/tet(B)/qrn</i>	Urocultivo	1	1
42	<i>aadA1/sulI/tet(B)</i>	Ex. faríngeo	1	1
43	<i>aadA1/sulI/tet(B)/qrn</i>	Cult. Herida	1	1
44	<i>aadA1/sulI/dfrA1</i>	Sec.bronquial	1	1
45	<i>aadA1/bla_{SHV}</i>	Urocultivo	1	1
46	<i>aadA1/bla_{SHV}/CITM</i>	Urocultivo	1	1
47	<i>aadA1/CITM/catI/tet(A)/tet(B)/dfrA1</i>	Hemocultivo	1	1
48	<i>aadA1/tet(A)/tet(B)</i>	Urocultivo	1	1
49	<i>aadA1/tet(A)/tet(B)/qrn</i>	Cult. Herida	1	1
50	<i>aadA1/tet(A)/dfrA1</i>	Sec.bronquial	1	1
51	<i>aadA1/dfrA1/qrn</i>	Catéter	1	1
52	<i>sulI/cmlA/tet(A)/dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
53	<i>sulI/tet(A)</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
54	<i>tet(A)/tet(B)</i>	Sec.bronquial	1	1
55	<i>tet(A)/dfrA1/qrn</i>	<i>Desconocido</i>	1	1
56	<i>tet(B)</i>	Urocultivo	1	1
57	<i>dfrA1</i>	Urocultivo	1	1
58	<i>dfrA1/qrn</i>	Punción	1	1
59	<i>aadA1</i>	Hemocultivo, urocultivo	2	2
60	<i>aadA1/aac(3)IV/sulI/tet(A)/tet(B)/qrn</i>	Hemocultivo	2	2

61	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	Sec. ótica	2	2
62	<i>aadA1/sul1/cat1/qrn</i>	Urocultivo	2	2
63	<i>aadA1/sul1/cmlA/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	Cult. Herida, sec. ótica	2	2
64	<i>aadA1/sul1/tet(A)/qrn</i>	Urocultivo	2	2
65	<i>aadA1/qrn</i>	Sec.bronquial	2	2
66	<i>aadA1/sul1/bla_{SHV}/tet(A)/dfrA1/qrn</i>	Sec.bronquial ex. faríngeo	3	3
67	<i>aadA1/sul1/dfrA1/qrn</i>	Cult. Herida, ex. faríngeo	3	3
68	<i>aadA1/tet(A)/qrn</i>	Cult. Herida	3	3
69	<i>aadA1/dfrA1</i>	Urocultivo, ex. vaginal	3	3
70	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1</i>	Urocultivo	4	4
71	<i>aadA1/sul1/qrn</i>	Urocultivo, cult. herida	5	5
72	<i>aadA1/aac(3)IV/sul1/dfrA1/qrn</i>	Urocultivo	6	6

9. Discusión

9.1 Pacientes estudiados

En éste estudio se analizaron 100 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes con diversos tipos de infecciones (neumonía, bacteriemia, infecciones de vías respiratorias, del tracto urinario, catéter y heridas quirúrgicas), del Hospital General Regional (HGR) No. 72 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de la zona norte del Edo. de México (Tlalnepantla).

Los mayor parte de las cepas aisladas en el presente estudio provinó de adultos entre 40 y 80 años, principalmente de pacientes con infección en vías urinarias (31%), heridas quirúrgicas (14%) y secreción bronquial (10%). Estos datos son semejantes a los descritos por Gonzalez-Olvera *et al.*, (2019) en un amplio estudio realizado en Durango, México, donde se encontró que la mayoría de las cepas de *P. aeruginosa* estudiadas fueron aisladas de pacientes con infecciones en herida (33%), infección en vías urinarias (30%) y secreción bronquial (12%); también son semejantes con lo reportado por Pedraza en 2020 en un estudio desarrollado en Hidalgo, México, donde los principales diagnósticos de los pacientes infectados (n=45) por *P. aeruginosa* fueron los de infecciones en vías urinarias (29%), heridas quirúrgicas (27%) y secreción bronquial (20%). De manera similar, Zárate *et al.*, (2021), en Perú analizó 97 cepas de *P. aeruginosa*, donde también predominaron las cepas provenientes de pacientes con infección en vías urinarias (17%), heridas quirúrgicas (11%) y secreción bronquial (4%). En el mismo año, Costa-Júnior *et al.*, (2021) en Brasil, analizaron 64 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de secreción bronquial (29%), infección en vías urinarias (12%) y heridas quirúrgicas (6%).

El hecho de que en éste estudio los pacientes con infecciones en vías urinarias, heridas quirúrgicas y secreción bronquial hayan sido los más frecuentes puede deberse a que la mayor parte de éste grupo fueron pacientes mayores, de una edad promedio entre 40 y 80 años, muchos de estos pacientes estaban inmunocomprometidos por algunas otras patologías como diabetes, neumonía, peritonitis, gota, abscesos e insuficiencia renal y probablemente consumían tabaco y/o alcohol de manera frecuente. En un estudio realizado en México se reportó que de los 45 pacientes infectados con *P. aeruginosa*, el 39% padecían comorbilidades como insuficiencia renal con procedimiento de diálisis (Pedraza, 2020). Se ha descrito en un estudio realizado en Inglaterra por Monsó *et al.*, (2003) que de 90 cepas aisladas de secreción bronquial de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), 13% fueron positivas a *P. aeruginosa* y

en la entrevista clínica, los pacientes declararon tabaquismo, alcoholismo, y pérdida de las indicaciones en la toma del medicamento prescrito. Así mismo, Murphy *et al.*, (2008) en Estados Unidos, analizaron cultivos de secreción bronquial de 126 pacientes también con EPOC, de los cuales 39 fueron positivos a *P. aeruginosa*. También, da Silva (2017) realizó en Brasil un amplio estudio donde aisló 100 cepas de *P. aeruginosa*, y reportó que el 33% provenían de pacientes inmunocomprometidos por cáncer.

De acuerdo con Pedraza (2020), la permanencia hospitalaria, sobre todo en el área de cuidados intensivos, influye en el desarrollo de enfermedades nosocomiales y en la complicación del diagnóstico inicial por contaminación cruzada con otras bacterias. De esta manera *P. aeruginosa* es uno de los patógenos más peligrosos, por ser una bacteria oportunista y difícil de tratar debido a la elevada resistencia propia de la especie a gran cantidad de antibióticos; por lo que es recomendable realizar estudios antes de administrar algún antibiótico, para de esta manera prescribir el tratamiento médico adecuado, que favorezca la recuperación del paciente y la prevención de complicaciones como resultado de la multidrogo-resistencia de *P. aeruginosa* a antimicrobianos de amplio espectro. El éxito del tratamiento médico depende de la prescripción correcta del antimicrobiano y en especial de la disciplina del paciente, por ejemplo Monsó *et al.*, (2003) en un estudio realizado en 13 pacientes con EPOC infectados con *P. aeruginosa* en pulmones, describió que la mayoría de ellos, no tomaron el medicamento prescrito de la forma indicada.

9.2 Fenotipo de resistencia a los antibióticos

En este estudio se describió que la familias de antibióticos a los que las cepas presentaron una mayor resistencia fueron a las quinolonas (96%), trimetoprim (96%), los betalactámicos (86%) y los aminoglucósidos (63%), ésto discrepa de lo reportado por Ponce de León (2018) en México, donde analizaron 423 cepas de *P. aeruginosa* de pacientes infectados, y encontraron una resistencia del 20% a quinolonas y del 22% a antibióticos betalactámicos. Un año después, también en México (González-Olvera *et al.*, 2019), en el cual se analizaron 92 cepas hospitalarias de *P. aeruginosa*, describieron una resistencia del 40% a trimetoprim, 22% a quinolonas, del 14% a betalactámicos y del 13% a aminoglucósidos. También, en 2020 en México, Pedraza reportó a partir de un estudio donde analizó 45 cepas de *P. aeruginosa*, que el 33% de las cepas fue resistente a quinolonas, el 55% a antibióticos betalactámicos y el 31% a aminoglucósidos. En 2021, en México se analizaron 330 cepas de *P. aeruginosa*, y reportaron

una resistencia del 51% a betalactámicos (Guajardo-Lara *et al.*, 2021). En los estudios mencionados se encuentra una diferencia de casi el 50% en comparación con el presente estudio, ésto puede deberse a que *P. aeruginosa* es un bacteria con una gran cantidad de mecanismos de resistencia a los antibióticos, como lo describe Mandsberg *et al.*, (2009), donde menciona que *P. aeruginosa* es capaz de sobreexpresar la producción de bombas de flujo, de betalactamasas y de enzimas que inactivan los antibióticos.

En este estudio la mayoría de las cepas de *P. aeruginosa* analizadas fue PDR (pandrog-resistentes; 44%) y XDR (extensamente drogo-resistentes; 38%), principalmente a las familias de antibióticos betalactámicos, quinolonas, trimetoprim y sulfonamidas, anfenicoles (cloranfenicol) y aminoglucósidos (netilmicina), lo que puede deberse a que en el sector salud de nuestro país, estos son los antibióticos que se utilizan con relativa frecuencia para tratar las infecciones contra bacterias Gram-negativas, lo que ha conducido con el tiempo a la selección de cepas multidrogo-resistentes. Se ha descrito que la resistencia a los antibióticos en *P. aeruginosa* se ha incrementado considerablemente, lo que ha complicado la recuperación de los pacientes (Monsó *et al.*, 2003).

9.3 Frecuencia de los genes de resistencia a los antibióticos

Los genes de resistencia a antibióticos con mayor frecuencia detectados entre las cepas fueron *aadA1* (aminoglucósidos) en un 93%, *sull* (sulfametoxazol) en un 76% y *qnr* (quinolonas) en un 65%. La frecuencia del gen *aadA1* detectada en las cepas en este estudio coincide con lo descrito en China, en 98 cepas de *P. aeruginosa*, donde el 78% de las cepas fue portadora de *aadA1*, mientras que los genes *cat* y *bla* se encontraron en menor porcentaje (Gu *et al.*, 2007). De manera similar en España, se analizaron 60 cepas de *P. aeruginosa* y se encontró la presencia del gen *sull* en un 67%, también reportaron la presencia del gen *aac(3)Ia* en menor porcentaje (Estep *et al.*, 2016), lo cual coincide con el presente estudio, sin embargo, la frecuencia de la variante del gen *aadA1h* fue menor con respecto a la descrita en el presente estudio.

Por otro lado, la elevada frecuencia del gen *qnr* (76%) reportada en este estudio es superior al 23%, descrita en Pakistán, en un estudio realizado en 83 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes quemados (Rafiq *et al.*, 2019). Ésta discrepancia de porcentajes puede deberse a la alta movilidad genética de este gen, el cual es transmitido de manera horizontal mediante plásmidos.

Uno de los genes de resistencia con menor frecuencia en las cepas estudiadas en este trabajo fue *bla_{SHV}* (betalactámico) en un 23%, lo cual coincide con lo descrito en un estudio realizado en Brasil en 2021 en 64 cepas de *P. aeruginosa*, donde la frecuencia del gen *bla*, y de sus 5 variantes, fue del 19% (Costa-Júnior *et al.*, 2021).

P. aeruginosa tiene uno de los genomas bacterianos más grandes y posee una variedad significativa de genes de resistencia a antibióticos adquiridos por transferencia horizontal, que la selecciona como una especie multidrogo-resistente (MDR). En este estudio se detectaron entre las cepas 72 patrones diferentes de asociación de los genes de resistencia a los antibióticos, dentro de los cuales los patrones con mayor número de cepas fueron el no. 72 (*aadA1/aac(3)IV/sul1/dfrA1/qrn*) con seis cepas, seguido por el No. 71 (*aadA1/sul1/qrn*) con cinco cepas y por el no. 70 (*aadA1/aac(3)IV/sul1*) con cuatro cepas (tabla 5). La elevada frecuencia de los diferentes patrones del genotipo de resistencia antimicrobiana detectada en las cepas en este estudio pone de manifiesto la dificultad de los médicos para tratar las infecciones hospitalarias contra este importante patógeno, por lo que es importante mejorar los esquemas de tratamiento que ayuden a mejorar la salud de los pacientes.

Debido a la elevada MDR que posee *P. aeruginosa*, varios grupos de investigadores han desarrollado vacunas para prevenir infecciones por *P. aeruginosa* dirigidas a lipopolisacáridos (LPS), flagelos, alginatos, proteínas de la membrana externa (OMP) y proteínas del sistema de secreción tipo III (T3SS), con el propósito de disminuir las tasas de morbilidad y de mortalidad.

10. Conclusiones

- 1 En este estudio *P. aeruginosa* fue asociado con mayor frecuencia a las infecciones en vías urinarias.
- 2 La mayoría de las cepas fue multidrogo-resistente, principalmente a los betalactámicos, quinolonas, sulfonamida/trimetoprim, cloranfenicol y netilmicina.
- 3 Se encontró una amplia distribución del genotipo de resistencia a los antimicrobianos entre las cepas, siendo los más frecuentes los que codifican para resistencia a estreptomicina (*aadA1*), sulfonamida (*sul1*) y quinolonas (*qnr*).
- 4 Se detectaron diferentes patrones de asociación del genotipo de resistencia a los antibióticos, principalmente entre las cepas causantes de infecciones de las vías urinarias.

11. Literatura citada

1. Botelho, J., Grosso, F. y Peixe, L. (2019) *Resistencia a antibióticos en Pseudomonas aeruginosa - Mecanismos, epidemiología y evolución*. J Drug Resist Updates 44:26-47. doi.org/10.1016/j.drug.2019.07.002
2. Liu, C., Chen, T., Wang, N., Chow, F., Lin, C. y Yan, T. (2017) *Detection of Pseudomonas aeruginosa isolates carrying the blaOXA-142 extended-spectrum β -lactamase gene in Taiwan*. J Microbiol Immunol Infect. 50(1):68-74. [doi: 10.1016/j.jmii.2014.11.017](https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.11.017)
3. Costa-Júnior, S., da Silva, A., Niedja, J., da Costa, J., Ferro, I. y Vieira, M. (2021) *Emergence of rmtDI gene in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa carrying blaKPC and/or blaVIM-2 genes in Brazil*. J Microbiol. 52:1959–1965. [doi: 10.1007/s42770-021-00576-2](https://doi.org/10.1007/s42770-021-00576-2)
4. da Silva, J., Durão, L., Rodrigues, L., Borges, A., Luna, P., Ramos, P., de Souza, A. y Vieira, M. (2017) *Detection of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa harboring bla GES-1 and bla GES-11 in Recife, Brazil*. J Soc Bras Med Trop. 50(6):764-768. [doi: 10.1590/0037-8682-0532-2016](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0532-2016)
5. Estepa, V., Rojo-Bezares, B., Azcona-Gutiérrez, J., Olartec, I., Torres, C. y Sáenz, Y. (2016) *Characterization of carbapenem-resistance mechanisms in clinical Pseudomonas aeruginosa isolates recovered in a Spanish hospital*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 35(3):141-147 <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2015.12.014>
6. Fick, R. (1993) *Pseudomonas aeruginosa, the opportunist. Pathogenesis and disease*. Estados Unidos: CRC Press <https://books.google.com.ec/books?id=6FCIKeCnqikC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
7. Galarza, L. (2008) *Incidencia de neumosepsis por Pseudomonas aeruginosa en la Unidad de Cuidados Intensivos del ISSSTE “Dr. Fernando Quiroz Gutiérrez”* [Tesis de especialidad, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2008/octubre/0634835/Index.html>
8. Gholami, A., Majidpour, A., Talebi-Taher, M., Boustanshenas, M. y Adabi, M. (2016) *PCR-based assay for the rapid and precise distinction of Pseudomonas aeruginosa from other Pseudomonas species recovered from burns patients*. J Prev Med Hyg. 57(2):81-85 [PMC4996044](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34996044/)
9. Gu, B., Tong, M., Zhao, W., Liu, G., Ning, M., Pan, S. y Zhao, W. (2007) *Prevalence and*

- Characterization of Class I Integrons among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii Isolates from Patients in Nanjing, China.* J Clinical Microbiol. 45(1):241-243 [doi: 10.1128/JCM.01318-06](https://doi.org/10.1128/JCM.01318-06)
10. Guajardo-Lara, C., Hernández-Galván, N., Ayala-Gaytán, J. y Valdovinos-Chávez, S. (2021) *Pseudomonas aeruginosa resistente a carbapenémicos: susceptibilidad a ceftolozano-tazobactam y ceftazidima avibactam en el entorno hospitalario.* Monterrey, Nuevo León, México. 2017-2018. J Inst. Salud Pública Chile. 5(1):4-9 <https://revista.ispch.gob.cl/index.php/RISP/article/view/108/156>
 11. Gutiérrez, J., Ramírez, A., Martínez, M., Coria, J., Armenta, L., Ayala, J., Bernal, A., Flores, F., García, F., Monjardín, J., Martínez, G., Gutiérrez, V. y Suárez, J. (2017) *Estudio multicéntrico de resistencias bacterianas nosocomiales en México.* J Latin Infect Pediatr 30(2):68-75 <https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2017/lip172e.pdf>
 12. Gómez Álvarez, C., Leal, A., Pérez, M. y Navarrete, M. (2005) *Mecanismos de resistencia en Pseudomonas aeruginosa: entendiendo a un peligroso enemigo.* Bogotá. J Fac Med 53(1):27-34 [ISSN: 2357-3848](https://doi.org/10.2357/3848)
 13. González-Olvera, E., Pérez-Morales, R., González-Zamora, A., CastroEscarpulli, R., Palma-Martínez, I. y Alba-Romero, J. (2019) *Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Pseudomonas aeruginosa in public hospitals of northeastern Mexico.* J Infect Dev Ctries. 13(5):374-383. [doi: 10.3855/jidc.10953](https://doi.org/10.3855/jidc.10953)
 14. Hernández, A., Yagüe, G., García, E., Simón, M., Moreno, L., Canteras, M. y Gómez, J. (2018) *Nosocomial infections caused by multiresistant Pseudomonas aeruginosa (carbapenems included): predictive and prognostic factors. A prospective study (2016-2017)* 2016-2017. J Esp Quimioter. 31(2):123-130 [PMC6159385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36159385/)
 15. Henwood, C., Livermore, D., James, D. y Warner, M. (2001) *Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa: results of a UK survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy disc susceptibility test.* J Antimicrob Chemother 47(6):789-99 [doi: 10.1093/jac/47.6.789](https://doi.org/10.1093/jac/47.6.789)
 16. Hugh, R. y Leifson, E. (1964) *Las cepas neotipo propuestas de Pseudomonas aeruginosa (Schroeter 1872) Migula 1900.* J Inter Bulletin of Bacteriol Nomenclature and Taxonomy. 14(2):69-84
 17. Invernizzi-Mendoza, C. y Corbeta, H. (2020) *Frecuencia de Pseudomonas aeruginosa en bolsas periodontales de pacientes con Periodontitis Crónica.* J Inst Investig Cienc Salud. 18(3) Rep. Paraguay. [ISSN 1812-9528](https://doi.org/10.1812/9528)

18. Jasso, L. (2018) *Pseudomonas aeruginosa: características microbiológicas, clínicas y prevención de infecciones a nivel odontológico*. [Tesina de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2018/abril/0773180/Index.html>
19. Jiménez, M., Galas, M., Corso, A., Hormazábal, J., Duarte, C., Salgado, N., Ramón-Pardo, P y Melano, R. (2019) *Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes*. J Panam Salud Pública. 43(65) [doi: 10.26633/RPSP.2019.65](https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.65)
20. Kaszab, E., Szoboszlai, S., Dobolyi, C., Háhn, J., Pék, N., Kriszt, B. (2011) *Antibiotic resistance profiles and virulence markers of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from composts*. J Bioresour Technol. 102(2):1543-1548.
[doi: 10.1016/j.biortech.2010.08.027](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.027)
21. Lliteras, M. (2008) *Queratitis por Pseudomonas aeruginosa como complicación tardía de queratotomía radiada. Reporte de tres casos*. [Tesis de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México].
<http://132.248.9.195/ptd2008/octubre/0634454/Index.html>
22. Mandsberg, L., Ciofu, O., Kirkby, N., Christiansen, L., Poulsen, H. y Hoiby, N. (2009) *Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa strains with increased mutation frequency due to inactivation of the DNA oxidative repair system*. J Antimicrob Agents Chemother. 53(6):2483-2491 [doi: 10.1128/AAC.00428-08](https://doi.org/10.1128/AAC.00428-08)
23. Mittal, R., Sharma, S., Chhibber, S. y Harjai, K. (2009) *Effect of Osmolarity on Virulence of Uropathogenic Pseudomonas Aeruginosa*. J Biomedical Sciences. 1(1):12-26
[ISSN: 1937-9080](https://doi.org/10.1937-9080)
24. Momtaz, H., Karimian, A., Madani, M., Safarpour-Dehkordi, F., Ranjbar, R., Sarshar, M. y Souod, N. (2013) *Uropathogenic Escherichia coli in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties*. J Clin Microbiol Antimicrob. 12(8) doi.org/10.1186/1476-0711-12-8
25. Mun, S., Rajasekaramb, G., Puthuchearya, S. y Heng, K. (2018) *Detection of VIM-2-, IMP-1- and NDM-1-producing multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa in Malaysia*. J Global Antimicro Res. 13:271-273. [doi: 10.1016/j.jgar.2018.01.026](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.01.026)
26. Murphy, T., Brauer, A., Eschberger, K., Lobbins, P., Grove, L., Cai, X. y Sethi, S. (2008) *Pseudomonas aeruginosa in Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. J Resp and Critic Care Medicine. 177(8):853-860 [doi: 10.1164/rccm.200709-1413OC](https://doi.org/10.1164/rccm.200709-1413OC)
27. Monsó, E., García-Aymerich, J., Soler, N., Ferrero, E., Felez, M., Antó, J. y Torres, A.

- (2003) *Bacterial infection in exacerbated COPD with changes in sputum characteristics*. J Epidemiol and Infec. 131(1):799-804 [doi: 10.1017/s0950268803008872](https://doi.org/10.1017/s0950268803008872)
28. Ochoa, S., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L., López-Martínez, B., Jiménez-Tapia, Y., Giono, S., Eslava, C., Hernández-Castro, R. y Xicohtencatl-Cortes, J. (2013) *Características patogénicas de cepas de Pseudomonas aeruginosa resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas*. Bol Med Hosp Infant Méx. 70(2). [ISSN 1665-1146](https://doi.org/10.1016/j.bmi.2013.05.001)
29. Ochs, M., McCusker, M., Bains, M. y Hancock, R. (1999) *Negative regulation of the Pseudomonas aeruginosa outer membrane porin OprD selective for imipenem and basic amino acids*. Antimicrob Agents Chemother. 43(5):1085-1090 [doi: 10.1128/AAC.43.5.1085](https://doi.org/10.1128/AAC.43.5.1085)
30. Ooka, T., Terajima, J., Kusumoto, M., Iguchi, A., Kurokawa, K., Ogura, Y., Asadulghani, M., Nakayama, K., Murase, K. y Ohnishi, M. (2009) *Development of a multiplex PCR-based rapid typing method for enterohemorrhagic Escherichia coli O157 strains*. J Clin Microbiol. 47(9):2888–2894 [doi: 10.1128/JCM.00792-09](https://doi.org/10.1128/JCM.00792-09)
31. Paniagua, G., Monroy, E., Uribe, A. y Vaca, S. (2016) *PCR. Análisis molecular. Caracterización de bacterias y levaduras de interés médico*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN 978-607-02-8668-1
32. Paniagua, G., Monroy, E. y Vaca, S. (2020) *PCR. Manual de identificación de Escherichia coli y Salmonella sp. en materia fecal*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN 978-970-32-4824-7
33. Paz-Zarza, V., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. y Vázquez-López, R. (2019) *Pseudomonas aeruginosa: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria*. J Chil infectol. 36(2):180-189 [ISSN 0716-1018](https://doi.org/10.1016/j.jcinf.2019.03.001)
34. Pedraza, M. (2020) *Factores de riesgo asociados a bacteriemia por Pseudomonas aeruginosa farmacorresistente en el HGZ/MF No. 1 de Pachuca, Hgo. durante el año 2018*. [Tesis de Especialidad, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2020/marzo/0801461/Index.html>
35. Ponce de León, S. (2018) *Programa Universitario de Investigación en Salud. Estado Actual de la Resistencia Antimicrobiana en México Reporte de los Hospitales de la Red del PUCRA: Resistencia antimicrobiana y Consumo de antibióticos*. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

http://www.puis.unam.mx/slider_docs/reporte-ucradigital.pdf

36. Rafiq, K., Ahmad, K., Ahmed, N., Gohar, M., Shehzad, M. y Saeed, M. (2019) *Determination of Qnr allele frequencies in Fluoroquinolone resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wounds*. J Pak Med Assoc. 69(2):250-252
https://www.researchgate.net/publication/331371839_Determination_of_Qnr_allele_frequencies_in_Fluoroquinolone_resistant_Pseudomonas_aeruginosa_isolated_from_burn_wounds
37. Rostami, S., Sheikh, A., Shoja, S., Farahani, A., Tabatabaiefar, M. y Jolodar, A. (2018) *Investigating of four main carbapenem-resistance mechanisms in high-level carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients*. J Chin Med Assoc. 81(2):127-32 doi: [10.1016/j.jcma.2017.08.016](https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.08.016)
38. Sáenz, Y., Briñas, L., Domínguez, E., Ruíz, J., Zarazaga, M., Vila, J. y Torres, C. (2004) *Mechanisms of Resistance in Multiple-Antibiotic-Resistant Escherichia coli Strains of Human, Animal, and Food Origins*. Antimicrob Agents Chemother. 48(10):3996–4001 doi: [10.1128/AAC.48.10.3996-4001.2004](https://doi.org/10.1128/AAC.48.10.3996-4001.2004)
39. Nasrin, S., Hegerle, N., Sen, S., Nkeze, J., Sen, S., Permal-Booth, J., Choi, M., Sinclair, J., Tapia, M., Johnson, K., Sow, S., Thaden, J., Fowler, V., Krogfelt, K., Brauner, A., Protonotariou, E., Christaki, E., Shindo, Y., Kwa, A., Shakoor, A., Singh-Moodley, A., Perovic, O., Jacobs, J., Lunguya, O., Simon, R., Cross, A.,† y Tennant, S.† (2022). *Distribution of serotypes and antibiotic resistance of invasive Pseudomonas aeruginosa in a multi-country collection*. J BMC Microbiol. 22(13)
doi: [10.1186/s12866-021-02427-4](https://doi.org/10.1186/s12866-021-02427-4)
40. Troillet, N., Samore, M. y Carmeli, Y. (1997) *Imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa: risk factors and antibiotic susceptibility patterns*. J Clin Infect Dis. 25(5):1094–8 doi: [10.1086/516092](https://doi.org/10.1086/516092)
41. Yin, S., Chen, P., You, B., Zhang, Y., Jiang, B. y Huang, G. (2018) *Molecular Typing and Carbapenem Resistance Mechanisms of Pseudomonas aeruginosa Isolated From a Chinese Burn Center From 2011 to 2016*. Front Microbiol. 29;9:1135
doi: [10.3389/fmicb.2018.01135](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01135)
42. Zarate, M., Barrantes, D., Cuicapuza, D., Velasquez, J., Fernández, N., Salvatierra, G. y Tamariz, J. (2021) *Frecuencia de resistencia a colistina en Pseudomonas aeruginosa: primer reporte en el Perú*. J Med Exp Salud Pub. 38(2):307-312
doi: [10.17843/rpmesp.2021.382.6977](https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.382.6977)