



Benemérita Universidad Autónoma
de Puebla

Facultad de Medicina

**"Frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y
susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de
pacientes del Hospital General del Sur en el periodo enero 2015 a
abril 2017"**

Tesis presentada para obtener el Título de Médico Cirujano y Partero

Presenta:
Martha Hernández Santiago

Director Experto:
Mtra. María Elena Hernández Hernández

Director Metodológico:
Mtro. Jorge Manuel Ramírez Sánchez

Revisor de tesis:
Mtra. Eva de la Luz Méndez Hernández

H. Puebla de Zaragoza., Agosto 2018

ÍNDICE

I.- RESUMEN	5
II.-INTRODUCCIÓN	6
III.-ANTECEDENTES.....	7
3.1.- ANTECEDENTES GENERALES	7
3.1.1.- Breve historia de la microbiología	7
3.1.2.- Estructura y morfología bacteriana	8
3.1.3.- Estructura y morfología de los hongos.....	9
3.1.4.- Fármacos antimicrobianos	10
3.1.5.- Fármacos antimicóticos	15
3.2.- ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	19
3.2.1.- Tipos de resistencia bacteriana.....	19
3.2.2.- Genética de la resistencia bacteriana	20
3.2.3.- Mecanismos de resistencia bacteriana	21
3.2.4.- Inactivación enzimática	22
3.2.5.- Modificaciones en el sitio blanco.....	26
3.2.6.- Alteraciones de la permeabilidad	27
3.2.7.- Resistencia antifúngica.....	28
3.2.8.- Importancia de la resistencia antimicrobiana en el mundo.....	31
3.2.9.- Resistencia antimicrobiana en México	32
IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
4.1 Párrafo de presentación.....	34
4.2.- Justificación	35
4.3.- Pregunta de investigación	36
4.4.- Hipótesis Científica.....	36
V.- OBJETIVOS	36
5.1.- Objetivo General.....	36
5.2.- Objetivos Específicos.....	36
VI.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	37
6.1.- Diseño del estudio	37
6.2.- Ubicación espacio - temporal.....	37
6.3.- Estrategia de Trabajo.....	37

6.4.- Muestreo	38
6.4.1.- Definición de la unidad de población	38
6.4.2.- Selección de la muestra	38
6.4.3.- Criterios de selección de las unidades de muestreo	38
6.4.4.- Diseño y tipo de muestreo	39
6.4.5.- Tamaño de la muestra.....	39
6.5.- Definición de las variables y escalas de medición	39
6.6.- Método de recolección de datos	42
6.7.- Técnicas y procedimientos.....	43
6.8.- Análisis de datos.....	43
6.9.- Diseño estadístico	43
6.9.1.- Hipótesis estadística.....	43
6.9.2.- Pruebas estadísticas.....	43
VII.- RESULTADOS	43
VIII.- DISCUSIÓN	61
8.1.- Aislamientos microbianos por servicio hospitalario	61
8.2.-Microorganismos aislados con mayor frecuencia	62
8.3.-Principales tipos de cultivo y microorganismos aislados.....	63
8.4.-Reporte de resistencia antimicrobiana	65
8.5.-Fenotipos de resistencia a aminoglucósidos	66
8.6.-Fenotipos de resistencia a betalactámicos	68
8.7.-Fenotipos de resistencia a anfenicoles.....	69
8.8.-Fenotipos de resistencia a furanos	69
8.9.-Fenotipos de resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas	70
8.10.-Fenotipos de resistencia a polipéptidos	71
8.11.-Fenotipos de resistencia a glucopéptidos	71
8.12.-Fenotipos de resistencia a quinolonas	72
8.13.-Fenotipos de resistencia a tetraciclinas	73
8.14.-Fenotipos de resistencia a Trimetropim/Sulfametoxazol	73
IX.- CONCLUSIONES.....	74
X.- LOGÍSTICA	75
10.1.- Recursos humanos	75

10.2.- Recursos materiales	75
10.3.- Recursos financieros	75
10.4.- Cronograma de actividades	76
10.5.- Bioética	76
XI.- ANEXOS.....	76
11.1.- Definiciones operacionales	76
11.2.- Definiciones conceptuales	77
11.3.- Descripción de las técnicas de medición de las variables relevantes.....	78
11.4.- Formatos de captura de datos.....	80
11.5.- Formatos de consentimiento informado	80
XII.- BIBLIOGRAFÍA.....	81

I.- RESUMEN

Introducción: La resistencia a los antimicrobianos ha ido en aumento entre patógenos comunes con un ritmo alarmante. La resistencia a los antibióticos está causando la mayor preocupación en todo el mundo al enfrentarnos con la posibilidad de no contar en el futuro con antibióticos para tratar a los pacientes de manera efectiva, regresándonos a una era pre-antibiótica.

Objetivo: Determinar la frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de pacientes del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” en el periodo enero 2015 a abril 2017

Material y métodos: Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal, retrospectivo y unicéntrico en el que se analizaron 3,152 resultados de cultivos aislados de pacientes hospitalizados en los diferentes servicios del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” a partir de enero 2015 hasta abril 2017. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio Estatal de Salud Pública mediante el equipo VITEK® 2 Compact. Se analizaron las variables obteniendo el porcentaje de resistencia a los diferentes antimicrobianos testados, así como la frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana que expresaron las cepas aisladas.

Resultados: De los 3,152 cultivos positivos, el 47.1% fueron bacterias gramnegativas, 38.9% grampositivas y 14% levaduras. *E. coli* fue la principal bacteria identificada (14.7%) y *C. albicans* la principal levadura (7.5%). Los patógenos grampositivos presentaron resistencia predominante a bencilpenicilina (16%), oxacilina (14.5%) y eritromicina (13.5%). Entre los gramnegativos, *E. coli* presentó la mayor frecuencia de resistencia antimicrobiana, sobre todo a ampicilina (12.9%), cefazolina (11.5%) y ceftriaxona (11.1%); *P.aeruginosa* a Ampicilina/Sulbactam (9.8%), Tigeciclina (9.6%) y ceftriaxona (8.5%) y *A.baumannii* a Aztreonam (11%), Ceftriaxona (11%) y Cefazolina (10.9%). En el caso de levaduras, la principal resistencia antifúngica que presentó *C.albicans* fue a anfotericina B (37.3%). La frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana fue predominantemente a betalactámicos, expresando *E. coli* el fenotipo BLEE en

43.9% y CTX-M en 42%. *S.epidermidis* presentó modificación de PBP (gen mecA) en 88.8%. Los principales fenotipos de resistencia a aminoglucósidos fueron ANT (2"), AAC (3)-II y AAC (6') en gramnegativos, así como APH (2) + AAC (6'), APH (3)-III y ANT 4-4 en grampositivos. *K. pneumoniae* expresó fenotipo resistente en 40% a nitrofurantoína; los estafilococos y enterococos expresaron el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas MLSBc en 61.4 a 88.8%, así como una resistencia natural ("Salvaje") a Linezolid. El fenotipo de resistencia a colistina y vancomicina también fue reportado como "Salvaje", sobre todo en *P.aeruginosa* (84%) y en *S.aureus* (96.1%), respectivamente. El fenotipo "resistente" a quinolonas, tetraciclinas y TMP/SMX se presentó con mayor frecuencia en *E. coli* (61.6%, 50.1 y 63.5% respectivamente).

Conclusiones: Es de suma importancia tomar conciencia del aumento de resistencia a los antimicrobianos, así como mantener en vigilancia estrecha a aquellas cepas que nos muestren un perfil multirresistente para proveer un adecuado manejo de las mismas, así como sensibilizar a todo el personal de salud para hacer un uso racional de antibióticos en todos los niveles de atención, con la finalidad de disminuir la impactante velocidad con la que los microorganismos adquieren resistencia.

II.-INTRODUCCIÓN

La eficacia de los antimicrobianos es imprescindible tanto para medidas preventivas como curativas frente a enfermedades potencialmente mortales, así como para garantizar que se puedan llevar acabo procedimientos en la medicina moderna, como la cirugía y la quimioterapia, con escasos riesgos¹.

Por muchas décadas, la resistencia a los antimicrobianos ha sido una amenaza creciente para el tratamiento efectivo de una gama de infecciones causadas por bacterias, parásitos, virus y hongos; encontrando de manera alarmante en 2014, resistencia a antibióticos carbapenémicos por parte de enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae*, además de resistencia a fluoroquinolonas por parte de *E.coli* en el tratamiento de infecciones urinarias y el fracaso al tratamiento de la gonorrea con cefalosporinas de tercera generación².

La resistencia a antimicrobianos está ocurriendo en todo el mundo, comprometiendo el tratamiento de enfermedades infecciosas e incrementando así los días de estancia hospitalaria, los costos de la atención y la mortalidad³. Por ello, la Organización Mundial de la Salud ha nombrado a la resistencia antimicrobiana como una de las tres amenazas más importantes para la salud pública del siglo XXI ⁴. Se estima que para el año 2050, la resistencia a antibióticos cause alrededor de 300 millones de muertes prematuras, con una pérdida mayor a 100 trillones de dólares para la economía global⁵.

Si bien la introducción de los antibióticos hace casi medio siglo revolucionó la medicina, las bacterias han desarrollado una serie de mecanismos para eludir la muerte, produciendo así resistencia a los antimicrobianos. Estos mecanismos se propagan a través de la transferencia horizontal de genes entre las bacterias o mediante una tasa elevada de mutaciones, producto del uso inadecuado de los antibióticos⁶; siendo, en efecto, la exposición a antimicrobianos un factor de riesgo para el surgimiento y adquisición de patógenos resistentes⁷.

III.-ANTECEDENTES

3.1.- ANTECEDENTES GENERALES

3.1.1.- Breve historia de la microbiología

Uno de los descubrimientos más importantes de la historia de la biología se logró en 1665 con la ayuda de un microscopio diseñado por Robert Hooke, quien informó al mundo que las unidades estructurales más pequeñas de la vida eran “celdillas pequeñas” o “células”, creando la teoría celular que postula que todos los seres vivos están compuestos por células. Entre 1673 y 1723 el comerciante holandés Anton van Leeuwenhoek fue el primero en observar microorganismos vivos a través de lentes de aumento, a los que llamó “animáculos”. En 1858 Rudolf Virchow desafió la idea de la generación espontánea con el concepto de biogénesis, afirmando que las células vivas sólo podían surgir de células vivas preexistentes. Fue hasta 1861 que el científico francés Louis Pasteur refutó por completo la idea de la generación espontánea mediante sus experimentos con matraces, demostrando que los microorganismos pueden estar presentes en la

materia inerte, en sólidos, líquidos y en el aire, y que toda vida microbiana puede ser destruida por el calor, lo que constituye la base de las técnicas asépticas⁸.

El periodo comprendido entre 1857 y 1914 se denominó la Edad de Oro de la Microbiología. En este periodo se realizaron avances rápidos que condujeron al establecimiento de la microbiología como ciencia. Durante esos años se descubrieron los agentes causales de muchas enfermedades y se estableció el papel de la inmunidad en la prevención y curación de patologías. Se mejoraron las técnicas para la realización de estudios microscópicos y de cultivo de microorganismos, y desarrollaron vacunas y técnicas quirúrgicas⁸.

El primer antibiótico fue descubierto de manera accidental por el médico y bacteriólogo escocés Alexander Fleming, al encontrar un hongo capaz de inhibir el crecimiento de una bacteria. Este hongo fue identificado como *Penicillium chrysogenum* y en 1928 Fleming denominó penicilina a este inhibidor de bacterias. Su utilidad se evidenció en la década de 1940. Desde entonces se han descubierto millares de antibióticos nuevos⁸.

3.1.2.- Estructura y morfología bacteriana

Las bacterias son microorganismos unicelulares. Su material genético no está encerrado por una membrana nuclear, por lo que se denominan procariontes (palabra griega que significa prenúcleo). Las células bacterianas suelen presentar una de diversas formas: bacilos, cocos, espirilos, incluso poseen formas estrelladas o cuadradas. Las bacterias individuales pueden formar pares, cadenas, racimos u otros agrupamientos; estas formaciones suelen ser características de un género o especie de bacteria particular⁸.

Las bacterias están recubiertas por una pared celular, la cual debe su resistencia a una capa compuesta de diversas sustancias conocidas como peptidoglucanos (llamados también mureína o mucopéptidos). La mayor parte de las bacterias se clasifican como grampositivas o gramnegativas con base en su respuesta al procedimiento de tinción de Gram. El procedimiento recibió su nombre por el histólogo Han Christian Gram, quien desarrolló este procedimiento de tinción diferencial en un intento para teñir las bacterias en tejidos infectados. La tinción de Gram depende de la capacidad de ciertas bacterias (grampositivas)

para retener un complejo de cristales de color violeta además de yodo después de un lavado con alcohol. Las bacterias gramnegativas no tienen el complejo de colorante-yodo y se vuelven traslúcidas, pero pueden volverse a teñir con safranina, un colorante de color rojo. La diferenciación entre estos dos grupos refleja diferencias en sus envolturas celulares⁹.

El peptidoglucano es un polímero complejo cuya estructura básica está compuesta de moléculas alternadas de N-acetilglucosamina y de ácido N-acetilmurámico. La mayor parte de las paredes celulares de las bacterias grampositivas contienen ácidos teicoico y teicurónico, los cuales en conjunto con múltiples capas de peptidoglucano, constituyen una matriz que proporciona elasticidad, porosidad, fuerza tensil y propiedades electrostáticas de envoltura⁹.

Las paredes celulares de bacterias gramnegativas contienen, además de una delgada capa de peptidoglucano, lipoproteínas, membrana externa y lipopolisacáridos. La membrana externa posee unos conductos llamados porinas, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrofílicos. Las moléculas grandes de antibióticos penetran la membrana externa con lentitud, lo que explica la resistencia relativamente elevada a los antibióticos de las bacterias gramnegativas⁹.

3.1.3.- Estructura y morfología de los hongos

Los hongos son organismos eucariontes con núcleos organizados, aerobios, heterótrofos y en general no móviles. Se reproducen por esporas sexuales y asexuales. La membrana celular basal contiene gran cantidad de esteroides; su principal componente es el ergosterol, similar a la presencia de colesterol en la célula humana y fitoesterol en las plantas. La pared celular está formada por quitina (N-acetilglucosamina), glucanos, mananos y derivados celuloideos que le dan rigidez a la misma¹⁰.

Bajo el punto de vista macro y microscópico sólo hay dos tipos de hongos: mohos, denominados también hifomicetos, que dan colonias filamentosas en medios de agar; y las levaduras o blastomicetos, los cuales forman colonias cremosas similares a las bacterianas. Las levaduras son microorganismos que pueden vivir en diversos hábitat, por lo general son unicelulares, con membrana y

pared celular, con temperatura de crecimiento entre 20-48°C. Se desarrollan en medios neutros y ligeramente ácidos. La mayoría son aerobios, salvo aquellos que llevan a cabo procesos de fermentación. Algunos hongos patógenos de importancia clínica están representados por *Sporothrix schenckii*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia* spp. y *Candida* spp¹⁰.

El comportamiento patógeno que tienen estos microorganismos es en especial de tipo oportunista. El género *Candida* spp. comprende levaduras diploides sexuales eucariotas del reino fungi, con más de 200 especies, pero sólo cerca de 50 tienen interés médico. Los miembros del género *Candida* son muy heterogéneos por lo que crecen como levaduras (blastosporas), o en forma filamentosa (pseudohifas, pseudomicelio). *Candida albicans*, el más importante representante de esta familia, forma parte normal de la microbiota humana¹¹.

Candida albicans es el patógeno aislado con mayor frecuencia en niños, neonatos y en unidades de cuidados intensivos; y se asocia principalmente con el uso de catéteres venosos centrales. De manera similar, se ha asociado con la formación de biopelículas sobre catéteres, prótesis dentales o cardíacas y otros dispositivos biomédicos, convirtiéndose en un foco de diseminación de la infección. Se ha documentado que este patógeno presenta resistencia intrínseca a varios agentes antifúngicos, particularmente azoles y polienos¹¹.

3.1.4.- Fármacos antimicrobianos

Inhibición de la síntesis de pared celular

Es el mecanismo más frecuente de actividad antibiótica. Casi todos los antibióticos dotados de este mecanismo de acción se clasifican como β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenémicos, monobactámicos e inhibidores de la β -lactamasa) debido a que comparten una estructura común de anillo β -lactámico¹².

Penicilinas: Los antibióticos derivados de la penicilina, obtenidos a partir de cultivos del moho *Penicillium chrysogenum*, tienen una estructura central común que contiene un anillo β -lactámico denominado núcleo. Las penicilinas, que pueden ser naturales o semisintéticas, impiden el entrecruzamiento de los

peptidoglucanos, lo que interfiere en los estadios finales de la construcción de la pared celular de las bacterias en replicación. Entre ellos se encuentra la penicilina G, la penicilina V, las penicilinas resistentes a penicilinasa como meticilina y oxacilina. La ampicilina fue la primera penicilina de amplio espectro, con espectro limitado frente a organismos gramnegativos. Los inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, son inactivos por sí mismos, pero cuando se combinan con penicilinas como ampicilina, amoxicilina, ticarcilina o piperacilina, poseen actividad frente a bacterias productoras de β -lactamasas^{8,12}.

Penicilinas resistentes a la penicilinasa: La primera penicilina semisintética destinada a evadir la acción de las penicilinasas fue la meticilina. Posteriormente aparecieron las cepas de estafilococos resistentes a meticilina (SARM). La resistencia se tornó tan importante que la meticilina dejó de usarse y se le sustituyó por antibióticos como la oxacilina. Al igual que otros betalactámicos, la oxacilina actúa inhibiendo la síntesis de pared celular bacteriana. Es uno de los fármacos de elección para casi todas las enfermedades estafilocócicas⁸.

Cefalosporinas y cefamicinas: Las cefalosporinas son antibióticos β -lactámicos derivados del ácido 7- aminocefalosporánico que fueron aislados inicialmente a partir del moho *Cephalosporium*. Las cefamicinas están íntimamente relacionadas con las cefalosporinas, aunque éstas presentan una estabilidad mayor frente a la hidrólisis por β -lactamasas. Estos dos grupos de antimicrobianos inhiben la síntesis de la pared celular por el mismo mecanismo de las penicilinas, pero poseen un espectro antibacteriano más amplio, son resistentes a muchas β -lactamasas y tienen propiedades farmacocinéticas superiores. Las cefalosporinas cuentan con una actividad frente a bacterias gramnegativas mayor que las penicilinas, variando según la generación de cefalosporinas. Cada generación tiene más eficacia contra gérmenes gramnegativos y un espectro de actividad más amplio que la generación anterior^{8,12}.

Otros antibióticos β -lactámicos: Los carbapenémicos (imipenem, meropenem, ertapenem) son un importante grupo de antibióticos de amplio

espectro que disponen de actividad frente a prácticamente todos los grupos de microorganismos, con excepción de algunas enterobacterias, *Pseudomonas* y otros bacilos gramnegativos. Los monobactámicos (aztreonam) son antibióticos de espectro reducido que únicamente son activos frente a bacterias gramnegativas aerobias¹².

Glucopéptidos: La vancomicina es un glucopéptido que interfiere en la síntesis de peptidoglucano de la pared celular de las bacterias grampositivas. Se usa para tratar infecciones por estafilococos resistentes a oxacilina y otras bacterias grampositivas resistentes a antibióticos β -lactámicos. Carece de actividad frente a bacterias gramnegativas. Además, algunos microorganismos como *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus casseliflavus* presentan resistencia intrínseca a vancomicina. Algunas especies de enterococos (*Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*) han adquirido resistencia a vancomicina mediante los genes *vanA* y *vanB*, y se transmiten a través de plásmidos, limitando la utilidad de este antibiótico¹².

Lipopéptidos: La daptomicina es un lipopéptido que se liga de forma irreversible a la membrana citoplasmática, provocando su despolarización y la pérdida de los gradientes iónicos, lo que se traduce en muerte celular. Tiene una importante actividad frente a bacterias grampositivas, pero las bacterias gramnegativas son resistentes a daptomicina, ya que el fármaco no puede atravesar la pared celular de estos organismos. La daptomicina tiene una actividad buena frente a los estafilococos, los estreptococos y los enterococos resistentes a múltiples fármacos, incluyendo las cepas resistentes a vancomicina¹².

Polipéptidos: Las polimixinas conforman un grupo de polipéptidos que se insertan en las membranas bacterianas al interactuar con los fosfolípidos de la membrana externa, aumentando la permeabilidad celular y provocando la muerte. La polimixina E (colistina) se emplea para el tratamiento de algunas infecciones sistémicas causadas por bacilos gramnegativos multirresistentes¹².

Inhibición de la síntesis de proteínas

Aminoglucósidos: Estos antibióticos se componen de aminoazúcares unidos mediante enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol. Para ejercer su

acción atraviesan la membrana externa bacteriana, la pared celular, la membrana citoplasmática hasta llegar al citoplasma, donde inhiben la síntesis de proteínas mediante su unión irreversible a las proteínas ribosómicas 30S. Esta unión a ribosomas tiene como consecuencia la producción de proteínas anómalas y la interrupción de la síntesis de proteínas bacterianas. Los aminoglucósidos se utilizan en el tratamiento de infecciones graves por bacilos gramnegativos como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. Los utilizados con mayor frecuencia son amikacina, gentamicina y tobramicina¹².

Tetraciclinas: Son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro que inhiben la síntesis proteica de la bacteria al unirse de forma reversible a la subunidad 30S del ribosoma, inhibiendo así la unión del ARNt al complejo ribosoma 30S-ARNm. Las tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina, minociclina) disponen de actividad en el tratamiento de las infecciones causadas por especies pertenecientes a *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia* y otras bacterias grampositivas y gramnegativas. La resistencia a tetraciclinas puede ser consecuencia de una disminución de la penetración de antibióticos en el interior de la bacteria, la expulsión activa del antibiótico al exterior de la célula, la alteración de la diana molecular en el ribosoma o la modificación enzimática del antibiótico. Las mutaciones en el gen cromosómico que codifica la proteína de la porina de la membrana externa, OmpF, pueden dar lugar a la aparición de resistencia de bajo nivel a las tetraciclinas y a otros antibióticos (β -lactámicos, quinolonas, cloranfenicol)¹².

Glicilciclinas: La tigeciclina es un derivado semisintético de minociclina. Inhibe la síntesis de proteínas de un modo similar a las tetraciclinas. Muestra un amplio espectro de actividad frente a las bacterias grampositivas, gramnegativas y anaerobios, aunque *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* y *Pseudomonas* suelen ser resistentes¹².

Oxazolidinonas: Representadas por linezolida, que inhibe el comienzo de la síntesis proteica al interferir con la formación del complejo ARNt-ARNm-ribosoma. Se une a la subunidad 50S del ribosoma. Linezolida dispone de

actividad frente a todos los estafilococos, estreptococos y enterococos, incluso aquellas cepas con resistencia a penicilinas, vancomicina y aminoglucósidos¹².

Cloranfenicol: Es un antibiótico de amplio espectro, semejante al de las tetraciclinas que ejerce su efecto con la unión reversible a la subunidad ribosómica 50S. Presenta graves problemas de toxicidad al interferir en la síntesis proteica de bacterias y de la médula ósea del ser humano, causando anemia aplásica. No se emplea de modo frecuente^{8,12}.

Macrólidos: Es una familia de antibióticos conformada por eritromicina, acitromicina y claritromicina. Ejercen su acción por medio de la unión reversible de la subunidad ribosómica 50S. son antibióticos bacteriostáticos con un amplio espectro de acción, utilizados en el tratamiento de infecciones del aparato respiratorio por los géneros *Mycoplasma*, *Legionella* y *Chlamydia*, así como *Campylobacter* y bacterias grampositivas en pacientes alérgicos a la penicilina. Casi todas las bacterias gramnegativas presentan resistencia a los macrólidos¹².

Lincosamidas: La clindamicina es un derivado de lincomicina. Al igual que los macrólidos, clindamicina inhibe la elongación de las proteínas al unirse al ribosoma 50S. Este fármaco es activo frente a estafilococos y bacilos gramnegativos anaerobios. Carece de actividad frente a bacterias gramnegativas aerobias¹².

Estreptograminas: Son un grupo de péptidos cíclicos, actualmente representados por el antibiótico quinupristina – dalfopristina. La molécula de dalfopristina se une a la subunidad ribosómica 50S e induce un cambio conformacional que facilita la unión de quinupristina. Este antibiótico combinado dispone de actividad frente a estafilococos, estreptococos y *E. faecium* resistente a vancomicina¹².

Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

Quinolonas: Se trata de antibióticos sintéticos que inhiben las enzimas topoisomerasa de ADN de tipo II (girasa) o topoisomerasa de tipo IV, las cuales son necesarias para la replicación, recombinación y reparación del ADN. La primera quinolona utilizada fue el ácido nalidíxico, usado en el tratamiento de infecciones de vías urinarias causadas por bacterias gramnegativas, pero pronto

se generó resistencia al mismo, por lo que se abandonó. Este antibiótico se ha reemplazado por nuevas quinolonas como ciprofloxacino, levofloxacino, gatifloxacino y moxifloxacino¹².

Las nuevas quinolonas, conocidas como fluoroquinolonas, se obtuvieron a través de la modificación del núcleo de quinolona. Estos antibióticos poseen una excelente actividad frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque *Pseudomonas*, los estafilococos resistentes a oxacilina y los enterococos pueden desarrollar resistencia con cierta rapidez. La resistencia frente a quinolonas aparece como consecuencia de mutaciones cromosómicas de los genes estructurales que codifican la girasa de ADN y la topoisomerasa de tipo IV¹².

Antimetabolitos

Las sulfonamidas son antimetabolitos que compiten con el ácido p-aminobenzoico e impiden la síntesis de ácido fólico que requieren algunos microorganismos. El compuesto conocido como trimetoprim es otro antimetabolito que interfiere en el metabolismo del ácido fólico al inhibir la dihidrofolato reductasa, lo cual impide la conversión de dihidrofolato a tetrahidrofolato. Se usa en combinación con sulfametoxazol para formar un compuesto sinérgico. La combinación trimetoprim – sulfametoxazol posee actividad frente a una gran variedad de microorganismos grampositivos y gramnegativos, eficaz en el tratamiento de las infecciones de vías urinarias, infecciones por *Pneumocystis carinii* e infecciones de vías respiratorias bajas. El origen de la resistencia al trimetoprim puede deberse a una disminución de la afinidad de la dihidrofolato reductasa¹².

3.1.5.- Fármacos antimicóticos

Desestabilizadores de membrana fúngica

Su mecanismo de acción se debe a la propiedad que tienen de adherirse a los esteroides, en particular al ergosterol, lo que origina la formación de grandes poros y espacios en las membranas celulares; como consecuencia se genera alteración en el intercambio iónico, en especial en la bomba de sodio/potasio, que causa lisis y muerte celular¹⁰.

Polienos: los polienos son moléculas orgánicas macrocíclicas que actúan desestabilizando la membrana fúngica. Fueron los primeros fármacos antifúngicos para uso clínico. Son fungicidas y poseen un amplio espectro de actividad comparado con otros antifúngicos. Nistatina, natamicina y anfotericina B son los tres polienos para uso clínico. Son productos naturales provenientes de diferentes especies de *Streptomyces*¹³.

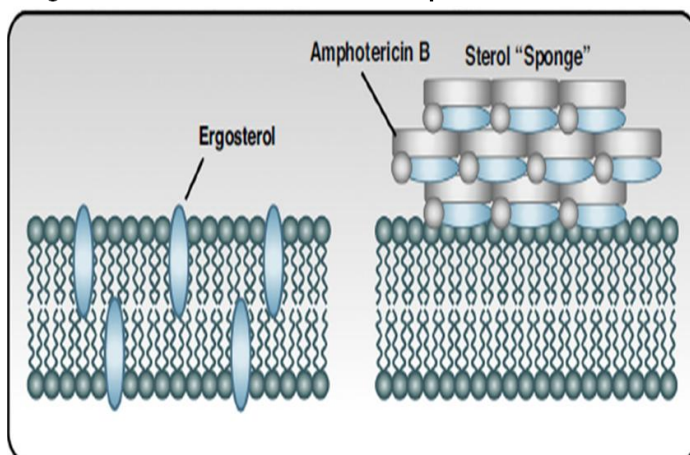
Anfotericina B actúa alterando la integridad de la membrana a través de agregados extramembranosos formando una “esponja de esterol”, lo que conduce al escape iónico y la desestabilización de la bicapa lipídica^{14,15}. (Figura 1)

Nistatina es usada para el tratamiento de candidiasis vaginal y esofágica. Anfotericina B es activa contra levaduras y hongos filamentosos, por lo que es útil en el tratamiento de infecciones causadas por *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* y *Cryptococcus*, entre otros.¹³

Los polienos tienen una afinidad menor, pero no despreciable por el colesterol. Esta ligera afinidad por el colesterol explica la alta toxicidad asociada a estos antifúngicos y sus numerosos efectos secundarios. Por esta razón, recientemente se ha trabajado en encontrar nuevas moléculas que minimicen la toxicidad de estos compuestos. Se encuentran en investigación nuevos polienos semisintéticos que presentan menor toxicidad y mayor selectividad hacia el ergosterol¹³.

Azoles: los azoles son moléculas cíclicas orgánicas que pueden ser clasificadas en dos grupos: imidazoles y triazoles. Los imidazoles (clotrimazol, miconazol y ketoconazol) fueron los primeros azoles desarrollados. Sin embargo, debido a su alta toxicidad, efectos adversos severos y numerosas interacciones medicamentosas, fueron reemplazados por los triazoles. La primera generación de

Fig.1 Mecanismo de acción de los polienos.



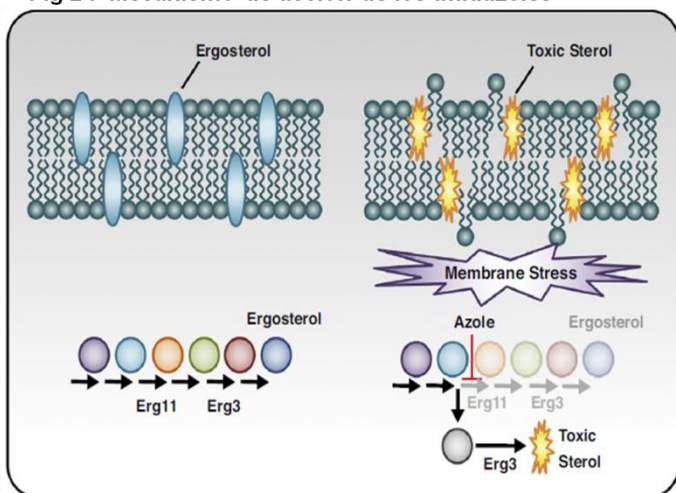
Revie NM, Iyer KR, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. Current Opinion in Microbiology. 2018; 45(70–76)

triazoles (itraconazol y fluconazol) presenta un espectro más amplio comparado con los imidazoles y tienen perfiles más seguros¹³.

Fluconazol es activo frente a diferentes levaduras, pero carece de actividad frente a hongos con hifas. Tanto fluconazol como itraconazol presentan limitaciones frente a patógenos emergentes como *Fusarium* y *Mucorales*. Por esta razón, se desarrolló una segunda generación de azoles, siendo aprobado en 2002 por la FDA el voriconazol, considerado como fungicida de amplio espectro. Voriconazol se convirtió en el antifúngico de primera línea para el tratamiento de aspergilosis invasiva causada por *A. fumigatus*, ya que su actividad es superior a muchos otros antifúngicos¹³.

Los azoles son importados dentro de la levadura mediante difusión facilitada, aunque el transportador sigue siendo desconocido¹⁴. Una vez dentro de las células, los azoles actúan mediante la inhibición específica de la enzima que productora de ergosterol llamada lanosterol desmetilasa, codificada por el gen *ERG11* (en especies de *Candida*) o *cyp51A* y *cyp51B* (en *A. fumigatus*), ocasionando un bloqueo en la producción de ergosterol y la acumulación de esteroles tóxicos, el cual induce un estrés de membrana severo, inhibiendo el crecimiento del hongo¹⁵ (Figura 2).

Fig 2 . Mecanismo de acción de los imidazoles



Revie NM, Iyer KR, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. Current Opinion in Microbiology. 2018; 45(70–76)

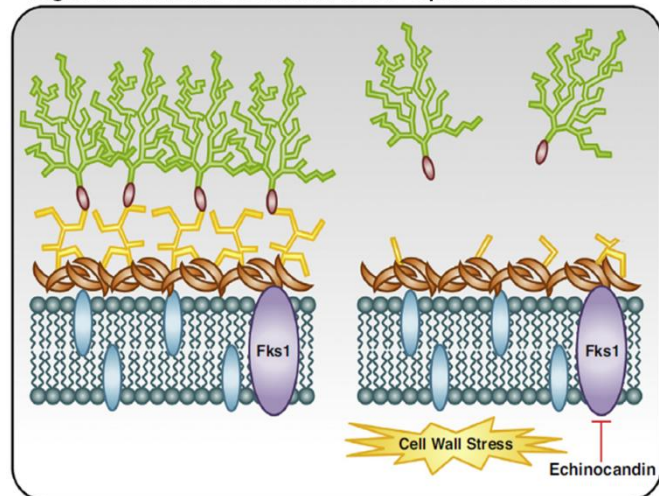
Inhibidores de la síntesis de pared fúngica

La pared celular de los hongos contiene compuestos que son exclusivos de estos organismos, como el β -glucano. La inhibición de la biosíntesis de este glucano da como resultado una pared celular incompleta y la lisis posterior de la célula micótica⁸.

Equinocandinas: las equinocandinas caspofungina y micafungina pertenecen a la clase de lipopéptidos y presentan su efecto antifúngico a través de

una inhibición no competitiva del 1,3-β-D-glucano sintetasa, una proteína responsable de un componente esencial de la pared celular fúngica llamada 1,3-β-D-glucano, codificada por los genes FKS, causando una pérdida de la integridad de la pared celular y estrés celular severo. (Figura 3)

Fig 3. Mecanismo de acción de las equinocandinas



Revie NM, Iyer KR, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. Current Opinion in Microbiology. 2018; 45(70–76)

Este mecanismo de acción hace que esta clase de fármacos sean útiles en infecciones invasivas causadas por levaduras y *Aspergillus* spp resistentes a los azoles. Las equinocandinas funcionan como fungicidas contra las levaduras y como fungistático contra *Aspergillus* spp, ya que bloquea el crecimiento apical de las hifas en estas especies. Además, son activas contra el biofilm fúngico. Se ha reportado en la literatura casos de falla terapéutica a caspofungina en infecciones causadas por *Candida* spp¹⁶.

Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos

Flucitosina es una pirimidina que actúa como profármaco, el cual es transportado dentro de la célula fúngica mediante la purina-citosina permeasa (gen *FCY2*) y convertido a 5-fluorouracilo por la citosina desaminasa (gen *FCY1*), interfiriendo con la síntesis de DNA y RNA, lo que interrumpe la síntesis de proteínas¹⁵.

La toxicidad selectiva de este fármaco se basa en la capacidad de la célula micótica de convertir la flucitosina en 5-fluorouracilo, que se incorpora al ARN y por último altera la síntesis de proteínas. Las células de mamífero carecen de la enzima que permite la conversión del fármaco. La flucitosina tiene un espectro reducido y además es nefrotóxico y mielotóxico⁸.

Inhibidores de la mitosis fúngica

La griseofulvina es un antibiótico producido por una especie de *Penicillium*. Es activa contra infecciones micóticas dermatofíticas superficiales del pelo (tiña del cuero cabelludo) y de las uñas, aún cuando su vía de administración es oral. El fármaco se une de manera selectiva a la queratina de la piel, los folículos pilosos y las uñas. Su mecanismo de acción principal es bloquear la unión de los microtúbulos, lo que interfiere en la mitosis y por consiguiente inhibe la reproducción del hongo⁸.

3.2.- ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

La resistencia bacteriana es utilizada por algunos microorganismos como mecanismo de defensa. Es un fenómeno que existía antes del descubrimiento de los antibióticos y de su uso¹⁷.

Las definiciones de resistencia se clasifican según el número y la clase de antibióticos afectados. La multirresistencia (*Multiple Drug Resistance*, MDR) se define como la ausencia de sensibilidad a, por lo menos, un fármaco en tres o más de las categorías de antibióticos. La resistencia extrema (*Extensively Drug-Resistant*, XDR) se refiere a la ausencia de sensibilidad a, por lo menos, un agente en todas las categorías de antimicrobianos excepto en dos de ellas o menos. La resistencia a todos los antimicrobianos se define como resistencia a todas las categorías de antibióticos¹⁸.

3.2.1.- Tipos de resistencia bacteriana

La resistencia antibiótica puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. Por ejemplo, todos los gérmenes gramnegativos son resistentes a la vancomicina, y esta situación no es variable. La resistencia adquirida es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana. Así, existen cepas de neumococo que han adquirido resistencia a la penicilina, cepas de *E. coli* resistentes a la ampicilina, cepas de estafilococos resistentes a la meticilina. La resistencia adquirida es la que puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre el germen que produce infección¹⁹.

3.2.2.- Genética de la resistencia bacteriana

Las bacterias son capaces de adquirir resistencia en función de su variabilidad genética. Nuevos mecanismos de resistencia pueden ser adquiridos mediante mutación o mediante transferencia del material genético entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extracromosómico (plásmidos)¹⁹.

La resistencia a los antibióticos es el resultado del estrés celular que un antibiótico impone sobre las bacterias. El estudio filogenético de los homólogos de *mecA* mostró que los alelos ancestros de *mecA* datan de 1891, antes de la introducción de los antibióticos a la práctica clínica, y a partir del cual se originaron *mecA1* y *mecA2*. En 1968 el gen *mecA1* comenzó a diversificarse, coincidiendo con la aparición de alelos recombinantes y la aparición de resistencia a β -lactámicos. Esto fue contemporáneo con el uso de penicilina y meticilina como tratamiento en seres humanos (1940 y 1960, respectivamente) y de la penicilina como un aditivo para animales de producción (1950)²⁰.

El mecanismo de resistencia a los betalactámicos mediado por *mecA* en estafilococos es uno de los mecanismos más eficientes, proporcionando resistencia a todos los miembros de la familia de betalactámicos. Diferentes estudios han demostrado que el precursor de *mecA* era un gen nativo llamado *mecA1*, el cual no proporcionaba resistencia en *Staphylococcus sciuri*, la especie más primitiva de los estafilococos. Se ha demostrado que las especies de *S. sciuri* han desarrollado múltiples estrategias durante su historia evolutiva para desarrollar resistencia a betalactámicos, como la diversificación en la estructura del PBP nativo²⁰.

Estudios realizados con colonias de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) han demostrado que el fenotipo de resistencia antimicrobiana no solo requiere de la expresión del gen *mecA*, sino también de una gran cantidad de genes auxiliares que se expresan mayoritariamente cuando se cultivan en presencia de una concentración mínima inhibitoria (CMI) sub óptima de mupirocina, lo cual produce estrés bacteriano e incrementa los niveles de

resistencia a oxacilina; sugiriendo que una interrupción del estrés celular disminuye la producción de la proteína PBP2A, y por tanto una menor resistencia antimicrobiana²¹.

3.2.3.- Mecanismos de resistencia bacteriana

La gran mayoría de los mecanismos de resistencia pueden agruparse en tres categorías¹⁹:

- 1. Inactivación enzimática:** el principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las betalactamasas y los betalactámicos, pero también pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos.
- 2. Modificaciones en el sitio blanco:** modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, como por ejemplo las alteraciones en las PBP de *S. pneumoniae* que confiere resistencia a penicilina e incluso a ceftriaxona; la adquisición de genes que codifiquen para sustitutos de los blancos originales, como PBP2' en *Staphylococcus* spp. meticilinoresistentes o la dihidrofolato reductasa alternativa en las cepas resistentes a trimetoprim.
- 3. Alteraciones de la permeabilidad:** se pueden incluir aquí tres tipos
 - a) Alteraciones de las membranas bacterianas, fundamentalmente en gramnegativos, donde la membrana externa de la envoltura celular rica en lípidos es impermeable a las sustancias hidrofílicas. De este modo, dichas sustancias quedan confinadas a la penetración a través de proteínas transmembrana con función de porinas¹⁹. Las porinas son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos, los antibióticos. Los cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico²².
 - b) Alteraciones en la entrada de antibióticos dependiente de energía

c) Aumento en la salida de antibióticos o resistencia por eflujo. Estos sistemas exportan moléculas desde el citoplasma hacia fuera de la membrana externa. En grampositivos se trata de una proteína transmembrana con función ATPasa que actúa como bomba de eflujo

3.2.4.- Inactivación enzimática

Familia de las β -lactamasas

Las bacterias adquieren resistencia a los antibióticos β -lactámicos a través de tres mecanismos generales: 1) evitando la interacción entre el antibiótico y la molécula diana de PBP; 2) modificando la unión del antibiótico a la PBP, y 3) hidrolizando el antibiótico mediante β -lactamasas¹².

Las β -lactamasas son enzimas capaces de romper el anillo β -lactámico de este grupo de antibióticos, causando su inactivación. Estas enzimas son ubicuas de las bacterias gramnegativas y representan una forma importante de resistencia²².

Se han descrito más de 200 β -lactamasas diferentes. Algunas son específicas para penicilinas (penicilinasas), cefalosporinas (cefalosporinasas) o carbapenémicos (carbapenemasas), mientras que otras poseen un espectro amplio de actividad, incluyendo algunas que son capaces de inactivar la mayoría de antibióticos β -lactámicos¹².

El sistema de clasificación de Ambler ha separado las β -lactamasas en cuatro clases (A a D). Las β -lactamasas pertenecientes a la clase A más frecuentes son SHV-1 y TEM-1, unas penicilinasas fabricadas por numerosos bacilos gramnegativos (*Escherichia*, *Klebsiella*) y dotadas de actividad mínima frente a las cefalosporinas. Algunas mutaciones puntuales sencillas de algunos genes que codifican estas enzimas han creado β -lactamasas con actividad frente a todas las penicilinas y las cefalosporinas. Estas enzimas reciben el nombre de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL), que son codificadas por plásmidos que pueden transferirse de un microorganismo a otro. Las β -lactamasas incluidas en la clase B son metaloenzimas dependientes de cinc que poseen un amplio espectro de actividad frente a todos los fármacos β -lactámicos, entre ellos las cefaminicinas y los carbapenémicos. Las β -lactamasas de clase C se componen principalmente

de cefalosporinas codificadas por el cromosoma bacteriano. La expresión de este grupo de β -lactamasas posee actividad frente a las más potentes cefalosporinas de espectro extendido. La clase D de β -lactamasas engloba diversas penicilinasas fabricadas fundamentalmente por bacilos gramnegativos¹².

β -lactamasas tipo AmpC

Son betalactamasas que pertenecen a la clase molecular C de Ambler. Hidrolizan generalmente a las cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las cefamicinas y, en menor medida a las cefalosporinas de tercera generación, mientras que son muy poco eficaces hidrolizando cefalosporinas de cuarta generación y carbapenémicos. Se han encontrado codificadas en una amplia variedad de bacterias gramnegativas como *Aeromonas spp.*, *Morganella morganii*, *Providencia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, y *Serratia spp.*^{22,23}.

La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, siendo los niveles de producción dependientes del grado de expresión del gen *bla*_{AmpC}. Cuando este gen se expresa de forma constitutiva puede hacerlo a niveles basales bajos, confiriendo un fenotipo de resistencia natural o salvaje, característico de la especie bacteriana; o puede hacerlo de forma inducible, a unos niveles muy superiores al basal, produciendo cantidades elevadas de AmpC (hiperproducción de AmpC). En especies bacterianas como *E. cloacae*, *M. morganii* y *P. aeruginosa*, el gen *bla*_{AmpC} se expresa de forma inducible²³.

β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las BLEE han sido reportadas en múltiples especies bacterianas gramnegativas. *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli* son los gérmenes más frecuentemente implicados. Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas (cefalosporinas de tercera generación), monobactámicos (aztreonam), penicilinas y cefalosporinas de espectro reducido. Por el contrario, son incapaces de hidrolizar cefamicinas (cefotaxima) y carbapenémicos. Las BLEE son inhibidas por los inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam, lo cual las diferencia de las β -lactamasas tipo AmpC

^{22,23}.

Estas β -lactamasas pertenecen a la clase molecular A de Ambler, y entre ellas se encuentran las de tipo TEM, SHV y CTX-M. La mayoría de BLEE se ha originado por medio de mutaciones espontáneas de β -lactamasas de espectro reducido. En la práctica, la presencia de cualquier infección moderada a grave por una bacteria productora de BLEE debe llevar al clínico a considerarla como resistente a cefalosporinas de amplio espectro y a los monobactámicos. Usualmente las BLEE tipo TEM y SHV hidrolizan a ceftazidima con mayor eficiencia que a ceftriaxona o cefotaxima, mientras que las CTX-M hidrolizan a ceftriaxona y cefotaxima más rápidamente que a ceftazidima^{22,23}.

Otras enzimas BLEE de clase A son las de tipo CMT (*complex mutant TEM*) como la TEM-50, que combinan una cierta resistencia a la inhibición por el ácido clavulánico junto a una mayor actividad frente a oximinocefalosporinas²³.

Una característica importante de las BLEE es que son mediadas por plásmidos, lo cual confiere una increíble capacidad de diseminación entre diferentes especies. Además, en el mismo plásmido que porta los genes de BLEE, pueden encontrarse genes que codifican resistencia para aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim/sulfametoxazol, lo cual puede contribuir a la resistencia de múltiples antibióticos²².

β -lactamasas resistentes a los inhibidores

A partir de las BLEE tipo TEM-1, TEM-2 o SHV-1 aparecieron mediante mutaciones puntuales, las β -lactamasas resistentes a la inhibición por los fármacos inhibidores de betalactamasas. Estas enzimas se han denominado IRT (*inhibitor-resistant TEM mutant*) porque en su mayoría derivan de TEM-1 y TEM-2. Algunas oxacilinasas como la OXA-1, también confieren un fenotipo similar al de las IRT, que se caracteriza por resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas, afectando la asociación ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam y amoxicilina-ácido clavulánico²³.

Carbapenemasas

Este grupo de enzimas hidroliza a los carbapenems. Pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en plásmidos. Existen dos grupos de carbapenemasas, carbapenemasas de serina y metalo- β -

lactamasas (MBL), denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Su impacto reside en que la resistencia a los carbapenems implica resistencia a otros β -lactámicos²².

El grupo más importante de carbapenemasas lo constituyen las MBL pertenecientes a la clase B, cuyas enzimas principales son las IMP y VIM que tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos betalactámicos, excepto aztreonam. Las MBL generan resistencia en un amplio rango de bacterias gramnegativas como *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. La información genética de las MBL es usualmente transportada en integrones, los cuales generalmente incluyen información para enzimas modificadoras de aminoglucósidos^{22,23}.

Otro grupo importante de carbapenemasas son las de clase A, como las carbapenemasas de serina tipo NMC-A, SME, IMI y GES-2; sin embargo, la que tiene mayor importancia epidemiológica es la enzima KPC. Las enzimas KPC son de naturaleza plasmídica y se han encontrado en *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. Hidrolizan de forma eficiente penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. No se inhiben por el ácido clavulánico²³.

En *Acinetobacter spp* se han identificado carbapenemasas de serina clase D como OXA 23, OXA 24, OXA 58 y OXA 143, la mayoría de las cuales son adquiridas por transposones o plásmidos. Estas enzimas son capaces de hidrolizar a la penicilina, cefalosporinas de primera generación y débilmente a los carbapenems, por lo que las carbapenemasas tipo OXA requieren que la bacteria exprese algún otro mecanismo de resistencia como el cierre de porinas o la expresión de bombas de eflujo para conferir resistencia a carbapenems²².

Resistencia a aminoglucósidos

Los microorganismos pueden desarrollar resistencia a los aminoglucósidos a través de cuatro mecanismos: 1) mutación del lugar de unión en el ribosoma, 2) disminución de la captación por la célula bacteriana, 3) aumento de la expulsión del antibiótico del interior de la célula, y 4) modificación enzimática del antibiótico, que es el mecanismo más frecuente¹².

Su principal mecanismo de resistencia es mediante la inactivación enzimática, habiéndose descrito tres tipos de enzimas inactivantes: las acetiltransferasas (AAC) que acetilan un grupo amino del antibiótico, las fosfotransferasas (APH) que acetilan un grupo hidroxilo y las nucleotidiltransferasas (ANT) que adenilan también un grupo hidroxilo. Cada enzima reconoce un cierto número de aminoglucósidos, lo cual traduce en un fenotipo de resistencia concreto. Además, una bacteria puede disminuir su sensibilidad a los aminoglucósidos mediante mutaciones que afectan la difusión pasiva a través de la membrana externa, porinas o estructura del polisacárido²³.

3.2.5.- Modificaciones en el sitio blanco

Resistencia a quinolonas

Los sitios de acción se pueden encontrar en diferentes componentes bacterianos que involucran actividades celulares vitales, como la síntesis de proteínas, la replicación o la transcripción. La resistencia a quinolonas se debe a alteraciones cromosómicas y a genes transmitidos por plásmidos. Se han encontrado genes tipo *qnrA*, *qnrB* y *qnrS* en plásmidos, cuyos productos bloquean la acción de la ciprofloxacina sobre la girasa y la topoisomerasa IV del ADN²².

La resistencia a quinolonas se alcanza por una acumulación de mutaciones en los genes de las topoisomerasas, fundamentalmente *gyrA* y *parC*. Estas mutaciones se concentran en una región denominada QRDR (*quinolone-resistance-determining-region*), que codifican aminoácidos próximos al sitio activo de ambas enzimas²³.

Resistencia a betalactámicos en estafilococos

El principal componente estructural de la pared celular bacteriana es la capa de peptidoglucano. Unas enzimas específicas catalizan la formación de esta capa. Estas enzimas reguladoras se denominan proteínas de unión a la penicilina (PBP) debido a que se pueden unir a los antibióticos β -lactámicos. Cuando las bacterias se exponen a estos antibióticos, el fármaco se une a las PBP de la pared celular bacteriana e inhibe la formación de puentes entre las cadenas de peptidoglucano, lo que origina la destrucción celular¹².

La resistencia puede aparecer como consecuencia de una modificación del antibiótico β -lactámico que se une a la PBP, lo cual puede llevarse a cabo a través de: 1) una sobreproducción de PBP; 2) adquisición de una nueva PBP (resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*), o 3) modificación de una PBP existente mediante recombinación (p. ej., resistencia a penicilina en *Streptococcus pneumoniae*) o una mutación puntual (resistencia a penicilina en *Enterococcus faecium*). Por último, la bacteria puede producir β -lactamasas que inactivan los antibióticos β -lactámicos¹².

El mecanismo de resistencia antimicrobiana de mayor importancia epidemiológica en *Staphylococcus aureus* está asociada al gen *mecA*, un gen adquirido que codifica una proteína adicional de unión a la penicilina (PBP2a), con baja afinidad a todos los betalactámicos. La introducción de *mecA* en el cromosoma de *S. aureus* ha llevado a la aparición de *S. aureus* meticilino resistente (MRSA), responsable de altas tasas de mortalidad en todo el mundo. Los resultados de un estudio realizado en 2017 sugieren que la exposición a β -lactámicos es lo que ha impulsado la evolución de las PBP nativos hacia una determinante de la resistencia²⁰.

3.2.6.- Alteraciones de la permeabilidad

Bombas de Eflujo

Las bombas de eflujo o bombas de salida se encuentran en la membrana externa de la célula y expulsan hacia el exterior de la bacteria gran cantidad de moléculas. Para ello, utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo contra-transporte iónico como sustrato energético. El principal papel de este mecanismo es mantener bajas las concentraciones de sustancias tóxicas dentro de la célula. Usualmente las bombas de salida causan pequeños aumentos en la concentración mínima inhibitoria (CMI); sin embargo, cuando aparecen simultáneamente varios mecanismos de resistencia, se produce una resistencia clínicamente evidente²².

Estos transportadores se pueden clasificar en seis familias: la familia ABC (ATP binding cassette), MF (major facilitator), MATE (multidrug and toxic efflux), RDN (resistance nodulation división), SMR (small multidrug resistance) y DMT (drug/metabolite transporter superfamily). En *Acinetobacter baumannii* la

resistencia mediada por bombas de salida generalmente se asocia a las familias RND y MF²².

Cierre de porinas

Las porinas tienen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Los antibióticos β -lactámicos deben penetrar a través de estos canales; cuando se pierde una porina por mutaciones, aumenta la CMI para el antibiótico. Las porinas pueden ser específicas o inespecíficas dependiendo de su selectividad para las moléculas que dejan pasar. En *P. aeruginosa*, los carbapenems como imipenem y meropenem, utilizan una porina específica llamada OprD. La OprD puede cerrarse durante la terapia con estos medicamentos, lo que lleva a una resistencia. El meropenem es menos dependiente que el imipenem del paso por esta porina, por lo que algunos aislamientos resistentes a imipenem pueden permanecer sensibles a meropenem²².

La penetración de los antibióticos β -lactámicos al interior de los bacilos gramnegativos requiere el paso a través de los poros situados en la membrana exterior. Los cambios en las proteínas (porinas) que forman la pared de los poros pueden modificar el tamaño o la carga de estos canales e impedir el paso del antibiótico¹².

Resistencia a glicopéptidos

Se trata de mecanismos complejos que involucran por lo menos cinco genes. El efecto final es la síntesis de un peptidoglucano que presenta un pentapéptido que culmina en Dala-Dlactato (Dlac) o Dala-Dserina (Dser). Este producto no se une a vancomicina. Se trata de un mecanismo inducible que requiere la presencia de vancomicina para su acción. Hasta el momento se conocen cinco fenotipos de resistencia, correspondientes a cinco grupos de genes distintos, denominados VanA a la E¹⁹.

3.2.7.- Resistencia antifúngica

Los patógenos fúngicos tienen un profundo impacto en la salud humana, seguridad alimentaria y biodiversidad. Los avances en la medicina moderna han

mejorado el tratamiento de diversas enfermedades humanas y enfermedades infecciones que estaban restringidas a brotes, extendiendo así la vida humana. Como consecuencia, los hongos patógenos oportunistas han emergido como una causa principal de mortalidad, particularmente en individuos inmunosuprimidos. Los agentes principales incluyen especies de *Candida*, *Apergillus* y *Cryptococcus*. *Candida albicans* es una de las principales causas de infecciones nosocomiales, con tasas de mortalidad de 40% a pesar del tratamiento. Las especies de *Candida* no *albicans* también presentan aislamientos con resistencia a medicamentos, siendo cada vez más comunes¹⁴.

Estudios epidemiológicos reportan una resistencia importante a los azoles en especies de *Candida*, y *Apergillus*, mientras que la resistencia entre las especies de *Cryptococcus* permanece baja. El programa ARTEMIS (programa de vigilancia antifúngica) reportó un incremento en *C. glabrata* como causa de candidiasis invasiva del 18% en 1992-2001 a un 25% en 2001-2007, y un incremento en la resistencia a fluconazol del 9% a 14% en los mismos periodos. En 2013, de 1846 aislamientos provenientes de 31 países, el 11.9% de cepas de *C. glabrata* eran resistentes a fluconazol²⁴.

La resistencia a los antifúngicos tiene implicaciones importantes en la morbilidad y mortalidad de las micosis. Los hongos son organismos que presentan una gran plasticidad ante los cambios ambientales y se han descrito mecanismos de resistencia a los principales grupos de antifúngicos. Por analogía a lo observado con los antibacterianos, el uso más frecuente de antifúngicos podría producir un aumento en la resistencia microbiana a estos fármacos²⁵.

Desde el punto de vista microbiológico, la resistencia adquirida a los antimicrobianos ocurre cuando la concentración mínima inhibitoria incrementa en aislamientos subsecuentes asociados a falla terapéutica. Las primeras observaciones de resistencia a fluconazol en levaduras demostraron que la resistencia antifúngica se produce por modificaciones moleculares relacionadas con el mecanismo de acción del fármaco, así como la sobreexpresión genética.

Estudios han demostrado que la resistencia a antifúngicos es multifactorial, ya que está relacionada con el huésped (estado inmunológico, sitio de infección,

severidad de la infección, adherencia al tratamiento), con el fármaco (actividad fungicida o fungistática, dosis, farmacocinética, interacciones medicamentosas), y del hongo responsable (morfología celular en levadura o filamento, fenotipo, estabilidad genómica, producción de biofilm)¹⁶.

Se han identificado numerosos mecanismos de resistencia adquirida a antifúngicos, incluyendo alteración en el sitio blanco, regulación positiva de transportadores y activación de respuestas de estrés. Aunque la resistencia a los polienos es rara, la resistencia a los azoles y las equinocandinas está documentada¹⁴.

Resistencia a equinocandinas

La resistencia adquirida a las equinocandinas se observa en las mutaciones de los genes FKS, relacionados con mutaciones en los aminoácidos de la 1,3- β -D-glucano sintetasa, el blanco de estos fármacos¹⁶.

Resistencia a los azoles

Todas las especies probablemente son capaces de adquirir resistencia si son expuestas a azoles por periodos largos de tiempo (meses o años). La resistencia a los azoles se produce por distintos mecanismos moleculares:

1. Mutaciones en el gen *ERG11* que codifica lanosterol desmetilasa, el cual es altamente polimórfico y posee más de 140 sustituciones de aminoácidos, lo que indica que es una proteína altamente permisiva a los cambios conformacionales. Estas mutaciones actúan disminuyendo la afinidad del fármaco a su sitio de acción¹⁵.

2. Sobreexpresión de lanosterol desmetilasa. Se ha observado una regulación positiva de *ERG11* en *Candida albicans* que se muestra resistente a fluconazol, relacionado con mutaciones de “ganancia de función”, confiriendo un estado de hiperactivación¹⁵.

3. Bombas de eflujo mediadas por transportadores multidrogas. Los transportadores *ATP-binding cassette* (ABC) y facilitadores mayores (MF) son un sistema de bombeo activo mediado por ATP, se localizan en la membrana citoplasmática y contribuye a la resistencia de casi todos los azoles, expulsando el fármaco hacia el exterior de la célula. Los transportadores ABC son codificados

por los genes CDR (*Candida Drug Resistance*) y los transportadores MF son codificados por los genes MDR (*Multidrug Resistance*). La sobreexpresión de los transportadores es la causa más frecuente de resistencia a todos los azoles, mientras que la sobreexpresión de genes MDR sólo confiere resistencia al fluconazol¹¹.

4. Alteración en la vía de síntesis de ergosterol. La mutación más común involucra el gen *ERG3*, que implica una reducción en el contenido de ergosterol en la membrana, produciendo una acumulación de intermediarios del esterol. Como consecuencia, estas mutaciones inducen concentraciones mínimas inhibitorias elevadas para anfotericina B y la sobreexpresión de *ERG11* como mecanismo compensatorio¹⁵.

Resistencia a polienos y flucitosina

Candida lusitanae y *Candida haemulonii* han demostrado resistencia primaria a anfotericina B y se ha reportado susceptibilidad reducida a polienos en cepas de *C. albicans* que contienen alteraciones en la vía del ergosterol, involucrando mutaciones en *ERG2*, *ERG3*, *ERG11* y *ERG5*¹⁵.

La resistencia adquirida a flucitosina se ha reportado en *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. lusitanae*, y ha sido atribuida a alteraciones en las enzimas necesarias para el metabolismo de este fármaco (*FCY2*, *FCY1* *FUR1*). Curiosamente, las mutaciones en *FCY2/FCY1* conducen a alteraciones en la concentración mínima inhibitoria de fluconazol cuando éste se usa en combinación con flucitosina¹⁵.

3.2.8.- Importancia de la resistencia antimicrobiana en el mundo

Aunque la resistencia antimicrobiana es un proceso natural, hoy en día es una amenaza debido a hay una tasa creciente de resistencia. En el Reino Unido se estimó que para 2016 las infecciones causadas por microorganismos con resistencia bacteriana son responsables de aproximadamente 5,000 muertes en este país; 50,000 muertes en Europa y Estados Unidos y un estimado de 700,000 muertes a nivel mundial en un año. Se estima que de no haber un control en la resistencia antimicrobiana, el gasto en los servicios de salud excederá 10 millones

de dólares cada año en 2050, y tendrá un costo mundial de 100 trillones de dólares¹⁹.

El último reporte global de resistencia antimicrobiana emitido por la OMS nos muestra que *E. coli* presenta resistencia a cefalosporinas de tercera generación en un 44% a nivel mundial, y a fluoroquinolonas en un 47%. *K. pneumoniae* es resistente también a cefalosporinas de tercera generación en un 45% a nivel mundial, así como a carbapenems en 37%. *S. aureus* meticilino-resistente se reporta en un 44% a nivel mundial ².

En el caso de las levaduras, *Candida* es el agente causal más frecuente de infección fúngica alrededor del mundo. La candidiasis sistémica es el principal problema en pacientes que reciben terapia antibiótica de amplio espectro, así como aquellos pacientes hospitalizados en áreas de terapia intensiva o que está recibiendo terapia inmunosupresora. Datos recientes han demostrado un aumento en la resistencia de *Candida* a fluconazol, el fármaco de elección para candidiasis en muchos países. También se han reportado resistencias a nuevas clases de antifúngicos como las equinocandinas, las cuales han reemplazado a fluconazol en la terapia empírica en países desarrollados. El reporte de resistencias para estas levaduras varía de acuerdo al tipo de levadura y el país estudiado, siendo la más alta en Dinamarca con un 33% de resistencia a antifúngicos y la más baja en la República de Corea con un 0.9% reportado ².

Las infecciones invasivas por *Candida* se han asociado a un aumento de la morbilidad y mortalidad en aproximadamente un 35%²⁰. Estas infecciones aumentan los costos hospitalarios a cifras entre 6,000 y 29,000 dólares y aumentan un total de 8 billones de dólares anuales al gasto en el cuidado de la salud²¹.

3.2.9.- Resistencia antimicrobiana en México

En 1973 apareció la primera publicación de investigadores mexicanos relacionada con la resistencia a los antibióticos en bacterias que pueden causar cuadros diarreicos o fiebre tifoidea, en la que analizaron la resistencia a los antimicrobianos de *Salmonella Typhi*, patógeno responsable de una epidemia de fiebre tifoidea que afectó los estados centrales de la República Mexicana en 1972,

encontrando resistencia a cloranfenicol, tetraciclina, estreptomicina y sulfas. En 2007 y 2009 se reportó la diseminación de *Salmonella Typhimurium* como un patógeno entérico multirresistente, por la producción de una betalactamasa de tipo AmpC¹⁷.

Desde el final de la década de los noventa se han descrito pruebas que identifican la producción de BLEE en enterobacterias, así como la identificación de betalactamasas tipo SHV, que es el tipo de BLEE más comúnmente identificado en México. En el 2001 se describió *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE como un patógeno pediátrico importante. A partir de 2009 se describieron las especies bacterianas productoras de BLEE más frecuentemente aisladas en ocho hospitales mexicanos: *K. pneumoniae* (56%), *E. cloacae* (29%) y *E. coli* (15%) productoras de BLEE tipo SHV (84%), TLA-1 (11%) y CTX-M (5%)¹⁷.

Un hallazgo importante fue la descripción de una metalo betalactamasa de tipo VIM-2 localizada en un integrón de *E. cloacae* y *K. oxytoca* encontradas en Guadalajara. En aislamientos provenientes de la ciudad de México se encontró *P. aeruginosa* productora de betalactamasas OXA 141¹⁷.

En Monterrey se aislaron 550 cepas de *A. baumannii* durante tres años, de las cuales hubo hallazgo de multirresistencia en el 74% y de resistencia a meropenem en 59% de ellos. En el Hospital Civil de Guadalajara se analizaron 3,860 aislamientos de *A. baumannii* y se encontró que la diseminación se inició en una unidad de cuidados intensivos de pacientes adultos. Las cepas aisladas producían VIM-4, IMP-1 y OXA-24, con una sensibilidad disminuida a meropenem de 92 a 12% a lo largo de 13 años²⁶.

Se ha reportado la presencia del gen *mecA* en estafilococos coagulasa negativos en distintos hospitales de la república mexicana. El primer reporte de resistencia a linezolid en estafilococos que desarrollaron resistencia a través de la adquisición del gen *Cfr* en aislamientos del Hospital Civil de Guadalajara fue en 2010²⁷.

Finalmente, se ha reportado en la Ciudad de México el aislamiento de diversos *Enterococcus* spp. con altos niveles de resistencia a gentamicina, predominando *E. faecalis* y *E. faecium*. *E. faecium* demostró resistencia a

ampicilina e imipenem en 59% de los aislamientos. En el 2007 se reportó resistencia a vancomicina en estos patógenos y en el 2011 se halló resistencia de estas bacterias en Querétaro²⁸.

Respecto a los hongos, el fenómeno de resistencia era poco frecuente en los años ochenta del siglo pasado. En los últimos años, el número de casos de micosis con falla terapéutica se ha incrementado en el mundo. Durante muchos años, los compuestos antimicóticos fueron escasos y poco efectivos. Sin embargo, con la pandemia del SIDA, así como por el uso indiscriminado de Corticoesteroides, cirugías y trasplantes, muchos investigadores notaron la aparición de casos de fallas en la terapéutica antimicótica a compuestos como ketoconazol, fluconazol e incluso anfotericina B²⁹.

En 2007 el Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS reportó resistencia a uno o varios compuestos azólicos en el 20% de los dermatofitos estudiados y en el 27.5% de las cepas de *Candida* encontradas en pacientes hospitalizados²⁹.

IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

4.1 Párrafo de presentación

El desarrollo de resistencia a antimicrobianos va de la mano con el uso inadecuado de ellos, tanto en la industria como en los centros hospitalarios e incluso con la automedicación de antibióticos. En los hospitales más importantes de nuestro país se ha encontrado el problema de resistencia a antibióticos, no sólo en aquellos que son derivados de los betalactámicos, sino también a los que son de nueva generación que cuentan con amplio espectro de cobertura antimicrobiana. La resistencia a este tipo de antimicrobianos nos dejaría sin armas contra las infecciones severas en unos cuantos años. Por esta razón es importante realizar estudios que nos permitan conocer la resistencia que expresan los patógenos aislados de pacientes hospitalizados, analizando de esta manera el patrón de resistencia o susceptibilidad a los fármacos antibióticos que se utilizan de manera rutinaria en el medio hospitalario.

4.2.- Justificación

La resistencia a los antibióticos es un problema importante de salud pública a nivel mundial que ha ido creciendo alarmantemente, ya que reduce la efectividad de los tratamientos contra diversas infecciones, generando así aumento de la morbilidad y mortalidad, como en los costos de tratamiento. A pesar de que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha promovido el mejoramiento en el uso y prescripción de antibióticos para disminuir la farmacorresistencia, no se ha tenido el éxito esperado debido al inadecuado control de las infecciones en hospitales, a la migración y al uso inadecuado de antibióticos. Por ello, la OMS estima que para el año 2050, la resistencia a antibióticos cause alrededor de 300 millones de muertes prematuras, con una pérdida mayor a 100 trillones de dólares para la economía global¹.

La OMS ha considerado una emergencia la diseminación de la resistencia antimicrobiana, siendo un problema prioritario y por ello desde 2001¹ se instituyó una medida global para la contención de la resistencia antimicrobiana que incluye como medida fundamental la vigilancia de la sensibilidad antimicrobiana, por lo que es importante dar a conocer los patrones y tendencias de sensibilidad en los diferentes hospitales del país.

En México la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) en 2015³¹ reportó que *E. coli*, *K.pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* con fenotipos BLEE, así como *P.aeruginosa* resistente a imipenem y quinolonas, son los microorganismos que a nivel nacional presentan mayor prevalencia de resistencia antimicrobiana. Los casos de farmacorresistencia incrementan anualmente, pues se ha reportado el hallazgo de multirresistencia en un hospital de Monterrey en un 74% de 550 aislamientos de *A. baumannii* y de resistencia a meropenem en un 59% de ellos; así como casos de resistencia creciente de *S. pneumoniae* a la penicilina, cefalosporinas, macrólidos, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol y tetraciclinas¹⁷. En distintos hospitales de la república mexicana se han descrito desde el 2010 casos de estafilococos coagulasa negativos con resistencia a linezolid y de resistencia de *Enterococcus ssp* a vancomicina⁷.

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema al que nos enfrentamos a nivel mundial y en nuestro país, ya que se disminuyen las posibilidades de obtener la curación clínica, incrementando los costos de tratamiento, la morbilidad y la mortalidad.

4.3.- Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de pacientes del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” en el periodo enero 2015 a abril 2017?

4.4.- Hipótesis Científica

Por la naturaleza del estudio no se requiere de hipótesis científica

V.- OBJETIVOS

5.1.- Objetivo General

Determinar la frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de pacientes del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” en el periodo enero 2015 a abril 2017

5.2.- Objetivos Específicos

- Determinar la frecuencia de microorganismos aislados por género y grupo etario
- Determinar la frecuencia de aislamientos patógenos en los diferentes servicios del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro”
- Identificar los microorganismos patógenos más frecuentemente aislados
- Determinar el patrón de resistencia antimicrobiana y antifúngica de las bacterias y levaduras aisladas
- Identificar la frecuencia de expresión de fenotipos de resistencia bacteriana por grupos bacterianos y grupos de antibióticos

VI.- MATERIAL Y MÉTODOS

6.1.- Diseño del estudio

- **Observacional:** el investigador realiza la observación, registro y medición de los datos obtenidos
- **Descriptivo:** con base a la medición y obtención de datos se logrará describir la frecuencia de los fenotipos de resistencia bacteriana
- **Transversal:** por la medición en una sola ocasión a lo largo del tiempo
- **Retrospectivo:** se analizará información existente previo al momento del inicio de la investigación
- **Unicéntrico:** el protocolo de tesis se basa en datos obtenidos en una única unidad hospitalaria

6.2.- Ubicación espacio - temporal

Este protocolo de tesis es realizado en el Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro”, tomando una base de datos que recolecta información desde enero 2015 al mes de abril 2017, realizando el análisis y la presentación de tesis en 2018.

6.3.- Estrategia de Trabajo

Se trata de un estudio observacional, descriptivo, transversal, retrospectivo y unicéntrico en el que se analizaron 3,152 resultados de cultivos aislados de pacientes hospitalizados en los diferentes servicios del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” a partir de enero 2015 hasta abril 2017. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio Estatal de Salud Pública mediante el equipo VITEK-2 Compact®, entregando al investigador los resultados de cada cultivo, incluyendo datos como fecha, género, edad, servicio de hospitalización, tipo de cultivo procesado, microorganismo aislado, reporte de antibiograma y fenotipo de resistencia si lo hubiera.

Los datos fueron recabados en una base de Microsoft Excel tomando en cuenta nuestros criterios de inclusión y exclusión. Posteriormente se exportaron los datos a una base de datos en SPSS v.23 para realizar el análisis estadístico de las variables, utilizando para ello estadística descriptiva.

6.4.- Muestreo

6.4.1.- Definición de la unidad de población

Reportes de cultivos provenientes de pacientes hospitalizados en los diferentes servicios del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” a partir de enero 2015 hasta abril 2017, de ambos géneros y con edades de 0 a 95 años.

6.4.2.- Selección de la muestra

Se utilizó un muestreo no probabilístico ya que se utilizaron todos los reportes de cultivos procesados por el sistema VITEK-2 Compact® que contaban con nuestros criterios de selección, siendo un total de 3,152 resultados en el periodo de tiempo estudiado.

6.4.3.- Criterios de selección de las unidades de muestreo

6.4.3.1.- Criterios de inclusión

- Reportes de cultivos aislados de pacientes hospitalizados en los diferentes servicios del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro”
- Reportes de cultivos con antibiograma emitidos por el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Puebla
- Reportes de cultivos realizados en el periodo enero 2015 a abril 2017
- Reportes de cultivos que mencionen el espécimen cultivado, con género y especie del patógeno aislado
- Cultivos de bacterias aisladas con reporte de fenotipo de resistencia
- Cultivos de levaduras aisladas con reporte de antibiograma

6.4.3.2.- Criterios de exclusión

- Reportes de cultivos que pertenezcan a pacientes ambulatorios
- Reportes de cultivos que sean emitidos por instancias particulares
- Reportes de cultivos realizados fuera del periodo de estudio
- Reportes de cultivos que no incluyan el fenotipo de resistencia bacteriana
- Reportes de cultivos que no cuenten con antibiograma
- Reportes de cultivos que no cuenten con los datos de edad y género del paciente, así como los datos del microorganismo aislado

6.4.3.3.- Criterios de eliminación

Por el tipo de estudio, no se requieren criterios de eliminación

6.4.4.- Diseño y tipo de muestreo

Se utilizó un muestreo de tipo no probabilístico por conveniencia obteniendo reportes de cultivos provenientes de pacientes hospitalizados en los diferentes servicios del Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” a partir de enero 2015 hasta abril 2017, de ambos géneros y con edades de 0 a 95 años.

6.4.5.- Tamaño de la muestra

Se consideraron los reportes de cultivos que contaron con los criterios de inclusión y exclusión mencionados, siendo un total de 3152 cultivos tomados de pacientes hospitalizados en el Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” y analizados por el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Puebla mediante el equipo VITEK® 2 Compact.

6.5.- Definición de las variables y escalas de medición

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES						
	Nombre de la variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala	Medición
Variable Dependiente	Resistencia Antimicrobiana	La resistencia a los antimicrobianos se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones dejen de ser eficaces. OMS	Se toma en cuenta con base en la interpretación de los cultivos realizados por el laboratorio estatal, en donde el resultado marca la palabra “resistente” a determinado antimicrobiano	Cualitativa	Dicotómica	SI / No
Variables Independientes	Género	Grupo al que pertenecen los seres humanos de cada sexo, desde un punto de vista sociocultural en lugar de exclusivamente biológico. RAE	Se definió de acuerdo al sexo de nacimiento	Cualitativa, nominal	Dicotómica	Masculino/ Femenino
	Edad	Tiempo que ha vivido una persona. RAE	De acuerdo a la fecha de nacimiento registrada en el reporte de cultivo. En mayores de 1 año se registraron los	cuantitativa	continua	0 - 99

		años cumplidos; en menores de 1 año pero mayores de 1 mes, la edad en meses, y en menores de un mes, los días			
Servicio hospitalario	Conjunto de servicios médicos especializados reagrupados en un hospital	Cada servicio de especialización en el que se encuentran hospitalizados los pacientes de este estudio	Cualitativa, nominal	Politómica	Cirugía general, Medicina Interna, UCIA, UCIN, Trauma y Ortopedia, Pediatría, Urgencias Adultos, Urgencias Pediatría
Tipo de cultivo	Técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de microorganismos para su estudio	Se toma en cuenta el espécimen cultivado de acuerdo al tipo de muestra que se envía al laboratorio estatal.	cualitativa, nominal	Politómica	hemocultivo, urocultivo, cultivo de expectoración, etc.
Microorganismo aislado	Un microorganismo, derivado de micrós, "pequeño", y bíos, 'vida'; es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio.	Aquellos microorganismos que fueron aislados en cultivos obtenidos de pacientes hospitalizados en el periodo de tiempo de este estudio	Cualitativa, nominal	Politómica	Bacteria gram (+), bacteria gram (-), levadura
Fenotipo de resistencia a aminoglucósidos	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos aminoglucósidos; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Politómica	AAC3-I AAC3-II AAC3-IV AAC6' ANT2 APH3-III APH2+AAC6 ANT 4-4 Salvaje
Fenotipo de resistencia a betalactámicos	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Politómica	BLEE CTX-M METALO-KPC METALO-OXA

		betalactámicos; ya sea natural o inducida				AmpC ACC-1 SHV1 mecA Salvaje
	Fenotipo de resistencia a anfenicoles	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos anfenicoles; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Dicotómica	Resistente Salvaje
	Fenotipo de resistencia a furanos	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos furanos; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Dicotómica	Resistente Salvaje
	Fenotipo de resistencia a glicopéptidos	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos glicopéptidos; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Politómica	VISA VAN A VAN B VAN C TEC VISS VRSA Salvaje
	Fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas	. Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos lincosamidas; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Politómica	MLSB EFFLUX Resistente Salvaje
	Fenotipo de resistencia a oxazolidinonas	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos oxazolidinonas; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Dicotómica	Resistente Salvaje
	Fenotipo de resistencia a polipéptidos	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan	Cualitativa, nominal	Dicotómica	Resistente Salvaje

		susceptibilidad a los fármacos polipéptidos; ya sea natural o inducida	por antimicrobiano			
	Fenotipo de resistencia a quinolonas	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos quinolonas; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Politómica	QUIN-1 Resistente Salvaje
	Fenotipo de resistencia a tetraciclinas	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos tetraciclinas; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Politómica	BOMBA EXT. TET K Resistente Salvaje
	Fenotipo de resistencia a trimetoprim/sulfa metoxazol	Conjunto de características que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos tipo sulfa; ya sea natural o inducida	Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por antimicrobiano	Cualitativa, nominal	Dicotómica	Resistente Salvaje
	Antibiograma	El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos.	Se toma en cuenta el reporte de susceptibilidad de cada microorganismo a determinado grupo de antibióticos, pudiendo ser sensible, intermedio o resistente.	Cualitativa, ordinal	Politómica	Sensible Intermedio Resistente

6.6.- Método de recolección de datos

Se realizó la recolección de datos a partir de reportes de cultivo que incluían datos como fecha, género, edad, servicio de hospitalización, tipo de cultivo procesado, microorganismo aislado, reporte de antibiograma y fenotipo de resistencia si lo hubiera. Los datos fueron recabados en una base de Microsoft Excel tomando en cuenta nuestros criterios de inclusión y exclusión.

6.7.- Técnicas y procedimientos

Los 3152 microorganismos recolectados en este estudio fueron aislados entre el 1° de enero del 2015 hasta el 29 de abril del 2017 y procesados en el Laboratorio Estatal de Salud Pública, anexo al Complejo Médico del Sur del estado de Puebla. Los especímenes fueron enviados de los diferentes servicios de hospitalización del Hospital General de Puebla “Dr. Eduardo Vázquez Navarro”. Las muestras bacteriológicas fueron cultivadas en los medios de agar requeridos para cada espécimen, así como en agar dextrosa Sabouraud para levaduras e incubadas por 24-48 horas a 35 °C. Posterior a la incubación se realizó tinción de Gram para la visualización microscópica de la cepa (ver técnica en anexos).

6.8.- Análisis de datos

Los datos fueron recabados en una base de Microsoft Excel tomando en cuenta nuestros criterios de inclusión y exclusión. Posteriormente se exportaron los datos a una base de datos en SPSS v.23 para realizar el análisis estadístico de las variables. Se utilizó estadística descriptiva para analizar las variables.

6.9.- Diseño estadístico

6.9.1.- Hipótesis estadística

Por el tipo de estudio no se cuenta con hipótesis estadística

6.9.2.- Pruebas estadísticas

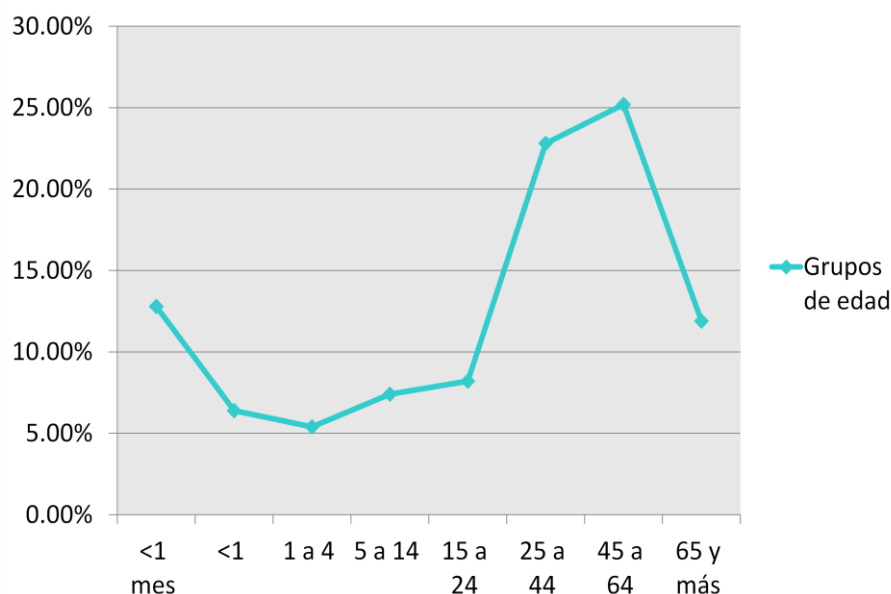
Por el tipo de estudio, únicamente se utilizó estadística descriptiva

VII.- RESULTADOS

En esta investigación se incluyeron 3152 reportes de cultivos provenientes de aislamientos en pacientes hospitalizados en el Hospital General del Sur “Dr. Eduardo Vázquez Navarro” comprendidos en un periodo de tres años. En cuanto a la edad de los pacientes, se obtuvo una media de 32.5 años y una mediana de 35. La edad menor registrada es de pacientes de 10 días de vida y la edad mayor fue de 95 años. El grupo de edad en el que se realizaron cultivos con más frecuencia fue en pacientes de 45 a 64 años de edad (n=793, 25.2%), seguido de 25 a 44 años (n=719, 22.8%) y de menores de 1 mes (n=402, 12.8%) (**Fig. 1**). El 59.9% de los pacientes correspondieron al género masculino (n=1889), el 38.9% al género

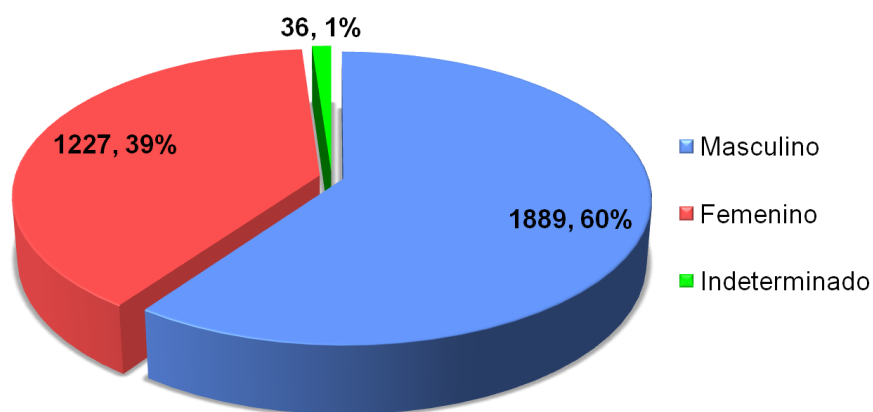
femenino (n=1227) y el 1.1% (n=36) se encuentra como indeterminado debido a que ese registro no fue captado por el sistema del Laboratorio Estatal. **(Fig. 2)**

Fig 1. Frecuencia de aislamientos microbianos por grupos de edad



Fuente: Información obtenida por el investigador

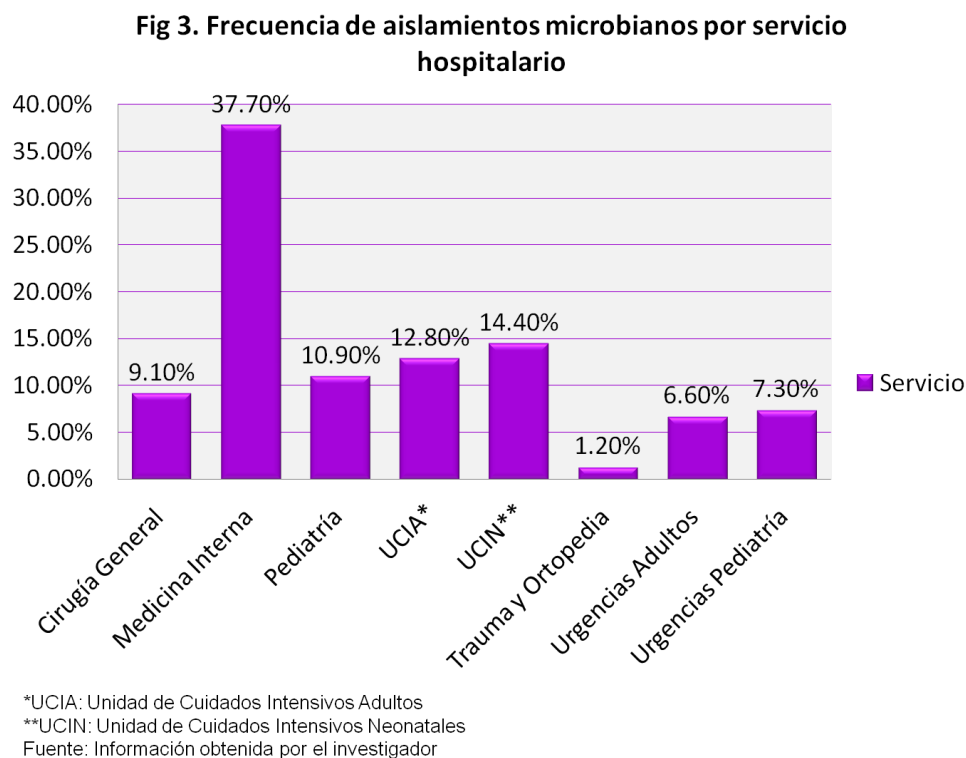
Fig. 2 Frecuencia de aislamientos microbianos por género



Fuente: Información obtenida por el investigador

En cuanto a los aislamientos microbianos por servicio hospitalario, el principal servicio donde se realizó toma de cultivo fue en Medicina Interna, representando el 37.7% de los aislamientos (n=1188), seguido de terapia intensiva neonatal con 14.4% (n=454) y de terapia intensiva de adultos con 12.8% (n=402).

El servicio que representa la menor cantidad de aislamientos es Traumatología y Ortopedia (n= 39, 1.2%). **(Fig. 3)**



Del total de los cultivos registrados, el 86.3% de los microorganismos aislados fueron bacterias y el 13.7% levaduras. De éste 86.3% de aislamientos bacterianos, el 47.1% (n=1486) corresponde a bacterias gramnegativas y el 38.9% (n=1226) son bacterias grampositivas. Las bacterias patógenas que se aislaron con más frecuencia en nuestros pacientes a lo largo del periodo de estudio fueron en primer lugar *E. coli* (n=462, 14.7%), *S.epidermidis*, (n=394, 12.5%), *K.pneumoniae* (n=216, 6.9%), *S.aureus* (n=215, 6.8%), *S.haemolyticus* (n=214, 6.8%), *A.baumannii* (n=211, 6.7%) y *P.aeruginosa* (n=195, 6.2%) **(Fig. 4)**. La levadura aislada con más frecuencia fue *C.albicans* (n=235), representando el 7.5% del total de los aislamientos y además, es la levadura más frecuente encontrada en los pacientes (54.4% de los aislamientos levaduriformes). Otras levaduras de importancia en los cultivos fueron *C.glabrata* (17.4%) y *C.tropicalis* (12%) **(Fig. 5)**.

Fig 4. Microorganismos más frecuentes aislados en pacientes hospitalizados 2015-2017

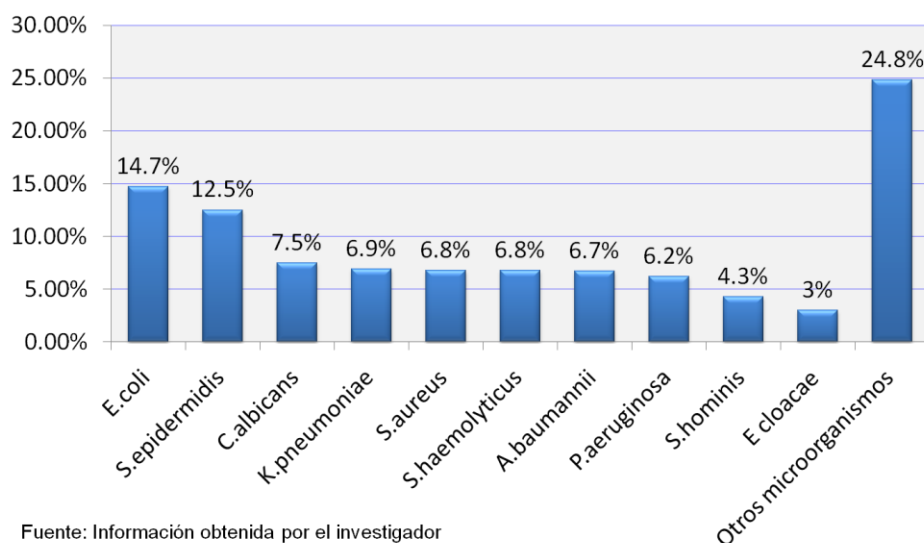
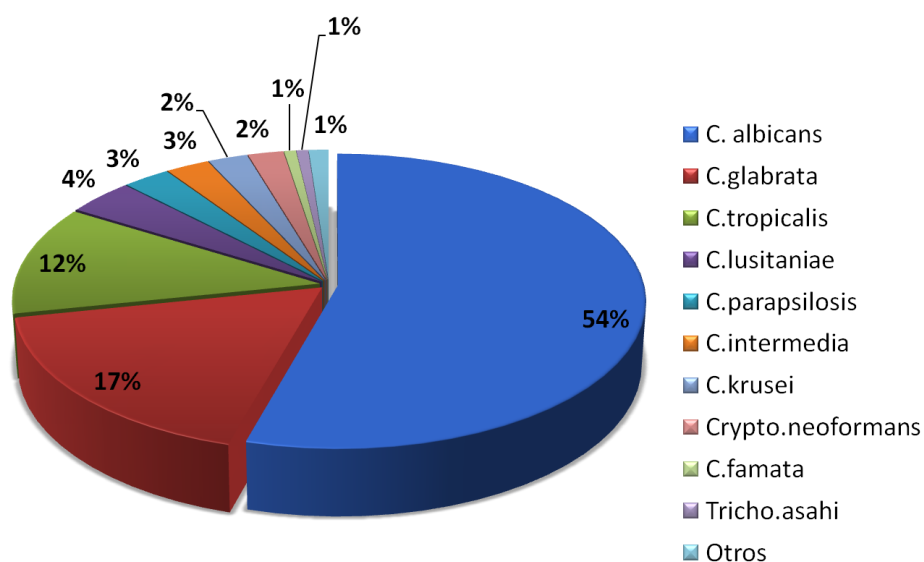


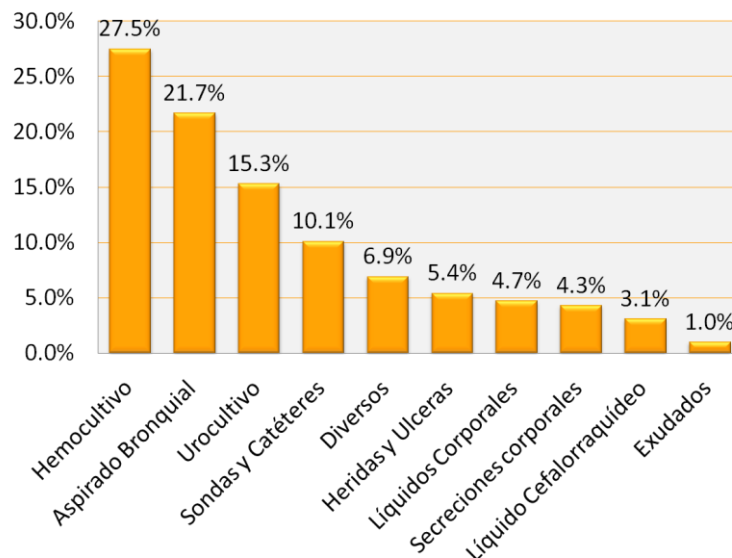
Fig 5. Frecuencia de aislamientos de levaduras



Los principales tipos de cultivo registrados fueron hemocultivo (central y periférico, n=866, 27.5%), cultivo de aspirado bronquial (incluyendo expectoración, n=683, 21.7%), urocultivo (n=481, 15.3%) y cultivo de sondas y catéteres (n=317, 10.1%) (**Fig. 6**). De éstos especímenes de cultivo, los estafilococos fueron las principales bacterias aisladas en hemocultivo (*S.epidermidis* 24.1%, *S.hominis* 12.5% y *S.haemolyticus* 8.8%). *C.albicans*, *A.baumannii* y *E.coli* (15.7%, 14.2% y

13.6% respectivamente) se aislaron con mayor frecuencia en aspirado bronquial. En urocultivo los patógenos más aislados fueron *E.coli* (27.9%) y las levaduras *C.albicans* (13.5%) y *C.glabrata* (9.4%). Nuevamente, en cultivos de sondas y catéteres se aislaron como primer lugar estafilococos (*S.epidermidis* 29% y *S.haemolyticus* 19.2%), seguidos por *A.baumannii* (7.3%).

Fig 6. Frecuencia de tipos de cultivo en pacientes hospitalizados 2015-2017



Fuente: Información obtenida por el investigador

En lo que respecta a las resistencias antimicrobianas, los microorganismos gramnegativos predominan en el número de antibióticos a los que son resistentes, presentando reportes de resistencia mediante antibiograma en 18 de los 25 antibióticos testados para gérmenes gramnegativos. Cabe destacar que los fármacos cloranfenicol, cefixima, cefuroxima, piperacilina y Ticarcilina/Ácido clavulánico se testaron mediante antibiograma únicamente entre 32 y 38 veces en toda nuestra; sin embargo, todas las veces que éstos fueron testados para microorganismos gramnegativos, se arrojó el reporte de resistencia a ellos. En el caso de ampicilina, se testó 1076 veces en gramnegativos, obteniendo un 91.8% de resistencia reportada en los cultivos (**Tabla 1**).

Tabla 1. Reportes de resistencia a fármacos antimicrobianos en Gram (-)		
Fármaco	No. de veces que se testó el antibiótico	%
Cloranfenicol	38	100%
Cefixima	39	100%
Cefuroxima	39	100%
Piperacilina	36	100%
Ticarcilina / Ac. clavulánico	32	100%
Moxifloxacino	37	94.9%
Tetraciclina	36	94.7%
Ampicilina	1076	91.8%
Cefazolina	1209	89.7%
Levofloxacino	38	88.4%
Aztreonam	912	77.1%
Ceftriaxona	1060	76.4%
Cefepime	970	69.9%
Trimetoprim / Sulfametoxazol	941	67.4%
Ampicilina/Sulbactam	763	63.0%
Ciprofloxacino	804	59.6%
Tobramicina	575	42.7%
Nitrofurantoína	553	41.0%

Fuente: Información obtenida por el investigador

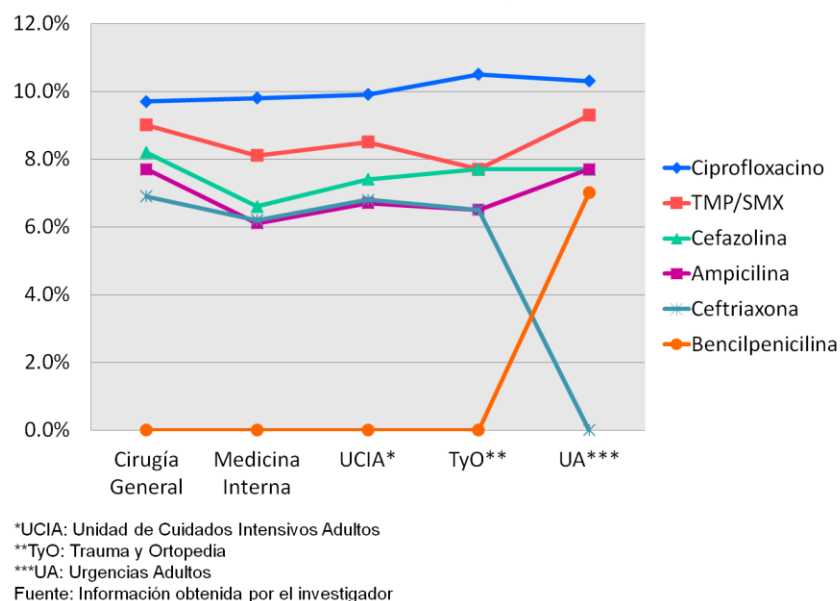
Tabla 2. Reportes de resistencia a fármacos antimicrobianos en Gram (+)		
Fármaco	No. de veces que se testó el antibiótico	%
Bencilpenicilina	1062	92.1%
Oxacilina	836	81.9%
Eritromicina	927	80.5%
Clindamicina	877	75.9%
Ciprofloxacino	781	68.4%
Levofloxacino	632	54.6%
Trimetoprim / Sulfametoxazol	521	50.4%

Fuente: Información obtenida por el investigador

Los gérmenes grampositivos mostraron resistencia predominante a 7 antibióticos de 18 testados para éstos microorganismos. Entre los principales se encuentran dos fármacos betalactámicos, bencilpenicilina y oxacilina, y en tercer lugar eritromicina (**Tabla 2**). En nuestros resultados únicamente se presentaron 10 casos de resistencia a Linezolid y 20 a Vancomicina. Ninguno presentó resistencia a Tigeciclina.

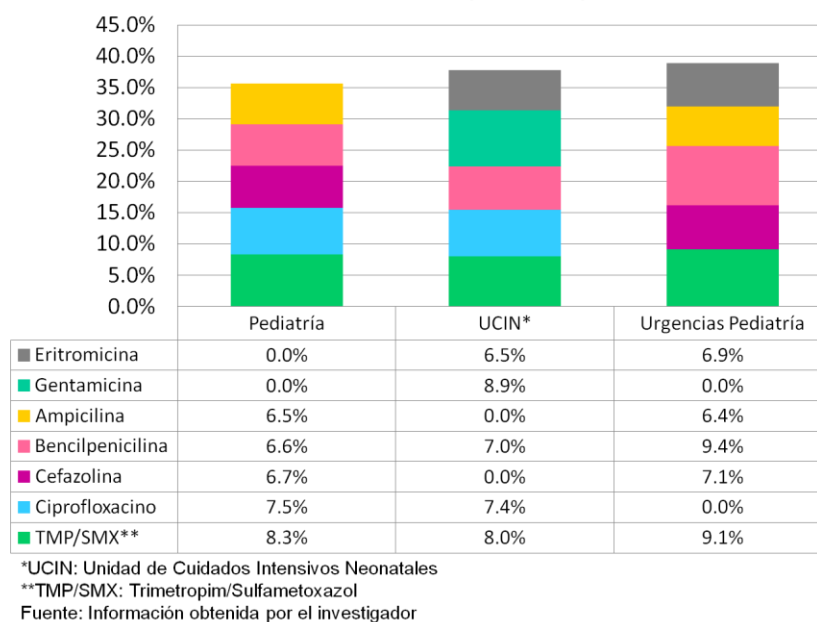
En cuanto a la resistencia antimicrobiana por servicio, aquellos que atienden pacientes adultos como Cirugía General, Medicina Interna, UCIA y Trauma y Ortopedia demuestran mayor resistencia a ciprofloxacino, Trimetoprim/Sulfametoxazol, cefazolina, ampicilina y ceftriaxona. En el servicio de Urgencias Adultos no se reportaron casos de resistencia a ceftriaxona, sin embargo se reporta con frecuencia la resistencia a bencilpenicilina (**Fig. 7**).

Fig 7. Principales antimicrobianos a los que se presentan resistencias en los servicios de pacientes adultos



En aquellos servicios hospitalarios en los que se atienden pacientes pediátricos como UCIN, Urgencias Pediatría y Pediatría piso se observó resistencia a bencilpenicilina y Trimetoprim/Sulfametoxazol. En UCIN predomina la resistencia a gentamicina (**Fig. 8**).

Fig 8. Principales antimicrobianos a los que se presentan resistencias en los servicios de pacientes pediátricos



En lo que respecta a la resistencia antimicrobiana por germen, los agentes patógenos gramnegativos que demostraron mayor frecuencia de resistencia a antibióticos fueron: *E. coli*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae*, por orden de frecuencia. Se observó que *E. coli* obtuvo resistencia a ampicilina (12.9%), cefazolina (11.5%) y ceftriaxona (11.1%). El resto de antimicrobianos a los que este microorganismo presenta resistencia se incluye en la categoría de “otros” por su baja frecuencia para cada antibiótico. *P.aeruginosa* se mostró resistente a Ampicilina/Sulbactam (9.8%), Tigeciclina (9.6%) y Ceftriaxona (8.5%); *A.baumannii* a Aztreonam (11%), Ceftriaxona (11%) y Cefazolina (10.9%); *K. pneumoniae* a Ampicilina (11.4%), Cefazolina (10.2%) y Ampicilina/Sulbactam (10%). Finalmente, *E. cloacae* a Cefazolina (16.7%), Aztreonam (9.8%) y Ceftriaxona (9.8%) (**Tabla 3**).

Microorganismo	Antimicrobiano	No.	%
<i>E. coli</i>	Otros antibióticos	2169	64.50%
	Ampicilina	435	12.9%
	Cefazolina	387	11.5%
	Ceftriaxona	375	11.1%
<i>P.aeruginosa</i>	Otros antibióticos	1409	72.00%
	Ampicilina/Sulbactam	192	9.8%
	Tigeciclina	187	9.6%
	Ceftriaxona	167	8.5%
<i>A.baumannii</i>	Otros antibióticos	1279	67.1%
	Aztreonam	209	11.0%
	Ceftriaxona	209	11.0%
	Cefazolina	208	10.9%
<i>K. pneumoniae</i>	Otros antibióticos	1250	68.50%
	Ampicilina	209	11.4%
	Cefazolina	186	10.2%
	Ampicilina/Sulbactam	182	10.0%
<i>E. cloacae</i>	Otros antibióticos	336	63.60%
	Cefazolina	88	16.7%
	Aztreonam	52	9.8%
	Ceftriaxona	52	9.8%

Fuente: Información obtenida por el investigador

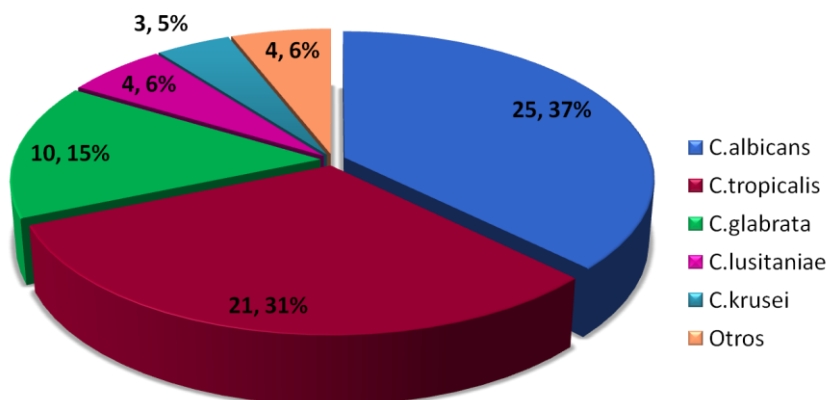
Microorganismo	Antimicrobiano	No.	%
<i>S.epidermidis</i>	Otros antibióticos	1345	56.10%
	Bencilpenicilina	385	16.0%
	Oxacilina	348	14.5%
	Eritromicina	325	13.5%
<i>S.haemolyticus</i>	Otros antibióticos	918	59.80%
	Bencilpenicilina	208	13.5%
	Eritromicina	208	13.5%
	Oxacilina	202	13.2%
<i>S.aureus</i>	Otros antibióticos	546	52.80%
	Bencilpenicilina	204	19.7%
	Ciprofloxacino	142	13.7%
	Eritromicina	142	13.7%
<i>S.hominis</i>	Otros antibióticos	440	56.20%
	Bencilpenicilina	124	15.8%
	Eritromicina	116	14.8%
	Oxacilina	104	13.3%

Fuente: Información obtenida por el investigador

Los microorganismos grampositivos que demostraron resistencias son estafilococos: *S.epidermidis*, *S.haemolyticus*, *S.aureus* y *S.hominis*, todos ellos resistentes a bencilpenicilina, oxacilina y eritromicina, a excepción de *S.aureus*, en el que aparece ciprofloxacino (13.7%) en el segundo lugar de resistencia (**Tabla 4**). En cuanto a levaduras, la mayoría presentó resistencia al menos en una ocasión a Anfotericina B (**Fig. 9**), siendo *C.albicans* la principal (n=25, 37.3%), seguida de *C.tropicalis* (n=21, 31.3%) y *C.glabrata* (n=10, 14.9%). Para

Fluconazol sólo se reportaron 6 casos por parte de *C.glabrata* y para Voriconazol dos casos también de *C.glabrata* y uno de *C.albicans*. No se reportaron resistencias para Caspofungina, Flucitosina ni Micafungina.

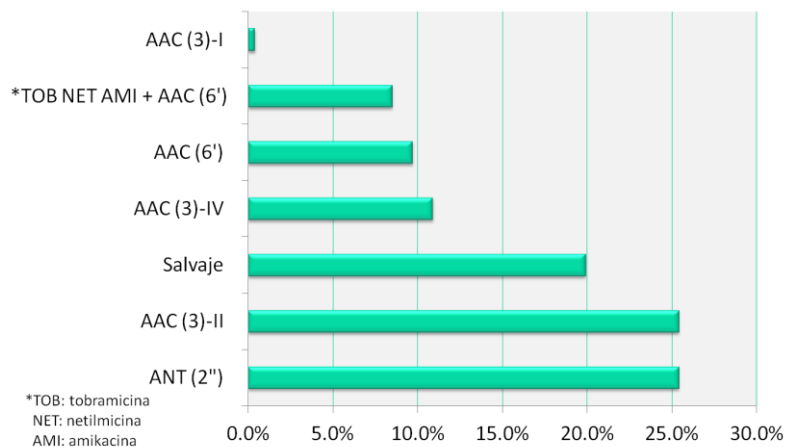
Fig 9. Reporte de resistencia a Anfotericina B en levaduras



Fuente: Información obtenida por el investigador

Con respecto a los fenotipos de resistencia bacteriana, los principales gérmes que presentaron fenotipo de resistencia a aminoglucósidos son *E. coli*, *A.baumannii*, *K. pneumoniae*, *S.epidermidis* y *S.aureus*. Los fenotipos de resistencia a aminoglucósidos que expresó *E. coli* fueron ANT (2") en un 25.4%, AAC (3)-II con el mismo porcentaje y en tercer lugar el fenotipo Salvaje (19.9%) (Fig. 10).

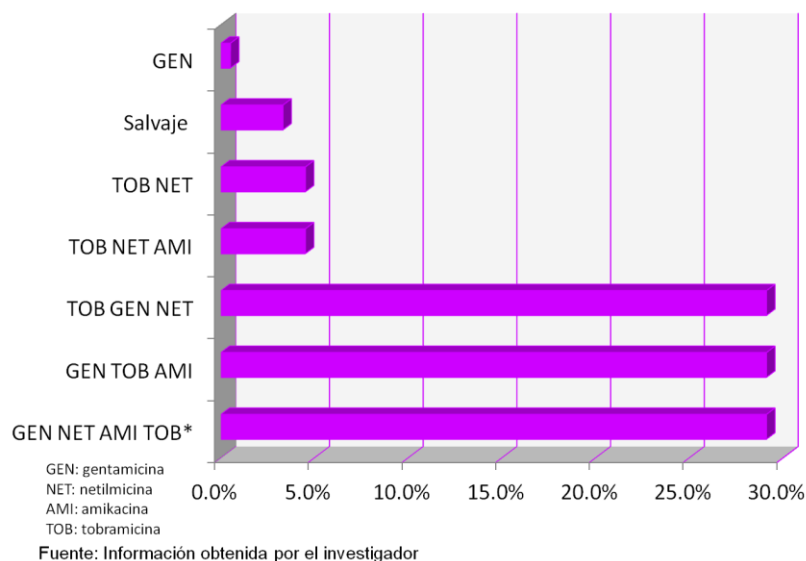
Fig 10. Frecuencia de fenotipos de resistencia a aminoglucósidos expresados por E. coli



Fuente: Información obtenida por el investigador

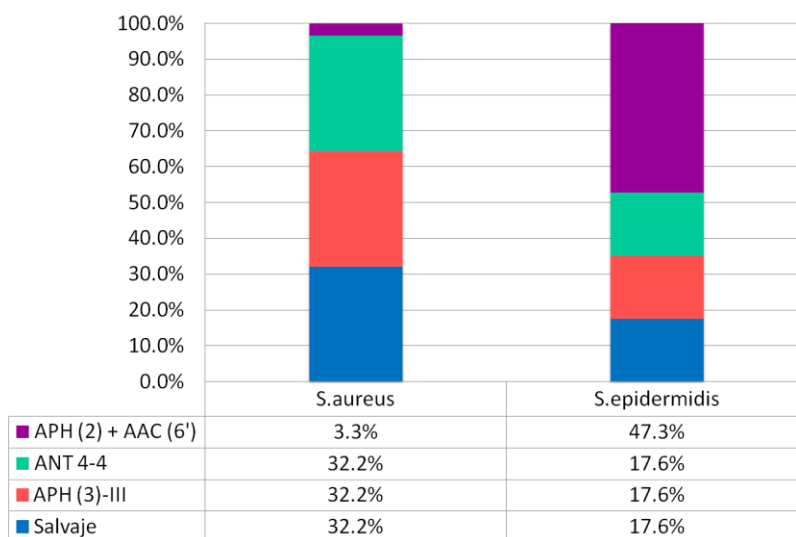
En el caso de *A.baumannii*, sus tres principales fenotipos de resistencia corresponden al 29.1% cada uno y son expresados como resistencia adquirida “GEN-NET-AMI”, “GEN-TOB-AMI” y “TOB-GEN-NET” (**Fig. 11**).

Fig 11. Frecuencia de fenotipos de resistencia a aminoglucósidos expresados por *A.baumannii*



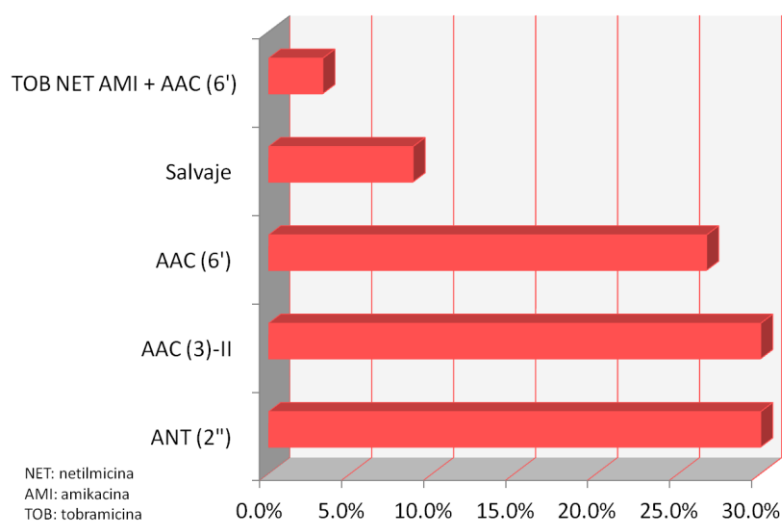
S.epidermidis y *S.aureus* expresaron los mismos fenotipos de resistencia para aminoglucósidos, sin embargo el que predominó en *S.epidermidis* fue el fenotipo “APH (2) + AAC (6'”) (n=285, 47.3%) y los fenotipos más expresados por *S.aureus* fueron “Salvaje”, “APH (3)-III” y “ANT 4-4” con 32.2% cada uno (**Fig. 12**). Finalmente *K. pneumoniae* expresó los fenotipos “ANT (2”)” (30.7%), “AAC (3)-II” (30.4%) y “AAC (6'”) (26.7%). (**Fig. 13**).

Fig 12. Frecuencia de fenotipos de resistencia a aminoglucósidos expresados por S.aureus y S.epidermidis



Fuente: Información obtenida por el investigador

Fig 13. Frecuencia de fenotipos de resistencia a aminoglucósidos expresados por K. pneumoniae

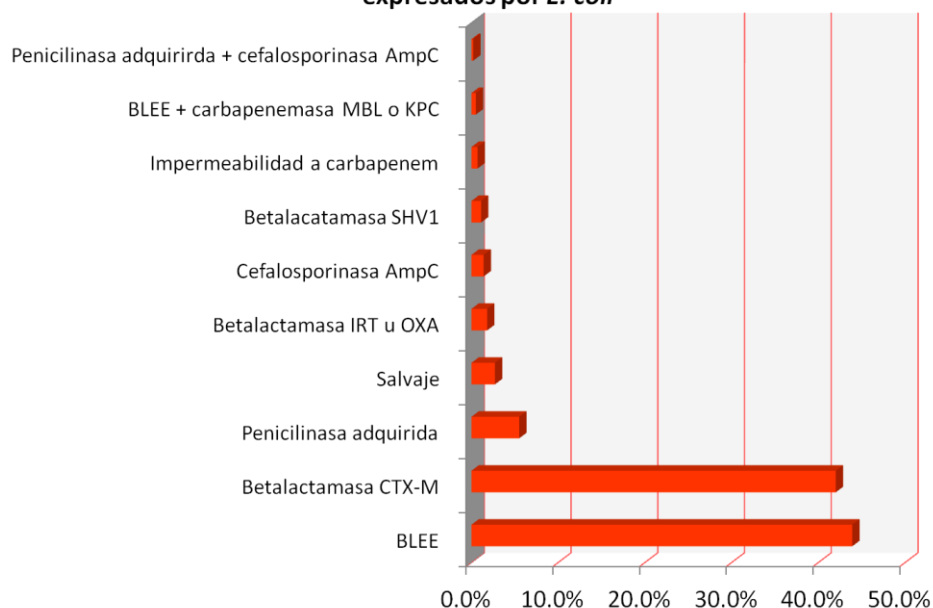


Fuente: Información obtenida por el investigador

Los principales microorganismos que presentaron fenotipo de resistencia a betalactámicos son *E. coli* (BLEE 43.9%, Betalactamasa tipo CTX-M 42% y Penicilinasa adquirida 5.5%)(Fig. 14); *P.aeruginosa* (Penicilinasa adquirida + carbapenemasa 23%, Resistencia de alto nivel + Impermeabilidad a carbapenem 17.5% y carbapenemasa MBL u OXA 12.5%)(Fig. 15); *K. pneumoniae* (Betalactamasa tipo CTX-M 29.2%, BLEE 29%, BLEE clase B 28.2%)(Fig. 16);

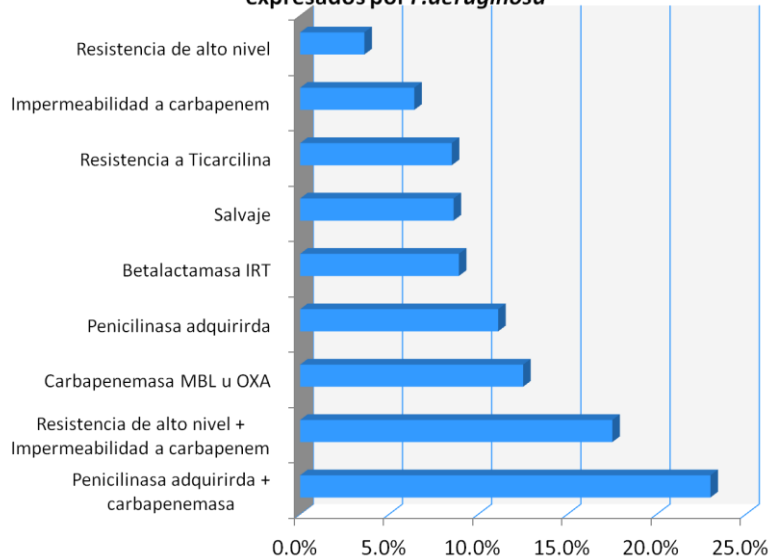
A.baumannii (Impermeabilidad a carbapenem 45.8%, Resistencia de alto nivel 35.6%, carbapenemasa MBL u OXA 10.8%)(Fig. 17); *S.epidermidis* (Modificación de PBP (gen mecA) 88.8%, Penicilinas adquirida 10.4% y Salvaje 0.8%)(Fig. 18).

Fig 14. Frecuencia de fenotipos de resistencia a betalactámicos expresados por *E. coli*



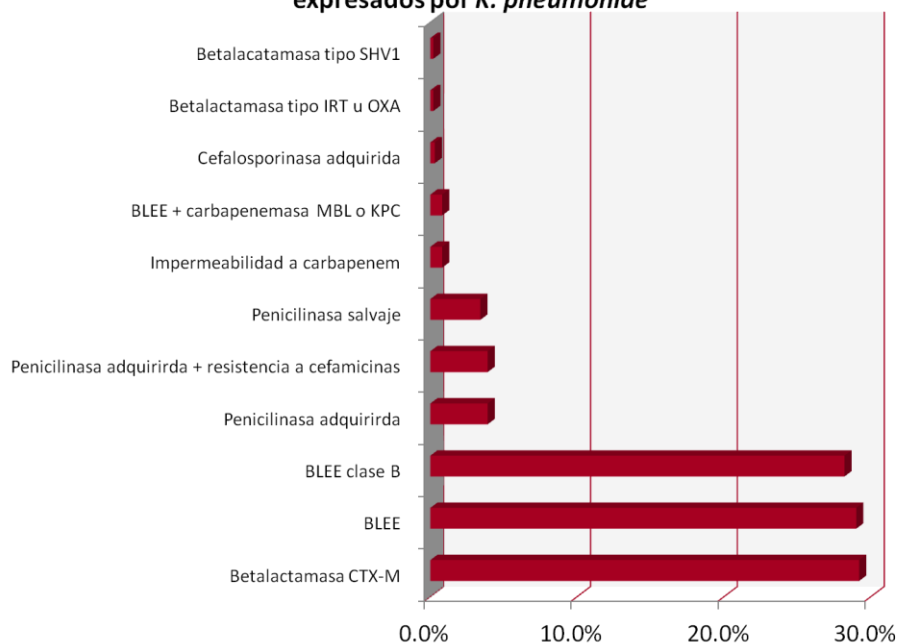
Fuente: Información obtenida por el investigador

Fig 15. Frecuencia de fenotipos de resistencia a betalactámicos expresados por *P.aeruginosa*



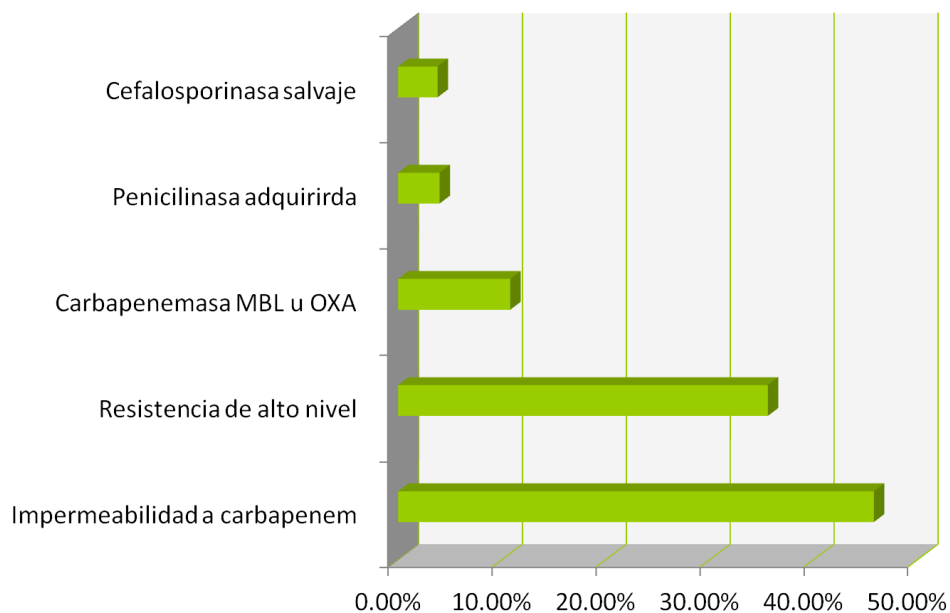
Fuente: Información obtenida por el investigador

Fig 16. Frecuencia de fenotipos de resistencia a betalactámicos expresados por *K. pneumoniae*



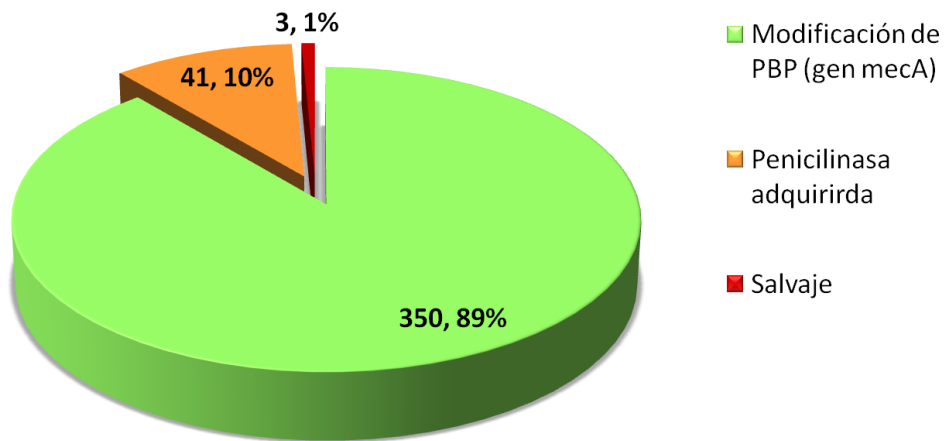
Fuente: Información obtenida por el investigador

Fig 17. Frecuencia de fenotipos de resistencia a betalactámicos expresados por *A.baumannii*



Fuente: Información obtenida por el investigador

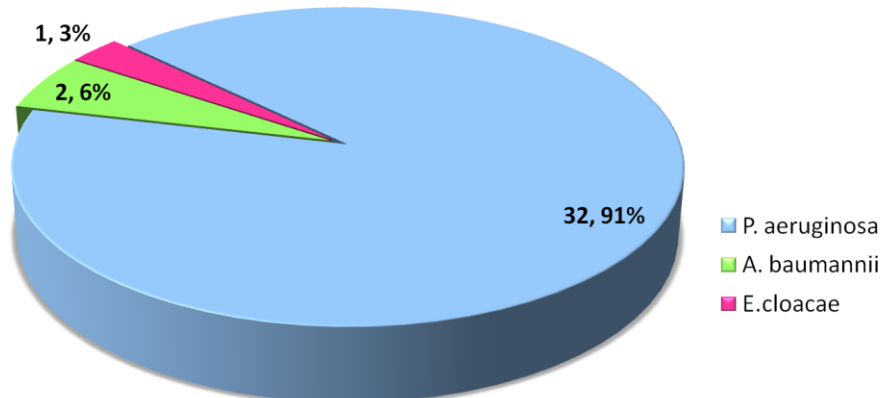
Fig 18. Frecuencia de fenotipos de resistencia a betalactámicos expresados por *S.epidermidis*



Fuente: Información obtenida por el investigador

El fenotipo de resistencia a anfenicoles aislado en este estudio fue “Salvaje”, encontrado en tres microorganismos: *P.aeruginosa* (n= 32, 91.43%), *A. baumannii* (n=2, 5.71%) y *E.cloacae* (n=1, 2.86%)(Fig. 19).

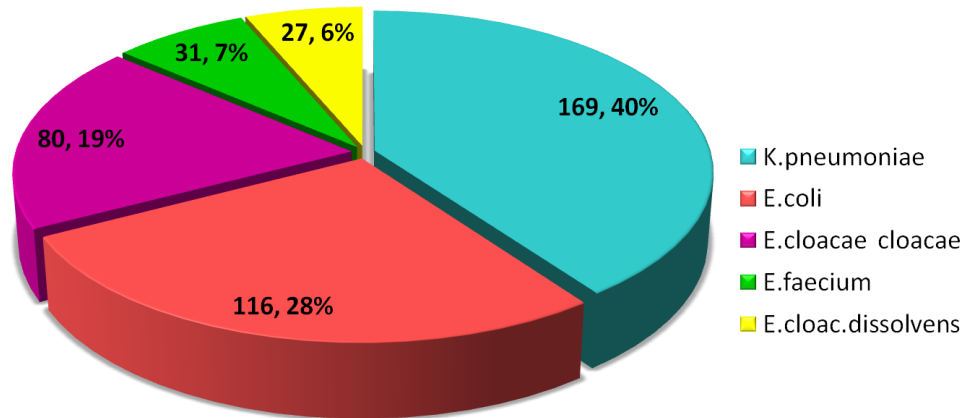
Fig 19. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a anfenicoles (Salvaje)



Fuente: Información obtenida por el investigador

Los siguientes patógenos expresaron el fenotipo de resistencia a furanos nombrado “Resistente”: *K.pneumoniae* (n=169, 39.95%), *E.coli* (n=116, 27.42%), *E.cloacae cloacae* (n=80, 18.91%), *E.faecium* (n=31, 7.33%) y *E.cloac.dissolvens* (n=27, 6.38%)(Fig. 20).

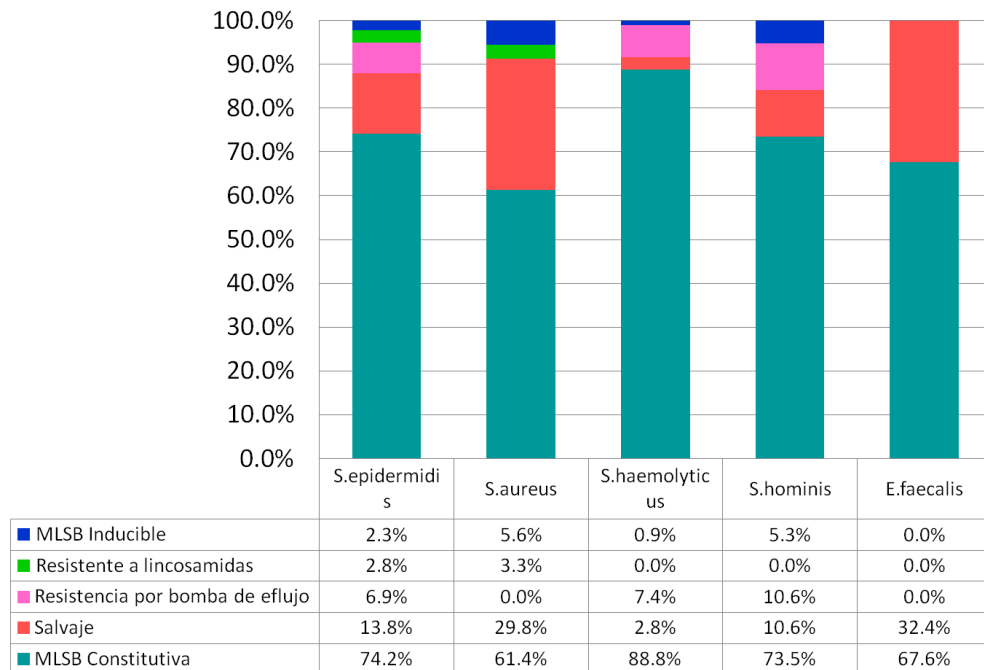
Fig 20. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a furanos (Resistente)



Fuente: Información obtenida por el investigador

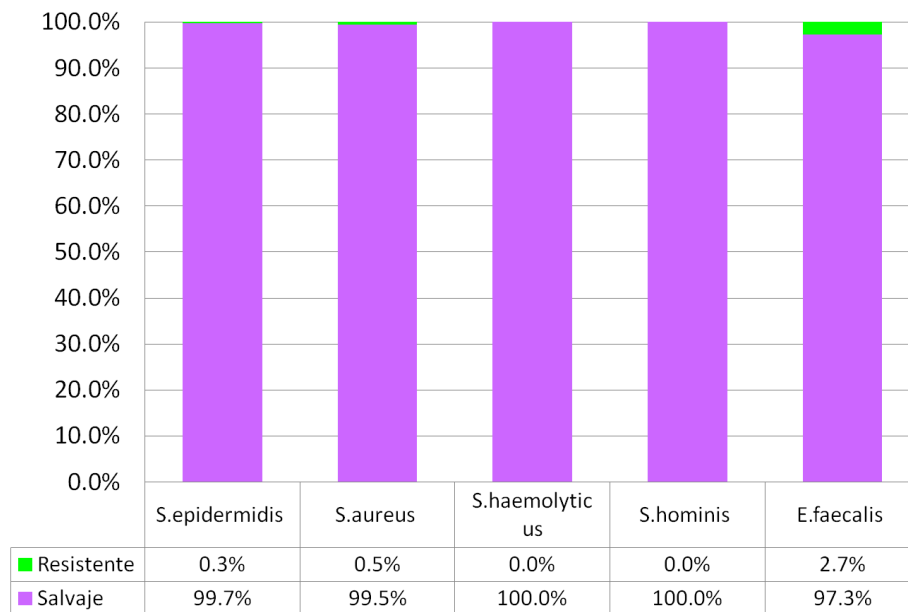
En el caso de la resistencia a macrólidos, los estafilococos expresaron como principal fenotipo MLSB Constitutiva y en segundo lugar un fenotipo Salvaje. **(Fig. 21)**. De igual manera, se halló predominantemente el fenotipo Salvaje en estos microorganismos para resistencia a Oxazolidinonas. **(Fig. 22)**.

Fig 21. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a Macrólidos



Fuente: Información obtenida por el investigador

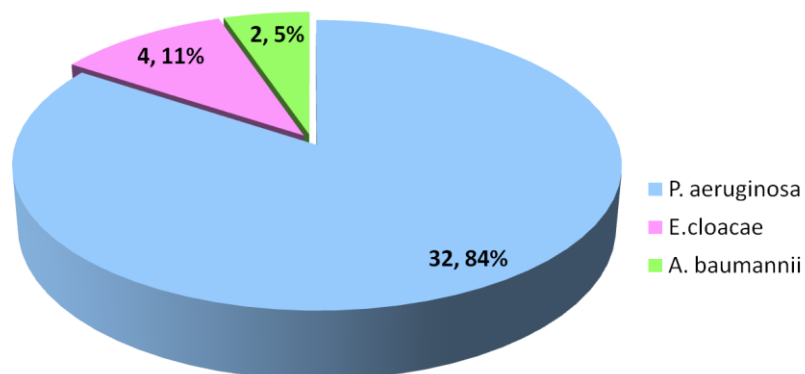
Fig 22. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a Oxazolidinonas



Fuente: Información obtenida por el investigador

La resistencia a polipéptidos se determinó mediante el fenotipo Salvaje en *P. aeruginosa* (n=32, 84.21%), *E.cloacae* (n=4, 10.53%) y *A. baumannii* (n=2, 5.26%)(Fig. 23).

Fig 23. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a polipéptidos (Salvaje)

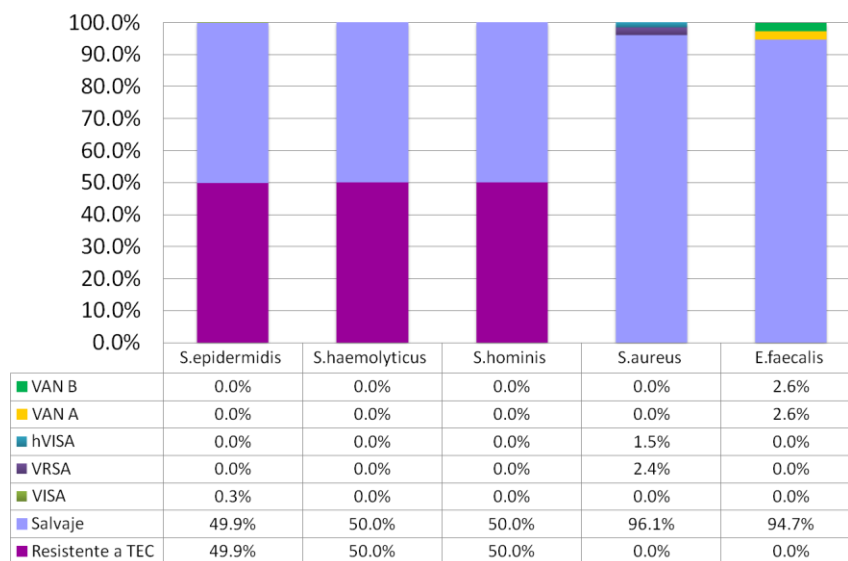


Fuente: Información obtenida por el investigador

La resistencia a glicopéptidos predominó en los estafilococos y en *E.faecalis*. *S.epidermidis*, *S.haemolyticus* y *S.hominis* presentaron el fenotipo “Resistente a TEC” en la mitad de los casos. En *S.aureus* el fenotipo principal fue

“Salvaje” (n=198, 96.1%), aunque también expresó VRSA en 2.4% (n=5) y hVISA en 1.5% (n=3). *E.faecalis* por su parte expresó el fenotipo “*Salvaje*” en el 94.7%, y los fenotipos VAN A y VAN B con 2.6% cada uno. (Fig. 24).

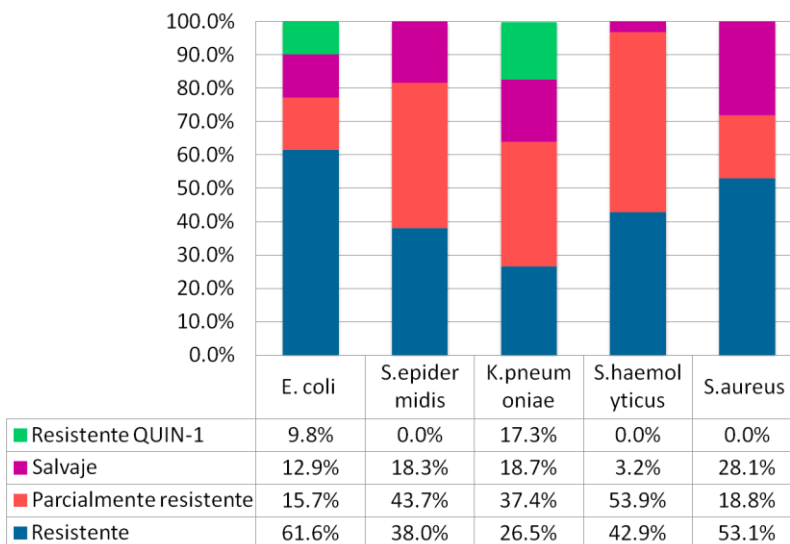
Fig 24. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a Glicopéptidos



Fuente: Información obtenida por el investigador

En los fenotipos de resistencia a quinolonas predominó el resistente en *E. coli*, *S.epidermidis*, *K.pneumoniae*, *S.haemolyticus* y *S.aureus*; así como el “Parcialmente resistente” en los mismos microorganismos (Fig. 25).

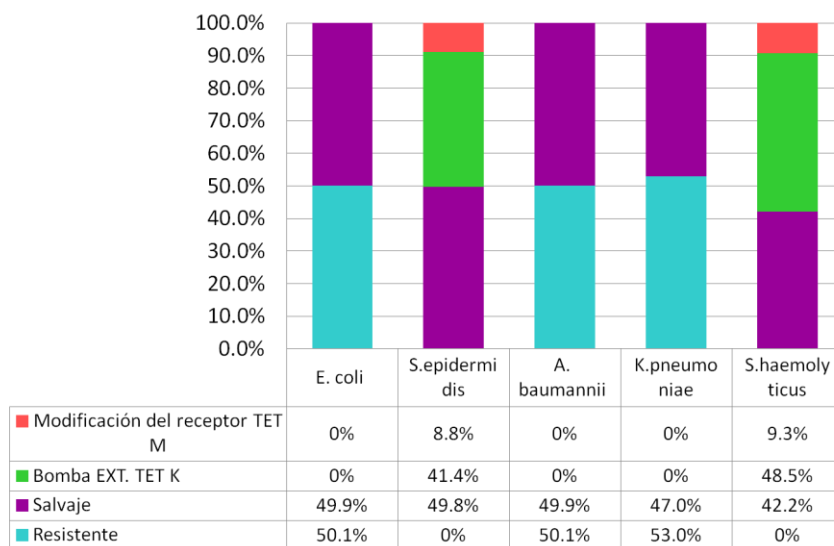
Fig 25. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a Quinolonas



Fuente: Información obtenida por el investigador

Los principales patógenos con fenotipo de resistencia a tetraciclinas son *E. coli* (Resistente, 50.1%), *S.epidermidis* (Parcialmente resistente “Bomba EXT. TET K”, 41.4%), *A. baumannii* (Resistente, 50.1%), *K.pneumoniae* (Resistente, 53.0%), *S.haemolyticus* (Parcialmente resistente “Bomba EXT. TET K”, 48.5%)(Fig. 26).

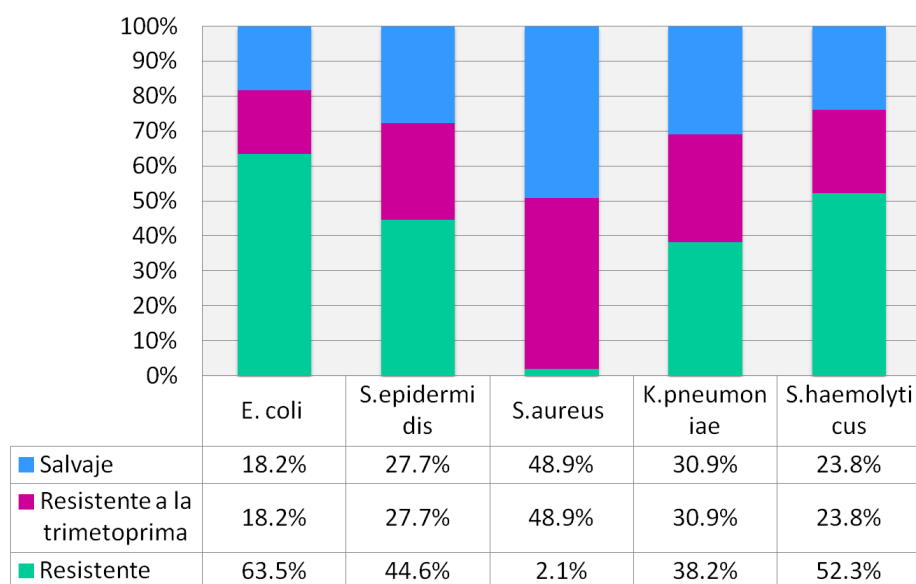
Fig 26. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a Tetraciclinas



Fuente: Información obtenida por el investigador

Finalmente los microorganismos con fenotipo de resistencia a Trimetropin/Sulfametoxazol reportados son *E. coli* (Resistente, 63.5%), *S.epidermidis* (Resistente, 44.6%), *S.aureus* (Resistente a la trimetoprima, 48.9%), *K.pneumoniae* (Resistente, 38.2%), *S.haemolyticus* (Resistente, 52.3%)(Fig. 27).

Fig 27. Frecuencia de microorganismos que expresaron fenotipo de resistencia a TMP/SMX



Fuente: Información obtenida por el investigador

VIII.- DISCUSIÓN

El fenómeno de la resistencia bacteriana en el mundo es uno de los más grandes retos de salud que hoy día enfrenta la comunidad médica, por lo que requiere la adopción de medidas por parte de todos los sectores gubernamentales y de la sociedad en general.

Los resultados obtenidos de este estudio nos demuestran que la media de edad de los pacientes en quienes se obtuvieron los aislamientos microbianos fue de 32.5 años, siendo el grupo de edad más destacado el de 45 a 64 años de edad, dato que coincide con la cantidad de cultivos tomados en el servicio de Medicina Interna (n=1188, 37.7%). El 59.9% de los pacientes correspondieron al género masculino (n=1889) y el 38.9% al género femenino (n=1227).

8.1.- Aislamientos microbianos por servicio hospitalario

Suarez Trueba realizó en un hospital de tercer nivel en Cuba un estudio prospectivo en 2014³⁰, en el que se analizaron 89 cepas de *E. coli* provenientes de pacientes hospitalizados. De éstos, el 70.7% de los especímenes provenían del servicio de Terapia Intensiva Adulto, el 14.7% de Medicina Interna y el 14.3% de subservicios de cirugía como urología y litotricia. A diferencia de su unidad, en

nuestro hospital el principal servicio donde se realizó toma de cultivo fue en Medicina Interna, representando el 37.7% de los aislamientos (n=1188), seguido de terapia intensiva neonatal con 14.4% (n=454) y de terapia intensiva de adultos con 12.8% (n=402). El servicio que representa la menor cantidad de aislamientos es Traumatología y Ortopedia (n= 39, 1.2%) debido a que en 2015 este servicio fue trasladado a otra unidad hospitalaria.

8.2.-Microorganismos aislados con mayor frecuencia

De acuerdo con el Informe Anual 2015 emitido por la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) ³¹, se ha identificado que *E. coli*, *K.pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* con fenotipos BLEE, así como *P.aeruginosa* resistente a imipenem y quinolonas, son los microorganismos que a nivel nacional presentan mayor prevalencia de resistencia antimicrobiana.

El análisis de 3152 reportes de cultivos mostró que en nuestro medio las cepas bacterianas con mayor prevalencia de resistencia son *E. coli* (n=462, 14.7%), enterobacteria multidrogoresistente productora de betalactamasas tipo CTX-M, proteínas Qnr que impiden la unión de quinolonas a su sitio blanco, bombas de eflujo para tetraciclinas, inhibidor enzimático de cloranfenicol y genes de resistencia a Trimetoprim/Sulfametoxazol³²; *S.epidermidis* (n=394, 12.5%) estafilococo coagulasa negativo aislado principalmente en hemocultivo y que es conocido por la formación de biofilms, lo que lo ha asociado a un aumento en la resistencia a los antibióticos, así como la resistencia a meticilina³³; *K.pneumoniae* (n=216, 6.9%) patógeno gramnegativo oportunista causante común de infecciones nosocomiales y portador más prevalente de la carbapenemasa KPC³⁴; *S.aureus* (n=215, 6.8%), otro importante patógeno nosocomial y comunitario por su resistencia a meticilina, pero también a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas debido al uso cotidiano de éstos antibióticos en estas infecciones³⁵; *S.haemolyticus* (n=214, 6.8%) quien comparte las mismas características que los otros estafilococos; *A.baumannii* (n=211, 6.7%) patógeno gramnegativo multidrogoresistente que ha emergido como la principal causa de infecciones oportunistas en los hospitales alrededor del mundo y que notoriamente produce infecciones difíciles de erradicar al haber demostrado la presencia de

distintos mecanismos de farmacoresistencia generada debido a la producción de bombas de eflujo, porinas y betalactamasas^{36,37}; y finalmente *P.aeruginosa* (n=195, 6.2%) un patógeno oportunista que se ha asociado a infecciones hospitalarias y se reconoce por ser generador de bombas de eflujo, capaz de rechazar los fármacos antimicrobianos³⁸.

Las levaduras se han convertido en patógenos importantes, sobre todo en relación las infecciones de vías urinarias de origen nosocomial debido a los factores de riesgo que presentan los pacientes hospitalizados como el uso de antibióticos de amplio espectro, sondas urinarias, nutrición parenteral y estancia hospitalaria prolongada³⁹. Se realizó en 2007 un estudio retrospectivo en el INCan⁴⁰ en el que se analizaron 44,447 cultivos de orina provenientes tanto de la comunidad como de origen nosocomial. En sus resultados, *C.albicans* representó el 3.5% de los microorganismos causantes de infección de vías urinarias (IVU) provenientes de la comunidad. En las cepas nosocomiales, ésta levadura alcanzó el 13.5% de las muestras de orina, encontrando una frecuencia de aislamiento similar en hospitales de Estados Unidos.

En un estudio realizado en 2017 en Estados Unidos⁴¹, *Candida spp.* fue identificada como la causa más frecuente de infección del torrente sanguíneo en pacientes hospitalizados, siendo *C.glabrata* una de las tres principales especies de cándida que causa infección sistémica, junto con *C.albicans* y *C. parapsilosis*. Semejante a lo encontrado en estos estudios, en nuestro hospital la levadura aislada con más frecuencia fue *C.albicans* (n=235), representando el 7.5% del total de los aislamientos y además, es la levadura más frecuente encontrada en los pacientes (54.4% de los aislamientos levaduriformes). Otras levaduras que siguen en importancia en los cultivos son *C.glabrata* (17.4%) y *C.tropicalis* (12%).

8.3.-Principales tipos de cultivo y microorganismos aislados

Con referencia a los especímenes de cultivo, un estudio retrospectivo multicéntrico realizado en Sonora, México y publicado en 2018⁴² analizó 6175 aislamientos bacterianos positivos, cuyos principales tipos de cultivo fueron urocultivo (n= 2911, 47.1%), exudado faríngeo (n= 704, 11.4%), exudado vaginal (n= 493, 8%), coprocultivo (n= 370, 6%) y secreción bronquial (n= 336, 5.4%).

Este dato que contrasta con nuestros resultados, ya que los principales tipos de cultivo registrados fueron hemocultivo (central y periférico, n=866, 27.5%), cultivo de aspirado bronquial (incluyendo expectoración, n=683, 21.7%), urocultivo (n=481, 15.3%) y cultivo de sondas y catéteres (n=317, 10.1%). Los exudados únicamente corresponden al 1% de nuestras muestras y solo se registró un coprocultivo, el cual está incluido en la categoría de “diversos”.

En 2014 Rodríguez y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo en la Ciudad de México⁴³, en el que se analizaron 1,442 resultados de hemocultivo en pacientes hospitalizados, obteniendo como principales patógenos aislados *S.epidermidis*, *S.aureus*, *E. coli* y *P.aeruginosa*, coincidiendo únicamente con nuestros datos el aislamiento de *S.epidermidis* (24.1%) como principal microorganismo aislado en hemocultivo, seguido de otros estafilococos como *S.hominis* y *S.haemolyticus* (12.5% y 8.8% respectivamente).

En 2016 Salazar y colaboradores⁴⁴ publicaron un estudio prospectivo en el estado de Chihuahua en el que analizaron 187 cultivos de aspirado bronquial provenientes de medio hospitalario. En sus resultados destacaron como principales microorganismos aislados *P.aeruginosa* (20.9%), *S.aureus* (12.7%), *E. coli* (9.1%) y *A.baumannii* (8.2%); coincidiendo con nuestros aislamientos de *A.baumannii* y *E.coli* (14.2% y 13.6% respectivamente) como principales bacterias aisladas en aspirado bronquial, sin embargo es *C.albicans* quien se coloca como primer lugar en aislamientos en este tipo de cultivos en nuestro medio hospitalario (15.7%).

En cuanto a urocultivo, Gordillo publicó en 2018⁴⁵ un estudio retrospectivo realizado en Ecuador, en el que analizó resultados de urocultivo en 42 pacientes diabéticos con bacteriuria significativa. En este estudio, 40 de los 42 urocultivos reportaron a *E.coli* como el agente etiológico, dato que coincide con nuestros resultados ya que los patógenos más aislados fueron *E.coli* (27.9%) y las levaduras *C.albicans* (13.5%) y *C.glabrata* (9.4%).

Finalmente, en los resultados obtenidos por Salazar y colaboradores⁴⁴ obtuvieron un total de 227 infecciones relacionadas con líneas vasculares, de las cuales destacan microorganismos como *S.aureus* (22.5%), *P.aeruginosa* (7.2%),

S.epidermidis (7.2%) y *E.coli* (6.2%). En cambio, en nuestros cultivos de sondas y catéteres se aislaron como primer lugar estafilococos (*S.epidermidis* 29% y *S.haemolyticus* 19.2%), seguidos por *A.baumannii* (7.3%).

8.4.-Reporte de resistencia antimicrobiana

A nivel nacional en 2015³¹, la RHOVE nos reporta que en servicios en los que se atienden pacientes adultos, el antibiótico con mayor resistencia fue ampicilina (43.1%), así como ceftriaxona (39.5%) y ciprofloxacino (37.7%); y en servicios donde se atienden pacientes pediátricos, las principales resistencias fueron a ampicilina (52.2%), ceftriaxona (42.3%) y cefepime (36.1%); datos similares a nuestros servicios de pacientes adultos (resistencia a ciprofloxacino, Trimetoprim/Sulfametoxazol, cefazolina, ampicilina y ceftriaxona), pero con diferencias en los de pacientes pediátricos.

En cuanto a resistencias bacterias por germen, también a nivel nacional se reportó en el Informe Anual³¹ que las bacterias gramnegativas son las principales portadoras de resistencias a antimicrobiano, colocándose *E.coli* en primer lugar con resistencia a Ampicilina (n= 2,092, 37.6%), ciprofloxacino (n= 1,895, 34.1%) y ceftriaxona (n= 1,712, 30.8%). El segundo lugar lo ocupa *P.aeruginosa* con resistencia a ceftriaxona (n= 1,406, 38.3%), ampicilina (n= 862, 23.5%) y amikacina (n= 848, 23.1%). En tercer lugar, *K.pneumoniae* resistente a ampicilina (n= 1,299, 46.9%), ceftriaxona (n= 857, 30.5%) y cefepime (n= 829, 29.5%). El siguiente microorganismo por orden de frecuencia es *A.baumannii* con resistencia a ceftriaxona (n= 729, 37.9%), ciprofloxacino (n= 689, 35.8%) y cefepime (n= 593, 30.8%). Finalmente *E. clocae* se muestra resistente a ceftriaxona (n= 250, 26.5%), ampicilina (n= 167, 17.7%) y cefepime (n= 151, 16%). El perfil de resistencia en grampositivos para 2015 reporta que *S.aureus* es el principal germen causante de resistencias, sobre todo a clindamicina (28.3%), ciprofloxacino (24.4%) y eritromicina (22.1%).

Nuestros resultados son bastante similares a lo reportado por la RHOVE, ya que por orden de frecuencia, se observó que *E. coli* obtuvo resistencia a ampicilina (12.9%), cefazolina (11.5%) y ceftriaxona (11.1%). *P.aeruginosa* se mostró resistente a Ampicilina/Sulbactam (9.8%), Tigeciclina (9.6%) y Ceftriaxona

(8.5%); *A.baumannii* a Aztreonam (11%), Ceftriaxona (11%) y Cefazolina (10.9%); *K. pneumoniae* a Ampicilina (11.4%), Cefazolina (10.2%) y Ampicilina/Sulbactam (10%). Finalmente, *E. cloacae* a Cefazolina (16.7%), Aztreonam (9.8%) y Ceftriaxona (9.8%). Los microorganismos grampositivos que demostraron resistencias en nuestro estudio son estafilococos: *S.epidermidis*, *S.haemolyticus*, *S.aureus* y *S.hominis*, todos ellos resistentes a bencilpenicilina, oxacilina y eritromicina, a excepción de *S.aureus*, en el que aparece ciprofloxacino (13.7%) en el segundo lugar de resistencia.

En cuanto a la resistencia en levaduras, existen diferencias en la susceptibilidad de los antifúngicos en las especies de *Candida*, ya que *C. krusei* es naturalmente resistente a fluconazol y las cepas de *C.glabrata* poseen menos sensibilidad a fluconazol que otras cepas, así como *C. lucitaniae* presenta menor sensibilidad a anfotericina B. A nivel mundial la resistencia a anfotericina B se reporta en un rango de 2 a 20%. En un estudio observacional realizado en Turquía en 2018, la resistencia reportada a anfotericina B es del 7.3%, siendo *C.albicans* la principal cepa causante de resistencia a éste antifúngico⁴⁶.

En 2014, Ortigoza y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo en el Centro Médico Nacional de Occidente IMSS⁴⁷, en el cual reportan que la anfotericina B fue uno de los antifúngicos a los que mostraron mayor sensibilidad las diferentes especies de *Candida*, siendo fluconazol el medicamento con mayor porcentaje de resistencia por parte de *C. krusei* (28.6%). En nuestro medio, el reporte de resistencia a anfotericina B se presentó con mayor frecuencia a lo esperado (n=25, 37.3% en *C.albicans* y n=21, 31.3% para *C.tropicalis*), siendo éste medicamento al que presentan mayor frecuencia de resistencia nuestras levaduras, en contraste con la disminución de resistencia a azoles y equinocandinas.

8.5.-Fenotipos de resistencia a aminoglucósidos

Con respecto a los fenotipos de resistencia bacteriana, en 2014 Suárez Trueba³⁰ publicó un estudio descriptivo y prospectivo en el que analizó cepas de *E. coli* provenientes de urocultivos en pacientes tanto hospitalizados como de la comunidad. De éstas cepas se reportaron fenotipos de resistencia para

aminoglucósidos, siendo la enzima ANT (2") la más frecuente (25%), confiriendo resistencia a kanamicina, tobramicina y gentamicina. Otras enzimas frecuentes reportadas en este estudio fueron AAC (6'), enzima que modifica la actividad de kanamicina, amikacina, tobramicina y netilmicina, siendo globalmente la enzima más frecuente capaz de hidrolizar aminoglucósidos; AAC (3')-IV y AAC (3')-II. Estos datos coinciden con nuestros hallazgos de resistencia a aminoglucósidos en *E. coli* (ANT (2") 25.4%, AAC (3)-II 25.4% y fenotipo Salvaje en 19.9%)

En el caso de *A.baumannii*, se conoce que su resistencia a aminoglucósidos está dada por la modificación de grupos hidroxilos o aminos de estos antibióticos debido a enzimas como APH (3')-I, APH (3')-II, AAC (3')-I, AAC (6')-I y ANT (2"), identificadas en este género y responsables de la resistencia a gentamicina (GEN), tobramicina (TOB), kanamicina (KAN), amikacina (AMI), netilmicina (NET) y otros aminoglucósidos⁴⁸, siendo éstos sus principales fenotipos de resistencia a los aminoglucósidos hallados en nuestro estudio ("GEN-NET-AMI", "GEN-TOB-AMI" y "TOB-GEN-NET").

La resistencia a los aminoglucósidos en estafilococos se ha observado en aquellas infecciones en las que se utilizan los aminoglucósidos en combinación con betalactámicos o glicopéptidos, especialmente en el tratamiento de infecciones estafilocócicas complicadas⁴⁹. El principal mecanismo de resistencia a aminoglucósidos en estafilococos se atribuye a la inactivación del fármaco por la acción de enzimas codificadas en elementos genéticos transferibles. Éstas enzimas son principalmente APH (2)/AAC (6'), APH (3)-III y ANT 4-I. Perumal y colaboradores⁴⁹ realizaron un estudio retrospectivo en 2016 en el cual analizaron aislamientos de estafilococos meticilino resistente provenientes de hospitales de tercer nivel en la India. En este estudio se encontró que los fenotipos que presentan mayor prevalencia de resistencia a aminoglucósidos son APH (2)/AAC (6') (36%), APH (3)-III (22%) y ANT 4-I (2%). Nuestras muestras también presentan estas enzimas en estafilococos, ya que *S.epidermidis* y *S.aureus* expresaron los mismos fenotipos de resistencia, predominando en *S.epidermidis* el fenotipo "APH (2) + AAC (6')" (n=285, 47.3%). Los fenotipos más expresados por *S.aureus* fueron "Salvaje", "APH (3)-III" y "ANT 4-4" con 32.2% cada uno.

Finalmente, la enterobacteria *K. pneumoniae* expresó el mismo patrón de fenotipos de resistencia para aminoglucósidos que otros gramnegativos obtuvieron, destacando por orden de importancia los fenotipos “ANT (2)” (30.7%), “AAC (3)-II” (30.4%) y “AAC (6)” (26.7%).

8.6.-Fenotipos de resistencia a betalactámicos

En cuanto a los fenotipos de resistencia para betalactámicos, Suárez Trueba³⁰ encontró en su estudio que los principales mecanismo de resistencia en cepas de *E. coli* lo constituyen las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en un 53.7% de su muestra; así como CTX-M (4.9%), una cefotaximasa que hidroliza a esta cefalosporina y que ha sido hallada en varias regiones de Europa y América Latina; y AmpC+BLEE, una betalactamasa constitutiva que condiciona un incremento en los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) de diferentes antimicrobianos. En nuestro hospital, *E. coli* fue el microorganismo que más presentó fenotipos de resistencia a betalactámicos, siendo de igual manera los fenotipos BLEE (43.9%), CTX-M (42%) y Penicilinas adquirida (5.5%) los de mayor frecuencia.

En el caso de *P.aeruginosa*, Casares realizó en 2017 un estudio transversal en pacientes graves de Cuba⁵⁰. Los principales fenotipos de resistencia a betalactámicos que se aislaron de este patógeno fueron “Resistencia de alto nivel + Impermeabilidad a carbapenem” en 34.18%, “Salvaje + Resistencia a Ticarcilina no enzimática de bajo nivel + Penicilinas adquirida” en 23.9% y Penicilinas adquirida + carbapenemasa en 11.1%, bastante semejante a lo encontrado por nosotros.

En un estudio retrospectivo multicéntrico de Colombia⁵¹, Villalobos describe que desde hace 9 años ha venido en aumento la resistencia de *K. pneumoniae* a cefotaxima por la presencia de la betalactamasa CTX-M en pacientes hospitalizados en cuidados intensivos, siendo esta enzima la principal hallada en *K. pneumoniae* (29.2%), seguida de BLEE y otros subtipos de BLEE.

El estudio de la resistencia adquirida en *A.baumannii* nos demuestra que ha habido un incremento significativo en la resistencia a carbapenems en México y en otros países de América Latina, al desarrollar la habilidad de producir MBLs y la

carbapenemasa OXA-24, pues se han documentado desde un 6.4, 12.6 y 0% de resistencia a imipenem en 1999 hasta un 84.9, 71.4 y 50% de resistencia en 2010 en Argentina, Brazil y Chile; respectivamente²⁶ siendo dentro de nuestros hallazgos la impermeabilidad a carbapenem, la resistencia de alto nivel y la expresión de MBL u OXA los principales mecanismos de resistencia en este grupo de antibióticos en *A.baumannii*.

En el caso de los grampositivos, el más importante mecanismo de resistencia antimicrobiana en estafilococos está asociado con el gen *mecA*, que le confiere resistencia a una gran clase de antibióticos betalactámicos. El gen *mecA* codifica una proteína de unión a la penicilina llamada PBP2a que produce una baja afinidad a las enzimas betalactámicas. La introducción de *mecA* al genoma de *S. aureus* en múltiples ocasiones ha llevado a la aparición y diseminación mundial de varios *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA)²⁰. Este fenotipo ha sido expresado con un 88.8% de frecuencia por *S.epidermidis* en nuestras muestras.

8.7.-Fenotipos de resistencia a anfenicoles

El fenotipo de resistencia a anfenicoles aislado en este estudio fue “Salvaje”, predominantemente en *P.aeruginosa* (n= 32, 91.43%). Esto puede explicarse debido a que este microorganismo presenta resistencia natural o intrínseca a varios grupos de antimicrobianos como cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto es debido a la baja permeabilidad de su membrana externa como el elemento clave para explicar esa resistencia natural al presentar una porina llamada OprF, que por su estructura y función, limita significativamente el paso de antimicrobianos. Dicha estructura permite que la permeabilidad de *P.aeruginosa* para compuestos hidrófilos sea sólo del 1-8% a comparación con lo observado en otras enterobacterias⁵².

8.8.-Fenotipos de resistencia a furanos

Nitrofurantoína es un antimicrobiano oral de absorción rápida y secretado en la orina para generar altas concentraciones terapéuticas en infecciones del tracto urinario bajo. Éste fármaco posee la característica de actuar como

antibiótico solo después de ser reducido por las enzimas nitro reductasa. Esta actividad se produce, por ejemplo, en unas enzimas de *E.coli* llamadas oxígeno insensible y oxígeno sensible. Con la enzima oxígeno insensible, el grupo nitro del fármaco se reduce a un producto final que produce efectos de toxicidad en las bacterias, alterando su ADN y proteínas. La resistencia a la nitrofurantoína se ha registrado en genes (*nfsA* y *nfsB*) que codifican las enzimas nitro reductasa oxígeno insensibles. Estas mutaciones modifican las actividades reductoras de las enzimas en *E.coli*, ocasionando un aumento progresivo en los patrones de resistencia⁵³.

Estudios realizados en 2016⁵⁴ reportan una resistencia a nitrofurantoína del 38.5% en *E.coli* y del 64.4% en *K. pneumoniae* mediante el método de difusión de disco, siendo éstos los principales patógenos que en nuestro estudio expresaron un fenotipo “Resistente” a nitrofurantoína (*K.pneumoniae* 39.95% y *E.coli* 27.42%).

8.9.-Fenotipos de resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas

Macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLSB) son antibióticos usados comúnmente en el tratamiento de infecciones por estafilococos, especialmente en infecciones de piel y tejidos blandos causados por *S.aureus* resistente a meticilina (SARM)⁵⁵. El uso continuado de estos antimicrobianos ha ocasionado la aparición de resistencias a estos fármacos, especialmente en las cepas que cuentan con las variables de resistencia constitutiva (MLSBc), proporcionando elevado nivel de resistencia a cualquier antimicrobiano de este grupo; y la variable inducible (MLSBi), con resistencia a eritromicina y azitromicina pero con sensibilidad *in vitro* a clindamicina y estreptograminas B⁵⁶.

En Colombia³⁵, las cepas analizadas de *S.aureus* presentaron una resistencia a meticilina del 50%, sobre todo en cultivos de herida, secreciones y abscesos. Su fenotipo de resistencia para macrólidos y Lincosamidas fue denominado “Resistente” para eritromicina y clindamicina en un 16% presentado fenotipo con resistencia constitutiva (MLSBc) y 2% fue reportado resistente a eritromicina y sensible a clindamicina (fenotipo con resistencia inducible MLSBi). Todas las cepas que presentaron los fenotipos MLSBc y MLSBi tenían resistencia conjunta a meticilina. En nuestros resultados, los estafilococos (*S. epidermidis*, *S.*

aureus, *S. haemolyticus* y *S.hominis*) expresaron en mayor frecuencia el fenotipo MLSBc (entre un 61.4 a un 88.8%). El fenotipo MLSBi sólo fue expresado en un 0.9 a 5.6% por estos mismos patógenos.

Es sabido que el fenotipo MLSBc siempre será resistente in vitro; sin embargo, la variante inducible (MLSBi) presenta sensibilidad in vitro pero cuando el patógeno entra en contacto con el antibiótico clindamicina en un proceso infeccioso, pueden aparecer mutantes con resistencia constitutiva a este antimicrobiano, por lo que algunos autores sugieren no utilizar clindamicina en el tratamiento de las infecciones por estafilococos con resistencia inducible a la clindamicina para evitar la aparición de mutantes con resistencia constitutiva⁵⁷.

8.10.-Fenotipos de resistencia a polipéptidos

Colistina es un péptido catiónico con actividad bactericida contra *P. aeruginosa* y otros gramnegativos. Ha mostrado alta eficacia contra *Pseudomonas* multidrogoresistente (PMDR) y *Acinetobacter spp.* Salinas y colaboradores⁵⁸ realizaron un estudio retrospectivo en el Centro Médico ABC de la Ciudad de México en el que incluyeron pacientes hospitalizados en terapia intensiva y que tuvieran infección por PMDR en manejo con colistina, encontrando el 13% de resistencia a este fármaco. A pesar de esta cifra, colistina continúa siendo un medicamento efectivo para el tratamiento de PMDR al demostrar mejoría clínica y bacteriológica con su uso en este estudio.

El fenotipo de resistencia a polipéptidos encontrado por Casares en Cuba⁵⁰, en *P. aeruginosa* fue “Salvaje” en el 77.7% de su muestra y “Resistente en el 20.5%. En nuestro hospital la resistencia a polipéptidos se determinó únicamente mediante el fenotipo “Salvaje” hallado en *P. aeruginosa* (84.21%), *E.cloacae* (10.53%) y *A. baumannii* (5.26%).

8.11.-Fenotipos de resistencia a glucopéptidos

Los Glucopéptidos han sido el pilar del tratamiento de las infecciones por SAMR desde la introducción de estos antibióticos en 1958; sin embargo, el asilamiento de enterococos y estafilococos coagulasa negativos resistentes a vancomicina se ha reportado en diferentes partes del mundo. Se ha hecho uso de los acrónimos VISA para denominar una sensibilidad intermedia a vancomicina

(*vancomycin-intermediate S. aureus*) y VRSA en el caso de resistencia completa (*vancomycin-resistant S. aureus*) dependiendo del punto de corte en CMI que se esté utilizando para pautar la resistencia. Existe también el fenotipo de resistencia intermedia heterogénea a vancomicina, conocido como hVISA, denominado así por presentar una distribución no homogénea del fenotipo resistente en una población bacteriana. Las cepas hVISA tienen subpoblaciones de células con resistencia intermedia a vancomicina, mientras que su CMI global está en el rango de susceptibilidad⁵⁹.

Existen diferentes fenotipos de resistencia a los Glucopéptidos en *Enterococcus*, producidos por diferentes determinantes genéticos de resistencia como VanA, VanB, Van C, Van D, VanE y VanG. El fenotipo VanA se caracteriza por presentar resistencia inducible de alto nivel tanto a vancomicina como a teicoplanina. El fenotipo VanB se caracteriza por resistencia inducible, de moderado o alto nivel a vancomicina pero no a teicoplanina. El fenotipo VanC presenta resistencia de bajo nivel a vancomicina pero no a teicoplanina⁵⁹.

En los estafilococos aislados en este estudio (*S.epidermidis*, *S.haemolyticus* y *S.hominis*) se encontraron dos fenotipos de resistencia, el fenotipo “Salvaje” en la mitad de los casos y el fenotipo “Resistente a TEC” (Teicoplanina) en la otra mitad. En el caso de *S.aureus* el fenotipo principal fue “Salvaje” (96.1%), expresando VRSA en 2.4% (n=5) y hVISA en 1.5% (n=3). El enterococo que presentó resistencia a glucopéptidos fue *E.faecalis*, quien expresó los fenotipos “Salvaje” (94.7%) así como VanA y VanB con 2.6% cada uno.

8.12.-Fenotipos de resistencia a quinolonas

Entre los mecanismos moleculares de resistencia a quinolonas se encuentran las alteraciones en los blancos de quinolonas, las bombas de expulsión activa y la transferencia de genes de resistencia plasmídicos. La alta resistencia a fluoroquinolonas (sobre todo ciprofloxacino) se relaciona con el primer mecanismo mencionado, al presentar una mutación a nivel de *gyrA*, gen que codifica para una de las subunidades de la ADN girasa, blanco principal de estos antibióticos en bacterias gramnegativas³².

Otro tipo de mecanismo de resistencia es el relacionado con la transferencia de genes mediante plásmidos, como los genes *qnr* que codifican a la familia de proteínas Qnr, las cuales se unen a la ADN girasa y la topoisomerasa IV, disminuyendo la acción de las quinolonas. El aumento de la resistencia a estos antibióticos se relaciona con el aumento de CMI, por lo que se habla de una “susceptibilidad disminuida” (parcialmente resistente)³². Esto se ve reflejado en nuestros resultados, siendo *E. coli* y *K.pneumoniae* quienes presentaron cuatro fenotipos de resistencia a quinolonas: Qnr, salvaje, parcialmente resistente y resistente; *S.epidermidis*, *S.haemolyticus* y *S.aureus* expresaron todos los fenotipos excepto Qnr.

8.13.-Fenotipos de resistencia a tetraciclinas

El mecanismo de resistencia más común hacia este antibiótico es mediante sistemas de eflujo, los que en gramnegativos son codificados por los genes *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetK* y *tetY*, presentes en diversos patógenos. Existen otros mecanismos de resistencia como protección ribosomal, codificada por los genes *tetM*, *tetO*, *tetS*, etc.⁶⁰. En nuestro hospital se ha observado la presencia del fenotipo “Modificación del receptor TET-M” en *S.epidermidis* (8.8%) y *S.haemolyticus* (9.3%), así como la presencia de la bomba de eflujo TET-K en estos mismos microorganismos (*S.epidermidis* 41.4% y *S.haemolyticus* 48.5%). Los gramnegativos *E. coli*, *K.pneumoniae* y *A. baumannii* únicamente presentaron fenotipos de resistencia “Salvaje” y “Resistente”, aunque en mayor frecuencia que los otros fenotipos (47 a 53%).

8.14.-Fenotipos de resistencia a Trimetropim/Sulfametoxazol

Los mecanismos de resistencia a sulfonamidas y trimetropim están relacionados con la adquisición de genes mutantes mediante elementos móviles. En el caso de las sulfonamidas se han descrito los genes *su/1*, *su/2* y *su/3* relacionados con integrones que codifican formas mutantes de la enzima dihidropteroato sintasa que no pueden ser inhibidas por el antibiótico. En Perú ³², en un estudio con cepas de *E. coli* aisladas en niños, se presentó una resistencia a Trimetropim/Sulfametoxazol del 79% en muestras de diarrea, semejante a la cifra encontrada en nuestro hospital, ya que *E. coli* mostró un fenotipo “Resistente”

en un 63.5%, junto con *K.pneumoniae* (fenotipo “Resistente” en 38.2%), y en estafilococos resistentes a Trimetropim/Sulfametoxazol expresando fenotipos “Salvaje” y “Resistente”.

IX.- CONCLUSIONES

La resistencia bacteriana y fúngica a los antimicrobianos se considera una importante amenaza para la práctica médica en todo el mundo debido a la velocidad con la que aumenta la adquisición de fenotipos de resistencia en los microorganismos patógenos causantes de importantes infecciones en los seres humanos.

En este estudio se encontró que las bacterias que presentan resistencia bacteriana con más frecuencia en nuestro medio son *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, así como la levadura *Candida albicans*; patógenos tanto comunitarios como nosocomiales, ampliamente conocidos por presentar cada vez más una disminución en la sensibilidad a los antibióticos. Las principales resistencias antimicrobianas que se presentan en servicios que atienden pacientes adultos son a ampicilina, cefalosporinas, quinolonas y sulfas; y en las unidades pediátricas a bencilpenicilina, sulfas, eritromicina, quinolonas y aminoglucósidos, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos neonatales. Aunque nuestros microorganismos se muestran resistentes con predominancia a estos grupos de antibióticos, se debe resaltar que fármacos como tigeciclina y ampicilina/sulbactam están colocándose entre los fármacos más frecuentes a los que *P.aeruginosa* y *K.pneumoniae* adquieren resistencia; así como la presencia de resistencia a anfotericina B, fármaco utilizado en micosis sistémicas graves, por parte de *Candida albicans* e incluso en cepas no albicans.

Los fenotipos de resistencia que se expresaron con mayor frecuencia fueron pertenecientes a la familia de los betalactámicos (BLEE, carbapenemasas y CTX-M), con enzimas que neutralizan a una gran gama de antibióticos de este grupo; así como el fenotipo MLSBc que dota de resistencia a eritromicina en los

microorganismos grampositivos y el fenotipo “Resistente” a quinolonas y sulfas. A pesar de que por antibiograma no se reportan resistencias a colistina en nuestras muestras, y las resistencias a linezolid y vancomicina son reportadas con baja frecuencia, los fenotipos de resistencia natural a estos fármacos están altamente expresados en estafilococos y *Pseudomonas*, lo que podría provocar mutaciones productoras de resistencia en los genes de dichos microorganismos si estos recursos se utilizan de manera indiscriminada.

Es de suma importancia tomar conciencia del aumento de resistencia a los antimicrobianos, así como mantener en vigilancia estrecha a aquellas cepas que nos muestren un perfil multirresistente para proveer un adecuado manejo de las mismas, así como sensibilizar a todo el personal de salud para hacer un uso racional de antibióticos en todos los niveles de atención, con la finalidad de disminuir la impactante velocidad con la que los microorganismos adquieren resistencia.

X.- LOGÍSTICA

10.1.- Recursos humanos

Para el desarrollo de este protocolo fue imprescindible el trabajo realizado por el personal del departamento de Microbiología del Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Puebla, así como de asesores de tesis y el investigador

10.2.- Recursos materiales

- Reportes de cultivos proporcionados por el Laboratorio Estatal de Salud Pública
- Equipo de cómputo con paquetería Office y Software estadístico

10.3.- Recursos financieros

No se requieren recursos financieros para sustentar esta investigación

10.4.- Cronograma de actividades

DIAGRAMA DE GANTT TESIS: "Frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de pacientes del Hospital General del Sur en el periodo enero 2015 a abril 2017" MPSS: Hernández Santiago Martha								
Actividad	2018							
	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre
Planteamiento del problema, inicio de elaboración del protocolo								
Redacción de parte teórica, recopilación de información y diseño								
Registro de protocolo en la coordinación de Eficiencia Terminal								
Recolección de datos								
Análisis estadístico de datos y resultados								
Redacción final								
Revisión de tesis por el comité de Eficiencia Terminal								
Presentación de examen profesional								

10.5.- Bioética

Todos los procedimientos y metodología se encuentran regidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

XI.- ANEXOS

11.1.- Definiciones operacionales

Resistencia Antimicrobiana: Se toma en cuenta con base en la interpretación de la concentración mínima inhibitoria que marca el sistema VITEK® 2, en donde el resultado marca la palabra "resistente" a determinado antimicrobiano

Género: Se definió de acuerdo al sexo de nacimiento

Edad: De acuerdo a la fecha de nacimiento registrada en el reporte de cultivo. En mayores de 1 año se registraron los años cumplidos; en menores de 1 año pero mayores de 1 mes, la edad en meses, y en menores de un mes, los días

Servicio hospitalario: Cada servicio de especialización en el que se encuentran hospitalizados los pacientes de este estudio, ya sea Cirugía general, Medicina Interna, UCIA, UCIN, Trauma y Ortopedia, Pediatría, Urgencias Adultos o Urgencias Pediatría

Tipo de cultivo: Se toma en cuenta el espécimen cultivado de acuerdo al tipo de muestra que se envía al laboratorio estatal, ya sea hemocultivo, urocultivo, cultivo de expectoración, etc.

Microorganismo aislado: Aquellos microorganismos que fueron aislados en cultivos obtenidos de pacientes hospitalizados en el periodo de tiempo de este estudio. Fueron registrados por nombre de género y especie y colocados en las categorías bacteria grampositiva, bacteria gramnegativa o levadura.

Fenotipo de resistencia: Se toma en cuenta el fenotipo específico de resistencia que los microorganismos expresan por familia de antimicrobiano (aminoglucósidos, betalactámicos, anfenicoles, furanos, glicopéptidos, macrólidos y lincosamidas, oxazolidinonas, polipéptidos, quinolonas, tetraciclinas y trimetoprim/sulfametoxazol).

Antibiótico: Se tomó en cuenta el fármaco antimicrobiano al que fueron testados los diferentes microorganismos para su uso en la prueba de antibiograma.

Antibiograma: Se toma en cuenta el reporte de susceptibilidad de cada microorganismo a determinado grupo de antibióticos, pudiendo ser el resultado sensible, intermedio o resistente.

11.2.- Definiciones conceptuales

Resistencia Antimicrobiana: La resistencia a los antimicrobianos se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones dejen de ser eficaces.

Género: Grupo al que pertenecen los seres humanos de cada sexo, desde un punto de vista sociocultural en lugar de exclusivamente biológico.

Edad: Tiempo que ha vivido una persona.

Servicio hospitalario: Conjunto de servicios médicos especializados reagrupados en un hospital

Tipo de cultivo: Técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de microorganismos para su estudio

Microorganismo: Derivado de micrós, "pequeño", y bíos, 'vida'; es un ser vivo, o un sistema biológico que solo puede visualizarse con el microscopio

Fenotipo de resistencia: Conjunto de características bioquímicas y estructurales que posee un microorganismo y que determina una menor susceptibilidad a los fármacos betalactámicos, ya sea natural o inducida

Antibiótico: Derivado de *anti*, "en contra", y *biotikos*, "dado a la vida", es una sustancia química producida por un ser vivo o un derivado sintético que mata o impide el crecimiento de microorganismos bacterianos sensibles.

Antibiograma: Es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos.

11.3.- Descripción de las técnicas de medición de las variables relevantes

Los 3152 microorganismos recolectados en este estudio fueron aislados entre el 1° de enero del 2015 hasta el 29 de abril del 2017 y procesados en el Laboratorio Estatal de Salud Pública, anexo al Complejo Médico del Sur del estado de Puebla. Los especímenes fueron enviados de los diferentes servicios de hospitalización del Hospital General de Puebla "Dr. Eduardo Vázquez Navarro". Las muestras bacteriológicas fueron cultivadas en los medios de agar requeridos para cada espécimen, así como en agar dextrosa Sabouraud para levaduras e incubadas por 24-48 horas a 35 °C. Posterior a la incubación se realizó tinción de Gram para la visualización microscópica de la cepa.

El equipo VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Inc.) fue utilizado para la identificación de susceptibilidad en las colonias bacteriológicas y fúngicas. Los antibióticos que fueron testados por este equipo fueron ampicilina, amikacina,

aztreonam, cloranfenicol, cefixima, ciprofloxacino, clindamicina, ceftriaxona, colistina, cefotaxima, cefuroxima, cefazolina, eritromicina, ertapenem, cefepime, nitrofurantoína, gentamicina, levofloxacino, linezolid, meropenem, moxifloxacino, oxacilina, bencilpenicilina, piperacilina, quinupristina/dalfopristina, ampicilina/sulbactam, trimetoprim/sulfametoxazol, ticarcilina/ácido clavulánico, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, piperacilina/tazobactam y vancomicina. Los antifúngicos testados para levaduras fueron anfotericina B, caspofungina, flucitosina, fluconazol, micafungina y voriconazol.

Para la identificación automatizada de los microorganismos se emplearon diferentes tarjetas de identificación que se basan en métodos bioquímicos establecidos y sustratos para medir la utilización de la fuente de carbono, las actividades enzimáticas y la resistencia, con 47 tests bioquímicos y un pocillo de control negativo. Los bacilos gramnegativos se analizaron en la tarjeta GN VITEK® 2, los microorganismos grampositivos en la tarjeta GP VITEK® 2 y las levaduras en la tarjeta YST VITEK® 2.

Para inocular las tarjetas, se elige una colonia aislada y se toman 3 ml de solución salina estéril (NaCl al 0.45%) en un tubo de ensayo transparente. Se usa un bastoncillo para transferir una cantidad suficiente de colonias al tubo con solución salina. Se prepara la suspensión homogénea de organismo con una densidad equivalente a un patrón McFarland N.º 0.50 a 0.63, utilizando el DensiChek™ Plus VITEK® 2 calibrado. Posterior a ello se coloca el tubo con la suspensión y la tarjeta GN en el casquete. Los casquetes cargados se colocaron en el instrumento VITEK® 2 para incubar de 9 a 33 horas, dependiendo del ritmo de crecimiento de la cepa.

11.4.- Formatos de captura de datos

FORMATO DE CAPTURA DE DATOS PARA LA TESIS: "Frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de pacientes del Hospital General del Sur en el periodo enero 2015 a abril 2017" Hernández Santiago Martha		
<i>Marque los campos requeridos con una X o escriba la información solicitada</i>		
No. De Cultivo _____		Fecha de resultado: _____
Edad	_____ años	
Sexo	Masculino_____ Femenino_____	
Servicio de Hospitalización	CG___ MI___ PED___ UCI___ UCIN_ TyO___ UA___ UP___	
Tipo de Cultivo		
Microorganismo aislado	Gram: (+)____(-)____ Levadura_____	Nombre:
Fármacos resistentes (Nombre y CMI)		
Fenotipo (s) de resistencia		
(Familia de ATB y nombre)		

11.5.- Formatos de consentimiento informado

Debido a la naturaleza del estudio no se requiere uso de consentimiento informado

XII.- BIBLIOGRAFÍA

1. Organization IWH. Plan de Acción Mundial Sobre la Resistencia a los Antimicrobianos. WHO Library Cataloguing in Publication Data. 2016; ISBN 978 92 4 350976 1.
2. Organization IWH. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2014 June; ISBN 978 92 4 156474 8.
3. Organization IWH. Antibiotic resistance: Multi-country public awareness survey. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2015; ISBN 978 92 4 150981 7.
4. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiol Spectr. 2016 April; 4(2).
5. O'Neill J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. 2016 May
6. Schroeder M, Brooks BD, Brooks AE. The Complex Relationship between Virulence and Antibiotic Resistance. Genes. 2017 Jan; 8(39).
7. Soria Orozco M, Padrón Salas A, González Mercado JDJ, Valerdi Contreras L, López Iñiguez Á, Ontiveros Mercado H. Prevalencia de uso de antimicrobianos entre pacientes hospitalizados en áreas no críticas en un hospital universitario de México. salud pública de méxico. 2017 septiembre; 59(5).
8. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Introducción a la Microbiología. 9th ed.: Panamericana; 2007.
9. Carroll KC, Hobden JA, Miller S, Morse SA. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 27th ed.: Lange; 2016
10. Bonifaz A. Micología Médica Básica. 5th ed.: McGrawHill; 2015.
11. López Ávila K, Dzúl Rosado K, Lugo Caballero C, Arias León J, Zavala Castro JE. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. Biomédica. 2016 Sep; 3(27).
12. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica Murray. 7th ed.: Elsevier; 2014.
13. Campoy S, Adrio JL. Antifungals. Biochemical Pharmacology. 2017 Nov; 133(3).
14. Revie NM, Iyer KR, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. Current Opinion in Microbiology. 2018; 45(70–76)
15. Morio F, Jensen RH, Le Pape P, Cavling Arendrup M. Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts. International Journal of Antimicrobial Agents. 2017; 50(599–606).

16. Morace G, Perdoni F, Borghi E. Antifungal drug resistance in *Candida* species. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2014; 2(254–259).
17. Rodríguez Noriega E, León Garnica G, Petersen Morfín S, Pérez Gómez HR. La evolución de la resistencia bacteriana en México. *Biomédica*. 2014 Apr; 34(1).
18. Magiorakos A, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012 May; 18(3).
19. Vignoli R, Seija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. In *Temas de bacteriología y virología médica*.; 2012. p. 452-459
20. Rolo J, Worning P, Boye Nielsen J, Sobral R. Evidence for the evolutionary steps leading to *mecA*-mediated β -lactam resistance in staphylococci. *PLoS Genetics*. 2017 Apr; 13(4).
21. Keun Kim C, Milheiriço C, de Lencastre H, Tomasz A. Antibiotic Resistance as a Stress Response: Recovery of High-Level Oxacillin Resistance in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* “Auxiliary” (fem) Mutants by Induction of the Stringent Stress Response. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017 Aug; 61(8)
22. Tafur JD, Torres J, Villegas V. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Asociación Colombiana de Infectología*. 2010 Jul; 22(1)
23. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011 Jun; 29(7).
24. Perlin D, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infect Dis*. 2017 Dec; 17(2).
25. José Pontón GQ. Mecanismos de resistencia a la terapéutica antifúngica. *Medicina Clínica*. 2016; 126(1).
26. Morfín-Otero R, Alcántar-Curiel M, Rocha M, Alpuche-Aranda C, Santos-Preciado J, Gayosso-Vázquez C. *Acinetobacter baumannii* Infections in a Tertiary Care Hospital in Mexico over the Past 13 Years. *Chemotherapy*. 2013 Mar; 59: p. 57-65.
27. Garza González E, R. MO, Díaz L, Rodríguez Noriega E. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) in methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci. A review and the experience in a tertiary-care setting. *Epidemiology and Infection*. 2010; 138(5).
28. Castillo Rojas G, Mazari Hiriart M, Ponce de León S. Comparison of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains Isolated from

- Water and Clinical Samples: Antimicrobial Susceptibility and Genetic Relationships. PLoS ONE. 2013; 8(4).
29. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar L, Hernández-Hernández F, López Martínez R. La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. Gac Méd Méx. 2008; 144(1).
 30. Suarez Trueba B, Hart Casares M, Espinosa Rivera F, Salazar Rodriguez D, Llanes Rodrigues N. Identificación y mecanismos de resistencia en aislamientos de *Escherichia coli* multidrogorresistentes en un hospital terciario. Rev Panam Infectol. 2014; 16(4): p. 215-220.
 31. RHOVE. Informe Anual 2015. Ciudad de México: Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología; 2016.
 32. Mosquito S, Ruiz J, Bauer JL, Ochoa TJ. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011 Nov; 28(4): p. 648-56.
 33. Martínez-Meléndez A, Morfín-Otero R, Villarreal-Treviño L, Camacho-Ortiz A, González-González G. Molecular epidemiology of coagulase-negative bloodstream isolates: detection of *Staphylococcus epidermidis* ST2, ST7 and linezolid-resistant ST23. braz j infect dis. 2016 Jan; 20(5): p. 419-428.
 34. Bina M, Pournajaf A, Mirkalantari S, Talebi M, Irajian G. Detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) in *K. pneumoniae* Isolated from the Clinical Samples by the Phenotypic and Genotypic Methods. Iranian Journal of Pathology. 2015 Sep; 10(3): p. 199-205.
 35. Morales Parra G, Giovanetti MC, Zuleta Hernández A. Fenotipos de resistencia a meticilina, macrólidos y lincosamidas en *Staphylococcus aureus* aislados de un hospital de Valledupar, Colombia. Rev Cienc Salud. 2016 Jan; 14(2): p. 223-31.
 36. Rumbo C, Gato E, López M, Ruiz de Alegria C, Fernández Cuenca F, Martínez Martínez L. The contribution of efflux pumps, porins and beta-lactamases to multi-drug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2013 May; 12(4)
 37. Geisinger E, Mortma N, Vargas-Cuebas G, Tai A, Isberg R. A global regulatory system links virulence and antibiotic resistance to envelope homeostasis in *Acinetobacter baumannii*. PLoS Pathog. 2018 May; 14(5).
 38. Meletis G, Exindari M, Vavatsi N, Sofianou D, Diza E. Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Hippokratia. 2012 May; 16(4): p. 303-307.
 39. Dasgupta S, Das S, Chawan N, Hazra A. Nosocomial infections in the invasive care unit: Incidence, risk factors, outcome and associated pathogens in a public tertiary teaching hospital of Eastern India. Indian J Crit Care Med. 2015 Feb; 19(1): p. 14-20.

40. Cornejo-Juárez P, Velásquez-Acosta C, Sandoval S, Gordillo P, Volkow-Fernández P. Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos en un hospital oncológico. *Salud Publica Mex.* 2007 Jan; 49(3): p. 330-336.
41. Farmakiotis D, Kontoyiannis D. Epidemiology of antifungal resistance in human pathogenic yeasts: current viewpoint and practical recommendations for management. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2017 Sep; 50: p. 318-324.
42. Bolado-Martínez E, Nevárez-López AR, Candia-Plata MdC. Vigilancia de la resistencia bacteriana en instituciones de salud de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México. *salud pública de méxico.* 2018 Abr; 60(2): p. 117-119.
43. Rodríguez Martínez S, Cervantes-Villagrana A, Castañeda-Delgado J, Presno-Bernal JM, Cervantes-Villagrana R. Perfil de resistencia bacteriana en hemocultivos realizados en población mexicana en los años del 2009 al 2011. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab.* 2014 May; 61(2): p. 108-114.
44. Salazar-Holguín HD, Cisneros-Robledo ME. Resistencia a los antimicrobianos de agentes causales de las principales infecciones nosocomiales. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2016 Dic; 54(4): p. 462-71.
45. Gordillo-Altamirano F, Gordillo-Altamirano F, Barrera-Guarderas F. Perfil de resistencia de uropatógenos en pacientes con diabetes en Quito, Ecuador, inquietante panorama. *salud pública de méxico.* 2018 Feb; 60(1).
46. Calgin M, Cetinkol Y. Distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species at a university hospital in Northern Turkey. *J Infect Dev Ctries.* 2018 Oct; 12(2): p. 97-101.
47. Ortigoza-Medrano E, Arroyo-Espinosa DI. Susceptibilidad in vitro de las especies de *Candida* a los antifúngicos en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional de Occidente. *Med Int Méx.* 2014 may; 30(3): p. 373-380.
48. Martínez Ramos P, Máttar Velilla S. Resistencia a aminoglucósidos por los genes *aph(3')-VIa* y *aac(3')-II* en *Acinetobacter baumannii* aislados en Montería, Colombia. *Salud Uninorte. Barranquilla.* 2012 Mar; 28(2): p. 209-217.
49. Perumal N, Murugesan S, Krishnan P. Distribution of genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2016 Jun; 34(3): p. 350-352.
50. Hart Casares M, Martínez Batista M, González Maestrey A, Montes de Oca Méndez Z. Resistencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes graves. *Rev Biomed.* 2017; 19(2).
51. Villalobos Rodríguez A, Díaz Ortega M, Barrero Garzón L, Rivera Vargas S, Henríquez Iguarán D. Tendencias de los fenotipos de resistencia bacteriana

- en hospitales públicos y privados de alta complejidad de Colombia. *Rev Panam Salud Publica*. 2011; 30(6): p. 627-33.
52. Gómez Álvarez CA, Leal Castro AL, Pérez González MdJ, Navarrete Jiménez M. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *rev.fac.med*. 2005; 53(1)
 53. Liu H, Lin H, Lin Y. Antimicrobial susceptibilities of urinary extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* to fosfomycin and nitrofurantoin in a teaching hospital in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2011; 44(5): p. 364-68.
 54. Shanmugam D, Esak S, Narayanaswamy A. Molecular Characterisation of *nfsA* Gene in Nitrofurantoin Resistant Uropathogens. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016 Jun; 10(6): p. 05-09.
 55. Lall M, Sahni A. Prevalence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *Med J Armed Forces India*. 2014; 70(1): p. 43-47.
 56. Tamariz Ortiz J, Cruz Quintanilla J, Porras A, Figueroa Tataje J, Horna Quintana G, Guerra Allison H. Resistencia a clindamicina inducida por eritromicina en *Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima, Perú. *Acta méd. Peruana*. 2009; 26(1): p. 12-16.
 57. Delialioglu N, Aslan G, Ozturk C, Baki V, Sen S, Emekdas G. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples. *Jpn J Infect Dis*. 2005; 58(2): p. 104-6.
 58. Salinas Martínez C, Hernández Luna A, Oropeza R, Olvera Guzmán C, Poblano Morales M. Colistin en el tratamiento de infección por *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int*. 2010 Dic; 24(4): p. 173-177.
 59. Rodríguez C, Vesga O. *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. *Biomédica*. 2005; 25(3): p. 575-87.
 60. Karami N, Nowrouzian F, Adlerberth I, Wold A. Tetracycline resistance in *Escherichia coli* and persistence in the infantile colonic microbiota. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(4): p. 156-61.