



UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO

CAMPUS LEÓN

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y NUTRICIÓN

**Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos
de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* a
Ceftalozano-Tazobactam y Ceftazidima-Avibactam.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestro en Investigación Clínica

PRESENTA

Q.F.B. Luis Gerardo Medina Navarro

DIRECTORAS DE TESIS

Dra. Liliana Salgado Flores

Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío

Dra. María de Lourdes Reyes Escogido

Departamento de Medicina y Nutrición

Universidad de Guanajuato, Campus León

León, Guanajuato, julio 2020



Campus León

División de Ciencias
de la Salud
Departamento de
Medicina y Nutrición

Maestría en Investigación Clínica

El presente proyecto se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío, con la colaboración de: Q.F.B. Azyadeh Cobo Alba, Q.F.B. Luis Raúl Rivera Garay, Q.F.B. Daniela Carpio Nicasio y L.E.M. Cinthya Monserrat Ruiz Gutiérrez.



Campus León

División de Ciencias
de la Salud
Departamento de
Medicina y Nutrición

Maestría en Investigación Clínica



Dra. Esmeralda Rodríguez Miranda
Presente

Por acuerdo con el Dr. Tonatiuh García Campos, Director de la División de Ciencias de la Salud del Campus León, se le ha designado como Presidente del examen para obtener el grado de la Maestría en Investigación Clínica que sustentará el C. Luis Gerardo Medina Navarro

La modalidad de la titulación será por medio de la presentación de Tesis que con el título de "Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* a ceftalozano-tazobactam y ceftazidima-avibatam", ha completado y es satisfactorio de acuerdo al Director de trabajo.

Por lo anterior le solicito revise la tesis del alumno que acompaña al presente y nos informe mediante su voto si procede la realización del examen de titulación.

Su participación en este proceso es de la mayor importancia para la Misión de la Universidad por lo que deseo expresarle mi agradecimiento por su valiosa colaboración en la evaluación del trabajo y la realización del examen de titulación.

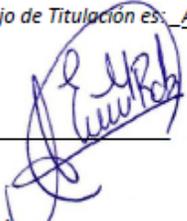
Sin otro particular me es grato reiterarle la seguridad de mi más alta consideración.

Atentamente
La Verdad Os Hará Libres
León, Gto 02 de julio de 2020
La Secretaria Académica de la División

Mtra. Cipriana Caudillo Cisneros

Para los sinodales:

Mi voto en relación con el trabajo de Titulación es: APROBADO

Firma: 

SECRETARIA ACADEMICA DE LA DIVISION DE CIENCIAS DE LA SALUD CAMPUS LEÓN
Bld. Puente Milenio No. 1001 Fracción del Predio San Carlos C.P. 37670 Tel. (477) 267 49 00 Ext. 3657



Campus León

División de Ciencias
de la Salud
Departamento de
Medicina y Nutrición

Maestría en Investigación Clínica



Dra. María de Lourdes Reyes Escogido
Presente

Por acuerdo con el Dr. Tonatiuh García Campos, Director de la División de Ciencias de la Salud del Campus León, se le ha designado como Secretario del examen para obtener el grado de la Maestría en Investigación Clínica que sustentará el C. Luis Gerardo Medina Navarro

La modalidad de la titulación será por medio de la presentación de Tesis que con el título de "Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos de escherichia coli y klebsiella pneumoniae a ceftalozano-tazobactam y ceftazidima-avibatam", ha completado y es satisfactorio de acuerdo al Director de trabajo.

Por lo anterior le solicito revise la tesis del alumno que acompaña al presente y nos informe mediante su voto si procede la realización del examen de titulación.

Su participación en este proceso es de la mayor importancia para la Misión de la Universidad por lo que deseo expresarle mi agradecimiento por su valiosa colaboración en la evaluación del trabajo y la realización del examen de titulación.

Sin otro particular me es grato reiterarle la seguridad de mi más alta consideración.

Atentamente
La Verdad Os Hará Libres
León, Gto 02 de julio de 2020
La Secretaria Académica de la División

Mtra. Cipriana Caudillo Cisneros

Para los sinodales:

Mi voto en relación con el trabajo de Titulación es: APROBADO

Firma: 

SECRETARIA ACADEMICA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD CAMPUS LEÓN

Blvd. Puente Milenio No. 1001 Fracción del Predio San Carlos C.P. 37670 Tel. (477) 267 49 00 Ext. 3657



Campus León

División de Ciencias
de la Salud
Departamento de
Medicina y Nutrición

Maestría en Investigación Clínica



Dra. Lilliana Salgado Flores
Presente

Por acuerdo con el Dr. Tonatiuh García Campos, Director de la División de Ciencias de la Salud del Campus León, se le ha designado como **Vocal** del examen para obtener el grado de la Maestría en Investigación Clínica que sustentará el **C. Luis Gerardo Medina Navarro**

La modalidad de la titulación será por medio de la presentación de Tesis que con el título de "Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos de *escherichia coli* y *klebsiella pneumoniae* a *cefalozano-tazobactam* y *ceftazidima-avibatam*", ha completado y es satisfactorio de acuerdo al Director de trabajo.

Por lo anterior le solicito revise la tesis del alumno que acompaña al presente y nos informe mediante su voto si procede la realización del examen de titulación.

Su participación en este proceso es de la mayor importancia para la Misión de la Universidad por lo que deseo expresarle mi agradecimiento por su valiosa colaboración en la evaluación del trabajo y la realización del examen de titulación.

Sin otro particular me es grato reiterarle la seguridad de mi más alta consideración.

Atentamente
La Verdad Os Hará Libres
León, Gto 02 de julio de 2020
La Secretaria Académica de la División

Mtra. Cipriana Caudillo Cisneros

Para los sinodales:

Mi voto en relación con el trabajo de Titulación es: APROBADO.

Firma: 

SECRETARIA ACADEMICA DE LA DIVISION DE CIENCIAS DE LA SALUD CAMPUS LEÓN
Blvd. Puente Milenio No. 1001 Fracción del Predio San Carlos C.P. 37670 Tel. (477) 267 49 00 Ext. 3657



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío (HRAEB) y su Comité de Investigación, por la aprobación y apoyo para llevar a cabo este proyecto bajo el folio CI/HRAEB/086/2018.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado en el desarrollo de los estudios de Maestría con la asignación del número CVU 889247.

A la Universidad de Guanajuato, por impulsar el desarrollo tecnológico y científico a través de este tipo de programas de posgrado que logra que los profesionales de la salud sigamos mejorando.



AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi familia Leslie y Cristopher por el apoyo incondicional para lograr este objetivo que también es de ustedes, los amo.

A la Dra. Lourdes Reyes Escogido, por aceptar dirigir este proyecto y por todo el apoyo brindado durante la Maestría, especialmente cuando este proyecto iniciaba, muchas gracias.

A la Dra. Liliana Salgado Flores, por motivarme y apoyarme en la elaboración de este proyecto y también dirigirlo, sin duda su gran experiencia y conocimientos influyen en mi persona y en este logro.

A la Dra. Esmeralda Rodríguez Miranda por colaborar y aportar sus mejoras al trabajo realizado.

A Q.F.B. Luis Raúl Rivera Garay, por todos los agradables días de trabajo en el laboratorio, desde hace ya varios años sigues siendo para mí un gran ejemplo del profesional del laboratorio de microbiología, gracias chafa.

A la empresa y personal de Análisis Clínicos de León que de alguna manera participaron en este trabajo, principalmente a Q.F.B. Azyadeh Cobo Alba por permitir y apoyar este proyecto; a Dany y Arturo por su apoyo en el laboratorio.



Contenido

INDICE DE FIGURAS	i
INDICE DE TABLAS	ii
ABREVIATURAS.....	iii
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
ANTECEDENTES	5
I) Aspectos generales.....	5
II) Resistencia a antibióticos	8
III) Medicamentos usados contra bacterias con resistencia extendida	14
IV) Farmacodinamia de antibióticos	17
V) Infecciones urinarias	18
JUSTIFICACIÓN	19
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	20
HIPÓTESIS.....	21
OBJETIVOS.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
RESULTADOS	31
DISCUSION	43
CONCLUSION	48
PERSPECTIVAS	49
REFERENCIAS.....	50
ANEXOS.....	59



INDICE DE FIGURAS



Figura 1. Representación esquemática de beta-lactamasas..... 10

Figura 2. Prevalencia y porcentaje de *Enterobacteriaceae* de interés aislados en urocultivo en el laboratorio de microbiología del HRAEB (octubre 2018 a julio 2019)..... 32

Figura 3. Variabilidad de MIC ($\mu\text{g/mL}$) de C-T en cepas sensibles de *E. coli*..... 35

Figura 4. Variabilidad de MIC ($\mu\text{g/mL}$) de C-T en cepas no sensibles de *E. coli*..... 36

Figura 5. Variabilidad en tamaño de halos de inhibición (mm) de CZA en cepas sensibles de *E. coli*..... 37

Figura 6. Variabilidad de MIC ($\mu\text{g/mL}$) de C-T en cepas sensibles de *K. pneumoniae*..... 39

Figura 7. Variabilidad en tamaño de halos de inhibición (mm) de CZA en cepas sensibles de *K. pneumoniae*..... 40



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características generales de los pacientes y servicios hospitalarios.....	31
Tabla 2. Clasificación BLEE de las cepas de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> aisladas de urocultivo.....	33
Tabla 3. Perfil antimicrobiano de las cepas de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> frente a otros antibióticos. Valores expresados en porcentaje de resistencia.....	33
Tabla 4. Sensibilidad a C-T y CZA de las cepas de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> aisladas de urocultivo.....	34
Tabla 5. Medianas de MIC _{C-T} y mm _{CZA} por servicio de atención hospitalaria.....	41
Tabla 6. Medianas de MIC _{C-T} y mm _{CZA} por sexo de paciente.....	42
Tabla 7. MIC ₉₀ de C-T para <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> BLEE positivas.....	42



ABREVIATURAS

CDC:	Centers for Disease Control and Prevention (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades)
EUA:	Estados Unidos de América
ECDC:	European Centre for Disease Prevention and Control (Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades)
OMS:	Organización Mundial de Salud
PUCRA:	Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana
INVIFAR:	Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia
MRSA:	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la Meticilina)
MIC:	Minimum Inhibitory Concentration (Concentración Mínima Inhibitoria)
BLEE:	Beta Lactamasas de Espectro Extendido
IDSA:	Infectious Disease Society of America (Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América)
MDR:	Multiple Drug Resistance (Multidrogo resistencia)
C-T:	Ceftalozano-Tazobactam



PBP:	Penicillin Binding Protein (Proteína ligada a Penicilina)
FDA:	Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos)
CZA:	Ceftazidima-Avibactam
PK/PD:	Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (Farmacocinética/Farmacodinámica)
ITU:	Infección del Tracto Urinario
UPEC:	UroPathogenic <i>Escherichia coli</i> (<i>Escherichia coli</i> uropatógena)
H₀:	Hipótesis nula
H₁:	Hipótesis alterna
HRAEB:	Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío
CLSI:	Clinical & Laboratory Standards Institute (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio)
CTX:	Cefotaxima
CAZ:	Ceftazidima



RESUMEN

Antecedentes. La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial por el aumento en los niveles de morbilidad y mortalidad, además de incrementar el gasto en las instituciones de salud. La producción de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) es uno de los mecanismos de resistencia que se presenta en la mayoría de los aislamientos de Enterobacterias causantes de infección en distintos sitios anatómicos. Una de las estrategias para combatir la resistencia antimicrobiana es la síntesis de nuevas moléculas capaces de inhibir los mecanismos de resistencia conocidos actualmente; dos de estas nuevas moléculas son Ceftolozano-Tazobactam (C-T) y Ceftazidima-Avibactam (CZA), que han mostrado buen rendimiento frente a cepas productoras de BLEE.

Objetivo. Determinar la actividad antimicrobiana de C-T y CZA en aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE.

Material y Métodos. Estudio transversal descriptivo de la sensibilidad a los antibióticos C-T y CZA mostrada por las bacterias *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE y aisladas de urocultivo de pacientes atendidos en el Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío. Los cultivos fueron procesados en el laboratorio de Microbiología del mismo hospital; las variables se reportaron como medias y desviaciones estándar y como frecuencias y porcentajes. El análisis para la comparación de las susceptibilidades de las diferentes cepas a CZA y C-T se realizó con la prueba exacta de Fisher, las diferencias se consideraron significativas con valores $p < 0.05$.

Resultados. Se aislaron 297 cepas de interés durante un periodo de siete meses, la identificación mostró una prevalencia de 257 cepas de *E. coli* (86.5 %) y 40 cepas *K. pneumoniae* (13.5 %); se detectaron 135 cepas de *E. coli* BLEE de las cuales 125 (92.6 %) presentaron sensibilidad a C-T. Por otro lado, 134 cepas (99.2 %) presentaron sensibilidad a CZA. En tanto para *K. pneumoniae* se detectó la



producción fenotípica de BLEE en 23 cepas, de las cuales el 100 % presento sensibilidad a C-T. El comportamiento frente a CZA por parte de *K. pneumoniae* fue el mismo que mostro frente a C-T, todas las cepas fueron sensibles. La sensibilidad a los antibióticos C-T y CZA no está relacionada con el tipo de microorganismo aislado de urocultivo ($p > 0.05$, prueba exacta de Fisher).

Conclusiones. Los antibióticos C-T y CZA son una buena opción terapéutica para combatir cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE aisladas en urocultivo. La actividad de CZA es mayor, aunque la actividad de C-T no se encuentra alejada, siendo ambas combinaciones buenas opciones para tratamiento.

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Ceftolozano-Tazobactam, Ceftazidima-Avibactam.



ABSTRACT

Background. Antimicrobial resistance has become a global health problem because of increasing levels of morbidity and mortality, as well as increased spending in health institutions. The extended-spectrum beta-lactamase-producing (ESBL) is one of the resistance mechanisms that occurs in most isolations of Enterobacteria causing infection at different anatomical sites. One of the strategies to combat antimicrobial resistance is the synthesis of new molecules capable of inhibiting the resistance mechanisms currently known; two of these new molecules are Ceftolozane-Tazobactam (C-T) and Ceftazidime-Avibactam (CZA) which have shown good performance against ESBL-producing strains.

Aim. Establish the antimicrobial activity of C-T and CZA in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* ESBL- producing.

Material and methods. Descriptive cross-sectional study of the sensitivity to C-T and CZA antibiotics shown by ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* bacteria and urine culture isolates from patients treated at the Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío. Cultures were processed in the microbiology laboratory of the same hospital; variables were reported as means and standard deviations and as frequencies and percentages. The analysis for the comparison of the susceptibilities of the different strains to CZA and C-T was performed with Fisher's exact test; the differences were considered significant with values $p < 0.05$.

Results. A total of 297 strains of interest were isolated during a seven-month, the identification showed a prevalence of 257 *E. coli* strains (86.5 %) and 40 *K. pneumoniae* strains (13.5 %); 135 *E. coli* ESBL strains were detected of which 125 (92.6 %) showed sensitivity to C-T. On the other hand, 134 strains (99.2 %) showed sensitivity to CZA. For *K. pneumoniae*, the phenotypic production of ESBL in 23 strains, of which 100 % showed sensitivity to C-T. The behavior against CZA by *K. pneumoniae* was the same as that shown against C-T, all strains were sensitive.



Sensitivity to C-T and CZA antibiotics is not related to the type of microorganism isolated from urine culture ($p > 0.05$, Fisher's exact test).

Conclusion. C-T and CZA antibiotics are a good therapeutic option to fight *E. coli* and *K. pneumoniae* strains ESBL- producing isolated in urine culture. CZA activity is higher, although C-T activity is not far away, being both combinations good options for treatment.

Keywords. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ceftolozano-tazobactam, ceftazidima-avibactam.



ANTECEDENTES

I) Aspectos generales

Los medicamentos antimicrobianos son aquellos que tienen actividad contra diversas enfermedades infecciosas, como las causadas por bacterias (antibióticos), virus (antivirales), hongos (antifúngicos) y parásitos (antiparasitarios). La resistencia antimicrobiana surge cuando los microorganismos que causan la infección sobreviven a la exposición a un medicamento que normalmente los mataría o inhibiría su crecimiento. Esto permite que las cepas que son capaces de sobrevivir a la exposición a un medicamento en particular se propaguen, debido a la falta de competencia de otras cepas. La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema en los últimos tiempos porque el uso excesivo de estos fármacos ha incrementado la velocidad a la que se desarrolla y se propaga la resistencia. De mantenerse la evolución de la resistencia antimicrobiana a la velocidad actual, se espera que para el año 2050 se presenten más de 10 millones de muertes causadas por al menos 6 de los gérmenes con mayor resistencia antimicrobiana demostrada. Así mismo, se ha proyectado que el costo acumulativo para la economía mundial superará los 100 billones de dólares (1).

Las infecciones causadas por aislados con resistencia extendida se asocian con un aumento de los costos, incremento en la duración de hospitalización y de las tasas de morbilidad y mortalidad (2). Más del 21 % de las infecciones adquiridas en el hospital son causadas por patógenos resistentes a los antimicrobianos (3). Un efecto asociado a las infecciones de los pacientes con gérmenes resistentes fue demostrado por Roberts y col (2009), al describir diferencias notables en el tiempo de estancia hospitalaria, con un aumento promedio de 5.3 días (de 6.4 a 12.7), en asociación directa con una tasa de mortalidad atribuible de 6.5 % (4).



El impacto de la resistencia a los antibióticos es difícil de estimar, y actualmente hay poca información que aborda este tema. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos de América (EUA) estimó que, más de dos millones de personas cada año presentan infecciones causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos ocasionado la muerte de al menos 23 000 personas (5). Mientras que en Europa el Centro europeo para la prevención y el control de enfermedades (ECDC) reportó que el número de infecciones debidas a las bacterias multirresistentes más frecuentes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*) fue de 148,727; 297,416; 68,588 y 61,892 respectivamente en el año 2015, a las cuales se les atribuyeron 33,110 muertes (6).

La información disponible sobre resistencia a antibióticos en México es escasa, comparada con la disponible en países desarrollados, pero existe evidencia de que la resistencia es un problema grave. Amabile-Cuevas (2010) describió porcentajes altos de resistencia en bacilos Gram negativos (*Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter sp.*) y porcentajes más bajos de resistencia en cocos Gram positivos (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecium*), excepto en *Streptococcus pneumoniae* donde la resistencia a penicilina alcanza el 70 % (7).

Morfin-Otero y col. (2012) evaluaron 2132 bacterias Gram negativas recolectadas entre enero de 2005 y diciembre de 2010 de infecciones adquiridas en dos hospitales universitarios en México. *Escherichia coli* fue la bacteria Gram negativa más frecuentemente aislada, con más del 50 % de las cepas resistentes a ciprofloxacina y levofloxacina. La tasa de resistencia de *Klebsiella sp.* fue similar a la reportada para *Escherichia coli* para ceftazidima (33.1 % vs 33.2 %), pero ambas mostraron tasas más bajas para levofloxacina (18.2 % vs 56 %). El 12.8 % de las *Pseudomonas aeruginosa* aisladas fueron resistentes a los carbapenémicos, imipenem y meropenem (8).



Derivado del Plan de Acción Mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos establecido en la 68ª Asamblea de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (9) celebrada en el mes de mayo del año 2015, en México se conformaron dos redes de vigilancia de la fármaco resistencia en el año 2018, el Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA) y la Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia (INVIFAR), con el objetivo de luchar contra la resistencia a los antimicrobianos contribuyendo al mejoramiento en la vigilancia y control de la fármaco resistencia; están constituida por Laboratorios, Hospitales, Centros de Investigación y Universidades de México de las áreas de Microbiología Clínica, Infectología, Biología Molecular y Epidemiología ubicados en diversas entidades de la República Mexicana.

En el presente año INVIFAR publicó los primeros resultados recolectados durante 6 meses, en este informe se incluyeron 22,943 cepas. En microorganismos Gram negativos, se detectó resistencia a carbapenémicos $\leq 3\%$ en *Escherichia coli*, 12.5 % en *Klebsiella sp.* y *Enterobacter sp.* y hasta 40 % en *Pseudomonas aeruginosa*. Para *Acinetobacter sp.* las tasas de resistencia a cefepime, ciprofloxacina, meropenem y piperacilina tazobactam fueron superiores al 50 %. Con respecto a los Gram positivos, la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* (MRSA) fue del 21.4 % y la resistencia a vancomicina alcanzó hasta 21 % en *Enterococcus faecium*. *Acinetobacter sp.* presentó la más alta resistencia a múltiples fármacos (53%) seguido de *Klebsiella sp.* (22,6%) y *E. coli* (19,4%) (10).

Por su parte PUCRA publicó en octubre pasado el análisis de los datos recolectados en el 2018, donde se obtuvo información relevante; en urocultivos, la resistencia en *E. coli* fue superior al 50 % para cefalosporinas de 3ª y 4ª generación, trimetoprim/sulfametoxazol y ciprofloxacina. En *K. pneumoniae* la resistencia fue mayor al 40 % para cefalosporinas de 3ª y 4ª generación, nitrofurantoína, ciprofloxacina y trimetoprim/sulfametoxazol. En hemocultivos se detectó alta resistencia (40% a 87%) de *A. baumannii* a todos los antibióticos probados (11).



Los niveles de resistencia y la evidencia científica de las implicaciones de las enfermedades infecciosas por gérmenes multidrogo resistentes han provocado la aplicación de estrategias para optimizar los antibióticos actuales y reducir la incidencia de la droga resistencia con la subsecuente mejora de la sobrevivencia del enfermo. Debe incentivarse la colaboración de los sectores públicos y privados para el desarrollo de nuevos antimicrobianos con actividad en contra de éstos patógenos (12).

II) Resistencia a antibióticos

La resistencia a antibióticos se presenta cuando los microorganismos que causan infección sobreviven a la exposición a un medicamento que normalmente los mataría o detendría su crecimiento (1). La resistencia es el resultado esperado de la interacción de muchos organismos con su entorno; el concepto de resistencia/susceptibilidad en la práctica clínica es un fenómeno relativo. Se han establecido puntos de corte los cuales permiten clasificar a los microorganismos en base a sus niveles de susceptibilidad como: susceptibles, intermedios y resistentes, los puntos de corte para esta clasificación están determinados por la actividad *in vitro* de un antibiótico contra el microorganismo a evaluar, por lo que la interpretación de los patrones de susceptibilidad puede variar según el escenario clínico (13).

Existen tres mecanismos fundamentales de la resistencia a antibióticos:

1. Degradación enzimática de fármacos antibacterianos.
2. Alteración de proteínas bacterianas que son dianas antibióticas.
3. Cambios en la permeabilidad de la membrana a los antibióticos.

La resistencia a los antibióticos puede ser mediada por plásmidos o mantenerse en el cromosoma bacteriano (14).



Una de las estrategias bacterianas más exitosas para hacer frente a la presencia de antibióticos es producir enzimas que inactivan el fármaco agregando restos químicos específicos al compuesto o que destruyen la molécula, haciendo que el antibiótico no pueda interactuar con su objetivo. Se han descrito muchos tipos de enzimas modificadoras, y las reacciones bioquímicas más frecuentes que las catalizan incluyen: acetilación (aminoglucósidos, cloranfenicol, estreptograminas), fosforilación (aminoglucósidos, cloranfenicol) y adenilación (aminoglucósidos, lincosamidas). Independientemente de la reacción bioquímica, el efecto resultante a menudo se relaciona con el impedimento estérico que disminuye la avidéz del fármaco por su objetivo, que, a su vez, se refleja en las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) bacterianas más altas (15).

Uno de los mecanismos de resistencia a antibióticos beta-lactámicos es la degradación efectuada por enzimas denominadas beta lactamasas. Estas enzimas rompen el enlace amida del anillo beta-lactámico, haciendo que el antimicrobiano sea inefectivo (16).

Con el paso del tiempo se detectó la aparición de nuevas generaciones de beta-lactamasas con características enzimáticas capaces de destruir cualquier compuesto novedoso disponible; lo anterior describe perfectamente la evolución bacteriana adaptativa inducida por antibióticos.

Hasta la fecha, se han descrito más de 1000 beta-lactamasas diferentes y es probable que se sigan informando muchas más, como parte del proceso normal de evolución bacteriana. Se han propuesto dos esquemas de clasificación principales en un intento de agrupar este gran número de enzimas. Primero, la clasificación de Ambler, que se basa en la identidad de la secuencia de aminoácidos y separa las beta-lactamasas en 4 grupos (A, B, C y D). Por otro lado, la clasificación de Bush-Jacoby divide las beta-lactamasas en 4 categorías (cada una con varios subgrupos) según su función bioquímica, basada principalmente en la especificidad del sustrato (14,15).



Los genes que codifican para beta-lactamasas generalmente se denominan *bla*, seguidos del nombre de la enzima específica (por ejemplo, *bla*_{KPC}) y se han encontrado en el cromosoma y/o en elementos genéticos móviles (plásmidos y transposones). Estos genes también se pueden encontrar formando parte de integrones, una situación que facilita su diseminación. En términos de su expresión, la transcripción de estos genes puede ser constitutiva o puede requerir una señal externa para inducir su producción (13).

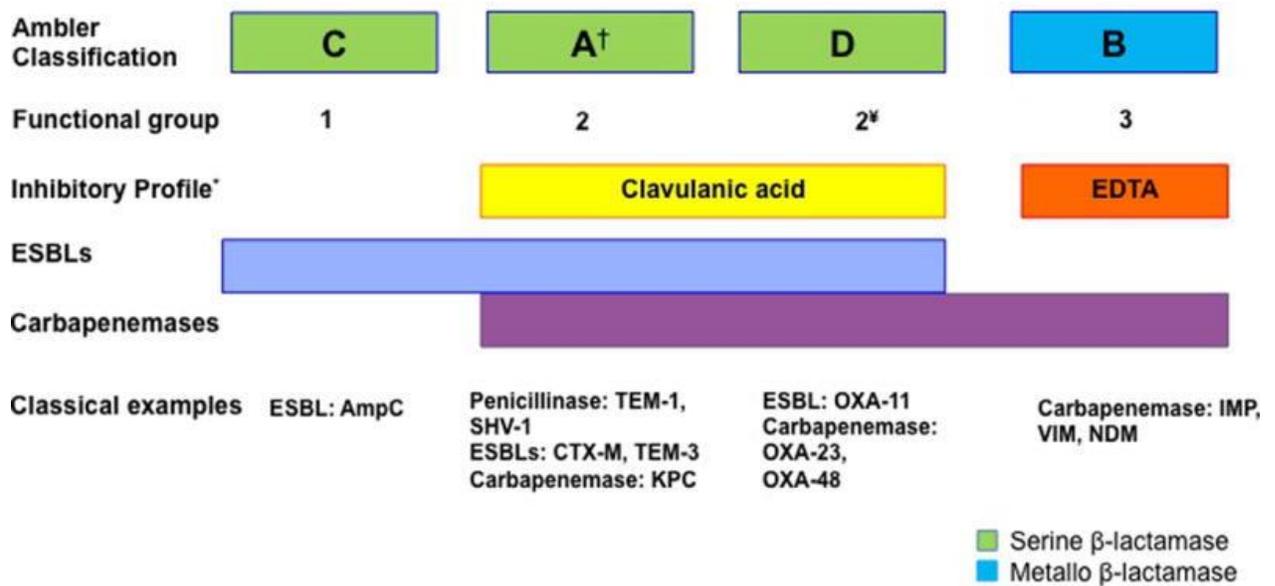


Figura 1. Representación esquemática de beta-lactamasas (13).

Las enzimas denominadas BLEE (Beta-Lactamasa de Espectro Extendido) tiene la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de 3^a generación (característica distintiva) y monobactámicos, presenta actividad moderada (o ninguna) contra cefamicinas y los carbapenémicos. La mayoría de las BLEE pertenecen a la clase A de Ambler y, como tales, generalmente están inhibidas por el ácido clavulánico o el tazobactam (13). La mayoría de las BLEE son derivados de las enzimas TEM o SHV (16,17). Las enzimas BLEE de tipo TEM y SHV se encuentran con mayor



frecuencia en *E. coli* y *K. pneumoniae*; sin embargo, también se han encontrado en *Proteus* spp., *Providencia* spp. y otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* (20).

TEM

TEM-1 es la beta-lactamasa más frecuente en bacterias Gram-negativas. Hasta el 90 % de la resistencia a la ampicilina en *E. coli* se debe a la producción de TEM-1 (21). TEM-1 es capaz de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas tempranas como la cefalotina y la cefaloridina. TEM-2, el primer derivado de TEM-1, tuvo una única sustitución de aminoácido de la beta-lactamasa original y no se observaron cambios en el perfil del sustrato. TEM-3, fue la primera β -lactamasa de tipo TEM que mostró el fenotipo BLEE (22). Las combinaciones de estos cambios de aminoácidos producen diversas alteraciones sutiles en los fenotipos BLEE, como la capacidad de hidrolizar oxiiimino-cefalosporinas específicas, como ceftazidima y cefotaxima.

SHV

La beta-lactamasa SHV-1 se encuentra más comúnmente en *K. pneumoniae* y es responsable de hasta el 20 % de la resistencia a la ampicilina mediada por plásmidos en esta especie. En muchas cepas de *K. pneumoniae*, *bla*_{SHV-1} o un gen relacionado está integrado en el cromosoma bacteriano (21). A diferencia de las beta-lactamasas de tipo TEM, hay relativamente pocos derivados de SHV-1. Además, los cambios que se han observado en *bla*_{SHV} para dar lugar a las variantes de SHV se producen en menos posiciones dentro de la estructura del gen. La mayoría de las variantes de SHV que poseen un fenotipo BLEE se caracterizan por la sustitución de una serina por glicina en la posición 238. Variantes relacionadas con SHV-5 también tienen una sustitución de lisina por glutamato en la posición 240. El residuo de serina es crítico para la hidrólisis eficiente de la ceftazidima, y el residuo de lisina lo es para la hidrólisis eficiente de la cefotaxima (23).



CTX-M

En los últimos años, ha surgido una nueva familia de BLEE mediadas por plásmidos, llamada CTX-M, que preferentemente hidroliza la cefotaxima. Se han encontrado principalmente en cepas de *Salmonella entérica* y *E. coli*, pero también se han descrito en otras especies de *Enterobacteriaceae*. Se incluyen las enzimas tipo CTX-M CTX-M-1, CTX-M-2 a CTX-M-10 (24). Estas enzimas no están estrechamente relacionadas con las beta-lactamasas TEM O SHV, ya que muestran una identidad de aproximadamente el 40 % con estas dos beta-lactamasas (25).

OXA

Las enzimas tipo OXA son otra familia de BLEE, estas difieren de las enzimas TEM y SHV en que pertenecen a la clase molecular D y al grupo funcional 2d. Las beta-lactamasas tipo OXA confieren resistencia a la ampicilina y la cefalotina y se caracterizan por su alta actividad hidrolítica contra la oxacilina y la cloxacilina y por el hecho de que están poco inhibidas por el ácido clavulánico (18).

AmpC

Es una cefalosporinasa que generalmente se codifica en el cromosoma (aunque el gen *bla_{AmpC}* también se ha encontrado en plásmidos). La producción de AmpC cromosómico es un sello distintivo de *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *Providencia sp.*, *Morganella morganii* y *P. aeruginosa*, entre otros. A diferencia de *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Klebsiella sp.* y *Stenotrophomonas sp.* donde el gen *bla_{AmpC}* está ausente del genoma central (26).

KPC

Carbapenemasa de clase A que se aloja clásicamente en plásmidos (27). A diferencia de otras enzimas de clase A, no son inhibidas por el ácido clavulánico y el tazobactam. Aunque estas enzimas se encuentran predominantemente en *Klebsiella sp.* (por eso su nombre, **K**lebsiella **p**neumoniae **c**arbapenemase), se han reportado en otras bacterias Gram-negativas, incluyendo *Enterobacter sp.*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, y *Salmonella sp.*, entre otros. Hasta la fecha, se han descrito un total de 22 variantes del gen *bla_{KPC}*, la mayoría de ellas ubicadas en plásmidos que albergan elementos transponibles (28).



Aunque muchas bacterias siguen siendo susceptibles a la mayoría de antimicrobianos, existe un grupo que escapa a la acción letal de diversos tipos de antibióticos. Este pequeño grupo se denomina ESKAPE e incluye a las bacterias: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp.* Estos patógenos se han identificado principalmente en hospitales de países desarrollados y en vías de desarrollo (29).

Los patógenos del grupo ESKAPE tendrán una importancia mayor para la quimioterapia antimicrobiana en los próximos años por la amenaza clínica que representan. Una mayor comprensión de la virulencia, resistencia, transmisión y patogenicidad en estos microbios puede conducir a estrategias innovadoras para el desarrollo de nuevas opciones antimicrobianas. Dirigir la atención hacia estos microorganismos ayudará a enfocar el desafío expansivo de la resistencia antimicrobiana y permitirá una evaluación crítica eficiente de nuevos agentes antimicrobianos (30).

En respuesta a las crecientes tasas de infecciones que presentan resistencia a los medicamentos, la Sociedad de enfermedades infecciosas de América (IDSA por sus siglas en inglés) lanzó la iniciativa 10 x '20 en el año 2010, una campaña que exige el compromiso mundial para desarrollar 10 antibióticos novedosos, seguros y efectivos para el año 2020 (31). Esta iniciativa se enfoca en el desarrollo de antibióticos para atacar los patógenos ESKAPE que presentan mayor resistencia a los antimicrobianos. En la actualización del año 2013, IDSA enfatizó en la necesidad de generar nuevos agentes antimicrobianos para tratar organismos Gram-negativos, incluidos los patógenos resistentes a múltiples fármacos (MDR) (32).



III) Medicamentos usados contra bacterias con resistencia extendida

Uno de estos antibióticos de nueva generación es **Ceftalozano-Tazobactam (C-T)**, una cefalosporina beta-lactámica unida a un inhibidor de beta-lactamasas que es comercializado como un agente para el tratamiento de infecciones complicadas del tracto urinario e intraabdominal. Su dosificación y características químicas proporcionan cobertura antimicrobiana expansiva de organismos Gram-negativos, y actividad contra la mayoría de los organismos productores de beta-lactamasas de espectro extendido y algunos anaerobios. C-T es susceptible a la hidrólisis por las enzimas carbapenemasas, pero no se ve afectado por otros mecanismos de resistencia como las bombas de eflujo y pérdida de porinas (33).

El Ceftalozano es una oximino-cefalosporina que contiene un 7-amino-tiadiazol que proporciona una mayor actividad contra organismos Gram-negativos, así como un grupo alcoximino que proporciona estabilidad contra diversas beta-lactamasas. La adición de un anillo de pirazol en la posición 3 impide la hidrólisis del anillo beta-lactámico a través de impedimento estérico. Esta cadena lateral contribuye a la estabilidad del Ceftalozano en presencia de beta-lactamasas tipo AmpC (33). El Ceftalozano, al igual que otros beta-lactámicos, se une a las proteínas de unión a la penicilina (PBP), lo que resulta en una degradación del enlace peptidoglucano. La inhibición de la reticulación conduce a la interrupción de la síntesis de la pared celular y lisis celular eventual (34).

El Tazobactam es una sulfona de ácido penicilánico, inhibidor de beta-lactamasas que confiere protección al anillo beta-lactámico. La adición de Tazobactam al Ceftalozano facilita la actividad mejorada contra Enterobacterias, incluyendo a las productoras de BLEE y algunos anaerobios (33).



El C-T muestra actividad bactericida tanto *in vitro* como *in vivo* contra las bacterias *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus salivarius* y *Bacteroides fragilis*, y está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para el tratamiento de infecciones intraabdominales complicadas causadas por estos patógenos cuando se usan en combinación con metronidazol. El C-T también está aprobado por la FDA para el tratamiento de infecciones complicadas del tracto urinario, incluida la pielonefritis, causada por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, y *Pseudomonas aeruginosa* (34).

Otro antibiótico novedoso de uso reciente es **Ceftazidima-Avibactam (CZA)**, una combinación de una cefalosporina de tercera generación, Ceftazidima, y un inhibidor de beta-lactamasas, Avibactam. El CZA está aprobado en EUA para su uso en adultos que requieren tratamiento de infección intraabdominal complicada (en combinación con metronidazol), infección urinaria complicada (incluyendo pielonefritis) y neumonía adquirida en el hospital, que incluye neumonía asociada a ventilación mecánica causado por microorganismos Gram-negativos (35).

La Ceftazidima, como la mayoría de las cefalosporinas de tercera generación, posee una cadena lateral R1 con un grupo 2-aminotiazol. Esto aumenta la afinidad de unión por los PBP entre una multitud de organismos Gram-negativos. A diferencia de otros agentes de esta generación, la Ceftazidima tiene un ácido dimetilacético en el carbono alfa en lugar del grupo de metoxiamino que es más común en los antibióticos beta-lactámicos. La Ceftazidima generalmente es inestable en presencia de beta-lactamasas de clase B de Ambler, BLEE y carbapenemasas (36).

Avibactam, a diferencia de otros inhibidores de beta-lactamasas actualmente aprobados, es un inhibidor de beta-lactamasas no beta-lactámico. En lugar de un núcleo de beta-lactama, el Avibactam se diseñó alrededor de una estructura de



diaza-biciclo octano. Este núcleo bicíclico ha sido meticulosamente diseñado para mantener las similitudes estructurales con los beta-lactámicos al tiempo que incorpora un estado de transición más rígido y sitios adicionales para enlaces de hidrógeno con residuos del sitio activo de las beta-lactamasas. A diferencia de otros inhibidores de beta-lactamasas, esto se logra sin aumentar drásticamente el peso molecular o el tamaño de la estructura (36). Avibactam contribuye a la actividad de ceftazidima al protegerla de la degradación por una variedad de serina beta-lactamasa. Avibactam tiene un amplio espectro de actividad, inhibiendo beta-lactamasas de clase A de Ambler (por ejemplo, TEM-1, CTX-M-15, KPC-2, KPC-3), clase C (por ejemplo, AmpC) y algunas de clase D (por ejemplo, OXA-10, OXA-48), aunque no es activo contra las enzimas de clase B (metalobeta-lactamasas) (35).

La adición de Avibactam a Ceftazidima expande el espectro de actividad contra microorganismos Gram-negativos para incluir muchas Enterobacterias resistentes a la Ceftazidima sola. Los datos de susceptibilidad *in vitro* que examinan la actividad de CZA frente a organismos que producen beta-lactamasas demuestran una actividad confiable contra las beta-lactamasas de clase A y C de Ambler (36).

Los aislados bacterianos resistentes a beta-lactámicos obtenidos de muestras clínicas de pacientes hospitalizados representan un desafío importante para el tratamiento exitoso de infecciones graves. En particular la resistencia mediada por beta-lactamasas, representa una amenaza clínica significativa debido a la naturaleza móvil de los genes que codifican estas enzimas (37). Por lo anterior resulta útil evaluar la actividad de C-T y CZA contra Enterobacterias con perfil de resistencia múltiple y expresión fenotípica de enzimas que degradan ciertos tipos de antibióticos, principalmente beta-lactámicos.



IV) Farmacodinamia de antibióticos

Los principios farmacocinéticos-farmacodinámicos (PK/PD) fueron descritos por primera vez por Eagle entre los años cuarenta y cincuenta, tras evaluar los resultados obtenidos en modelos animales de roedores, logrando identificar el patrón dependiente del tiempo de la actividad bactericida de la penicilina (38). Se denomina antibioterapia adecuada al régimen terapéutico con actividad demostrada *in vitro* frente al microorganismo causal, por ejemplo, cuando el microorganismo aislado de la muestra clínica es sensible al tratamiento empírico inicialmente prescrito. Sin embargo, el perfil de sensibilidad del microorganismo sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) no aporta información sobre la dosificación más apropiada, y puede darse el caso de que a pesar de prescribir un antibiótico al cual la bacteria diana es sensible, la evolución clínica del paciente no sea favorable (39). Por lo tanto, la idoneidad de un tratamiento antibiótico no solo está condicionada por una adecuada selección del antibiótico, sino que también va a depender del régimen de dosificación utilizado (40).

Los parámetros farmacodinámicos cuantifican la actividad de un agente antimicrobiano, que está condicionada por las concentraciones que se alcanzan en el lugar de acción, dependientes del comportamiento PK, y de la sensibilidad del microorganismo al antibiótico, expresada como MIC. Desde el punto de vista de la actividad PD, los antibióticos se clasifican en función del tipo de actividad antibacteriana y de la presencia de efecto post-antibiótico. Así, la actividad antibacteriana puede ser dependiente de la concentración si al aumentar la concentración del agente se produce una mayor eliminación del microorganismo, o dependiente del tiempo si la actividad antimicrobiana depende de la duración de la exposición del microorganismo al antibiótico (40). Teniendo esto en cuenta, los antibióticos se pueden clasificar en 3 grupos (41):

1. Antibióticos con actividad dependiente de la concentración y prolongado efecto post-antibiótico.



2. Antibióticos con actividad dependiente del tiempo y efecto post-antibiótico mínimo o moderado.
3. Antibióticos con actividad independiente de la concentración y prolongado efecto post-antibiótico.

Para poder diseñar los regímenes de dosificación de los antibióticos es necesario conocer sus características PK y PD (42).

V) Infecciones urinarias

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se encuentran entre las infecciones bacterianas más comunes adquiridas en entornos comunitarios y hospitalarios (43). Las ITU son una causa principal de ingresos hospitalarios y están asociadas con incrementos en morbilidad, mortalidad y costos (44). Las entidades clínicas abarcadas por el término “ITU” incluyen bacteriuria asintomática, cistitis aguda no complicada, cistitis recurrente, bacteriuria asintomática asociada a catéter, infección urinaria asociada a catéter, prostatitis y pielonefritis (45).

Las bacterias más comunes aisladas en ITU, incluyen a Gram-negativos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii* y *Morganella morganii*; y Gram-positivos como *Staphylococcus saprophyticus* y *Enterococcus sp.* (46).

Escherichia coli es el principal agente causal de ITU (47), siendo el grupo de *E. coli* uropatógena (UPEC) el que se presenta en aproximadamente 90% de las ITU adquiridas en la comunidad y hasta en el 50 % de ITU nosocomiales (46, 47). En los últimos años, las cepas UPEC han mostrado un aumento en el nivel de resistencia antimicrobiana a los antibióticos de primera línea. Estudios de vigilancia durante la primera década de 2000 en Europa, América del Norte y América del Sur mostraron la presencia de resistencia en 20 a 45 % de los aislados UPEC (41, 47).



JUSTIFICACIÓN

Actualmente la resistencia a los antibióticos representa un problema de salud que requiere acciones preventivas y correctivas para evitar el aumento en la mortalidad causada por microorganismos multirresistentes. Los microorganismos Gram-negativos son una amenaza para la salud, debido al aumento de resistencia a diversos tipos de antibióticos, principalmente beta-lactámicos. Cifras emitidas por la OMS estiman que para el año 2050, el número de muertes causada por resistencia antibiótica podría aumentar a 10 millones por año, además de incrementar considerablemente los costos de atención hospitalaria. Una herramienta disponible para combatir a microorganismos multidrogo resistentes es el desarrollo, y posterior uso, de nuevos antibióticos con modificaciones en la estructura química lo cual permite aumentar la eficacia contra este tipo de microorganismos.

La evaluación de la actividad *in vitro* de los nuevos antibióticos resulta importante para determinar su eficacia en la inhibición de bacterias con perfiles de resistencia múltiple que causan infecciones en diferentes zonas anatómicas de pacientes con atención hospitalaria, principalmente en tracto urinario, donde la prevalencia de bacterias resistentes ha aumentado de manera considerable.

Contar con informes a nivel local de sensibilidad a los diferentes tipos de antibióticos probados en bacterias productoras de BLEE, incluidos los más novedosos, aportarán datos epidemiológicos que, sumados a reportes nacionales, apoyen el estudio de resistencia a nivel internacional, además de obtener evidencias para mejorar la dosificación de antibióticos.



PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la actividad antimicrobiana de C-T y CZA contra aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE?



HIPÓTESIS

Estudio descriptivo, no aplica conceptos de H_0 e H_1

Hipótesis de trabajo: Los antibióticos C-T y CZA presentan variabilidad en la actividad inhibitoria *in vitro* contra aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE.



OBJETIVOS

General: Determinar la actividad antimicrobiana de C-T y CZA en aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE.

Específicos:

1. Conocer el número de cultivos de orina positivos para *Enterobacteriaceae*.
2. Identificar las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* mediante pruebas bioquímicas.
3. Caracterizar las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE.
4. Determinar la actividad antimicrobiana y la MIC₉₀ de C-T sobre las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE.
5. Determinar la actividad antimicrobiana de CZA sobre las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE.



DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

TIPO DE ESTUDIO

Transversal descriptivo.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Cepas clínicas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE, aisladas de muestras de orina de pacientes atendidos en el Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío (HRAEB).

TAMAÑO DE MUESTRA

Se calculó un tamaño de muestra para estudio descriptivo de una variable dicotómica, usando la tabla descrita por Hulley (51), considerando una proporción esperada de 10% (90% sensibles), con un nivel de confianza del 95% y una amplitud total de 0.10; el resultado es **n=138**.

En reportes del laboratorio de Microbiología del HRAEB, con datos recolectados de enero a junio 2018, se identificaron 155 *E. coli* BLEE en orina, de un total de 293 cepas. Mientras que para *K. pneumoniae* fueron 32 BLEE de un total de 98 aislamientos; lo anterior aseguró completar el tamaño de muestra.

TIPO DE MUESTREO

No probabilístico por casos consecutivos.



MATERIALES Y MÉTODOS

1. Aislamiento de Enterobacterias en Urocultivo

El urocultivo requirió una muestra de orina recolectada en un frasco estéril, un tiempo entre la toma de muestra y su procesamiento no mayor a 2 horas y condiciones de esterilidad. Se utilizó un asa bacteriológica calibrada 1:1000 (1 μ L) para tomar la muestra y sembrarla sobre agar Gelosa Sangre, Mc Conkey y CLED (Brolacin), aplicando la técnica de semicuento. Los medios de cultivo se incubaron a $35 \pm 2^\circ$ C durante 18 a 24 horas en condición atmosférica aerobia.

El desarrollo de colonias de color característico en agar Mc Conkey (rosas) y agar CLED (amarillas) indicaron presencia de enterobacterias fermentadoras de lactosa, característica que define a *E. coli* y *K. pneumoniae*.

2. Identificación bacteriana

La identificación de los aislados se fundamentó en las características bioquímicas de cada bacteria. Se utilizaron paneles SENSITITRE® (TREK Diagnostic System), que contienen una batería amplia de pruebas bioquímicas liofilizadas en una placa de 96 pozos; se colocó una solución al 0.5 en la escala de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) y se incubaron durante 18 horas a $35 \pm 2^\circ$ C. La lectura del panel se realizó en el analizador ARIS 2X SENSITITRE® (TREK Diagnostic System), el reporte que generó indicaba género y especie del microorganismo.

3. Identificación de cepas productoras de BLEE

La identificación fenotípica de producción de BLEE se realizó tomando como base la metodología descrita por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (52), la cual consiste en medir las zonas inhibitoras del crecimiento alrededor de los discos de cefotaxima (CTX) y ceftazidima (CAZ) con y sin clavulanato para



Klebsiella pneumoniae, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*. La prueba se consideró positiva cuando el aumento en la zona inhibidora del crecimiento alrededor del CTX o del disco CAZ con clavulanato fuera de 5 mm o más del diámetro alrededor del disco que contenía CTX o CAZ solo.

4. Prueba de sensibilidad a C-T y determinación de MIC₉₀

Para la prueba de susceptibilidad a C-T se usaron tiras E-TEST (Liofilchem®) que generan un gradiente de concentración estable para Ceftalozano (0.016 – 256 µg/mL) en presencia de una concentración fija de Tazobactam (4 µg/mL). Las tiras se colocaron en placas de agar Mueller Hinton previamente inoculadas con un hisopo de algodón estéril humedecido con una suspensión al 0.5 McFarland de la bacteria en estudio. Después de incubación a 35 ± 2 ° C, se realizó la lectura e interpretación de resultados. Con base en las MIC obtenidas se determinó la MIC₉₀ (concentración mínima del antibiótico que es capaz de reducir en 90% el crecimiento del microorganismo).

5. Prueba de sensibilidad a CZA

Para la prueba de susceptibilidad a CZA se usaron sensidiscos (OXOID™) con 50 µg del antibiótico en estudio (30/20 µg), que se colocaron en placas de agar Mueller Hinton previamente inoculadas con un hisopo de algodón estéril humedecido con una suspensión al 0.5 McFarland de la bacteria en estudio. Después de incubación a 35 ± 2 ° C, se realizó la lectura e interpretación de resultados.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva, las variables se reportaron como medias y desviaciones estándar y como frecuencias y porcentajes de acuerdo con el tipo de variable.

El análisis para la comparación de las susceptibilidades de las diferentes cepas a CZA y C-T se realizó con la prueba exacta de Fisher para el caso de variables dicotómicas. Para la comparación de las medianas de MIC_{C-T} y mm_{CZA} de cada uno de los servicios de atención se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Las diferencias se consideraron significativas con valores $p < 0.05$.

ASPECTOS ÉTICOS

Este protocolo se apegó a los principios vertidos en la Declaración de Helsinki (Fortaleza 2013), cumplió con lo estipulado en el título segundo del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud. De acuerdo con esta ley el estudio corresponde a la categoría I (sin riesgo), debido a que no genero molestias o riesgos dado que, no se tuvo contacto directo con el paciente, ya que se trabajó con los aislados bacterianos de la muestra biológica.

Las cepas bacterianas fueron separadas y envasadas en bolsas de polietileno color rojo caracterizadas como residuos biológico-infeccioso (NOM-087-ECOL-SSA1-2002).

El protocolo fue aprobado por el comité de ética e investigación del HRAEB con número de registro **CI/HRAEB/2018/054**.

La realización de este protocolo no afectó la atención médica hacia los pacientes por parte del hospital, además, los investigadores participantes firmaron una carta compromiso de confidencialidad donde se estipuló mantener la información personal obtenida de los pacientes en estricta confidencialidad por lo cual no puede ser divulgada.



VARIABLES DE ESTUDIO

1. Bacteria aislada en urocultivo

Tipo de variable: Independiente

Nivel de medición: Cualitativa nominal dicotómica

Unidad de medición: *E. coli* o *K. pneumoniae*

Definición conceptual: Bacterias Gram negativas anaerobias facultativas, fermentadores de lactosa.

Definición operacional: Género y especie determinado por paneles SENSITITRE® (TREK Diagnostic System) analizados en el equipo ARIS 2X SENSITITRE® (TREK Diagnostic System).

2. Producción de BLEE

Tipo de variable: Independiente

Nivel de medición: Cualitativa nominal dicotómica

Unidad de medición: Si o no

Definición conceptual: Enzimas producidas fundamentalmente por enterobacterias capaces de inactivar penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación, así como a las oximino-cefalosporinas y al aztreonam.

Definición operacional: Detección fenotípica por medio del aumento en la zona inhibidora del crecimiento alrededor de CTX o del disco CAZ con clavulanato ≥ 5 mm del diámetro alrededor del disco que contiene solo CTX o CAZ.



3. Actividad antimicrobiana de C-T

Tipo de variable: Dependiente

Nivel de medición: Cualitativa nominal dicotómica

Unidad de medición: Inhibe o no inhibe

Definición conceptual: Capacidad del antibiótico para inhibir el crecimiento visual de la bacteria en estudio.

Definición operacional: $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ (Inhibe crecimiento bacteriano); $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ (No inhibe crecimiento bacteriano).

4. Actividad antimicrobiana de CZA

Tipo de variable: Dependiente

Nivel de medición: Cualitativa nominal dicotómica

Unidad de medición: Inhibe o no inhibe

Definición conceptual: Capacidad del antibiótico para inhibir el crecimiento visual de la bacteria en estudio.

Definición operacional: $\geq 21\text{mm}$ halo de inhibición (Inhibe crecimiento bacteriano); $\leq 20 \text{ mm}$ halo de inhibición (No inhibe crecimiento bacteriano)

5. Sexo del paciente

Tipo de variable: Independiente

Nivel de medición: Cualitativa nominal dicotómica

Unidad de medición: Masculino o Femenino



Definición conceptual: Características biológicas y fisiológicas que definen al hombre y a la mujer

Definición operacional: Hombre o Mujer

6. Edad del paciente

Tipo de variable: Independiente

Nivel de medición: Cuantitativa continua

Unidad de medición: Años

Definición conceptual: Tiempo transcurrido, en años, a partir del nacimiento de un individuo.

Definición operacional: Años cumplidos

7. Servicio hospitalario

Tipo de variable: Independiente

Nivel de medición: Cualitativa nominal politómica

Unidad de medición: Medicina Interna, Oncología, Cirugía, Pediatría, Trasplante, Nefrología, Oncohematología, Neurología, Urología.

Definición conceptual: Especialidad médica de atención al paciente.

Definición operacional: Área o especialidad donde es atendido el paciente



FINANCIAMIENTO

Las pruebas de susceptibilidad se realizaron con tiras E-TEST y sensidiscos donados por las empresas farmacéuticas que ofertan cada antibiótico, un total de 200 tiras C-T con fecha de caducidad del mes de noviembre del año 2020 y 200 sensidiscos CZA con fecha de caducidad del mes de marzo del año 2021 fueron recibidas en el laboratorio. Las pruebas de susceptibilidad se realizaron como parte del trabajo diario en el laboratorio de microbiología del HRAEB, por lo que no requirió inversión adicional en insumos.

RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

- Estudiante de maestría
- Directoras de Tesis
- Instalaciones y personal del laboratorio de Microbiología Análisis Clínicos de León/Hospital Regional de Alta Especialidad
- Tiras E-TEST y sensidiscos para pruebas de susceptibilidad donadas por farmacéuticas
- Medios de cultivo e incubadora proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de Análisis Clínicos de León



RESULTADOS

La solicitud del cultivo de orina se originó por los distintos servicios de atención en el hospital. La muestra poblacional a la cual se le realizó el cultivo de orina que presentó crecimiento de enterobacterias de interés para este estudio, estuvo integrada por 117 personas (73.1 %) del sexo femenino y 43 individuos (26.9 %) del sexo masculino, con una mediana en la edad de 33 años (18 – 52.7) en la **Tabla 1** se describen las características de la población y origen del servicio de cultivo.

Tabla 1. Características generales de los pacientes y servicios hospitalarios.

Sexo		
	Femenino	117 (73.1 %)
	Masculino	43 (26.9 %)
Edad (años, mediana y rango intercuartil)		33 (18 – 52.7)
Servicio		
	Trasplante	42 (26.6 %)
	Pediatría	24 (15.2 %)
	Oncología	19 (12 %)
	Urología	14 (8.9 %)
	Nefrología	13 (8.2 %)
	Oncohematología	9 (5.7 %)
	Terapia intensiva adultos	7 (4.4 %)
	Endocrinología	6 (3.8 %)
	Cirugía y Medicina interna	5 (3.2 %)
	Neurología	4 (2.5 %)
	Cardiología, Infectología y Reumatología	3 (1.9 %)
	Terapia intensiva pediátrica	1 (0.6 %)



Se aislaron 297 cepas de interés (**Figura 2**), durante un periodo de siete meses, a las cuales se les realizó identificación bacteriana y pruebas de sensibilidad. La identificación mostró una prevalencia de 257 cepas de *E. coli* (86.5 %) y 40 cepas *K. pneumoniae* (13.5 %), las cuales fueron señaladas como agentes etiológicos de infecciones del tracto urinario (**Tabla 2**).

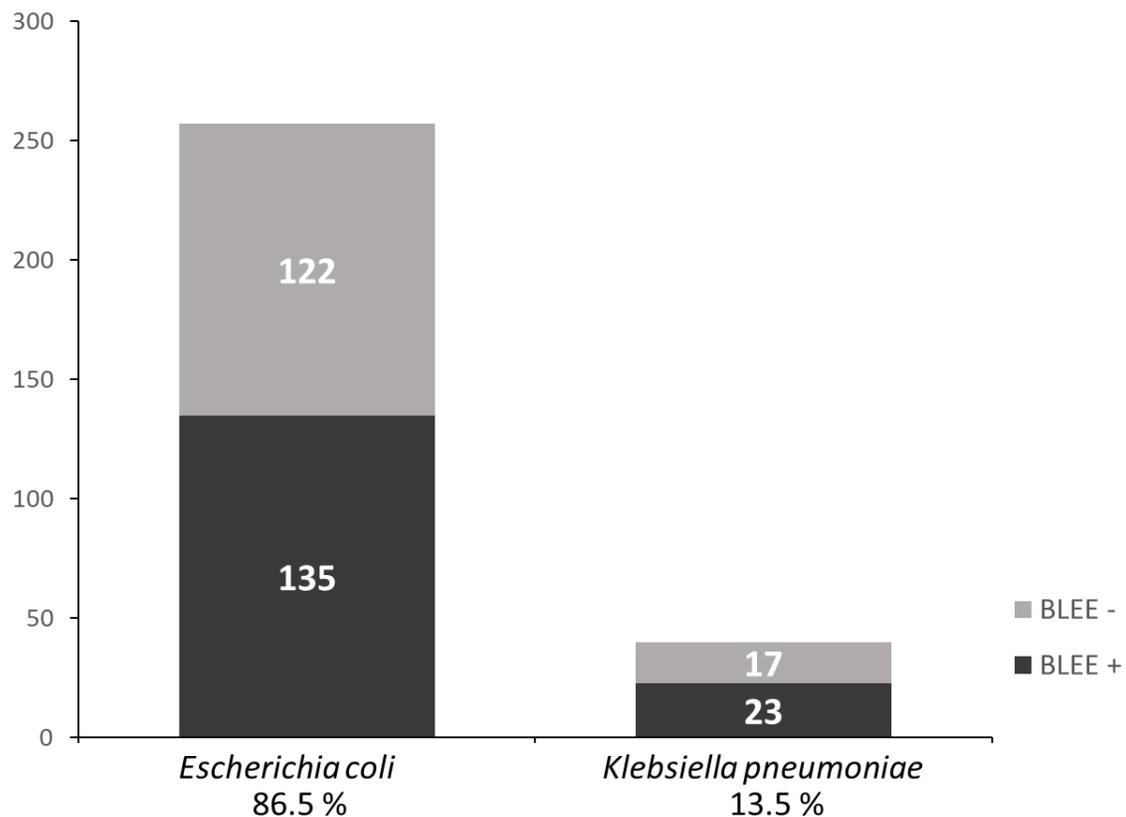


Figura 2. Prevalencia y porcentaje de *Enterobacteriaceae* de interés aislados en urocultivo en el laboratorio de microbiología del HRAEB (octubre 2018 a julio 2019).

**Tabla 2.** Clasificación BLEE de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas de urocultivo.

	BLEE (+)	BLEE (-)	
<i>Escherichia coli</i>	135	122	257
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23	17	40
Total	158	139	297

Los perfiles de resistencia a antibióticos aplicados a todas las cepas aisladas (**Tabla 3**), mostraron altos niveles de resistencia contra ampicilina, cefalosporinas y quinolonas, así como una mayor sensibilidad a amikacina, inhibidores de betalactamasas y carbapenémicos.

Tabla 3. Perfil antimicrobiano de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* frente a otros antibióticos. Valores expresados en porcentaje de resistencia.

Antibiótico	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Ampicilina	83.6	100
Amikacina	0.8	0
Ciprofloxacina	61.5	50
Cefotaxima	53.7	57.5
Cefuroxima	56.4	62.5
Ertapenem	0.4	0
Fosfomicina	14	25
Gentamicina	29.2	22.5
Levofloxacina	58.3	32.5
Nitrofurantoina	8.2	12.5
Norfloxacina	61.1	47.5
Ofloxacina	61.1	42.5
Trimetoprim/Sulfametoxazol	68.9	57.5
Tobramicina	34.6	22.5
Piperacilina/Tazobactam	7	2.5



En lo que se refiere a la producción de BLEE, se encontraron 135 cepas de *E. coli* productoras de estas enzimas, de las cuales 125 (92.6 %) presentaron sensibilidad a C-T. La mediana de las MIC fue de 0.38 µg/mL (0.25 – 0.50) con valores desde 0.094 µg/mL hasta 256 µg/mL. Por otro lado, 134 cepas (99.2 %) presentaron sensibilidad a CZA (**Tabla 4**), la mediana del tamaño de los halos de inhibición fue de 27 mm (26 – 29) con valores en el rango de 19 a 32 mm. En resumen, se identificaron 10 cepas resistentes a C-T y una cepa resistente a CZA. El análisis estadístico mostro que la sensibilidad a los antibióticos C-T y CZA no tiene relación con el tipo de microorganismo aislado de urocultivo ($p>0.05$, prueba exacta de Fisher).

Tabla 4. Sensibilidad a C-T y CZA de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas de urocultivo.

Bacteria	C-T			CZA		
	Sensible	No sensible	<i>p</i>	Sensible	No sensible	<i>p</i>
<i>Escherichia coli</i>	125	10		134	1	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23	0	1.000¹	23	0	0.271¹
Total	148	10		157	1	

¹Prueba exacta de Fisher

La variabilidad de las MIC obtenidas de C-T frente a *E. coli* se presenta en las **Figuras 3 y 4** donde se observa que la distribución de las MIC se concentran entre los valores de 0.1 a 1 µg/mL, con cinco datos alejados hacia arriba para el caso de las cepas sensibles; mientras que para cepas no sensibles la variabilidad es muy amplia con valores que van desde 3 a 24 µg/mL. Los tamaños de halos de inhibición de CZA frente a *E. coli* también presentaron variabilidad (**Figura 5**), no se apreciaron valores alejados y se observó mayor número de datos por debajo de la mediana en cepas sensibles, mientras que solo se presentó una cepa resistente.

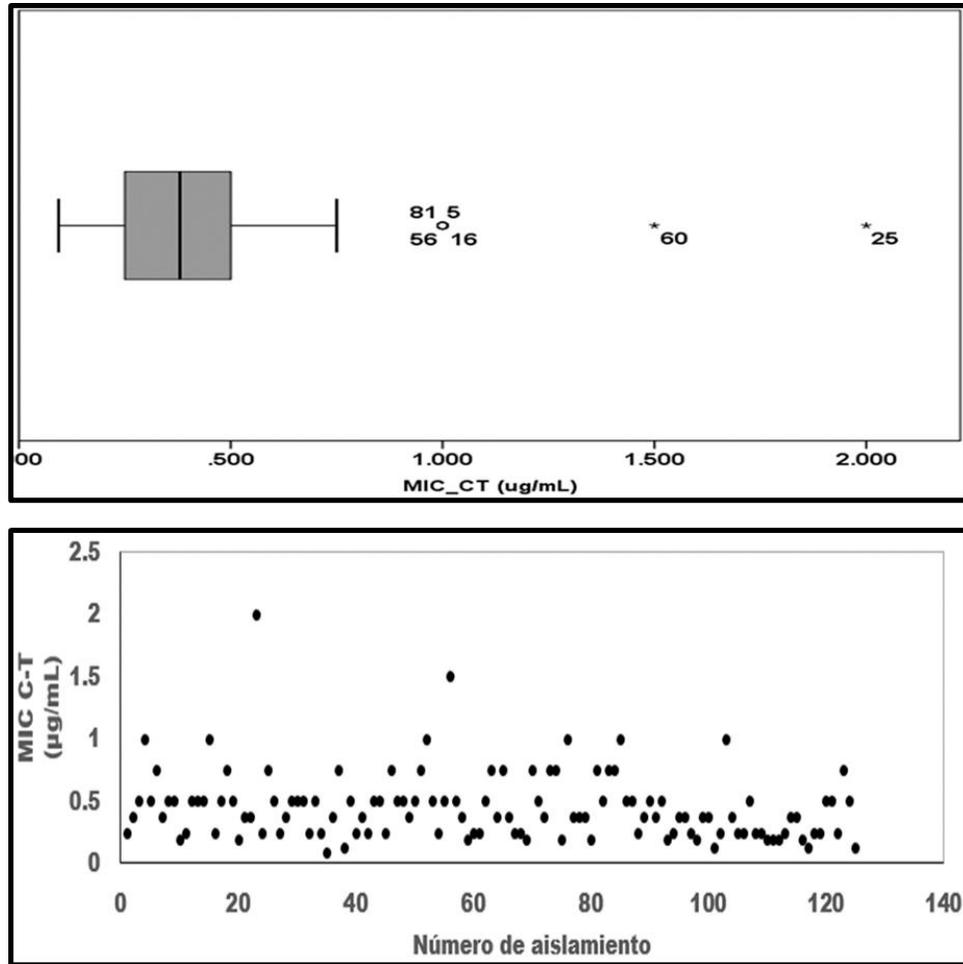


Figura 3. Variabilidad de MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de C-T en cepas sensibles de *E. coli*.

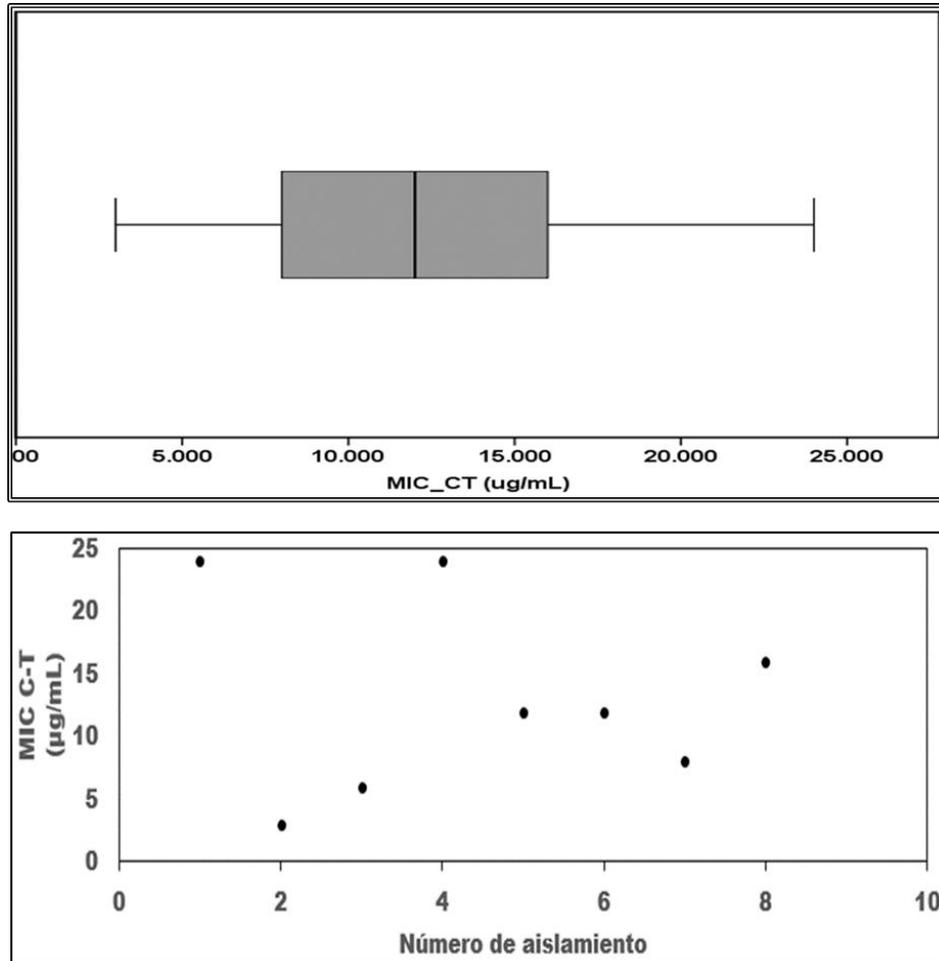


Figura 4. Variabilidad de MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de C-T en cepas no sensibles de *E. coli*.

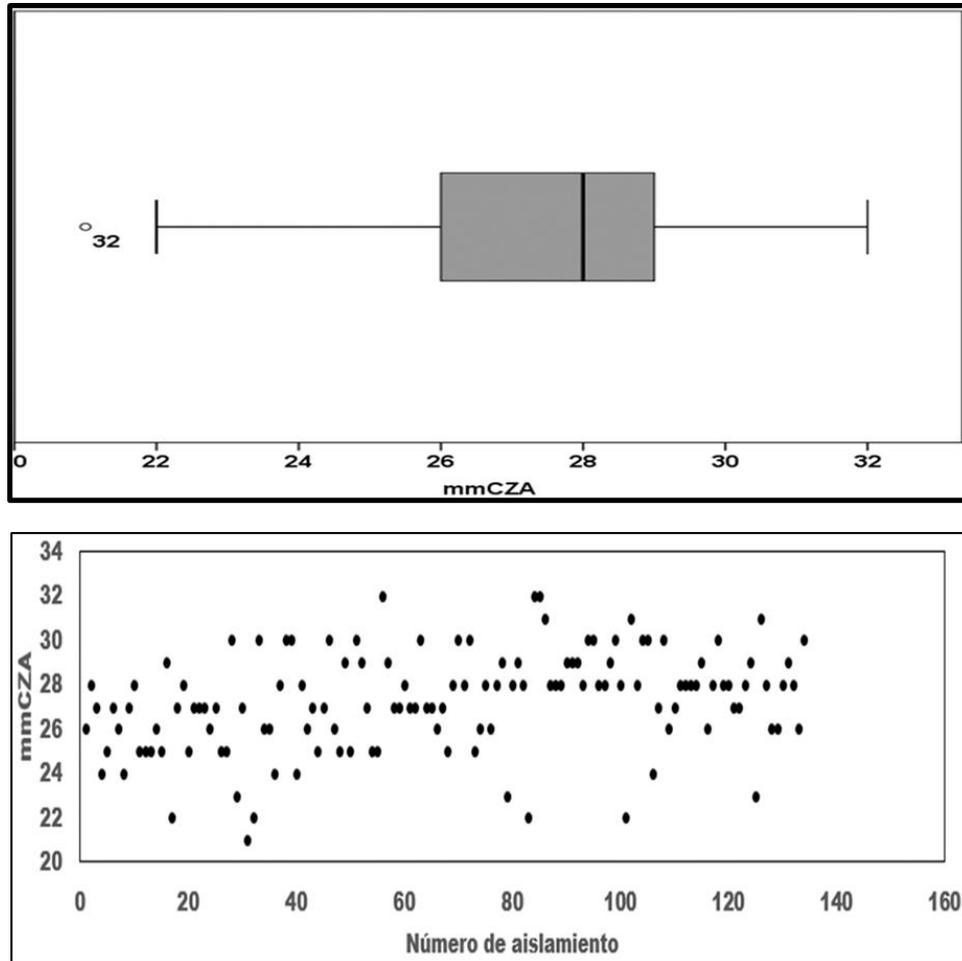


Figura 5. Variabilidad en tamaño de halos de inhibición (mm) de CZA en cepas sensibles de *E. coli*.



Para el caso de *K. pneumoniae* se detectó la producción fenotípica de beta-lactamasas de espectro extendido en 23 cepas, de las cuales el 100 % presento sensibilidad a C-T (**Tabla 4**), con una mediana de las MIC de 0.75 µg/mL (0.50 – 0.75) con valores desde 0.250 µg/mL hasta 1.5 µg/mL. El comportamiento frente a CZA por parte de *K. pneumoniae* fue el mismo que mostro frente a C-T, todas las cepas fueron sensibles. La mediana del tamaño de los halos de inhibición fue de 26 mm (25 – 28) con valores desde los 22 a 29 mm. La sensibilidad a los antibióticos C-T y CZA no está relacionada con el tipo de microorganismo aislado de urocultivo ($p>0.05$, prueba exacta de Fisher).

La variabilidad de las MIC obtenidas de C-T frente a *K. pneumoniae* se presenta en la **Figura 6** donde se aprecia que la mayor cantidad de datos se ubican por debajo de 1 µg/mL, con dos datos alejados hacia arriba que no superan el punto de corte para determinar la característica de sensibilidad al antibiótico. Los tamaños de halos de inhibición de CZA frente a *K. pneumoniae* concentraron al 50 % de los datos entre los valores 25 a 28 mm (**Figura 7**), no se presentaron valores alejados.

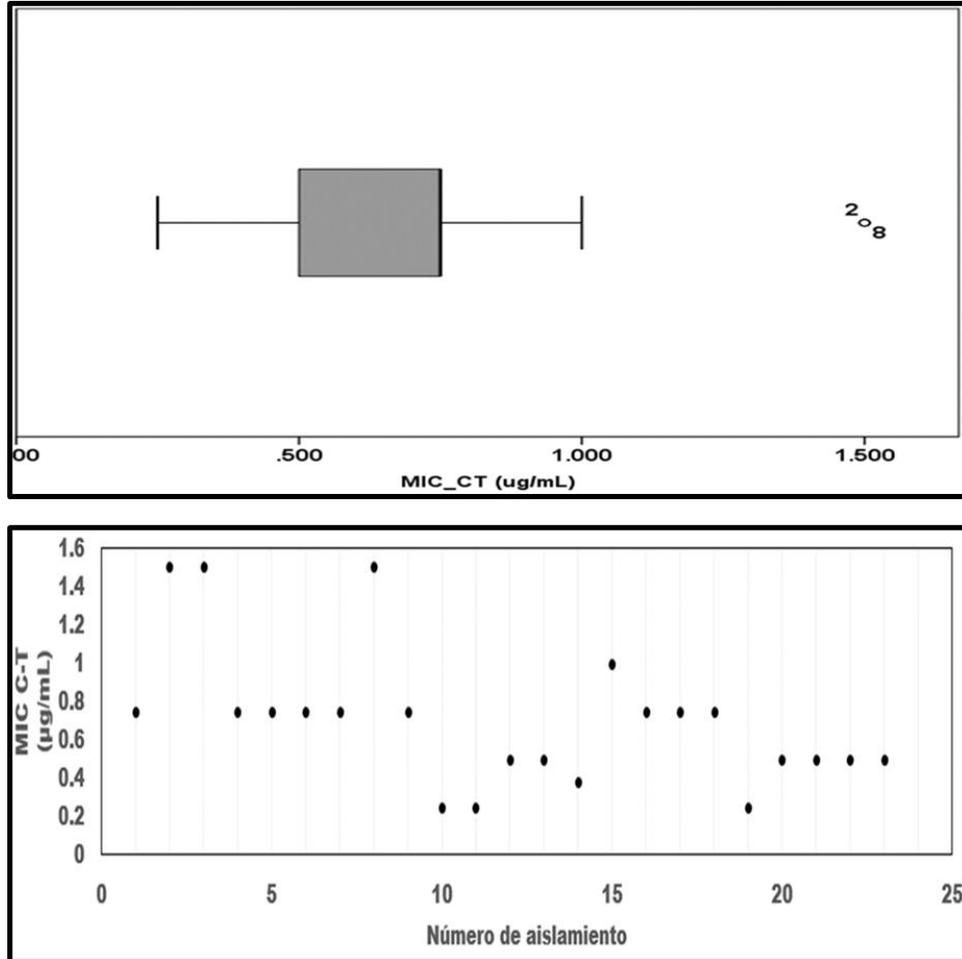


Figura 6. Variabilidad de MIC ($\mu\text{g/mL}$) de C-T en cepas sensibles de *K. pneumoniae*.

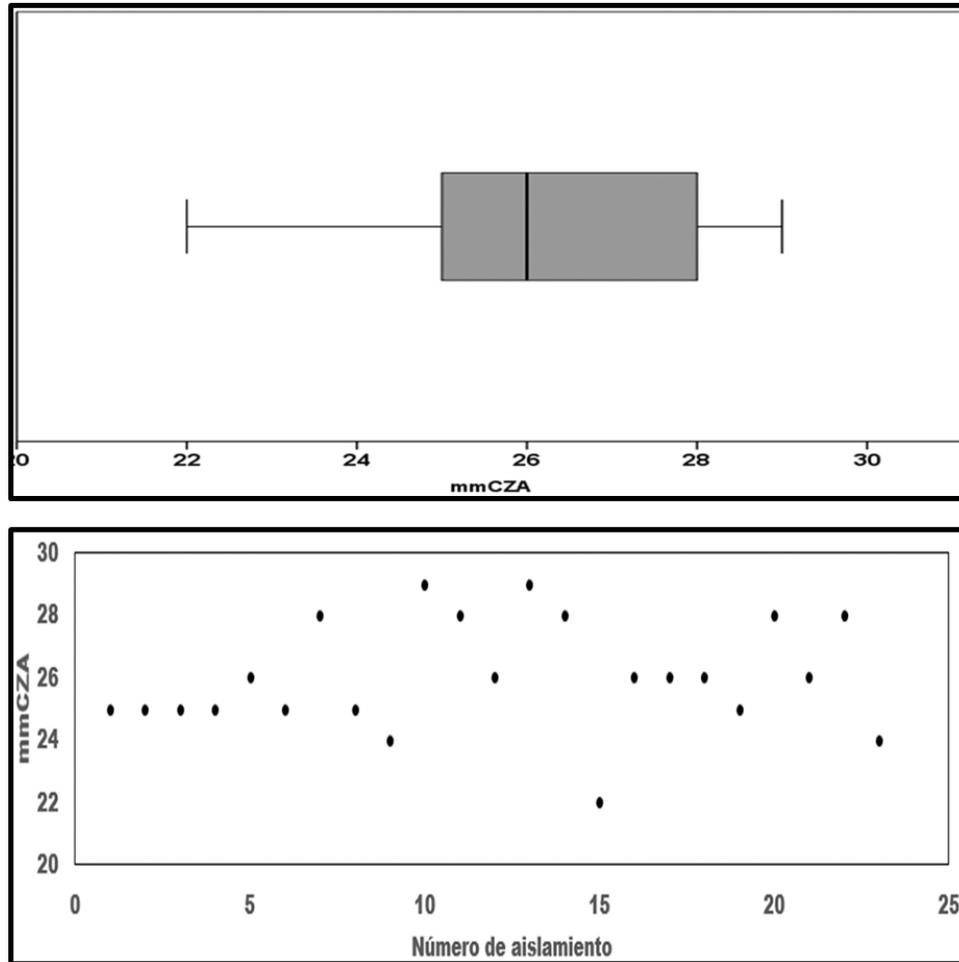


Figura 7. Variabilidad en tamaño de halos de inhibición (mm) de CZA en cepas sensibles de *K. pneumoniae*.



Se compararon las medianas de MIC_{C-T} y mm_{CZA} de los servicios de atención hospitalaria (**Tabla 5**), no hubo evidencia que muestre diferencias entre las medianas de C-T y CZA entre los servicios de atención; las muestras provienen de la misma población.

Tabla 5. Medianas de MIC_{C-T} y mm_{CZA} por servicio de atención hospitalaria.

Servicio	mediana MIC _{C-T}	recorrido intercuartílico	<i>p</i>	mediana mm _{CZA}	recorrido intercuartílico	<i>p</i>
Trasplante	0.5	0.357-0.750		26.5	25-28	
Pediatría	0.440	0.250-0.500		27	25-28	
Oncología	0.380	0.250-0.500		28	28-29	
Urología	0.440	0.250-0.812		28	25.75-29.00	
Nefrología	0.500	0.250-0.625	0.543¹	26	25-28	0.116¹
Oncohematología	0.380	0.315-0.750		27	25.50-28.00	
UCIA	0.380	0.250-1.500		28	23-29	
Endocrinología	0.5	0.332-0.562		26	26.00-27.50	
Cirugía	0.250	0.190-0.375		28	27-28	
Medicina interna	0.5	0.237-0.625		28	24.50-29.0	

¹Kruskal-Wallis

En la comparación de las medianas de MIC_{C-T} y mm_{CZA} de acuerdo con el sexo de los pacientes (**Tabla 6**) no se detectó significancia estadística por lo cual no se puede afirmar que existan diferencias entre las medianas de los antibióticos probados. Finalmente se determinó la MIC₉₀ de C-T para las dos enterobacterias de interés cuyos valores fueron de 1 µg/mL para *E. coli* y de 1.5 µg/mL para *K. pneumoniae* (**Tabla 7**).

**Tabla 6.** Medianas de MIC_{C-T} y mm_{CZA} por sexo de paciente.

Sexo	mediana MIC _{C-T}	recorrido intercuartílico	<i>p</i>	mediana mm _{CZA}	recorrido intercuartílico	<i>p</i>
Femenino	0.5	0.25-0.75		27	25.5-29	
Masculino	0.5	0.25-0.50	0.552¹	27	26-28	0.583¹

¹U de Mann-Whitney**Tabla 7.** MIC₉₀ de C-T para *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE positivas.

	MIC ₉₀
<i>E. coli</i>	1 µg/mL
<i>K. pneumoniae</i>	1.5 µg/mL



DISCUSION

Los niveles de resistencia antimicrobiana son un problema importante de salud a nivel mundial (1), las consecuencias se aprecian en el aumento en morbilidad y mortalidad, además del incremento de costos por parte de las instituciones responsables de atender a la población afectada (2). En los últimos años se ha reportado un incremento en la incidencia de microorganismos Gram negativos resistentes a antimicrobianos por lo que, a su vez la incidencia de infecciones a nivel comunitario e intrahospitalario también han incrementado (53). El uso de nuevas moléculas dirigidas contra bacterias multidrogo resistentes se ha convertido en una herramienta prometedora para combatir a microorganismos resistentes (33) (35).

En el presente trabajo se determinaron los porcentajes de resistencia a los diferentes tipos de antibióticos disponibles para tratamiento de cepas de *Enterobacteriaceae* aisladas de urocultivo de pacientes del HRAEB. Los mayores porcentajes de resistencia se detectaron en la familia de los betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas), exceptuando los carbapenémicos. También se detectaron altos porcentajes de resistencia frente a quinolonas (ciprofloxacina y levofloxacina) y a trimetoprim/sulfametoxazol, los datos obtenidos son similares a los reportados para el 2019 por las redes de vigilancia y control de la fármaco resistencia en México, INVIFAR (10) y PUCRA (11). El incremento en la resistencia se explica en gran medida por el uso indiscriminado de estas moléculas al paso del tiempo (1). Al incrementar el uso de fármacos, las bacterias resistentes que se encuentran presentes en una mezcla de poblaciones bacterianas, aunque estén en muy baja proporción, pueden seleccionarse bajo la presión de los antimicrobianos lo cual les permite dominar sobre toda la población bacteriana. Asimismo, algunos de los genes que dan lugar a resistencias, pueden albergarse en plásmidos y transmitirse a otras bacterias por mecanismos de conjugación. Por lo tanto, la búsqueda de alternativas u otras opciones valiosas para el tratamiento de infecciones del tracto urinario es una constante (11).



En este estudio se observó un bajo porcentaje de resistencia a amikacina, así como a los carbapenémicos, aunque se debe tener especial cuidado en el uso de éstos últimos para evitar el abuso y provocar aumento en los niveles de resistencia.

Se identificó el porcentaje de cepas productoras de BLEE en las *Enterobacteriaceae* aisladas, resultando 52.5 % en *E. coli* y 57.5 % en *K. pneumoniae*, datos que difieren con los reportados por Morfín-Otero y col. (2013) (54), que reportaron 16.3 % y 26.9 % respectivamente. Actualmente este tipo de resistencia se presenta en mayor proporción en cepas de *Enterobacteriaceae* aisladas en orina. Los antibióticos evaluados en este estudio son capaces de evadir la acción enzimática de las beta-lactamasas, logrando de esta manera inhibir el crecimiento bacteriano.

El periodo transcurrido desde el reporte de Morfín-Otero y col (2013) y los resultados de este estudio muestran un incremento de cepas resistentes del 36% para *E. coli* y del 30% para *K. pneumoniae* en un promedio de 10 años, no obstante y pese a las estrategias implementadas para el control de antibióticos en nuestro país, el abuso en el uso de antibióticos sigue incrementando lo cual se relaciona con el incremento de los porcentajes de cepas resistentes. Los resultados de este trabajo son representativos de las zonas Bajío y Occidente de México, sin embargo puede decirse que la tendencia a nivel nacional puede ser similar.

En este estudio se evaluó la actividad antimicrobiana (*in vitro*) de Ceftolozano-Tazobactam y Ceftazidima-Avibactam, dos nuevas opciones terapéuticas capaces de inhibir el crecimiento de bacterias con perfiles de resistencia múltiple. En la evaluación de C-T se determinó la concentración mínima inhibitoria, mientras que en el caso de CZA se midió el halo de inhibición que resulta de la interacción de una concentración fija de antibiótico y el microorganismo. Se determinó la respuesta de 135 *E. coli* y 23 *K. pneumoniae* a estos fármacos. La actividad inhibitoria de Ceftolozano-Tazobactam contra los aislados BLEE de *E. coli* (92.6 %) y de *K. pneumoniae* (100 %) fue similar, así como las MIC₉₀ (1 µg/mL frente a 1.5 µg/mL),



estos resultados no difieren de los reportados por Alatoon y col. (2017) (55) que detectaron 97 % de sensibilidad a C-T por parte de 23 *E. coli* BLEE y 6 *K. pneumoniae* BLEE en la Clínica Cleveland Abu Dhabi, en Abu Dhabi, EAU en el periodo comprendido entre 2015 y 2016. La variabilidad de las MIC de C-T frente a *E. coli* osciló de 0.094 µg/mL hasta 256 µg/mL, éste último valor elevado se explica por mecanismos de resistencia que logran evadir la acción de C-T.

Se observó que el valor de MIC aumentaba cuando el perfil de resistencia incluía mayor cantidad de antibióticos que no lograban inhibir el crecimiento bacteriano, comportamiento que se presenta por la expresión de diferentes mecanismos de resistencia que modifican la respuesta antimicrobiana (56). Los mecanismos antimicrobianos deben ser detectados con pruebas moleculares como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), por micro arreglos de ADN, la secuenciación de ADN, así como el uso de técnicas bioinformáticas (57); sin embargo, este estudio carece de esas técnicas. La variabilidad de las MIC frente a *K. pneumoniae* resultó menor al obtener valores entre 0.250 µg/mL y 1.5 µg/mL. Estas diferencias en la variabilidad están limitadas por la diferencia en la cantidad de cepas estudiadas de ambos microorganismos, para *K. pneumoniae* el rango de MIC es menor comparado con *E. coli*, ambos rangos no coinciden con el reportado en la clínica Cleveland (0.125–16 µg/mL) donde el número de cepas estudiadas fue considerablemente menor.

Recientemente Castanheira y col. (2019), publicaron resultados de la actividad de los antibióticos C-T y CZA contra distintos géneros de *Enterobacteriaceae* aislados en diferentes hospitales en Estados Unidos (58), en dicho estudio incluyeron 486 *E. coli* y 190 *K. pneumoniae* de un total de 733 cepas BLEE analizadas. Se presentó sensibilidad a C-T en el 90.2 % de las cepas, con un rango de MIC que va de ≤0.12 µg/mL a >16 µg/mL y una MIC₉₀ de 2 µg/mL. Estos resultados difieren de los obtenidos en este estudio, ya que el rango de MIC encontrado fue más amplio, mientras la concentración del antibiótico requerida para inhibir el crecimiento del 90 % de las bacterias aisladas en el HRAEB fue menor, lo que indica que las cepas



analizadas en este estudio presentan mayor variabilidad en la MIC y requieren una menor concentración del antibiótico para inhibir el crecimiento del 90 % de las cepas analizadas.

Se obtuvo una cepa de *E. coli* resistente a C-T con MIC muy elevada, dicha cepa fue aislada de un paciente atendido en el servicio de trasplante, para esta cepa en particular es importante realizar un perfil molecular para identificar los genes de resistencia presentes, que posteriormente permita determinar si el nivel de resistencia está definido por la expresión de un gen específico o el conjunto de varios genes; dicha cepa presentó sensibilidad a carbapenémicos, lo cual no descarta la presencia de genes inhibidores de este tipo de antibióticos ya que la expresión de los genes es lo que determina la sensibilidad o resistencia. Los pacientes del servicio de atención mencionado son susceptibles a diversos tipos de infecciones debido a la acción disminuida de su sistema inmune, lo que deriva en tratamientos con diferentes antibióticos que impactan en la presión de selección de bacterias resistentes.

El CZA presentó actividad similar contra las cepas estudiadas, con 99.2 % frente a *E. coli* BLEE y 100% frente a *K. pneumoniae* BLEE, cabe destacar que en los reportes de Alatom y col. (2017) (55) y de Castanheira y col. (2019) (58) no se identificaron cepas resistentes a CZA mientras que en este estudio se identificó una, dicha resistencia se atribuye a la presencia y expresión de alguno genes como son IMP, VIM, NDM y OXA 23, 24, 58, 143 o 235 sin embargo, es importante hacer uso de técnicas moleculares para confirmar el gen o los genes presentes que le dan dicha característica.

Una limitante importante en el estudio de CZA fue el uso de sensidiscos los cuales contienen una concentración específica del antibiótico, a diferencia de C-T donde la tira E-TEST presenta un gradiente de concentración que permite identificar la cantidad específica necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano. Está demostrado que la eficacia de CZA es mayor a la de C-T (59), debido a la estructura



molecular que favorece a CZA para resistir la actividad enzimática codificada en los genes microbianos.

La variabilidad del tamaño de los halos de inhibición es mayor para *E. coli* (19 a 32 mm) frente a los de *K. pneumoniae* (22 a 29 mm), resulta complicado comparar estos resultados con alguna referencia. En general para el análisis de la variabilidad en la actividad de los antibióticos se usan técnicas que indican valores específicos de MIC, desafortunadamente debido al elevado costo de las tiras E-TEST de CZA no fue posible obtener resultados más específicos como los obtenidos en el análisis con C-T. El valor del tamaño de halo en la resistencia detectada a CZA por parte de *E. coli* impacta directamente en la variabilidad, la resistencia debe corroborarse con la búsqueda de genes que inactivan la actividad de CZA contra la bacteria.

Conocer los perfiles de resistencia de cepas endémicas nos muestran las opciones que tienen buena actividad contra estos microorganismos, los perfiles de este estudio fueron detectados utilizando un equipo comercial que se basa en la detección de rangos de MIC y los clasifica como sensibles, intermedios y resistentes. El hecho de medir rangos de MIC es una limitante importante, idealmente las pruebas de susceptibilidad deben evaluarse con micro diluciones seriadas para encontrar un valor exacto de MIC.

Es necesario evaluar la actividad de estas nuevas moléculas frente a microorganismos con perfiles de resistencia múltiple. Los datos obtenidos en este estudio aportan información valiosa a nivel local del comportamiento de los nuevos antibióticos frente a cepas representativas de la zona Bajío de México.

La evaluación de la actividad de los antibióticos debe realizarse cada determinado tiempo, ya que los valores de MIC pueden variar por diversos factores como el abuso de antibióticos, desarrollo de mecanismos de resistencia bacterianos, errores en la administración, mal control de brotes hospitalarios, entre otros.



CONCLUSION

Los antibióticos C-T y CZA son una buena opción terapéutica para combatir cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE aisladas en urocultivo. La actividad de CZA es mayor, aunque la actividad de C-T no se encuentra alejada, siendo ambas combinaciones buenas opciones para tratamiento.

La resistencia de estas *Enterobacteriaceae* a múltiples fármacos debe ser detectada y reportada adecuadamente para implementar a tiempo las medidas que logren controlar dicha resistencia.

Es importante monitorear el comportamiento de estas bacterias frente a los nuevos antibióticos a fin de identificar el tiempo en que se presente un incremento en la resistencia a dichos antibióticos y así evitar la generación de más multirresistencia.



PERSPECTIVAS

- Caracterización molecular de cepas resistentes a los antibióticos Ceftolozano Tazobactam y Ceftazidima Avibactam.
- Diseño de un estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de Ceftolozano Tazobactam y Ceftazidima Avibactam a partir de la detección de la concentración mínima inhibitoria.
- Diseño de un estudio que determine la asociación de condiciones clínicas de los pacientes con la actividad antimicrobiana de los antibióticos.



REFERENCIAS

1. TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE CHAIRED BY JIM O'NEILL [Internet]. 2016 [cited 2018 Sep 7]. Available from: [https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final paper_with cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final_paper_with_cover.pdf)
2. Evans HL, Lefrak SN, Lyman J, Smith RL, Chong TW, McElearney ST, et al. Cost of Gram-negative resistance*. Crit Care Med [Internet]. 2007 Jan [cited 2018 Sep 4];35(1):89–95. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00003246-200701000-00015>
3. Roberts RR, Scott RD, Hota B, Kampe LM, Abbasi F, Schabowski S, et al. Costs attributable to healthcare-acquired infection in hospitalized adults and a comparison of economic methods. Med Care [Internet]. 2010 Nov [cited 2018 Sep 4];48(11):1026–35. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00005650-201011000-00012>
4. Roberts RR, Hota B, Ahmad I, Scott II RD, Foster SD, Abbasi F, et al. Hospital and Societal Costs of Antimicrobial-Resistant Infections in a Chicago Teaching Hospital: Implications for Antibiotic Stewardship. Clin Infect Dis [Internet]. 2009 Oct 15 [cited 2018 Sep 4];49(8):1175–84. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/605630>
5. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Current [Internet]. 2013;114. Available from: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>



6. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(1):56–66.
7. Amabile-Cuevas C. Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2010;4(3):126–31. Available from:
<http://www.jidc.org/index.php/journal/article/download/20351451/358>
8. Morfin-Otero R, Tinoco-Favila JC, Sader HS, Salcido-Gutierrez L, Perez-Gomez HR, Gonzalez-Diaz E, et al. Resistance trends in gram-negative bacteria: Surveillance results from two Mexican hospitals, 2005-2010. *BMC Res Notes* [Internet]. 2012;5(1):1. Available from: ???
9. Organización Mundial de la Salud. 68.^a Asamblea Mundial De La Salud. Resoluciones y decisiones. 2012;1–3. Available from:
http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68-REC1/A68_2015_REC1-sp.pdf
http://www.who.int/nutrition/topics/WHA65.6_resolution_sp.pdf
10. Garza-González E, Morfín-Otero R, Mendoza-Olazarán S, Bocanegra-Ibarias P, Flores-Treviño S, Rodríguez-Noriega E, et al. A snapshot of antimicrobial resistance in Mexico. Results from 47 centers from 20 states during a six-month period. *PLoS One*. 2019;14(3):1–13.
11. Universitaria C. Estado Actual de la Resistencia Antimicrobiana México 2018. 2019;
12. Thabit AK, Crandon JL, Nicolau DP. Antimicrobial resistance: impact on clinical and economic outcomes and the need for new antimicrobials. *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2015 Jan 22 [cited 2018 Sep 4];16(2):159–77. Available from:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14656566.2015.993381>



13. Munita JM, Arias CA, Unit AR, Santiago A De. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Mech Antibiot Resist*. 2016;4(2):1–37.
14. LA D, TS D. MEchanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Arch Intern Med* [Internet]. 1991;151(5):886–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.1991.00400050040010>
15. Wilson DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2014;12(1):35–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3155>
16. Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin [1]. Vol. 146, *Nature*. 1940. p. 837.
17. Bush K. The ABCD's of β -lactamase nomenclature. Vol. 19, *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2013. p. 549–59.
18. Bush K, Jacoby G a., Medeiros A a. A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39(6):1211–33.
19. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1991;35(9):1697–704. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC245253/>
20. Bradford P. Extended spectrum betalactamase in the 21 century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2001;14(4):933–51. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Extended-Spectrum+?+-Lactamases+in+the+21st+Century+:+Characterization+,+Epidemiology+,+and+Detection+of+This+Important+Resistance+Threat#0>



21. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1995;8(4):557–84. Available from: <http://cmr.asm.org/content/8/4/557.short%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8665470%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC172876>
22. Sougakoff W, Goussard S, Courvalin P. The TEM-3 beta-lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. *FEMS Microbiol Lett* [Internet]. 1988;56(3):343–8. Available from: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.1988.tb03204.x>
23. Huletsky A, Knox JR, Levesque RC. Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of third-generation cephalosporins by SHV-type β -lactamases probed by site-directed mutagenesis and three-dimensional modeling. *J Biol Chem*. 1993;268(5):3690–7.
24. Sabaté M, Tarragó R, Navarro F, Miró E, Vergés C, Barbé J, et al. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(7):1970–3.
25. Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Tassios PT, Legakis NJ. CTX-M-type β -lactamases: An emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;14(2):137–42.
26. Jacoby GA. AmpC B-Lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(1):161–82.
27. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):440–58.



28. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2009;9(4):228–36. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70054-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70054-4)
29. Rice LB. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *J Infect Dis* [Internet]. 2008;197(8):1079–81. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/533452>
30. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(3):297–308.
31. Policy IP. The 10 × '20 Initiative: Pursuing a Global Commitment to Develop 10 New Antibacterial Drugs by 2020. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2010;50(8):1081–3. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/652237>
32. Boucher HW, Talbot GH, Benjamin DK, Bradley J, Guidos RJ, Jones RN, et al. 10 x '20 Progress--Development of New Drugs Active Against Gram-Negative Bacilli: An Update From the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2013;56(12):1685–94. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cit152>
33. Cluck D, Lewis P, Stayer B, Spivey J, Moorman J. Ceftolozane-tazobactam: A new-generation cephalosporin. *Am J Heal Pharm*. 2015;72(24):2135–46.
34. Sucher AJ, Chahine EB, Cogan P, Fete M. Ceftolozane/Tazobactam: A New Cephalosporin and β -Lactamase Inhibitor Combination. *Ann Pharmacother*. 2015;49(9):1046–56.



35. Shirley M. Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs* [Internet]. 2018 Apr 18 [cited 2018 Sep 3];78(6):675–92. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29671219>
36. Zasowski EJ, Rybak JM, Rybak MJ, Applebaum E, Sciences H, State W. The β -Lactams Strike Back: Ceftazidime-Avibactam. *Pharmacotherapy*. 2015;35(8):755–70.
37. Sader HS, Castanheira M, Flamm RK, Farrell DJ, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftazidime-avibactam against gram-negative organisms collected from U.S. medical centers in 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(3):1684–92.
38. EAGLE H, FLEISCHMAN R, MUSSELMAN AD. The effective concentrations of penicillin in vitro and in vivo for streptococci, pneumococci, and *Treponema pallidum*. *J Bacteriol*. 1950;59(5):625–43.
39. Blasco AC, Alfaro LA, Reinoso JC, Mestre MJG, Rodríguez-Gascón A. Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: Herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2015;33(1):48–57. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.04.023>
40. Scaglione F, Paraboni L. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of antibacterials in the Intensive Care Unit: setting appropriate dosing regimens. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;32(4):294–301.
41. Scaglione F. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) considerations in the management of Gram-positive bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2010;36(SUPPL. 2):S33–9. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.11.011>



42. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med*. 2009;37(3):840–51.
43. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2010;7(12):653–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2010.190>
44. Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2003;17(2):227–41.
45. Gupta K, Grigoryan L, Trautner B. Urinary Tract Infection. *Ann Intern Med* [Internet]. 2017;167(7):ITC49. Available from: <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/AITC201710030>
46. Totsika M, Gomes Moriel D, Idris A, A. Rogers B, J. Wurpel D, Phan M-D, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* Mediated Urinary Tract Infection. *Curr Drug Targets* [Internet]. 2012;13(11):1386–99. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-4501&volume=13&issue=11&spage=1386>
47. Farajnia S, Alikhani MY, Ghotaslou R, Naghili B, Nakhband A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. *Int J Infect Dis*. 2009;13(2):140–4.
48. Kucheria R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin MS. Urinary tract infections: New insights into a common problem. *Postgrad Med J*. 2005;81(952):83–6.
49. Zhang L, Foxman B. Molecular Epidemiology of *Escherichia coli* mediated urinary tract infections. *Front Biosci*. 2003;8(4):235–44.
50. Croxall G, Weston V, Joseph S, Manning G, Cheetham P, McNally A. Increased human pathogenic potential of *Escherichia coli* from polymicrobial urinary tract infections in comparison to isolates from monomicrobial culture samples. *J Med Microbiol*. 2011;60(1):102–9.



51. Hulley, Stephen B, Cummings SR. *Diseño de la Investigación Clínica*. Barcelona, España; 1993.
52. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. 2018.
53. Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. *Emerging Issues in Gram-Negative Bacterial Resistance: An Update for the Practicing Clinician*. 2015 [cited 2018 Sep 4]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.12.002>
54. Morfín-Otero R, Mendoza-Olazarán S, Silva-Sánchez J, Rodríguez-Noriega E, Laca-Díaz J, Tinoco-Carrillo P, et al. *Characterization of Enterobacteriaceae Isolates Obtained from a Tertiary Care Hospital in Mexico, Which Produces Extended-Spectrum β -Lactamase*. *Microb Drug Resist*. 2013;19(5):378–83.
55. Alatom A, Elsayed H, Lawlor K, AbdelWareth L, El-Lababidi R, Cardona L, et al. *Comparison of antimicrobial activity between ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam against multidrug-resistant isolates of Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2017 Sep [cited 2018 Sep 3];62:39–43. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1201971217301613>
56. Bouxom H, Fournier D, Bouiller K, Hocquet D, Bertrand X. *Which non-carbapenem antibiotics are active against extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae?* *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2018;52(1):100–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.03.014>
57. Anjum MF, Zankari E, Hasman H. *Molecular Methods for Detection of Antimicrobial Resistance*. *Microbiol Spectr*. 2017;5(6):1–17.
58. Castanheira M, Doyle TB, Mendes RE, Sader HS. *crossm Ceftolozane-Tazobactam against Enterobacteriaceae Isolates*. 2019;63(7):1–11.



59. Shields RK, Chen L, Cheng S, Chavda KD, Press EG. crossm Emergence of Ceftazidime-Avibactam Mutations during Treatment of. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(3):1–11.



ANEXOS

Dictamen comité de ética e investigación.



SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



Para **Dra. Liliana Salgado Flores**
Responsable Técnico

Fecha: 13-dic-2018

Q.F.B. Luis Gerardo Medina Navarro
Autor Principal

Folio CI/HRAEB/086/2018

De **Dr. José Antonio de Jesús Álvarez**
Canales
Presidente del Comité de Investigación.

Hoja 1 de 1

Estimada **Dra. Liliana Salgado Flores** al respecto de su solicitud de evaluación del protocolo de investigación **Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos de Escherichia coli y Klebsiella sp a Cefalozano-Tazobactam y Ceftazidima-Avibactam**, se le comunica la decisión del Comité.

APROBADO con el número de registro **CI/HRAEB/2018/054**

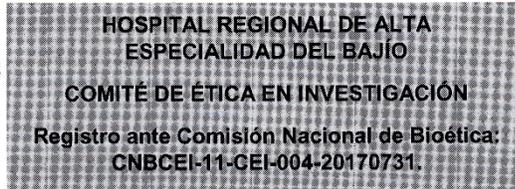
Se le informa que la aprobación cuenta **con vigencia de un año**, al final de la cual deberá entregar un reporte de los avances o finalización de la investigación.

Sin otro particular, me despido reiterándole nuestro más alto compromiso institucional.

Atentamente



CEI-67-18



HOSPITAL REGIONAL
ALTA ESPECIALIDAD
B A J I O

León, Gto. a 17 de diciembre de 2018.

Asunto:

Respuesta del Comité de Ética en Investigación a la propuesta de revisión de los documentos del Proyecto **Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* a Ceftalozano-Tazobactam y Ceftazidima-Avibactam.**

QFB Luis Gerardo Medina Navarro. Dra. Liliana Salgado Flores,
Investigadores principales

Le informo que el Comité de Ética en Investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío ha evaluado los siguientes documentos: Protocolo del proyecto

De acuerdo a lo anterior, ha resuelto emitir la siguiente decisión: **ACEPTADO**

Sin observaciones:

Le reiteramos el apoyo del CEI para el logro de su proyecto. Conforme al cronograma de actividades y a los procedimientos internos de este Comité, será necesario que usted presente un reporte de avances cada 6 meses durante el desarrollo y al finalizar el proyecto, así también deberá informar cualquier modificación que realice al protocolo original. El protocolo tiene vigencia de 1 año, en caso de continuar en su desarrollo, deberá informar al CEI para su renovación y vigencia.

Dr. Jorge F. Acuña Valério
Presidente
Comité de Ética en Investigación, Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío

Dra. María Maldonado Vega
Secretario
Comité de Ética en Investigación, Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío



CARTA COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD

En la ciudad de León, Gto., México, con fecha ____ de _____ de 20____, quien suscribe, Luis Gerardo Medina Navarro, Químico Farmacéutico Biólogo, con domicilio en Mina del Rosario #109-A, Fraccionamiento Real Delta, León, Gto., México, declaro:

1. Que, quien suscribe, participa en la ejecución del Proyecto de Investigación titulado “Caracterización de la sensibilidad de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* a Cefalozano-Tazobactam y Ceftazidima-Avibactam” con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Investigación Clínica, el proyecto será desarrollado en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Alta Especialidad.
2. Que los Directores responsable del citado Proyecto de Investigación son la Dra. Liliana Salgado Flores, adscrita al servicio de Infectología del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío y la Dra. Ma. de Lourdes Reyes Escogido, perteneciente a la División de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guanajuato.
3. Que, en razón de la participación en el Proyecto de Investigación, recibiré por parte del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío, cepas bacterianas aisladas de muestras biológicas de pacientes atendidos en la institución, así como el patrón de susceptibilidad a antibióticos, además de conocimientos relacionados con los pacientes, en particular datos clínicos y cualquier otro que el suscrito llegue a conocer.
4. Que, quien suscribe, se compromete a tratar dicha información de manera estrictamente confidencial, tomando todas las medidas de seguridad y protección adecuadas que aseguren que no será conocida por terceros no



autorizados. El suscrito sólo podrá divulgar la información que reciba de parte del HRAEB con la autorización, por escrito, de un responsable del Proyecto de Investigación.

5. Si como consecuencia del actuar negligente de quien suscribe, se divulga la Información confidencial, éste será responsable por todos los daños, costos, reclamos, impuestos y gastos que provengan del incumplimiento de los deberes mencionados en los números anteriores, sin perjuicio de perseguir las demás responsabilidades penales, civiles y administrativas que puedan concurrir.

6. Que, quien suscribe, declara someterse a las siguientes condiciones en el cumplimiento de los deberes ya mencionados:
 - 6.1. Los deberes de confidencialidad expresados estarán vigentes hasta ____ años después de finalizado el Proyecto de Investigación.
 - 6.2. Terminado el deber de confidencialidad, ya sea por el transcurso del plazo señalado o por voluntad del HRAEB, quien suscribe se compromete a restituir, tomando las medidas de seguridad necesarias, la información confidencial en su posesión.

Para constancia del compromiso de confidencialidad firma, en León, Gto., a ____ de _____ de 20____.

Q.F.B. Luis Gerardo Medina Navarro



PRODUCTIVIDAD CIENTÍFICA



Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, A.C.

Otorga la presente

Constancia

a

LUIS GERARDO MEDINA NAVARRO

Por haber participado como **PONENTE** con el trabajo titulado "Caracterización de sensibilidad a Ceftolozano-Tazobactam y Ceftazidima-Avibactam, de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* BLEE." dentro de la sesión de carteles

Autores:

Luis Gerardo Medina Navarro, Liliana Salgado Flores, María de Lourdes Reyes Escogido, Luis Raúl Rivera Garay

Dr. José Juan Donís Hernández
Presidente de la AMIMC A.C.

Dra. Patricia Comejo Juárez
Secretaria Académica, AMIMC A.C.



Campus León

División de Ciencias
de la Salud
Departamento de
Medicina y Nutrición

Maestría en Investigación Clínica