



Perfil de resistencia bacteriana en hemocultivos realizados en población mexicana en los años del 2009 al 2011

Palabras clave:

Resistencia bacteriana, hemocultivo, México, antibióticos.

Key words:

Bacterial resistance, hemoculture, Mexico, antibiotics.

* Departamento de Microbiología, Laboratorio Carpermor, Grupo Diagnóstico Médico Proa (GDMP). D.F., México.

‡ Laboratorio de Medicina Molecular, Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

§ Doctorado en Ciencias Biomédicas Básicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

¶ Dirección Proyectos e Investigación, GDMP. D.F., México.

** Departamento de Investigación Clínica, GDMP. D.F., México.

Correspondencia:
R. Daniel Cervantes-Villagrana
Alfonso Herrera
núm. 75,
Col. San Rafael,
06470, México, D.F.
Tel. 1946-1012.
E-mail:
rdancervantes@
hotmail.com

Recibido:
19/03/2014.
Aceptado:
22/05/2014.

Salvador Eduardo Rodríguez Martínez,* Alberto Rafael Cervantes-Villagrana,‡
Julio Enrique Castañeda-Delgado,§ José Miguel Presno-Bernal,¶
Rodolfo Daniel Cervantes-Villagrana**

RESUMEN

La resistencia farmacológica a los antibióticos es un problema muy importante de salud a nivel mundial. Se caracteriza por la baja o nula efectividad de los tratamientos contra infecciones bacterianas, lo cual favorece el incremento de la morbilidad y mortalidad en pacientes con septicemia. En México, parte del problema se ha atribuido a la automedicación y venta descontrolada de antibióticos. Sin embargo, hoy en día es necesario hacer énfasis en la regulación de productos farmacéuticos catalogados como genéricos o similares debido a que carecen de controles de calidad, lo que puede ocasionar una baja efectividad del medicamento y, por consiguiente, favorecer la resistencia farmacológica en la población mexicana. En el presente trabajo analizamos la prevalencia de la resistencia farmacológica en bacterias identificadas en hemocultivos de pacientes con septicemia en la Ciudad de México, Distrito Federal. Encontramos que los fármacos como linezolid, imipenem y gatifloxacina son los más efectivos contra las cepas bacterianas con mayor índice de farmacoresistencia en esta población. Las penicilinas fueron los fármacos con menor efectividad a causa de la farmacoresistencia bacteriana. Además, encontramos que las bacterias con mayor índice de farmacoresistencia en nuestro estudio fueron *Staphylococcus hominis*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Antibiotics resistance is a health problem worldwide, which is characterized by low or no effective treatments against bacterial infections that increase morbidity and mortality in septicemia patients. In Mexico, part of the problem has been attributed to self-medication and uncontrolled antibiotics sale. Today is necessary to emphasize regulation of pharmaceuticals classified as generic or similar drugs because they lack of quality control, which may cause low effectiveness of the drug and thus promote drug resistance in the Mexican population. In this paper we analyzed the drug resistance prevalence in bacteria identified in hemocultures obtained of patients with septicemia from Mexico City. We found that drugs such as linezolid, imipenem and gatifloxacin are the most effective drugs against bacterial strains with the highest rate of drug resistance in this population. However, penicillins were less effective drugs because of drug resistant bacteria. We also found that the bacteria with more drug resistance index in our studies were *Staphylococcus hominis*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antibióticos es un problema importante de salud a nivel mundial que ha ido creciendo alarmantemente; reduce la efectividad de los tratamientos contra cepas bacterianas, generando así aumento de la morbilidad, la mortalidad y en los costos por tratamiento.¹ Desde 1998, la Organización Mundial de Salud (OMS) ha promovido el mejoramiento en el uso y prescripción de anti-

bióticos para disminuir la farmacoresistencia.² Sin embargo, no se ha tenido el éxito esperado debido al inadecuado control de las infecciones en hospitales, a la tendencia de internar en nosocomios a pacientes seriamente enfermos, a la migración masiva en el mundo y, principalmente, al uso inadecuado de antibióticos.³

En México, los resultados no son distintos, pues los casos de farmacoresistencia incrementan anualmente;⁴ hasta hace poco, los antibióticos estaban entre los medicamentos

que se vendían con mayor frecuencia (40%) en farmacias privadas y sin receta médica.⁵ Aunado a esto, el uso masivo de antibióticos genéricos en México ha influido en la resistencia bacteriana, debido a que estos medicamentos poseen menos compuesto activo comparado con el antibiótico original o de patente.^{6,7} Además de los genéricos, en nuestro país se encuentra una empresa privada que produce y comercializa medicamentos similares que no cumplen con controles de calidad externos. Por ello, es fácil pensar que los antibióticos genéricos, pero principalmente los similares, poseen una baja potencia y biodisponibilidad, lo que favorece la farmacoresistencia de cepas bacterianas,⁸ que pueden ocasionar sepsis, una infección sistémica que produce varias complicaciones e incluso la muerte del paciente.^{9,10}

En el presente artículo analizamos la prevalencia de la resistencia farmacológica de bacterias identificadas en hemocultivos de pacientes con sepsis en el Distrito Federal. Consideramos que el análisis continuo de la susceptibilidad a los antibióticos nos permitirá visualizar un panorama general de los perfiles de resistencia que presentan las bacterias que provocan septicemia en México, con la finalidad de predecir y establecer estrategias terapéuticas que orienten el uso de una farmacología más eficaz.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 1,442 resultados de hemocultivo de individuos de uno u otro género, de los cuales 137 hemocultivos desarrollaron colonias bacterianas. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas y procesadas a partir de enero de 2009 hasta diciembre de 2011 en el Laboratorio Carpermor, S.A. de C.V. De acuerdo con la Ley general de salud, el estudio no representó un riesgo físico ni de confidencialidad, por lo tanto no requirió la firma de consentimiento de los pacientes. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Laboratorio Carpermor.

Hemocultivo y antibiograma. Se utilizaron de 5 a 10 mL de sangre periférica, la cual se inoculó en botellas de hemocultivo Bactec mediante una jeringa estéril; las botellas se colocaron en el equipo BACTEC 9050 (Becton, Dickinson and Company) para su incubación durante cinco días. Los hemocultivos que presentaron crecimiento bacteriano fueron muestreados y sembrados en cultivos de agar sangre (# cat 43041), agar chocolate (# cat 43101), agar Mac Conkey (# cat 20710), agar Sabouraud de BioMérieux, y agar CDC (Becton, Dickinson and Company, # cat 252571), para identificar el microorganismo. Las placas de agar sangre, Mac Conkey,

Sabouraud se colocaron en la incubadora de aerobiosis; mientras que las placas de agar chocolate y agar sangre se colocaron en la incubadora de CO₂ al 5%; ambas condiciones se incubaron durante 48 horas de 35 a 37 °C. La placa con agar CDC se incubó en anaerobiosis por cuatro días a 37 °C.

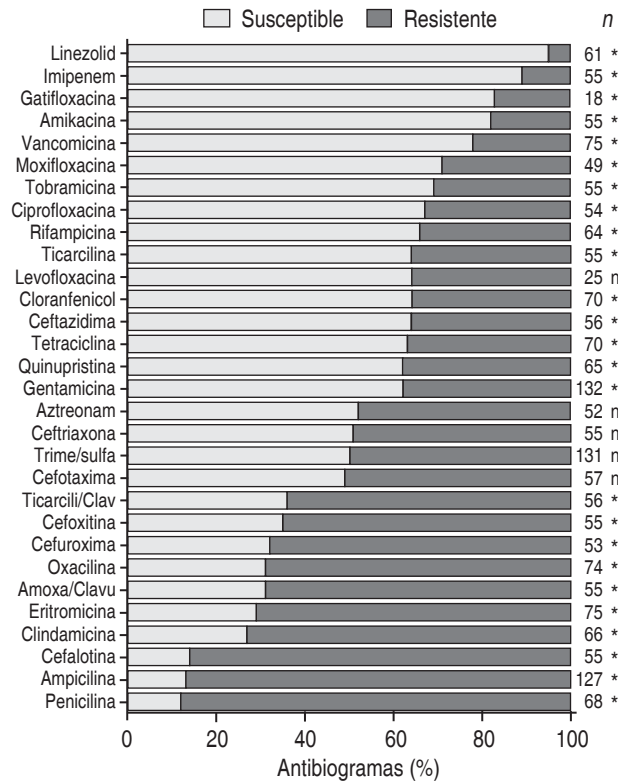
Posterior a la incubación, se realizó la observación macroscópica de la superficie del agar en busca de colonias bacterianas. En aquellos hemocultivos que fueron positivos, se realizó microscopia por tinción de Gram. En las muestras que presentaron crecimiento bacteriano, se realizó el antibiograma para determinar la resistencia o susceptibilidad de las bacterias hacia los antibióticos. Una vez identificada la bacteria, se preparó una suspensión bacteriana con 3 mL de cloruro de sodio, hasta que se alcanzó la turbidez de 0.5 en la escala de McFarland, y se introdujo en el instrumento Vitek2 (Biomerieux) junto con la tarjeta de prueba que contiene los antibióticos a diferentes concentraciones; la tarjeta AST-GP se utilizó para Gram negativos y la tarjeta AST-GN25 para Gram positivos. Las tarjetas fueron incubadas y monitoreadas durante 10 a 18 horas. Finalmente se generó el informe, se obtuvo la concentración mínima inhibitoria y se interpretaron los resultados como susceptible, resistente o intermedio según los puntos de corte establecidos por las guías de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados mediante la prueba Z para determinar la diferencia del porcentaje de eventos de resistencia *versus* susceptibilidad. El análisis de tendencia en la resistencia bacteriana con respecto a la edad de los pacientes se determinó mediante la prueba χ^2 . El análisis estadístico se realizó en el software SigmaPlot 11.0, mientras que los gráficos se realizaron en el software GraphPad Prism 5.0.

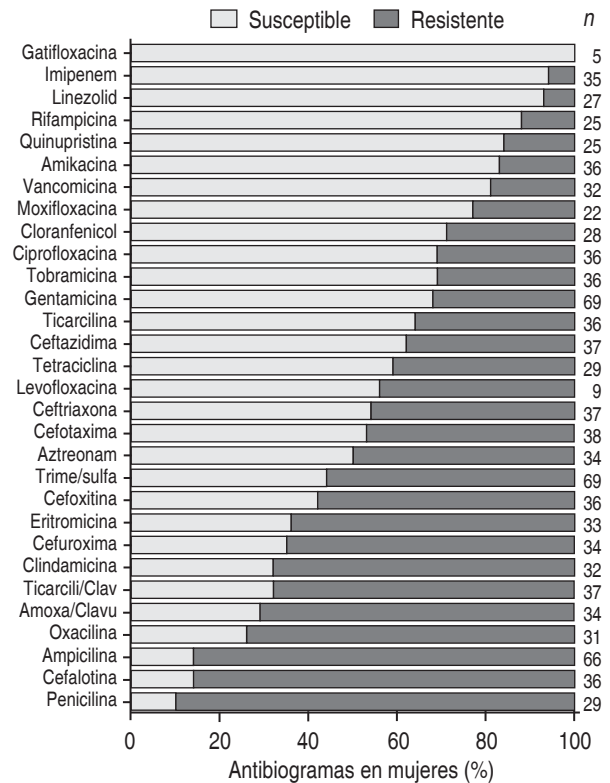
RESULTADOS

Los datos obtenidos de los antibiogramas realizados en bacterias que proliferaron en los hemocultivos a partir de pacientes de uno u otro género muestran diferencias importantes en los patrones de resistencia-susceptibilidad a los antibióticos evaluados. Nosotros analizamos las proporciones en la resistencia farmacológica independiente de las bacterias específicas identificadas en ambos géneros y entre ellos (*figura 1*). Los antibióticos como linezolid, imipenem y gatifloxacina son los más efectivos contra las bacterias identificadas y además presentan pocos casos de resistencia bacteriana, mientras que los fármacos como la penicilina, ampicilina y cefalotina han mostrado tener una muy baja efectividad contra cultivos de bacterias de aislados clínicos (*figura 1A*).

A



B



C

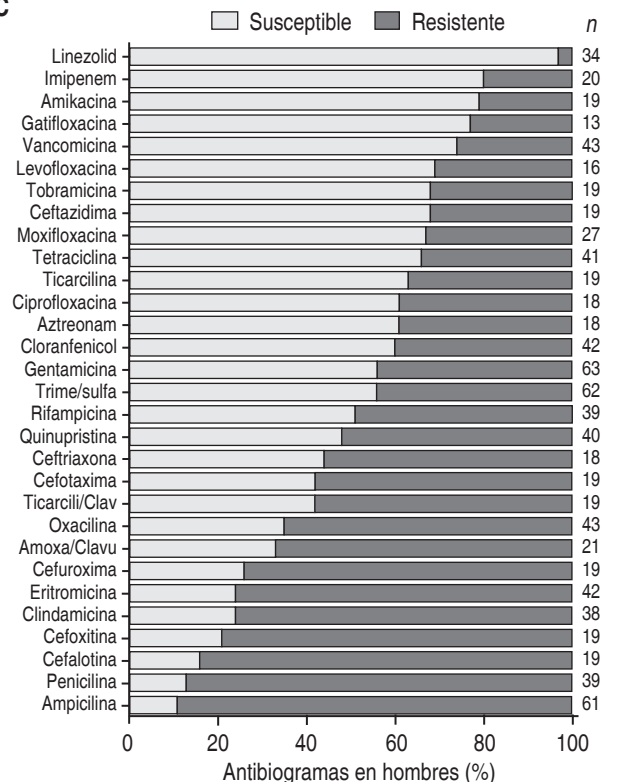


Figura 1. Perfil de la resistencia bacteriana en los hemocultivos obtenidos en pacientes de ambos géneros con septicemia. **A:** Resistencia bacteriana de hemocultivos realizados en ambos géneros. **B:** sólo en mujeres y **C:** sólo en hombres. Los datos se muestran como el porcentaje de bacterias susceptibles (color claro) y resistentes (color oscuro) al fármaco respectivo. n.s. = No significativo, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$: prueba Z.

En los hemocultivos obtenidos de muestras sanguíneas de mujeres, las bacterias fueron principalmente susceptibles a linezolid y la resistencia a penicilina, ampicilina, entre otros (figura 1B). Por otro lado, en las bacterias identificadas en las muestras sanguíneas de hombres, destaca la susceptibilidad frente al imipenem, linezolid y gatifloxacina. La resistencia prevalece sobre la penicilina, ampicilina y cefalotina (figura 1C). Las cepas que fueron resistentes a linezolid fueron *Enterococcus faecalis* (dos casos) y *Staphylococcus epidermidis* (un caso).

En el presente trabajo identificamos 32 bacterias de diferente cepa. En la figura 2 se muestran nueve cepas de bacterias seleccionadas por el número de fármacos evaluados, además de que algunas son las más frecuentes

con mayor prevalencia de infección en nuestro universo de estudio. *Staphylococcus epidermidis* fue la bacteria más prevalente, seguida por *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. En el análisis de proporción resistencia-susceptibilidad, *Klebsiella pneumoniae* es la bacteria que mostró menor resistencia entre las diferentes bacterias. Mientras que *Staphylococcus hominis* es la bacteria que muestra mayor resistencia a los diversos fármacos evaluados.

Analizamos el perfil de resistencia en las cuatro bacterias más frecuentes identificadas en los hemocultivos.

S. aureus fue susceptible frecuentemente a fármacos como linezolid, vancomicina y rifampicina, pero claramente fue resistente a ampicilina y penicilina (figura 3A). *S. epidermidis* como la bacteria más frecuente de todas, es susceptible a linezolid y vancomicina, pero mostró alta resistencia a penicilina, clindamicina, oxacilina y eritro-

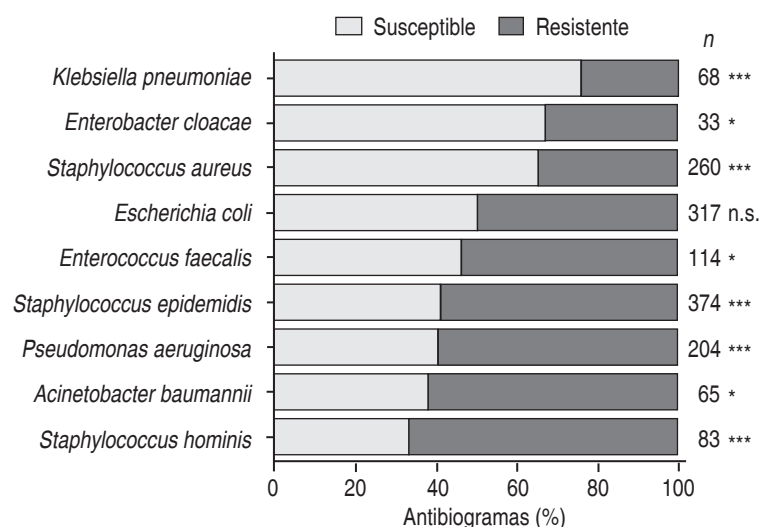


Figura 2. Resistencia farmacológica de nueve bacterias detectadas en los hemocultivos. Los datos se muestran como el porcentaje de bacterias susceptibles (color claro) y resistentes (color oscuro) al fármaco. Se eligieron estas bacterias porque fueron frecuentes y/o se probaron un número considerable de fármacos. n = número de fármacos evaluados en cada bacteria respectivamente; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001: prueba Z.

Cuadro I. Análisis de tendencia para la proporción de bacterias resistentes aisladas de hemocultivos para un panel de fármacos antimicrobianos en diferentes grupos de edad.

	Proporción de casos en cada grupo de edad (Resistente/susceptible)									Prueba χ^2 , valor de p
	Edad en años									
	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	>80	
Eritromicina	16/3	1/0	5/1	2/1	3/0	6/4	3/1	4/0	0/0	0.6419
Gentamicina	9/21	1/3	4/12	2/4	1/13	8/8	5/12	7/5	4/0	0.0196**
Amikacina	0/8	1/2	1/5	0/1	1/6	1/4	1/10	3/4	1/1	0.4890
Cloranfenicol	8/8	0/1	0/5	2/2	3/0	3/7	4/2	2/0	0/0	0.0690
Ampicilina	1/8	1/0	6/0	4/0	3/0	1/0	5/0	4/0	1/0	ND [‡]
Clindamicina	13/4	0/0	3/1	1/3	2/0	6/3	4/0	3/1	1/0	0.3668
Oxacilina	16/6	1/0	5/3	4/1	4/3	6/5	5/1	4/0	1/0	0.7058
Penicilina	19/1	1/0	6/1	4/1	3/1	10/1	5/1	4/0	1/1	0.6847
Trimetoprim/Sulfametoxazol	14/15	1/2	8/8	2/4	4/10	7/9	12/5	7/5	3/0	0.2600

[‡] No fue posible realizar análisis debido de la existencia de «0» en varias proporciones.

** Valor de p menor o igual a 0.05 fue considerado significativo.

micina en porcentajes similares (figura 3B). *Pseudomonas aeruginosa* fue susceptible a imipenem y tobramicina, pero es resistente a trimetoprim con sulfametoxazol, ampicilina y cefalosporinas (figura 3C). Por el contrario, *E. coli* es susceptible a trimetoprim con sulfametoxazol, pero resistente a las penicilinas (figura 3D).

Evaluamos si el incremento en la resistencia bacteriana correlaciona de manera directa con la edad de los pacientes. Para ello, en el caso de la gentamicina, la resistencia bacteriana correlaciona significativamente con la edad del paciente y de manera independiente de la bacteria involucrada (cuadro 1). Por lo anterior, los pacientes de edad avanzada con mayor frecuencia presentan septicemia por

bacterias con resistencia a gentamicina en comparación con enfermos de edades menores. Sin embargo, el resto de los fármacos evaluados no mostró tendencia similar a gentamicina, incluso el análisis de ampicilina muestra alta frecuencia de resistencia bacteriana a cualquier edad de los pacientes.

DISCUSIÓN

Con la finalidad de identificar aquellos fármacos que mantienen efecto sobre las bacterias aisladas de muestras sanguíneas de pacientes con septicemia, analizamos el perfil de resistencia farmacológica de las bacterias ais-

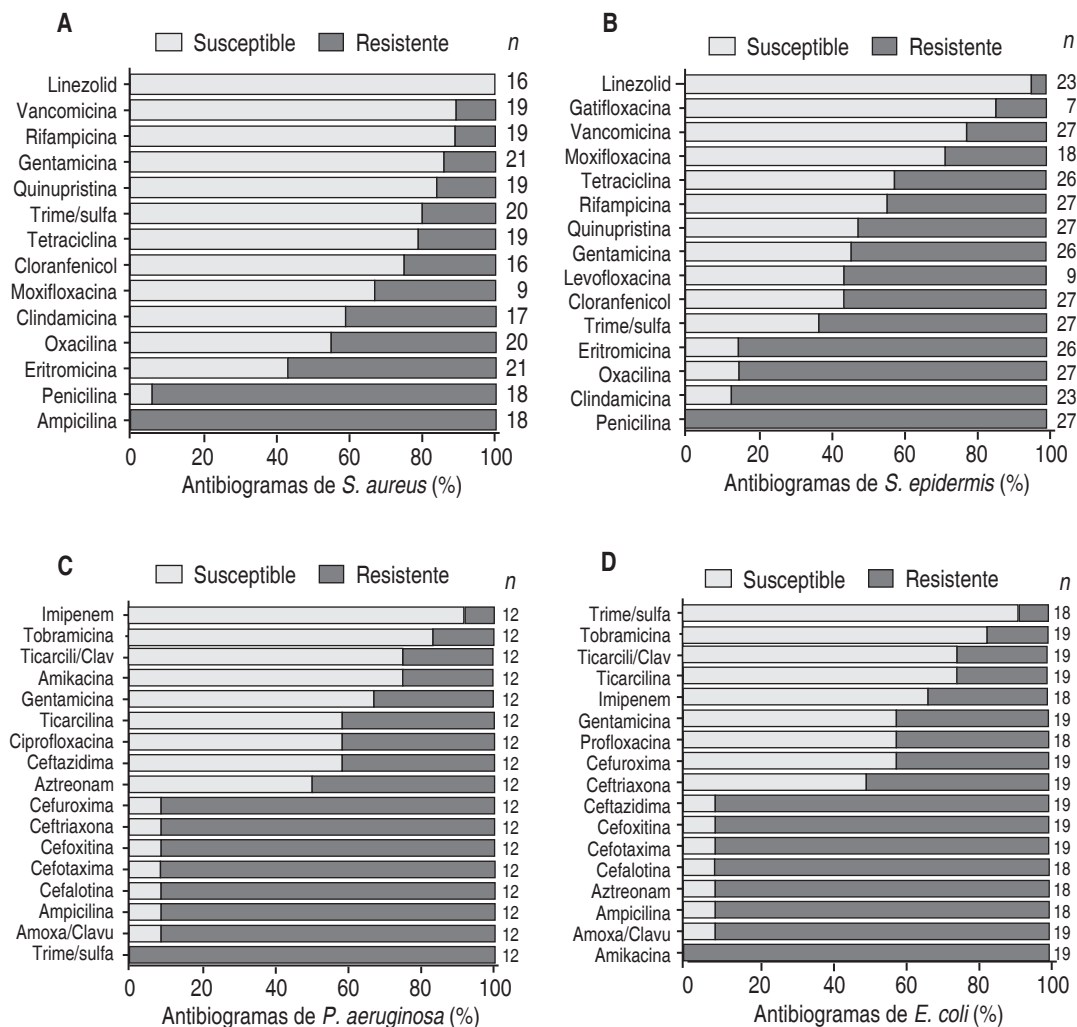


Figura 3. Perfil de la resistencia farmacológica de las cuatro bacterias más frecuentes en los hemocultivos. Perfil de resistencia de **A:** *S. aureus*, **B:** *S. epidermidis*, **C:** *P. aeruginosa* y **D:** *E. coli*. Los datos se muestran como el porcentaje susceptible al fármaco (color claro) y el resistente (color oscuro).

ladas. El análisis de 137 hemocultivos positivos mostró que las cepas bacterianas con mayor prevalencia de resistencia son *Staphylococcus hominis*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista asociado con infecciones nosocomiales; se conoce que la resistencia a los fármacos se debe principalmente a que el microorganismo genera bombas de flujo capaz de rechazar el fármaco.¹¹ *S. hominis* se caracteriza por inducir septicemias severas¹² y generar farmacoresistencia debido a la mutación ribosomal, lo que genera un déficit en la efectividad de la mayoría de los antibióticos, incluyendo linezolid.¹³ *Acinetobacter baumannii* ha mostrado tener distintos mecanismos de farmacoresistencia que la han convertido en una de las cepas bacterianas con mayor resistencia farmacológica a nivel mundial; esta resistencia es generada debido a la producción de bombas de flujo, porinas y beta lactamasas.¹⁴

El análisis grueso de los datos permitió determinar que fármacos como linezolid e imipenem fueron los más efectivos para eliminar a los microorganismos aislados, en particular los Gram positivos; y no parece existir influencia del género del huésped en el perfil de resistencia farmacológica de las bacterias aisladas que produjeron la septicemia. El linezolid es un fármaco con resistencia prácticamente nula; su efectividad y baja resistencia bacteriana quizá tiene correlación directa con el mecanismo de acción, considerando que es el único disponible que inhibe el complejo de iniciación para la síntesis proteica. Hasta años recientes se han detectado cepas resistentes como *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* y *Staphylococcus cohnii* en países de primer mundo^{15,16} y en México como la cepa de *Enterococcus faecalis*.¹⁷ Nosotros encontramos casos aislados de cepas de *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus epidermidis* con resistencia intermedia a linezolid de acuerdo a los resultados; por ello, es necesario que la práctica clínica, las políticas de regulación farmacéutica y las industrias farmacéuticas colaboren en el mejor uso de este tipo de fármacos para prolongar sus años de efectividad sobre las bacterias correspondientes.

En México, el consumo de antibióticos actualmente se restringe a prescripción médica. Sin embargo, en años anteriores, la venta de antibióticos fue libre y la automedicación una actividad rutinaria. El consumo descontrolado y no dosificado es una de las causas de la generación de resistencia bacteriana.¹⁸

Los mecanismos de acción pueden variar de manera interesante entre los antibióticos disponibles en la actualidad. El antibiótico que mostró mayor efectividad fue linezolid cuyo mecanismo de acción es inhibir la síntesis

de proteínas en la bacteria al impedir la formación del complejo de iniciación.¹⁹ Este fármaco es el único con este mecanismo de acción. Por otro lado, en las bacterias Gram negativas, los fármacos como trimetoprim con sulfametoxazol aún son efectivos para *E. coli*.

Es de suma importancia realizar análisis detallados sobre la correlación entre el mecanismo de acción de los antibióticos y la resistencia de la bacteria. También, es necesario considerar el estudio de los patrones de resistencia en especies bacterianas evaluadas desde diferentes tipos de muestras, es decir, identificar si existe una correlación en la resistencia bacteriana y la localización de la bacteria

CONCLUSIONES

Los fármacos más efectivos y con menor resistencia bacteriana son linezolid, imipenem y gatifloxacina; mientras que las cepas que mostraron mayor resistencia farmacológica son *Staphylococcus hominis*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. El análisis de los perfiles de resistencia bacteriana es esencial para predecir y orientar la terapéutica con la finalidad de desarrollar una farmacoterapia más eficaz.

REFERENCIAS

1. Acar JF, Goldstein FW. Consequences of increasing resistance to antimicrobial agents. Clin Infect Dis. 1998; 27 (suppl 1): S125-S130.
2. Heymann D, Dzenowagis J. Commentary: Emerging and other communicable diseases. Bull World Health Organ. 1998; 76 (6): 545-547.
3. Avorn J, Solomon DH. Cultural and economic factors that (mis) shape antibiotic use: the nonpharmacologic basis of therapeutics. Ann Intern Med. 2000; 133 (2): 128-135.
4. Benavides-Plascencia L, Aldama-Ojeda AL, Javier Vazquez H. Surveillance of antibiotic utilization and bacterial resistance profiles in tertiary level hospitals in Mexico City. Salud Pública Mex. 2005; 47 (3): 219-226.
5. Dreser A, Wirtz VJ, Corbett KK, Echaniz G. Antibiotic use in Mexico: review of problems and policies. Salud Pública Mex. 2008; 50 (suppl 4): S480- S487.
6. Jones RN, Fritsche TR, Moet GJ. In vitro potency evaluations of various piperacillin/tazobactam generic products compared with the contemporary branded (Zosyn, Wyeth) formulation. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008; 61 (1): 76-79.
7. Lambert PA, Conway BR. Pharmaceutical quality of ceftriaxone generic drug products compared with Rocephin. J Chemother. 2003; 15 (4): 357-368.
8. Amabile-Cuevas C. Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. J Infect Dev Ctries. 2010; 4 (3): 126-131.
9. Martin CP, Talbert RL, Burgess DS, Peters JL. Effectiveness of statins in reducing the rate of severe sepsis: a retrospective evaluation. Pharmacotherapy. 2007; 27 (1): 20-26.
10. Pradipta IS, Sodik DC, Lestari K, Parwati I, Halimah E, Diantini A et al. Antibiotic resistance in sepsis patients: evaluation and recommendation of antibiotic use. N Am J Med Sci. 2013; 5 (6): 344-352.

11. Meletis G, Exindari M, Vavatsi N, Sofianou D, Diza E. Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Hippokratia. 2012; 16 (4): 303-307.
12. Mendoza-Olazarán S, Morfin-Otero R, Rodríguez-Noriega E, Llaca-Díaz J, Flores-Trevino S, González-González GM et al. Microbiological and molecular characterization of *Staphylococcus hominis* isolates from blood. PLoS One. 2013; 8 (4): e61161.
13. de Almeida LM, de Araujo MR, Sacramento AG, Pavez M, de Souza AG, Rodrigues F et al. Linezolid resistance in Brazilian *Staphylococcus hominis* strains is associated with L3 and 23S rRNA ribosomal mutations. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57 (8): 4082-4083.
14. Rumbo C, Gato E, Lopez M, Ruiz de Alegria C, Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L et al. The contribution of efflux pumps, porins and beta-lactamases to multi-drug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 12.
15. Lopez-Salas P, Llaca-Díaz J, Morfin-Otero R, Tinoco JC, Rodríguez-Noriega E, Salcido-Gutiérrez L et al. Virulence and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* clinical isolates recovered from three states of Mexico. Detection of linezolid resistance. Arch Med Res. 2013; 21.
16. Flamm RK, Mendes RE, Ross JE, Sader HS, Jones RN. Linezolid surveillance results for the United States: LEADER surveillance program 2011. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57 (2): 1077-1081.
17. Chen H, Wu W, Ni M, Liu Y, Zhang J, Xia F et al. Linezolid-resistant clinical isolates of enterococci and *Staphylococcus cohnii* from a multicentre study in China: molecular epidemiology and resistance mechanisms. Int J Antimicrob Agents. 2013; 20.
18. Gutiérrez O, Juan C, Cercenado E, Navarro F, Bouza E, Coll P et al. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spanish hospitals. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51 (12): 4329-4335.
19. Yang XJ, Chen Y, Yang Q, Qu TT, Liu LL, Wang HP et al. Emergence of cfr-harboring coagulase-negative staphylococci among patients receiving linezolid therapy in two hospitals in China. J Med Microbiol. 2013; 62 (Pt 6): 845-850.