

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**Cambio en la producción de biopelícula de *Acinetobacter baumannii* DTR tras la exposición a azitromicina en pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva.**

**Por**

**DR. EMILIO JOSÉ CASTILLO GONZÁLEZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA**

**DICIEMBRE, 2024**

**Cambio en la producción de biopelícula de *Acinetobacter baumannii*  
DTR tras la exposición a azitromicina en pacientes con neumonía  
asociada a ventilación mecánica invasiva.**

**Aprobación de la tesis:**



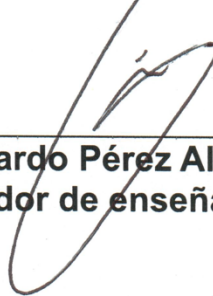
---

**Dr. Reynaldo Lara Medrano**  
**Director de tesis**



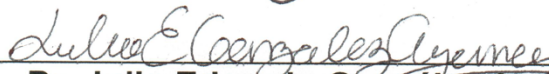
---

**Dra. C. Paola Bocanegra Ibarias**  
**Co-Director de tesis**



---

**Dr. Eduardo Pérez Alba**  
**Coordinador de enseñanza**



---

**Dr. Julio Edgardo González Aguirre**  
**Asesor de tesis**



---

**Dr. med. Adrián Camacho Ortiz**  
**Jefe del Servicio de Infectología**  
**Tutor de tesis**



---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
**Subdirector de Estudios de Posgrado**

## **DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por guiarme en cada paso de este viaje académico y darme la fuerza para perseverar. Gracias por ser mi fuente de fortaleza y entendimiento en este logro académico.

A mi esposa Joseline, en los días turbulentos, ha sido mi apoyo, y en los buenos momentos, mi razón de sonrisas. Gracias por apoyarme en mis momentos de flaqueza.

A mi mamá, tía y papá, por brindarme las herramientas para poder estudiar lo que me apasiona, este logro es un reflejo del esfuerzo que invirtieron para brindarme una educación sólida.

A mis profesores, por ser mentores y guías durante mi entrenamiento en esta especialidad, por su ayuda en la realización de esta tesis.

A mis compañeros, por todos esos momentos de ayuda.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
<b>Capítulo I</b>	
Resumen.....	1
<b>Capítulo II</b>	
Introducción.....	3
<b>Capítulo III</b>	
Hipótesis.....	15
<b>Capítulo IV</b>	
Objetivos.....	16
<b>Capítulo V</b>	
Material y métodos.....	17
<b>Capítulo VI</b>	
Resultados.....	24
<b>Capítulo VII</b>	
Discusión.....	39
<b>Capítulo VIII</b>	
Conclusiones.....	43
<b>Capítulo IX</b>	
Bibliografía.....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
<b>1. Variables clínicas y paraclínicas de los pacientes.....</b>	<b>25</b>
<b>2. Clasificación de producción de biopelícula.....</b>	<b>30</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Estructura química de los macrólidos.....	13
2. Distribución en tejidos de los macrólidos.....	13
3. Selección de participantes.....	24
4. Perfil de no susceptibilidad de <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	27
5. Producción cualitativa de biopelícula de <i>A. baumannii</i> .....	28
6. Producción cuantitativa de biopelícula de <i>A. baumannii</i> .....	29
7. Producción de biopelícula, “condición de agitación sin glucosa” por grupo de estudio .....	32
8. Composición de biopelícula por grupo de estudio.....	33
9. Comparación (ANOVA) de componentes de la biopelícula por grupo de estudio.....	34
10. Frecuencia de aislamientos dependiendo de la MIC.....	36
11. MIC y MBEC de <i>A. baumannii</i> por grupo de estudio.....	37

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ADN:** ácido desoxirribonucleico.

**ALT:** alanina-aminotransferasa.

**ANOVA:** análisis de la varianza.

**ATCC:** *American Type Culture Collection.*

**AZM:** azitromicina.

**BT:** bilirrubina total.

**CL:** colistina.

**CLSI:** *Clinical and Laboratory Standards Institute.*

**DTR:** resistente difícil de tratar.

**EUCAST:** *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.*

**FiO<sub>2</sub>:** fracción inspirada de oxígeno.

**IAAS:** Infecciones asociadas a la atención en salud.

**IDSA:** *The Infectious Diseases Society of America.*

**MALDI-TOF MS:** espectrometría de masas desorción/ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo.

**MDR:** multidrogo-resistente.

**MEM:** meropenem.

**MIC:** concentración mínima inhibitoria.

**NAV:** neumonía asociada a ventilación mecánica.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PaO<sub>2</sub>:** presión parcial de oxígeno.

**PBP:** proteínas de unión a la penicilina.

**PDR:** pandrogo-resistente.

**RHOVE:** Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica.

**TFG:** tasa de filtrado glomerular.

**XDR:** extensodrogo-resistente



# CAPÍTULO I

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el cambio microbiológico luego de la adición de azitromicina al esquema de colistina y meropenem en pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva por *A. baumannii* DTR.

**Período de estudio:** se llevó a cabo desde el 01 de febrero de 2024 al 30 de septiembre de 2024.

**Lugar y sujetos de estudio:** pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica por *A. baumannii* DTR, en el servicio de terapia intensiva del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”

**Material y métodos:** en el presente estudio se estimó incluir 4 pacientes por grupo de estudio; la administración de colistina + meropenem fue por 7 días, mientras que la azitromicina solo se administró por 5 días. Durante los 10 días en los que estaban incluidos en el estudio se les realizó 7 aspirados traqueales de los que se realizó cultivo de bacterias aerobias y posteriormente se evaluó su producción de biopelícula a cada aislamiento.

**Resultados:** se aleatorizaron 6 pacientes, 3 al grupo control (colistina + meropenem) y 3 al grupo de intervención (colistina + meropenem + azitromicina). Se recolectaron un total de 40 aspirados traqueales, en 27 hubo desarrollo de *A. baumannii* DTR. De estos 27 aislamientos a las bacterias se les realizó un análisis

de la producción de biopelícula mediante una combinación de condiciones que incluyó agitación y glucosa para favorecer la producción, y se observó que la agitación sin glucosa fue el ensayo que favoreció en mayor medida la producción de biopelícula. Posteriormente, se seleccionaron 22 aislamientos de *A. baumannii* que fueron productores fuertes de biopelícula, y se determinaron los componentes de la biopelícula (ADN, proteínas y carbohidratos), los cuales fueron producidos de forma heterogénea, tanto en el grupo control, como en el grupo intervención. Se les realizó comparación de varianzas a estos datos y se estableció que no había diferencia estadísticamente significativa en ambos grupos de estudio. Por último, se le realizó pruebas de susceptibilidad a todas las bacterias de *A. baumannii* contra azitromicina y tanto las bacterias no productoras de biopelícula como las productoras presentaron valores altos de resistencia a este antibiótico.

En lo que se refiere a datos clínicos y de laboratorio, se observó una disminución de glóbulos blancos y de los parámetros ventilatorios, predominante en el grupo de intervención. Se dio seguimiento a los efectos adversos cardiacos (prolongación del intervalo QT), lesión renal (disminución de la tasa de filtrado glomerular), daño hepático (elevación de pruebas hepáticas en sangre) y no se observó ningún efecto adverso ni mortalidad atribuible al uso de azitromicina.

**Conclusiones:** La producción y composición de biopelícula fue analizada en 27 aislamientos que se obtuvieron y no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la reducción de producción de biopelícula y tampoco en los componentes de esta, luego de la adición de azitromicina.

## CAPÍTULO II

### INTRODUCCIÓN

Desde el 2011 la Organización Mundial de la salud (OMS) ha reconocido que las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) son un problema que ha ido en aumento y las define como “una infección que ocurre en un paciente durante el proceso de atención en un hospital u otro centro de atención médica y que no estaba presente o en incubación en el momento del ingreso; incluye infecciones adquiridas en el hospital, pero que aparecen después del alta, y también infecciones ocupacionales entre el personal de la instalación”. Dentro de estas infecciones las tres más prevalentes en orden de frecuencia son: la neumonía asociada a ventilación mecánica (NAV), la infección asociada a catéter urinario y la infección asociada a catéter venoso central. Desde el momento que un paciente ingresa a un centro de atención médica se reporta que tiene una probabilidad del 3 al 12% de padecer cualquiera de estas tres IAAS(1).

Derivado de lo anterior la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2015 reafirmó su postura de que la resistencia antimicrobiana es uno de los problemas más importantes, especialmente en *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Klebsiella pneumoniae* productor de betalactamasas de espectro extendido y/o carbapenemasas, *Acinetobacter baumannii* Multidrogo-resistente (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* MDR, y *Enterobacter* spp. productor de betalactamasas de espectro extendido y/o carbapenemasas. Estas bacterias en conjunto se les denomina con el acrónimo ESKAPE (2,3).

La neumonía asociada a ventilación mecánica se define como una infección aguda del parénquima pulmonar, que sucede posterior a las 48 horas de intubación orotraqueal (4). A nivel mundial se estima que la incidencia de neumonía asociada a ventilación mecánica es de 15.6% en las unidades de cuidado intensivo y se estima que para América Latina es del 13.8%(5); esto representa un aumento en hasta de 10 días en la estancia hospitalaria(5), un aumento en la mortalidad del 13%(6) y un aumento en los costos de por lo menos el 50%(7). En México en el 2023 la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) reportó que la neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva representó la IAAS más prevalente a nivel nacional. En lo que respecta a los microorganismos que se pueden aislar según el reporte de la RHOVE en 2023 los microorganismos más frecuentemente aislados en IAAS son: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* (8).

*A. baumannii* es un cocobacilo Gram negativo, catalasa positiva, oxidasa negativo, no móvil y no fermentador de glucosa (9). El complejo *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* originalmente estaba conformado por cuatro especies: *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter pittii* y *Acinetobacter nosocomialis*, que están estrechamente relacionadas y son difíciles de distinguir por sus propiedades fenotípicas. Recientemente, también se incluyeron dentro del complejo dos nuevas especies, *Acinetobacter seifertii* y *Acinetobacter dijkshoorniae*. Por lo tanto, el complejo incluye colectivamente cinco especies de *Acinetobacter* asociadas con enfermedades humanas (*A.*

*baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii* y *A. dijkshoorniae*) y una especie ambiental (*A. calcoaceticus*)(10). *A. baumannii* era considerado como patógeno oportunista; sin embargo, en las últimas décadas ha aumentado la incidencia de infecciones causadas por este microorganismo, lo que en la unidad de terapia intensiva se ha asociado a un aumento en la morbilidad que puede ascender hasta 30% (11). Esto se debe a que la neumonía asociada a ventilación por *A. baumannii* aumenta el riesgo de padecer complicaciones en hasta dos veces; así mismo los días de estancia hospitalaria y días de uso de ventilación mecánica se prolongan hasta ocho días más en comparación a los pacientes que tienen neumonía asociada a ventilación mecánica provocada por otros patógenos (9,11).

Dentro de las razones por las cuales *A. baumannii* tiene gran relevancia clínica se puede destacar sus factores de virulencia:

- ▶ Porinas: también denominadas proteínas de membrana externa A, son proteínas que como su nombre lo indica se encuentran en la membrana externa de la bacteria. Al inicio de la infección promueve la adhesión de la bacteria hacia la superficie luminal de las células epiteliales por medio de la fibronectina y luego promueve su internalización; ya en el citosol de la célula hospedera esta proteína libre se puede dirigir hacia la mitocondria en donde media la liberación de factores que al final inducen la apoptosis de la célula hospedera (12).
- ▶ Producción de fosfolipasas: de las clases C y D las cuales tienen una alta afinidad por la fosfatidilcolina de células eucarióticas, que en el ser

humano tienen un papel fundamental ya que tiene propiedades líticas especialmente en los eritrocitos, lo que proporciona hierro para el metabolismo de la bacteria (13).

- ▶ Producción de biopelícula: es un factor de virulencia muy importante en esta bacteria ya que le permite vivir tanto en superficies inertes como en tejidos vivos, en los cuales es de mucha importancia ya que no permite la difusión de los antibióticos al sitio de acción aumentado así la resistencia a estos, además, favorece su persistencia en ambientes adversos (11).

La biopelícula es un acúmulo de bacterias existentes en una matriz extracelular compuesta de proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos. El desarrollo de biopelícula implica cambios fisiológicos en las células pasando de un estado planctónico a sésil, para lo que se necesitan de ciertas condicionantes que favorezca su producción, siendo éstos:

- ▶ Adhesión a la superficie, la cual está mediada por pilis o porinas, las cuales tienen un papel fundamental para la fijación a superficies inertes, ya que zonas hidrófobas de las pilinas se adhieren a zonas hidrofóbicas de dichas superficies lo que implica una unión irreversible (12). También estos pili pueden estar involucrados en la adhesión de las superficies de los tejidos, como el epitelio bronquial (13). Se ha demostrado que en las superficies de los epitelios, especialmente el

bronquial, la unión a las células está mediada por las proteínas de membrana externa A (12).

- ▶ El *quórum sensing* (creo que esto va en cursivas, ya lo moví pero revísalo) es la propiedad de las células bacterianas que facilita la comunicación dentro de su microambiente, implica la síntesis de moléculas de señalización denominadas autoinductores, que interactúan con los receptores de las bacterias vecinas e inducen la expresión de genes específicos para responder a un estímulo de forma coordinada (14).
- ▶ Secreción de sustancias poliméricas para la maduración y mantenimiento de la biopelícula. El principal componente de la matriz es el poli-N-acetil glucosamina y se ha demostrado que tiene afinidad de unión a lectinas lo que facilita su fijación y permanencia en superficies celulares (18). Las proteínas asociadas a biopelícula son proteínas de superficie celular hidrófobas muy importantes en la formación de biopelícula en las células humanas y en sustancias como poliestireno, polipropileno y titanio. La estructura cuaternaria de éstas, forma canales de agua dentro de ellas lo que mantiene una cantidad de solutos esenciales para el mantenimiento de las bacterias (19).

En las últimas décadas *A. baumannii* ha tomado gran importancia por su creciente resistencia a antibióticos, la cual se debe a distintos mecanismos de farmacorresistencia. De esos mecanismos la producción de carbapenemasas,

especialmente las de clase B y las de clase D, son los de mayor importancia. La clase D son oxacilinasas con actividad de carbapenemasa y son la clase de enzimas encontradas más habitualmente en este género. Corresponden a OXA-23 *like*, OXA-24/40 *like* y OXA-58 *like* que se encuentran codificadas en plásmidos o integradas al cromosoma y también, el grupo de OXA-51-*like* la cual está codificada cromosómicamente y es intrínseca en este microorganismo. Además, *A. baumannii* puede presentar sobreexpresión de bombas de expulsión activa siendo de las más predominantes AdeABC, dando también resistencia a otros grupos de antibióticos como tetraciclinas, aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos. Además, pueden estar presentes mutaciones en el sitio diana como en los genes *gyrA* y *gyrC*, que se traduce en farmacorresistencia hacia la familia de las fluoroquinolonas, o disminución de la permeabilidad del antibiótico hacia el sitio diana por delección de en el gen de la porina OmpA, afectando predominantemente a las tetraciclinas y carbapenémicos (12,20).

En cuanto a la clasificación de esta farmacorresistencia, anteriormente se han utilizado las definiciones propuestas por Magiorakos *et al.*, con base a la resistencia de categorías de antibióticos: multidrogo-resistente (no susceptible a más de un agente en más de tres categorías antimicrobianas), extensodrogo-resistente (no susceptible al menos a un agente en todas las categorías antimicrobianas, excepto en dos) y pandrogo-resistente (no susceptible a todos los agentes antimicrobianos) (21). Sin embargo, para poder utilizar esta clasificación se deben utilizar una amplia gama de antibióticos, por lo que en fechas recientes *The Infectious Diseases Society of America* (IDSA) ha



sugerido el término de Resistencia Difícil-de-Tratar (DTR, por sus siglas en inglés) que es de gran utilidad para la clasificación de cepas de *A. baumannii* (22). Los aislamientos de *A. baumannii* DTR son aquellos microorganismos que tienen susceptibilidad intermedia o resistente a todos los antibióticos incluidos en la categoría de  $\beta$ -lactámicos, carbapenémicos y fluoroquinolonas, y se incluye la piperacilina-tazobactam y ampicilina-sulbactam en el caso de *A. baumannii*, haciendo éste un término clínico de mayor utilidad debido a que indica resistencia a todos los agentes de primera línea, en lugar de a todos los agentes antimicrobianos disponibles, como se propone en la definición de Magiorakos *et al.*, (21).

El tratamiento de elección de *A. baumannii* DTR, de acuerdo con lo señalado por la IDSA, se puede considerar varias opciones terapéuticas como lo son altas dosis de ampicilina/sulbactam asociado a otro fármaco efectivo contra *A. baumannii*. Esto se fundamenta en el concepto de la saturación de las proteínas de unión a la penicilina (PBP) y que esto favorecería la difusión de otros antibióticos a su sitio de acción siendo estos las polimixinas, tetraciclina y cefiderocol. Otras de las opciones terapéuticas recomendadas son el uso de polimixinas asociada a otro agente como los carbapenémicos (23), considerando que las polimixinas aumentarán la permeabilidad de la membrana y así permitirán una mejor difusión del carbapenémico provocando un efecto sinérgico entre ambos grupos de antibióticos (24). Sin embargo, en los en los ocho estudios en los que se basa la IDSA para esta recomendación no han demostrado una diferencia estadísticamente significativa en lo que se refiere a mortalidad y días

de estancia hospitalaria(23). Como otras opciones se ha descrito el uso de dosis altas de tigeciclina, pero su uso se ha asociado a aumento en la mortalidad en hasta un 15% (25); también en la guía de la IDSA se ha recomendado el uso de cefiderocol, que en un estudio observacional de uso de cefiderocol comparado con otras terapias basadas en polimixinas se observó que redujo la mortalidad en hasta 20% (26); sin embargo, hacer las pruebas de susceptibilidad a este antimicrobiano es un reto debido a las concentraciones de hierro que se deben de utilizar en el medio de cultivo(25). Lo anterior, sumado a que es un antimicrobiano que no está ampliamente disponible, hace que las opciones terapéuticas se vean reducidas.

Estudios de investigación previos han demostrado que cepas de *A. baumannii* farmacorresistentes tienen la capacidad de producir biopelícula, lo cual puede complicar la respuesta al tratamiento antimicrobiano y por ende la resolución de la infección. En aislamientos de *A. baumannii* obtenidos en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” del 2007 al 2012 se describió que el 88.2% de los aislamientos fueron MDR y tenían la capacidad de producir biopelícula, además, se detectó una asociación entre la producción de biopelícula y la elevada resistencia a imipenem. Sin embargo, en este estudio no se hicieron análisis acerca de la composición de la biopelícula o el efecto de los antimicrobianos sobre esta (27).

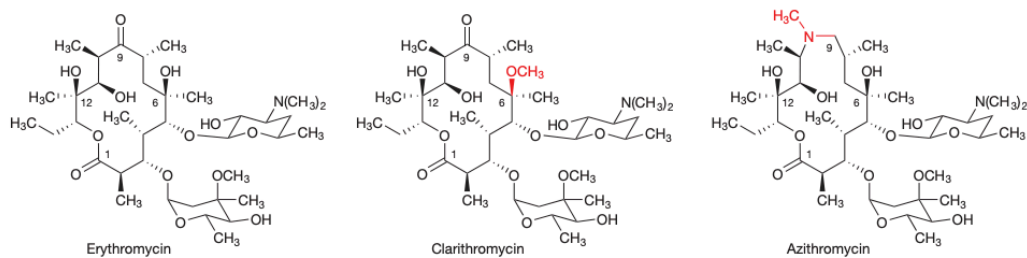
En los últimos años se han dirigido diferentes líneas de investigación enfocadas al estudio de la producción y composición de biopelícula, además del efecto de distintos antimicrobianos y otros compuestos químicos en su

eliminación o erradicación. En superficies abióticas se ha estudiado del uso de péptidos o lípidos antimicrobianos, amonio cuaternario y cisplatino unido a óxido nítrico para aumentar su liberación en la biopelícula (9,17,28). En superficies bióticas se ha evaluado el uso de medicamentos ya conocidos como fluoroquinolonas, aminoglucósidos, lincosamidas y macrólidos. En un estudio previo luego de la exposición de los microorganismos a combinaciones de fluoroquinolonas y aminoglucósidos con agentes anti-biopelícula (inhibidores de *quorum sensing*, derivados de óxido nítrico y péptidos antimicrobianos) hubo una reducción en hasta al menos 50% de la viabilidad bacteriana en otros géneros de bacterias y esto se fundamenta en el hecho que hubo reducción en la producción de proteínas y la transcripción de material genético; sin embargo, estos estudios se han realizado *in vitro* y las moléculas anti-biopelícula aún están en desarrollo y no se han probado en modelos animales por lo que aún no se sabe si *in vivo* podrían demostrar eficacia y seguridad (28).

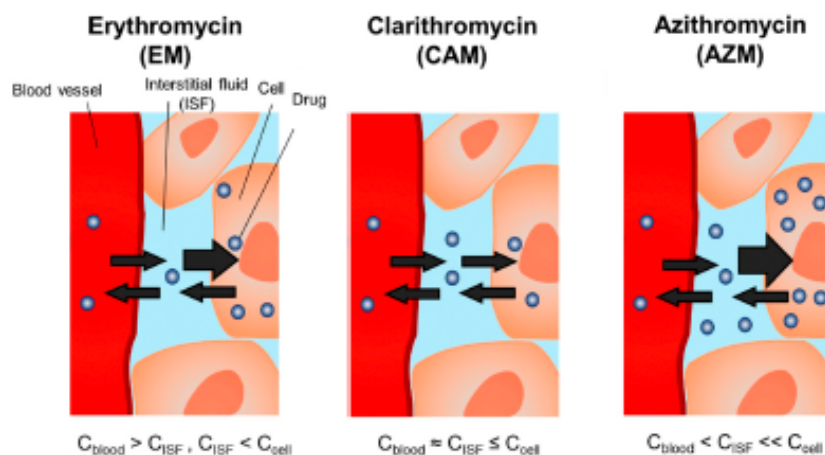
Un estudio previo realizado en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” tuvo como objetivo evaluar el efecto de la azitromicina en concentraciones subinhibitorias en la formación y composición de biopelícula en cepas de *A. baumannii*. La concentración subinhibitoria o sub-MIC es una concentración baja de un agente antimicrobiano que no provocará la muerte o inhibición del microorganismo, pero si afectará en procesos fisiológicos, pudiendo reducir la virulencia bacteriana. En este estudio se analizaron 149 aislamientos de *A. baumannii* MDR, obtenidos de pacientes internados en la unidad de cuidados intensivos y más del 80% fueron muestras respiratorias. En estos

aislamientos se realizó análisis de producción semicuantitativa de biopelícula mediante el método de tinción con cristal violeta, posteriormente se seleccionaron 96 aislamientos para análisis de composición de biopelícula. Se observó que luego de la exposición de estas cepas productoras de biopelícula, a una sub-MIC de  $0.125\mu\text{g/mL}$ , hubo una reducción de proteínas y el ADN en la biopelícula (29).

Los macrólidos son un grupo de antibióticos cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de proteínas al unirse a la subunidad 50S del ribosoma, específicamente entre el sitio A y el P, lo que se traduce en que no se pueden sintetizar nuevas proteínas por la incapacidad de continuar con la elongación de la cadena de péptidos (30). Se ha demostrado que los macrólidos afectan la síntesis de proteínas provocando por lo tanto la disminución de este componente de la producción de biopelícula, esto se ve especialmente al utilizar azitromicina en comparación con claritromicina y eritromicina (31,32). Además de esta diferencia existen otras entre los macrólidos (eritromicina), cetólidos (claritromicina) y los azálidos (azitromicina), siendo este último la adición de un átomo de nitrógeno en sustitución a un átomo de carbono en la posición nueve como se puede observar en la figura 1. Esta modificación permite una serie de cambios químicos que hace que la azitromicina amplíe su espectro de acción (teniendo dos sitios de unión ribosomal), mejore su biodisponibilidad, aumente su distribución tisular y tenga menos efectos adversos gástricos(33). Especialmente este cambio hace que aumente su lipofilidad, según lo descrito por Kobuchi *et al.*, provocando que se concentre muy bien en tejidos y no en sangre(34,35) como lo podemos ver esquemáticamente en la figura 2.



**Figura 1.** Estructura química de los macrólidos.



**Figura 2.** Distribución en tejidos de los macrólidos.

Considerando lo anteriormente descrito se pueden evidenciar los beneficios de la azitromicina, como es una distribución alta en pulmones y que su espectro de acción incluye también a bacterias Gram negativas.

Es importante destacar que la neumonía asociada a ventilación mecánica por *A. baumannii* DTR, es una causa de morbimortalidad importante en las unidades de terapia intensiva, siendo este microorganismo uno de los agentes patógenos más prevalentes; en concordancia con lo descrito por la IDSA, del uso

de combinaciones de antimicrobianos para combatir esta bacteria debido a que existen pocas combinaciones de antimicrobianos descritas que sean eficaces y tomando como antecedente directo el estudio realizado por Camacho-Ortiz *et al.*, consideramos que la combinación de tratamiento de colistina de colistina, meropenem asociada a azitromicina podría ser una opción terapéutica ante esta bacteria.

## CAPÍTULO III

### HIPÓTESIS

#### **Hipótesis alternativa**

La adición de azitromicina al esquema de tratamiento de colistina y meropenem para neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva, reducirá la producción y modificará la composición de la biopelícula formada por *A. baumannii* DTR.

#### **Hipótesis nula**

La adición de azitromicina al esquema de tratamiento de colistina y meropenem para neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva, no reducirá la producción ni modificará la composición de la biopelícula formada por *A. baumannii* DTR.

# CAPÍTULO IV

## OBJETIVOS

### Objetivo principal

- ▶ Determinar el cambio microbiológico luego de la adición de azitromicina al esquema de colistina asociada a meropenem en paciente con neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva por *A. baumannii* DTR.

### Objetivos secundarios

- ▶ Determinar la condición óptima para favorecer la producción de biopelícula por *A. baumannii*.
- ▶ Comparar el cambio en la producción y composición de biopelícula producida por *A. baumannii*.
- ▶ Estimar la reducción en la viabilidad celular tras la exposición a azitromicina.
- ▶ Describir el efecto post-antibiótico de la azitromicina en la producción de biopelícula.
- ▶ Determinar el perfil de seguridad para la utilización de azitromicina.



# **CAPÍTULO V**

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Tipo de estudio**

Analítico, experimental, prospectivo.

### **Lugar de estudio**

Terapia intensiva del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

### **Población de estudio**

Pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva con aislamiento de *A. baumannii* DTR, que se encontraban en la unidad de terapia intensiva del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

### **Tamaño de la muestra**

Se incluyeron a todos los pacientes que presentaron neumonía asociada a ventilador y cuyo diagnóstico microbiológico confirmó la presencia de *A. baumannii* durante febrero a septiembre de 2024.

### **Criterios de inclusión**

- ▶ Pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva que se encontraban en la unidad de terapia intensiva.
- ▶ Por lo menos 48 horas del requerimiento de intubación orotraqueal.
- ▶ Con aislamiento en aspirado traqueal de *A. baumannii* DTR.
- ▶ Que haya sido la primera neumonía asociada a ventilación mecánica por *A. baumannii* DTR.
- ▶ Pueden haber tenido aislamiento de otras bacterias Gram negativas en el aspirado traqueal, siempre y cuando estén comprendidas en el espectro antibiótico de colistina asociada a meropenem.
- ▶ Edad  $\geq 18$  años.
- ▶ Que familiares hayan otorgado su consentimiento informado, en caso de que el paciente haya sido extubado y recobrara sus funciones neuronales superiores también se solicitó su consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión**

- ▶ Aislamiento de *A. baumannii* que no cumplió el criterio de DTR.
- ▶ Neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva producida por bacterias Gram positivas.

- ▶ Mas de tres bacterias Gram negativas en el aislamiento del aspirado traqueal.
- ▶ Aislamiento de bacterias Gram negativas que no fueran susceptibles al esquema de meropenem o colistina.
- ▶ Alergia a alguno de los tres antibióticos.
- ▶ Pacientes con enfermedad renal crónica.
- ▶ Antecedente de epilepsia.
- ▶ Antecedente demostrado de prolongación del intervalo QT.

### **Criterios de eliminación**

- ▶ Paciente que fallezca durante el curso del tratamiento antimicrobiano.
- ▶ Paciente que sea trasladado a otro hospital o extubado.
- ▶ Paciente en el que se hayan recuperado menos de  $\leq 4$  muestras posterior al inicio del tratamiento.
- ▶ Paciente que requiera terapia de reemplazo renal.
- ▶ Paciente que presente diarrea por *Clostridioides difficile*.
- ▶ Paciente que presente prolongación de QT y que a consideración del médico tratante la azitromicina deba ser suspendida.

## **Metodología**

Se identificaron a los pacientes que cumplieron los criterios de neumonía asociada a ventilación mecánica invasiva.

### **▸ Identificación de aislamientos**

A partir de aislamientos respiratorios como aspirado traqueal, se realizaron cultivos bacteriológicos aerobios cuantitativos en medios de cultivo nutritivos, selectivos y diferenciales: agar sangre, agar chocolate, agar azida de sodio y agar MacConkey. Para la identificación de los microorganismos que presentaron crecimiento se empleó espectrometría de masas desorción/ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS) de (Microflex LT system, Bruker Daltonics, Alemania). En el caso de *Acinetobacter* la identificación fue hasta nivel de complejo *Acinetobacter calcoaceticus-A. baumannii* y se confirmó a nivel especie mediante PCR (27).

### **▸ Perfil de susceptibilidad**

Se llevaron a cabo pruebas fenotípicas de susceptibilidad mediante el sistema automatizado Vitek 2 C (Biomérieux, Marcy l' Etoile, Francia) y se utilizaron los puntos de corte establecidos en el M100 del CLSI del año en curso. Posteriormente, las cepas se clasificaron como DTR siguiendo lo descrito por IDSA (22).

► **Tratamiento antibiótico**

Al confirmar que la cepa de *A. baumannii* fuera DTR, se procedió a aleatorizar a los pacientes al grupo de tratamiento:

- Colistina 300 mg dosis inicial y luego 150 mg IV cada 12 horas asociada a meropenem 2 g IV en infusión de 1 hora, ambos por 7 días.
- Colistina 300 mg dosis inicial y luego 150 mg IV cada 12 horas asociada a meropenem 2 g IV en infusión de 1 hora ambos por 7 días y azitromicina 500 mg cada 24 horas por 5 días.

Posterior al inicio del tratamiento se obtuvieron muestras de aspirado traqueal a las 0h, 24h, 48h, 72h, y días 5, 7 y 10 para cultivo microbiológico para detección de *A. baumannii*. En las muestras en las que se identificó este microorganismo se procedió a verificar la producción y composición de biopelícula. Además, en la primera muestra en la que se identificó *A. baumannii* previo al ajuste de terapia se estudió la producción y composición de biopelícula y se comparó con las muestras tomadas en tiempos posteriores.

► **Producción y composición de biopelícula**

Para determinar la condición óptima para favorecer la producción de biopelícula se analizaron dos variables: movimiento y adición de glucosa. Por lo que se realizaron ensayos con agitación y glucosa, de esta forma se analizaron cuatro grupos. La producción de biopelícula se determinó de forma semicuantitativa mediante la tinción con cristal violeta como lo descrito por

Mendoza-Olazarán y col. en 2014 (36). Para la clasificación de los microorganismos en productores o no productores de biopelícula se empleó el índice de biopelícula, que correspondió a la relación de la absorbancia de la biopelícula y de las células planctónicas utilizando los criterios previamente descritos por Bocanegra-Ibarias y col. en 2017 (37). Posteriormente, se determinó la composición de biopelícula mediante ensayos de desprendimiento, se empleó meta peryodato de sodio para degradar polisacáridos; proteinasa K para proteínas y DNAsas para ADN siguiendo la metodología previamente descrita por Mendoza-Olazarán y col. en 2015 (38). Para los ensayos se utilizó como controles *S. aureus* ATCC 29213 (productor fuerte) y *E. coli* ATCC 25922 (no productor).

### **Análisis estadístico**

Análisis de estadística descriptiva para las variables demográficas se utilizó frecuencias, porcentajes, media y desviación estándar.

Chi<sup>2</sup> para la comparación de variables categóricas, t de student y ANOVA para variables cuantitativas. El valor de  $p \leq 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

Se utilizaron los programas: IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. Y GraphPad Prism version 10.0.0 for MAC, GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA.

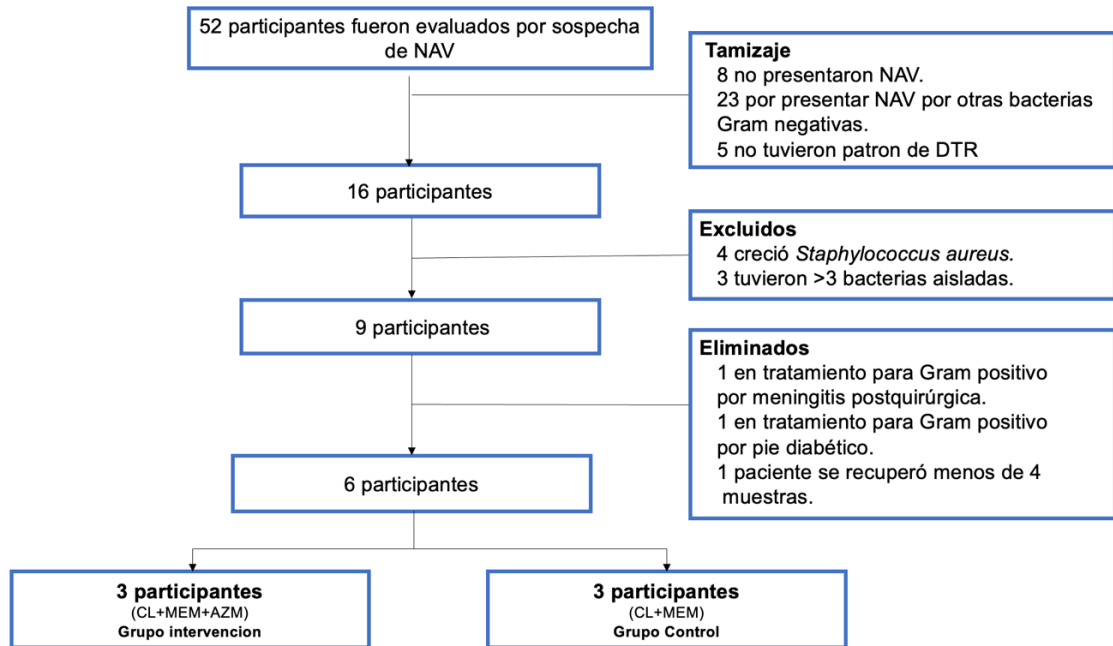
### **Consideraciones éticas**

El protocolo de investigación fue sometido al Comité de Ética en Investigación y Comité de Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” para su correspondiente autorización y aprobación. Clave de registro: IF24-00001.

# CAPÍTULO VI

## RESULTADOS

### ► Selección de participantes



**Figura 3.** Selección de participantes.

En este estudio se evaluaron 52 pacientes que tuvieron sospecha de NAV, que según los criterios de inclusión, exclusión y eliminación se seleccionaron tres pacientes para cada grupo de estudio como se puede observar en la Figura 3; de los cuales se obtuvieron un total de 40 aspirados traqueales y en 27 de ellos hubo crecimiento de *A. baumannii*.



► **Parámetros clínicos y paraclínicos**

► **Tabla 1.** Variables clínicas y paraclínicas de los pacientes.

<b>VARIABLES</b>	<b>Grupo Intervención</b>	<b>Grupo Control</b>	<b>Total</b>
	<b><math>\bar{x}</math> (DE)</b>	<b><math>\bar{x}</math> (DE)</b>	<b><math>\bar{x}</math> (DE)</b>
<b>Edad en años</b>	42 ( $\pm$ 24)	46 ( $\pm$ 16)	43 ( $\pm$ 22.85)
<b>Sexo Masculino / total (%)</b>	7 (1)	5 (1)	6 (1)
<b>Tiempo de desarrollo de NAV (días)</b>	(60)	2 (40)	5 (100)
<b>PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> (mmHg)</b>			
Día 0	113 (94)	182 (46)	112 (37)
Día 5	216 (107)	138 (13)	170 (85)
Día 10	291 (13)	81 (39)	186 (117)
<b>Leucocitos (*10<sup>3</sup>cel/<math>\mu</math>L)</b>			
Día 0	19 (10)	9.4 (7)	14 (9)
Día 5	17 (13)	29 (21)	23 (17)
Día 10	10 (4)	14 (6)	12 (6)
<b>QT (mseg)</b>			
Día 0	400 (34)	400 (23)	386 (30)
Día 5	387 (23)	360 (0)	373 (21)
Día 10	387 (23)	373 (23)	380 (22)
<b>TFG (mL/min/1.73m<sup>2</sup>)</b>			
Día 0	92 (43)	62 (36)	77 (39)
Día 5	117 (4)	45 (4)	81 (40)
Día 10	109 (18)	72 (19)	90 (26)
<b>ALT (mg/dL)</b>			
Día 0	153 (226)	23 (8)	89 (159)
Día 5	142 (149)	48 (34)	95 (109)
Día 10	105 (80)	22 (11)	64 (69)
<b>BT (mg/dL)</b>			
Día 0	1.4. (1)	0.5 (0.2)	1.0 (0.8)
Día 5	1.7 (2.0)	0.4 (0.1)	1.0 (1.5)
Día 10	1.0 (0.4)	0.4 (0.1)	0.7 (0.4)

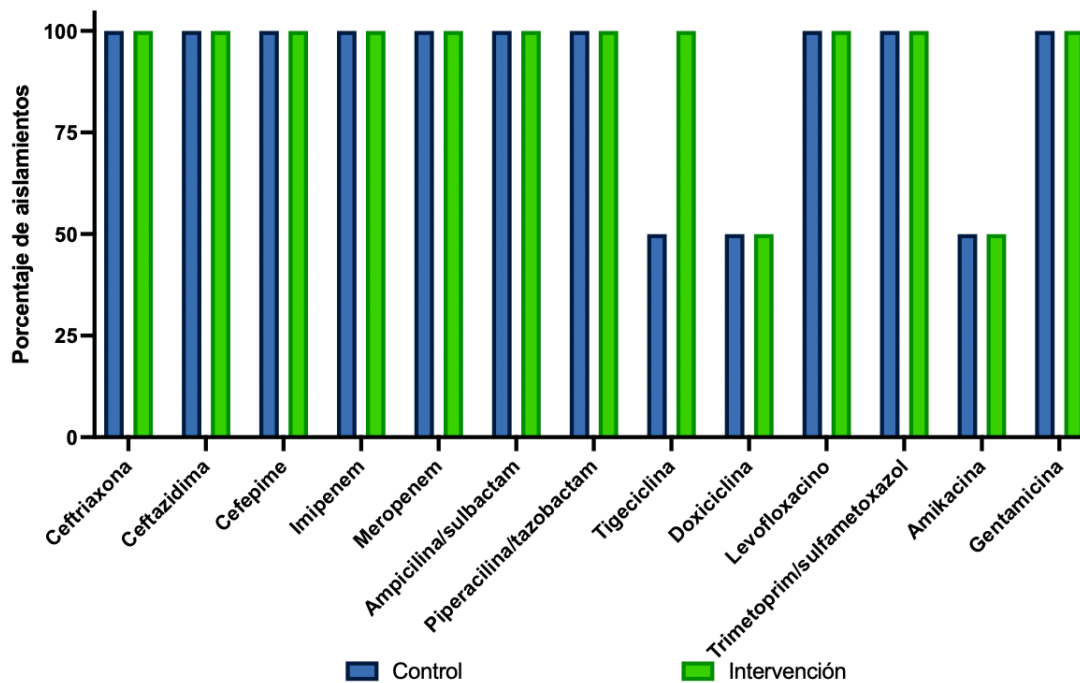
$\bar{x}$ : Media, DE: Desviación Estándar, NAV: neumonía asociada a ventilación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno, QT: intervalo QT, TFG: tasa de filtrado glomerular, ALT: alano aminotransferasa, BT: bilirrubina total.

Las variables clínicas y paraclínicas en diferentes momentos del estudio se describen en la Tabla 1. De los seis pacientes aleatorizados la media de edad fue de 43 años, cinco fueron hombres y el tiempo en desarrollar NAV fue de seis días; como variable de función pulmonar la  $PaO_2/FiO_2$  al inicio del estudio en ambos grupos tuvo valores menores a 200mmHg, pero al final del estudio en el grupo intervención fue mayor a 200mmHg, mientras que en el grupo control fue menor a 100mmHg. Como variable de perfil de seguridad se utilizó la medición del intervalo QT y se observó que en los dos grupos de estudio no hubo una variación significativa ( $\bar{x} +17$ mseg, en el grupo intervención). En lo que se refiere a efectos adversos hepáticos y renales no hubo una alteración significativa en los parámetros paraclínicos que se utilizaron como referencia.

► **Viabilidad de los aislamientos**

En el presente estudio se observó que, al finalizar los 10 días de seguimiento, comparando los grupos de estudio hubo un descenso mayor en el recuento de *A. baumannii* al finalizar el seguimiento en el grupo de intervención comparado con el grupo control.

► Perfil de no susceptibilidad de los aislamientos

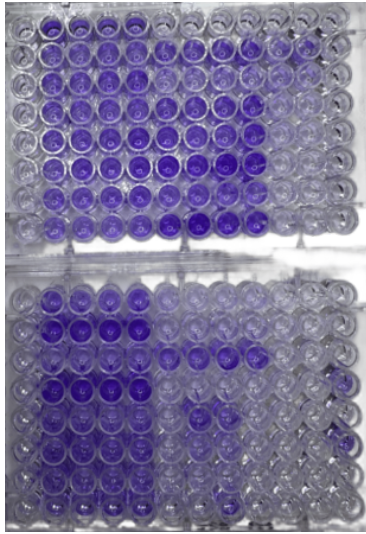


**Figura 4.** Perfil de no susceptibilidad de *A. baumannii*.

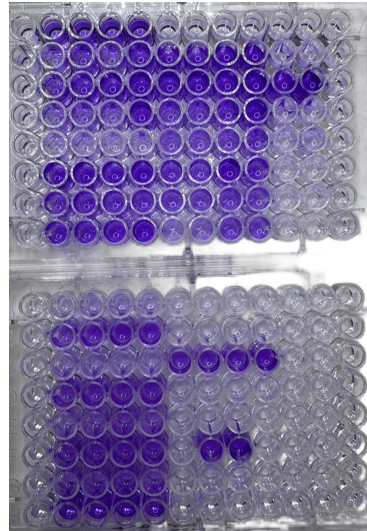
Cumpliendo con la definición de DTR se observó que el 100% de los aislamientos fueron no susceptibles a las familias de betalactámicos y fluoroquinolonas; mientras que, para la familia de inhibidores de la síntesis de folatos, tetraciclinas y aminoglucósidos, la no susceptibilidad fue variable, pero superó el 50% en los dos grupos de comparación (figura 4).

► Producción y composición de biopelícula

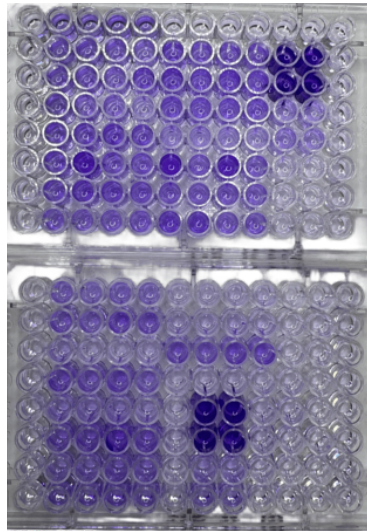
► Panel A



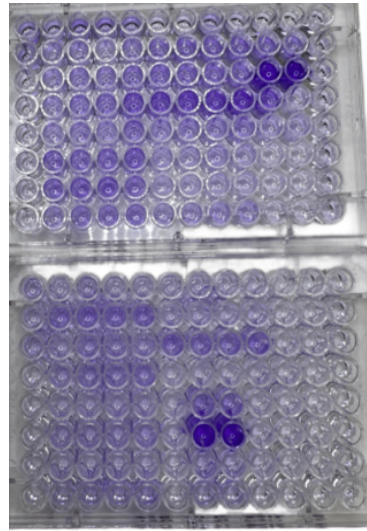
Panel B



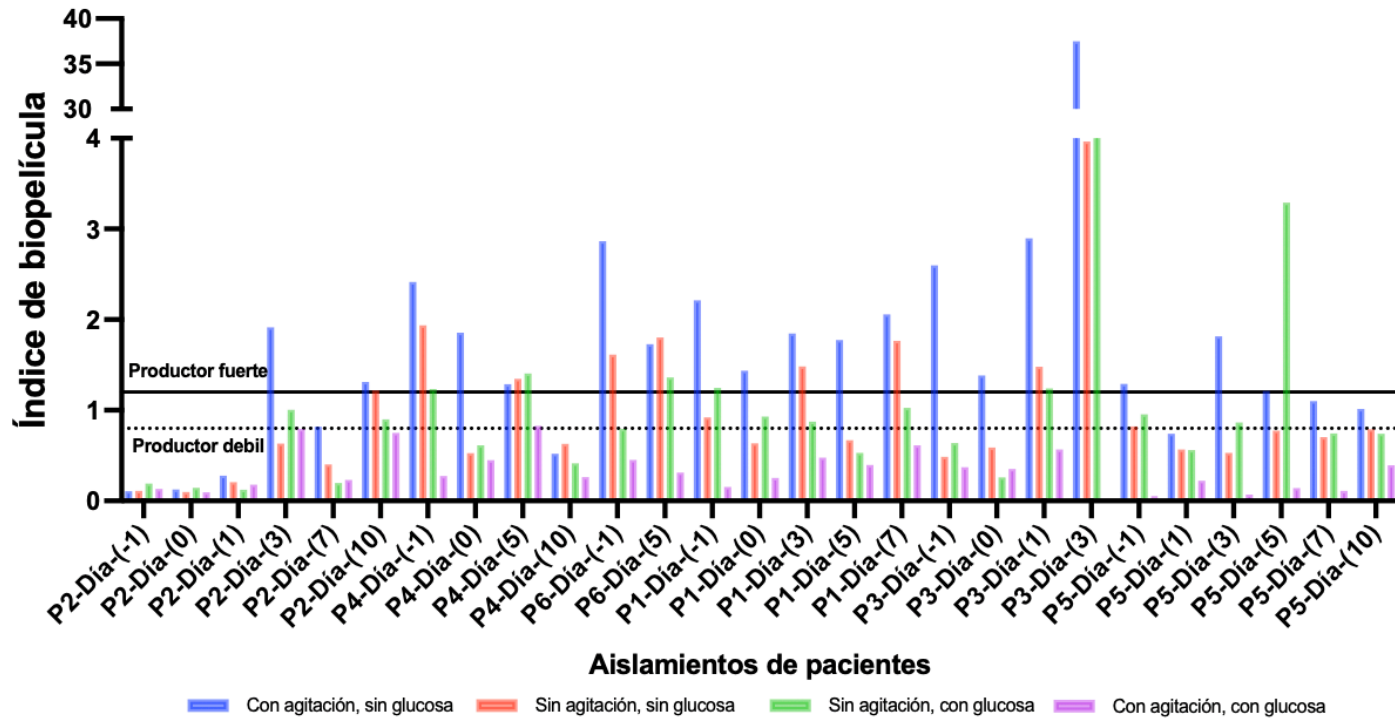
Panel C



Panel D



**Figura 5.** Producción cualitativa de biopelícula de *A. baumannii*. Panel A: agitación con glucosa, Panel B: agitación sin glucosa, Panel C: sin agitación con glucosa, Panel D: sin agitación sin glucosa.



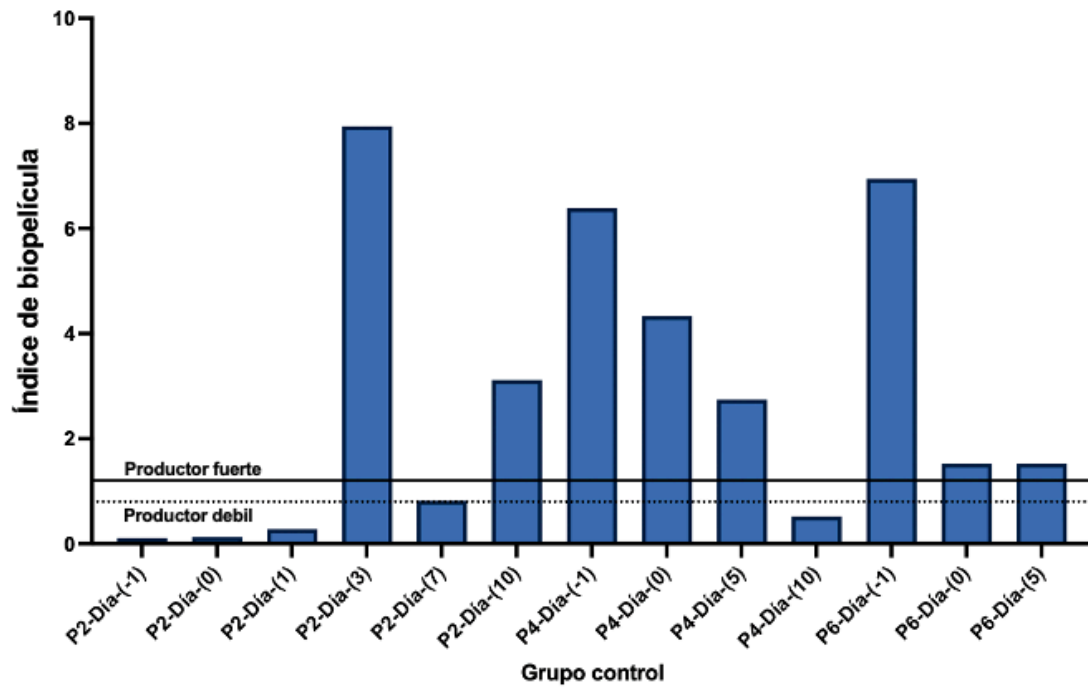
**Figura 6.** Producción cuantitativa de biopelícula de *A. baumannii*.

**Tabla 2.** Clasificación de producción de biopelícula.

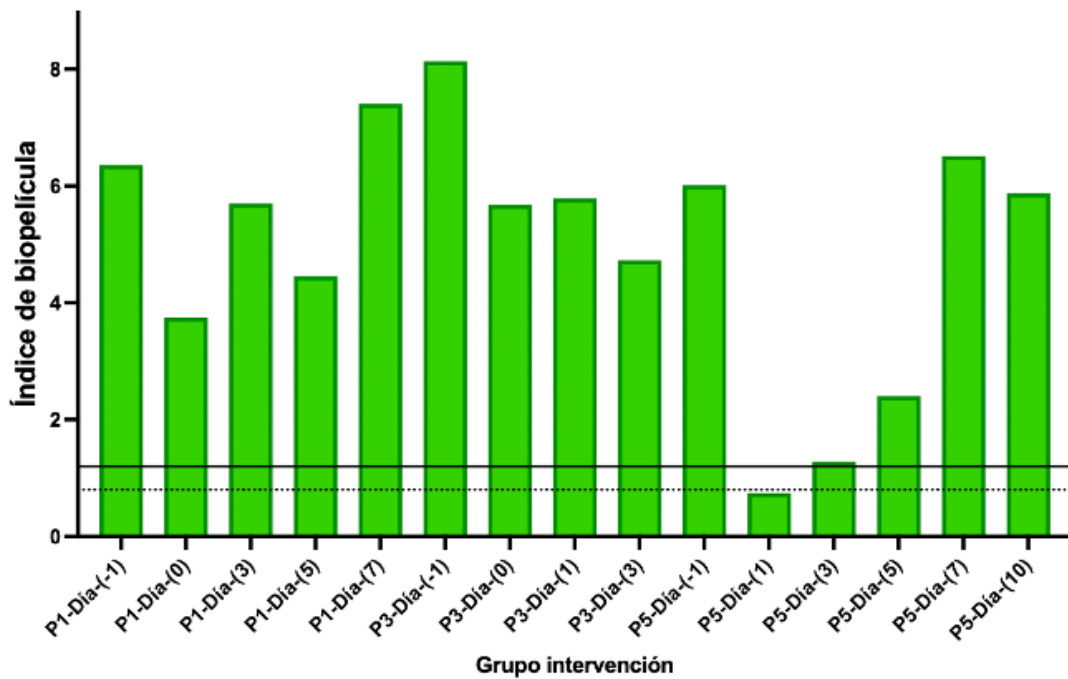
	No productor	Productor débil	Productor fuerte	Total
<b>Sin agitación, sin glucosa</b>	17	1	9	27
<b>Sin agitación, con glucosa</b>	16	4	7	27
<b>Con agitación, sin glucosa</b>	7	2	18	27
<b>Con agitación, con glucosa</b>	27	0	0	27

Para determinar la condición óptima para favorecer la producción de biopelícula se analizaron dos variables: movimiento y adición de glucosa. Por lo que se realizaron ensayos con agitación y glucosa, de esta forma se analizaron cuatro grupos. Al final se detectó que la agitación sin adición de glucosa fue la condición óptima para la producción de biopelícula, como se puede observar cualitativamente en la Figura 5 Panel B y cuantitativamente. Además, los aislamientos fueron clasificados considerando un índice menor a 0.8 como no productores, mayor a 0.8 como productor débil y mayor a 1.2 como productor fuerte de biopelícula (Figura 6); considerando esto se realizó una clasificación tomando en cuenta estas condiciones (Tabla 2).

**Panel A**

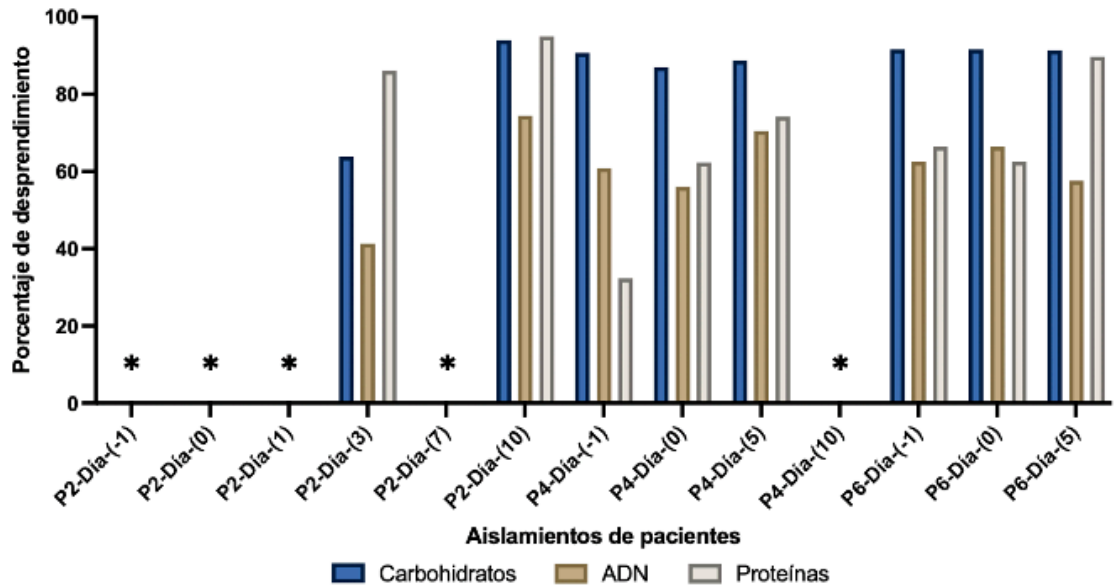


**Panel B**

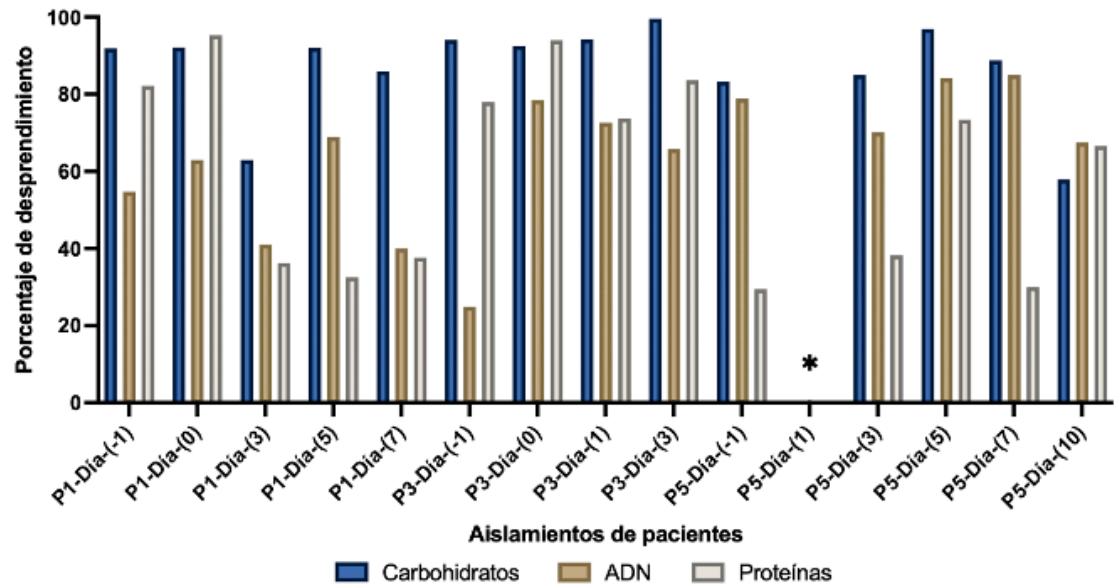


**Figura 7.** Producción de biopelícula, “condición de agitación sin glucosa” por grupo de estudio.

**Panel A**

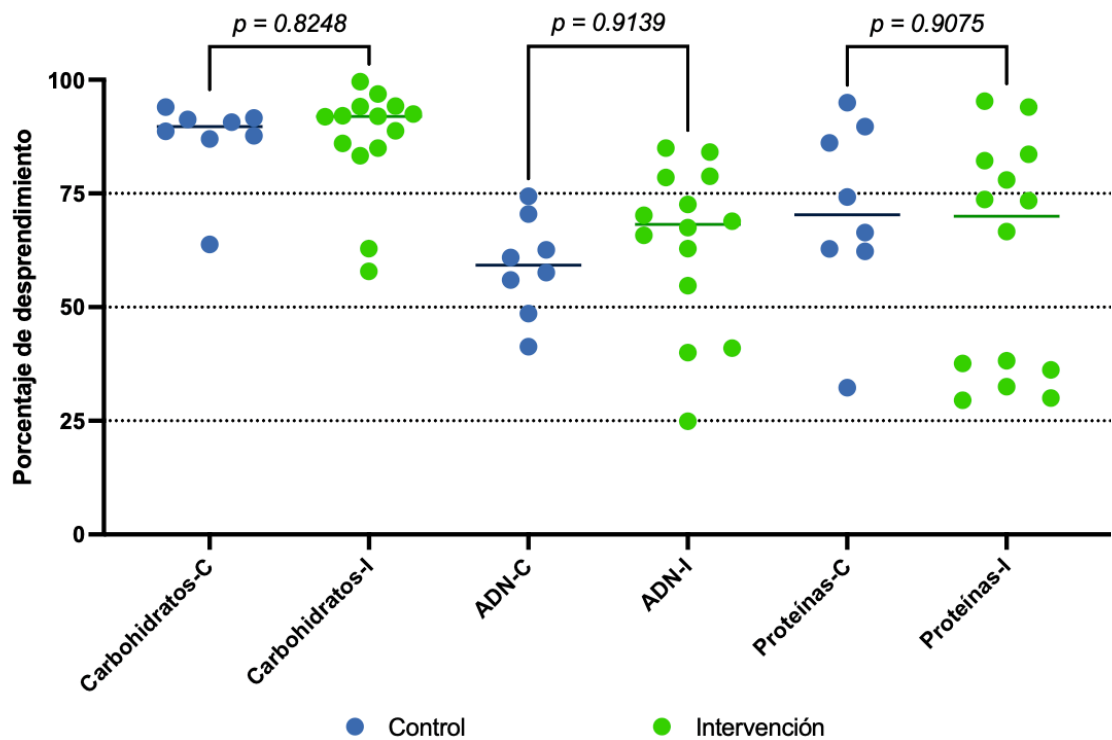


**Panel B**



**Figura 8.** Composición de biopelícula por grupo de estudio. \* Aislamientos a los que no se les realizó composición de biopelícula. Panel A: grupo control, Panel B: grupo Intervención.





**Figura 9.** Comparación (ANOVA) de componentes de la biopelícula por grupo de estudio.

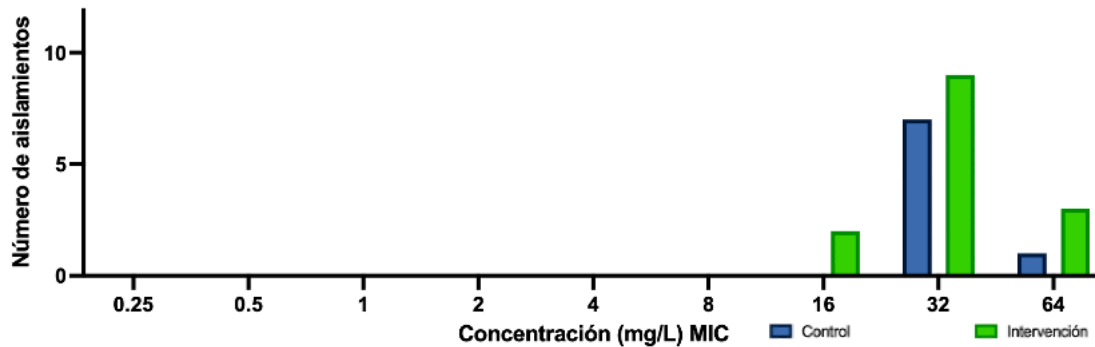
De los aislamientos clasificados como productores de biopelícula de acuerdo con el ensayo de agitación sin glucosa, se seleccionaron ocho del grupo control y 14 del grupo de intervención (Figura 8) para el subsecuente análisis de la composición de biopelícula. El resto de los aislamientos no se incluyeron debido a que no produjeron biopelícula.

En el análisis de composición de la biopelícula en ambos grupos de estudio se detectó que la biopelícula estaba conformada predominantemente de carbohidratos seguida de ADN y proteínas (Figura 9). Sin embargo, el cambio en dicha composición en los diferentes aislamientos obtenidos en tiempos distintos fue heterogénea tanto en el grupo control como intervención.

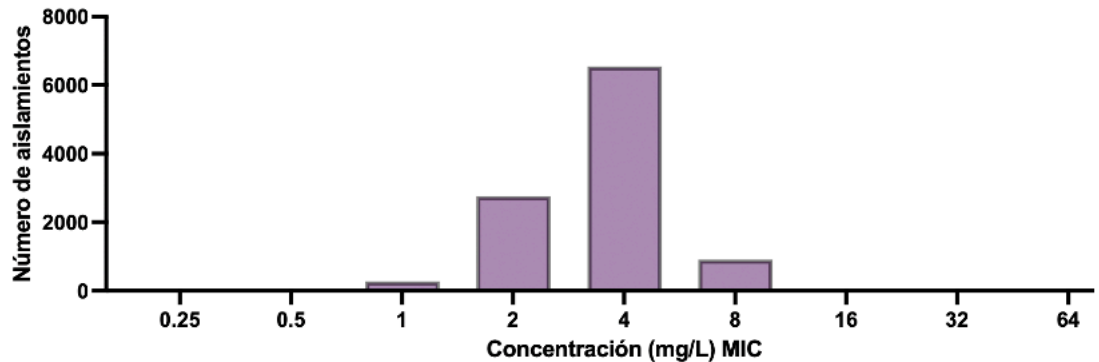
De los 22 aislamientos a los cuales se les analizó la composición de biopelícula, se estatificó por tipo de componente (carbohidratos, proteínas y ADN) a los valores numéricos de estos componentes se les aplicó la prueba de normalidad con el estadístico de prueba Shapiro-Wilk, con lo cual se estableció que tenían una distribución normal por lo que se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) de un factor. Mediante este análisis se determinó que la composición de carbohidratos entre el grupo control y el grupo intervención no fue estadísticamente significativa ( $p=0.82$ ), tampoco lo fue la composición de ADN ni proteínas con una  $p=0.91$  y  $p=0.91$ , respectivamente, como se muestra en la Figura 10.

► **Concentración mínima inhibitoria y concentración de erradicación de biopelícula**

**Panel A**



**Panel B**

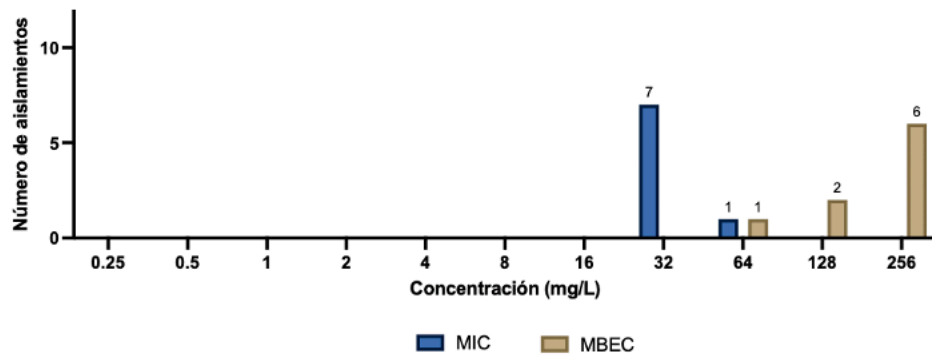


**Figura 10.** Frecuencia de aislamientos dependiendo de la CMI. CMI: concentración mínima inhibitoria. Panel A: CMI de *A. baumannii*, CMI de *E. coli*.

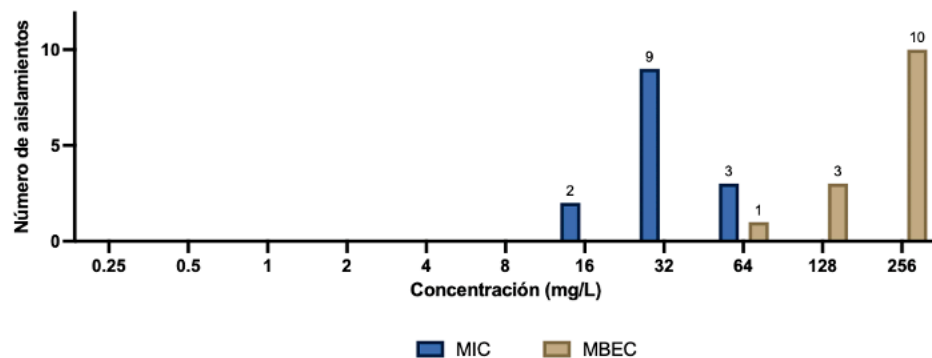
En todas las cepas obtenidas se realizaron ensayos para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) a azitromicina. En ambos grupos de estudio se demostró que la CMI fue 16 mg/L o mayor, encontrándose que la mayoría de los aislamientos tuvieron una CMI de 32 mg/L (Panel A, Figura 11). Actualmente EUCAST no tiene establecidos puntos de corte de azitromicina para *A. baumannii*, pero tiene reportada la susceptibilidad de azitromicina en *E. coli*, debido a que es un bacilo Gram negativo, en el presente estudio lo utilizamos

como referencia para la comparación de nuestras cepas. Este comité ha reportado que la mayoría de los aislamientos analizados de *E. coli* tenían una CMI de 2 a 8 mg/L la distribución se observa en el Panel B, Figura 11; en cambio en el panel A se observa la distribución de CMI de los aislamientos de *A. baumannii*).

### Panel A



### Panel B



**Figura 11.** CMI y MBEC de *A. baumannii* por grupo de estudio. CMI: concentración mínima inhibitoria. MBEC: concentración mínima de erradicación de biopelícula. Panel A: grupo control, Panel B: grupo intervención.

También se analizó la concentración necesaria de azitromicina para erradicar la biopelícula y se encontró que en ambos grupos la mayoría de los aislamientos presentaron una concentración de 256 mg/L o mayor (Figura 12). Observamos que los aislamientos productores de biopelícula requieren una concentración mayor de azitromicina para poder erradicar la biopelícula.

## CAPÍTULO VII

### DISCUSIÓN

En este estudio, las cepas analizadas de *A. baumannii* fueron en su mayoría productoras fuertes de biopelícula, esto fue similar a lo reportado previamente en este hospital (29) y probablemente se ha mantenido la clonalidad de las cepas, a través del tiempo según lo anteriormente reportado (27)

En el antecedente directo de este estudio se observó como la exposición de los aislamientos de *A. baumannii* a una concentración subinhibitoria de azitromicina (0.125 µg/mL) condicionó a una modificación tanto en la producción como en la composición de la biopelícula y se observó una disminución en la producción de proteínas(28), esto considerando el mecanismo de acción de la azitromicina al inhibir los ribosomas bacterianos. Según lo reportado en la literatura se puede obtener un beneficio sinérgico de la combinación de azitromicina junto con colistina, ya que esta última por su mecanismo de acción abriría poros en la membrana bacteriana facilitando así la difusión de la azitromicina al interior de la célula bacteriana y de esta manera facilitando su llegada al sitio de acción. Lin *et al.*, describió este efecto luego de exponer *in vitro* cepas de *A. baumannii* a colistina y azitromicina y medir la permeabilidad de la membrana celular y demostró cuantitativamente que hubo un aumento de la permeabilidad en las cepas expuestas a antimicrobianos. Además, demostró que estos cambios se podían apreciar de forma representativa con fotografías de microscopía electrónica en donde se observó alteración de la continuidad de la membrana externa de las bacterias (35).

En estudios realizados de muestras clínicas, un estudio realizado en 2009 en donde se obtuvieron 159 aislamientos de Enterobacteriales de muestras clínicas a quienes se les comparó la susceptibilidad por diferentes métodos (dilución en agar, E-test y difusión en disco) a azitromicina se reportó que más del 80% fue resistente a dicho antimicrobiano (39). Y en un estudio realizado *in vivo*, en donde se obtuvieron 77 muestras clínicas de *A. baumannii* resistente a carbapenémicos se demostró que todas las muestras fueron resistentes a azitromicina al hacer pruebas de susceptibilidad en medio de cultivo Mueller-Hinton sin embargo, si se hacían pruebas de susceptibilidad en un medio de cultivo RPMI, la susceptibilidad era variable(40).

En el presente estudio se pretendió analizar esta actividad sinérgica *in vivo*, considerando variables farmacodinámicas y farmacocinéticas (41,42) de la azitromicina ya que en teoría una dosis estándar de 500mg IV cada 24 horas podría alcanzar las concentraciones por arriba de la sub-MIC por lo que se considera que estas concentraciones podrían llegar al sitio blanco de acción y así inhibir la producción de proteínas y por ende la producción de biopelícula y el crecimiento bacteriano.

Diversos autores han descrito el efecto inmunomodulador de los macrólidos, esto derivado de su efecto en la regulación en la producción de IL-10 (43), se ha establecido que dicho efecto inmunomodulador se puede presentar luego de siete días de uso en enfermedades crónicas de las vías respiratorias

como enfisema pulmonar y bronquitis crónica (44,45). Además, se ha descrito efectos sobre la producción de mucina en el epitelio respiratorio derivados del uso de macrólidos que podrían favorecer el aclaramiento de las vías respiratorias como de las bacterias que pueden estar colonizando (46). En este estudio en lo que respecta a variables paraclínicas como  $PaO_2/FiO_2$  hubo una tendencia a encontrar valores más altos en el grupo intervención, y en lo que respecta a recuento total de leucocitos hubo una mayor disminución en los mismos en el grupo intervención, se puede considerar que esto fue debido al uso de azitromicina.

En los resultados obtenidos luego de la recuperación de las cepas de *A. baumannii* y determinando que la condición óptima para favorecer la producción de biopelícula fue con agitación y sin adición de glucosa, encontramos que luego de la exposición a azitromicina en el grupo intervención no hubo una diferencia en la producción de biopelícula y que la composición de esta fue heterogénea en los dos grupos comparados, como en los diferentes días en los que se tomaron dichos cultivos. Considerando que las dosis a las que se administró azitromicina permitirían que en el tejido pulmonar se alcanzarán concentraciones mayores a la sub-MIC de 0.125  $\mu\text{g/mL}$  (29). En la comparación de varianzas respecto a la composición de biopelícula se determinó que también los resultados fueron heterogéneos en ambos grupos, ( $p = >0.05$ ).

En las cepas obtenidas, se observaron CMI mayores de 32  $\mu\text{g/mL}$ , y MBEC mayores a 256  $\mu\text{g/mL}$ , contrastando lo presentado en el antecedente directo (29).



En lo que respecta a efectos adversos no se encontró un efecto adverso grave que condicionara la discontinuación de la azitromicina en el grupo de intervención. El efecto adverso más común asociado al uso de macrólidos corresponde a la prolongación del intervalo QT, efecto que es producido por un aumento en la corriente tardía de sodio (47) y que se ha reportado en personas mayores de 60 años (48). En este estudio no se evidenció prolongación del intervalo QT luego de cinco días de administración de azitromicina. Tampoco hubo alteración significativa de la función renal ni de la función hepática.

Como limitaciones de este estudio encontramos que durante el año 2024 hubo una disminución en la incidencia de neumonía asociada a ventilación mecánica en este hospital, ya que en el 2023 se reportó una tasa de 19/1,000 días ventilador y durante el periodo de reclutamiento disminuyó a 14/1,000 días ventilador lo que disminuyó significativamente nuestra capacidad para reclutar pacientes. Al ser una prueba de concepto, en este estudio tuvimos una muestra pequeña de pacientes que cumplieron la totalidad de los criterios de inclusión por lo que no se puede hacer inferencias con esta muestra acerca de morbilidad y mortalidad. Sin embargo, se recuperó una cantidad significativa de aislamientos, con lo que se pudo comparar la producción de biopelícula tras la exposición a azitromicina.

## **CAPÍTULO VIII**

### **CONCLUSIONES**

- La producción y composición de biopelícula fue analizada en 27 aislamientos y no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la reducción del índice de biopelícula y tampoco en los componentes de esta, luego de la intervención.

## CAPÍTULO IX

### BIBLIOGRAFÍA

1. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide Clean Care is Safer Care [Internet]. 2011. Disponible en: [www.who.int](http://www.who.int)
2. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Global Action Plan on Antimicrobial Resistance [Internet]. 2015. Disponible en: [www.paprika-annecy.com](http://www.paprika-annecy.com)
3. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. Vol. 197, *Journal of Infectious Diseases*. 2008. p. 1079-81.
4. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. Vol. 63, *Clinical Infectious Diseases*. Oxford University Press; 2016. p. e61-111.
5. Xie J, Yang Y, Huang Y, Kang Y, Xu Y, Ma X, et al. The Current Epidemiological Landscape of Ventilator-associated Pneumonia in the Intensive Care Unit: A Multicenter Prospective Observational Study in China. *Clinical Infectious Diseases*. 13 de noviembre de 2018;67:S153-61.
6. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RHH, Bergmans DCJJ, Camus C, Bauer TT, et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: A meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis*. agosto de 2013;13(8):665-71.
7. Kollef MH, Hamilton CW, Ernst FR. Economic impact of ventilator-associated pneumonia in a large matched cohort. *Infect Control Hosp Epidemiol*. marzo de 2012;33(3):250-6.
8. Boletín Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) 2022 [Internet]. Disponible en: [www.gob.mx/salud](http://www.gob.mx/salud)
9. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms,

and prospective treatment options. *Front Cell Infect Microbiol.* 13 de marzo de 2017;7(MAR).

10. Moubareck CA, Halat DH. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. Vol. 9, *Antibiotics*. MDPI AG; 2020.
11. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii* An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. 2012;3(3):5.
12. Nie D, Hu Y, Chen Z, Li M, Hou Z, Luo X, et al. Outer membrane protein A (OmpA) as a potential therapeutic target for *Acinetobacter baumannii* infection. Vol. 27, *Journal of Biomedical Science*. BioMed Central Ltd.; 2020.
13. Morris FC, Dexter C, Kostoulas X, Uddin MI, Peleg AY. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019;10(JULY).
14. Roy S, Chowdhury G, Mukhopadhyay AK, Dutta S, Basu S. Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. Vol. 9, *Frontiers in Medicine*. Frontiers Media S.A.; 2022.
15. Pakharukova N, Tuittila M, Paavilainen S, Malmi H, Parilova O, Teneberg S, et al. Structural basis for *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 22 de mayo de 2018;115(21):5558-63.
16. de Breij A, Gaddy J, van der Meer J, Koning R, Koster A, van den Broek P, et al. CsuA/BABCDE-dependent pili are not involved in the adherence of *Acinetobacter baumannii* ATCC19606T to human airway epithelial cells and their inflammatory response. *Res Microbiol.* abril de 2009;160(3):213-8.
17. Zhong S, He S. Quorum Sensing Inhibition or Quenching in *Acinetobacter baumannii*: The Novel Therapeutic Strategies for New Drug Development. Vol. 12, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
18. Flannery A, Le Berre M, Pier GB, O'gara JP, Kilcoyne M. Glycomics microarrays reveal differential in situ presentation of the biofilm polysaccharide poly-n-acetylglucosamine on *acinetobacter baumannii* and *staphylococcus aureus* cell surfaces. *Int J Mol Sci.* 1 de abril de 2020;21(7).
19. Brossard KA, Campagnari AA. The *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. *Infect Immun.* enero de 2012;80(1):228-33.

20. Richards GA, Perovic O, Brink AJ. The challenges of difficult-to-treat *Acinetobacter* infections. Forrest GN, editor. Clin Microbiol Rev [Internet]. 18 de noviembre de 2024; Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00093-24>
21. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection. 2012;18(3):268-81.
22. Kadri SS, Adjemian J, Lai YL, Spaulding AB, Ricotta E, Rebecca Prevots D, et al. Difficult-to-treat resistance in gram-negative bacteremia at 173 US hospitals: Retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and outcome of resistance to all first-line agents. Clinical Infectious Diseases. 2018;67(12):1803-14.
23. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America 2023 Guidance on the Treatment of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Infections. Clinical Infectious Diseases. 18 de julio de 2023;
24. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, Zhao M, Lee HJ, Nation RL, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of «old» polymyxins: What is new? Diagn Microbiol Infect Dis. noviembre de 2012;74(3):213-23.
25. Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. Clinical Infectious Diseases. 7 de agosto de 2024;
26. Karaba SM, Hirsch EB, Heil EL. In a Pinch: Cefiderocol for CRAB Infections. Antimicrob Agents Chemother. 1 de mayo de 2022;66(5).
27. Bocanegra-Ibarias P, Peña-López C, Camacho-Ortiz A, Llaca-Díaz J, Silva-Sánchez J, Barrios H, et al. Genetic characterisation of drug resistance and clonal dynamics of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting in Mexico. Int J Antimicrob Agents. 2015;45(3):309-13.
28. Hawas S, Verderosa AD, Totsika M. Combination Therapies for Biofilm Inhibition and Eradication: A Comparative Review of Laboratory and Preclinical Studies. Vol. 12, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. Frontiers Media S.A.; 2022.

29. Camacho-Ortiz A, Lara-Medrano R, Martínez-Reséndez MF, Mendoza-Olazarán S, Flores-Treviño S, Garza-González E. Efecto de la azitromicina en la producción de biopelículas y la composición de *Acinetobacter baumannii* resistente a múltiples fármacos. *Gac Med Mex.* 2021;157(5):478-83.
30. Heidary M, Ebrahimi Samangani A, Kargari A, Kiani Nejad A, Yashmi I, Motahar M, et al. Mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of azithromycin. Vol. 36, *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* John Wiley and Sons Inc; 2022.
31. Yamabe K, Arakawa Y, Shoji M, Onda M, Miyamoto K, Tsuchiya T, et al. Direct anti-biofilm effects of macrolides on *Acinetobacter baumannii*: comprehensive and comparative demonstration by a simple assay using microtiter plate combined with peg-lid. *Biomedical Research (Tokyo).* 2020.
32. Peng Q, Lin F, Ling B. In vitro activity of biofilm inhibitors in combination with antibacterial drugs against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep.* 1 de diciembre de 2020;10(1).
33. Fohner AE, Sparreboom A, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: Macrolide antibiotic pathway, pharmacokinetics/pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics.* 2017;27(4):164-7.
34. Kobuchi S, Kabata T, Maeda K, Ito Y, Sakaeda T. Pharmacokinetics of macrolide antibiotics and transport into the interstitial fluid: Comparison among erythromycin, clarithromycin, and azithromycin. *Antibiotics.* 1 de abril de 2020;9(4).
35. Lin L, Nonejuie P, Munguia J, Hollands A, Olson J, Dam Q, et al. Azithromycin Synergizes with Cationic Antimicrobial Peptides to Exert Bactericidal and Therapeutic Activity Against Highly Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Pathogens. *EBioMedicine.* 1 de julio de 2015;2(7):690-8.
36. Mendoza-Olazarán S, Camacho-Ortiz A, Martínez-Reséndez MF, Llacá-Díaz JM, Pérez-Rodríguez E, Garza-González E. Influence of whole-body washing of critically ill patients with chlorhexidine on *Acinetobacter baumannii* isolates. *Am J Infect Control.* 2014;42(8):874-8.
37. Bocanegra-Ibarias P, Garza-González E, Morfín-Otero R, Barrios H, Villarreal-Treviño L, Rodríguez-Noriega E, et al. Molecular and microbiological report of a hospital outbreak of NDM-1-carrying Enterobacteriaceae in Mexico. *PLoS One.* 1 de junio de 2017;12(6).

38. Mendoza-Olazarán S, Morfin-Otero R, Villarreal-Trevino L, Rodriguez-Noriega E, Llaca-Diaz J, Camacho-Ortiz A, et al. Antibiotic susceptibility of biofilm cells and molecular characterisation of staphylococcus hominis isolates from blood. PLoS One. 1 de diciembre de 2015;10(12).
39. Chayani N, Tiwari S, Sarangi G, Mallick B, Mohapatra A, Paty B, et al. Role of azithromycin against clinical isolates of family enterobacteriaceae: A comparison of its minimum inhibitory concentration by three different methods. Indian J Med Microbiol. 1 de abril de 2009;27(2):107-10.
40. Miller S, Goy K, She R, Spellberg B, Luna B. Antimicrobial Susceptibility Testing Performed in RPMI 1640 Reveals Azithromycin Efficacy against Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii and Predicts in Vivo Outcomes in Galleria mellonella. Antimicrob Agents Chemother. 1 de enero de 2023;67(1).
41. Rapp RP. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous and oral azithromycin: enhanced tissue activity and minimal drug interactions. Ann Pharmacother. 1998;32(7-8):785-93.
42. Rodvold KA, Danziger LH, Gotfried MH. Steady-state plasma and bronchopulmonary concentrations of intravenous levofloxacin and azithromycin in healthy adults. Antimicrob Agents Chemother. 1 de agosto de 2003;47(8):2450-7.
43. Tamaoki J. The Effects of Macrolides on Inflammatory Cells. Chest. febrero de 2004;125(2):41S-51S.
44. Tamaoki J, Kadota J, Takizawa H. Clinical implications of the immunomodulatory effects of macrolides. The American Journal of Medicine Supplements. noviembre de 2004;117(9):5-11.
45. Rubin BK, Henke MO. Immunomodulatory Activity and Effectiveness of Macrolides in Chronic Airway Disease. Chest. febrero de 2004;125(2):70S-78S.
46. Yamada K, Morinaga Y, Yanagihara K, Kaku N, Harada Y, Uno N, et al. Azithromycin inhibits MUC5AC induction via multidrug-resistant Acinetobacter baumannii in human airway epithelial cells. Pulm Pharmacol Ther. agosto de 2014;28(2):165-70.
47. Mason JW. Antimicrobials and QT prolongation. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. mayo de 2017;72(5):1272-4.

48. Choi Y, Lim HS, Chung D, Choi J gu, Yoon D. Risk Evaluation of Azithromycin-Induced QT Prolongation in Real-World Practice. *Biomed Res Int.* 14 de octubre de 2018;2018:1-8.