



“Evaluación de la resistencia a antibióticos de cepas congeladas del grupo *Bacteroides* previamente recolectadas y aisladas entre 2019 y 2020 en Zurita & Zurita Laboratorios”

Vaca González, Juan Pablo

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

Koch Kaiser, Alma Rosel M. Sc.

SANGOLQUÍ

2021

Resultados de análisis de Urkund



Document Information

Analyzed document	VACA_JUAN_PROYECTO_DE_TITULACION.docx (D111185026)
Submitted	8/11/2021 10:47:00 PM
Submitted by	
Submitter email	fjflores2@espe.edu.ec
Similarity	1%
Analysis address	fjflores2.espe@analysis.orkund.com

Firmado digitalmente por ALMA ROSEL KOCH KAISE, DN: cn=ALMA ROSEL KOCH KAISE, o=SECURITY DATA, c=EC. ALMA ROSEL KOCH KAISE

Sources included in the report

W	URL: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/feduc.2021.703723/full Fetched: 8/11/2021 10:48:00 PM		1
W	URL: https://www.researchgate.net/publication/262671600_Primer_consenso_argentino_para_el_estudio_de_la_sensibilidad_in_vitro_a_los_antimicrobianos_de_las_bacterias_anaerobias_de_importancia_clinica_en_humanos Fetched: 10/28/2020 3:29:02 PM		1

ALMA
ROSEL
KOCH
KAISE
R

Firmado digitalmente por ALMA ROSEL KOCH KAISE, DN: cn=ALMA ROSEL KOCH KAISE, o=SECURITY DATA S.A., c=EC. Motivo: Estoy aprobando este documento. Usado en: Fecha: 2021-08-31 16:06:05:00

.....
Koch Kaiser, Alma Rosel M. Sc.

DIRECTOR



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de titulación, “**Evaluación de la resistencia a antibióticos de cepas congeladas del grupo *Bacteroides* previamente recolectadas y aisladas entre 2019 y 2020 en Zurita & Zurita Laboratorios**” fue realizado por el señor **Vaca González, Juan Pablo** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 11 de agosto de 2021

ALMA
ROSEL
KOCH
KAISER

Firmado digitalmente
por ALMA ROSEL
KOCH KAISER
DN: cn=ALMA ROSEL
KOCH KAISER c=EC
o=SECURITY DATA
S.A. 2 ou=ENTIDAD
DE CERTIFICACION
DE INFORMACION
Motivo: Estoy
aprobando este
documento
Ubicación:
Fecha: 2021-08-31
16:07:05:00

.....
Koch Kaiser, Alma Rosel M. Sc.

C. C: 170888079-2




Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de autoría

Yo, **Vaca González, Juan Pablo**, con cédula de ciudadanía N° 172653038-7, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación "**Evaluación de la resistencia a antibióticos de cepas congeladas del grupo *Bacteroides* previamente recolectadas y aisladas entre 2019 y 2020 en Zurita & Zurita Laboratorios**" es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 11 de agosto de 2021


.....
Vaca González, Juan Pablo

C.C.: 172653038-7



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de publicación

Yo, **Vaca González, Juan Pablo**, con cédula de ciudadanía N° 172653038-7, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **"Evaluación de la resistencia a antibióticos de cepas congeladas del grupo *Bacteroides* previamente recolectadas y aisladas entre 2019 y 2020 en Zurita & Zurita Laboratorios"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 11 de agosto de 2021

.....
Vaca González, Juan Pablo

C.C.: 172653038-7

Dedicatoria

Es un honor poder presentar el siguiente trabajo como una dedicatoria a la memoria de mi abuelita Teodolinda, a mi abuelito Abraham, a mi padre Juan Carlos Vaca, a mi madre Rosa González y a mis hermanos Carlos y Jefferson, por apoyarme y brindarme su compañía además de ser el paradigma que sustenta mis esfuerzos diarios. Por potenciar lo mejor de mi accionar y custodiar mi desarrollo en el enfoque personal, ideológico y académico acorde a los principios y responsabilidades aleccionadas. Por todo lo que he alcanzado gracias a su incondicional cariño, ferviente compromiso y la inconmensurable felicidad, este éxito es para ustedes.

Agradecimientos

El desarrollo del trabajo de titulación representaba para mí una oportunidad más para aprender y ser participe en el desarrollo de un nuevo conocimiento para las siguientes generaciones, bajo esta consideración, quedo infinitamente agradecido con la Dra. Jeannete Zurita, el Dr. Camilo Zurita y todo el equipo de colaboradores de Zurita & Zurita Laboratorios por la oportunidad, confianza y orientación entregada para llevar a cabo este proyecto de investigación; de igual manera, por la calidez, entorno de trabajo y el sentido de labor en aras del profesionalismo que impulso el encausamiento y la afición por la investigación y desarrollo competente en todo momento entregando una de las mejores experiencias que un estudiante podría anhelar.

Igualmente quiero expresar un sentido agradecimiento a Alma Koch M. Sc. del Departamento de Ciencias de la Vida de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE por su excelencia en su papel de docente, mentora y directora en el desarrollo de este trabajo. Por ser un eje fundamental y un modelo inspiracional en mi desarrollo personal y profesional al compartir su erudición e inculcar el más grato sentido académico en sus alumnos de los cuales afortunadamente tuve la honra de formar parte.

Por otro lado, quiero plasmar el profundo y eterno agradecimiento a mi abuelita Teodolinda Cachumba por su amor sempiterno, bonhomía y por enseñarme el verdadero sentido de la vida y el valor de aquello que vale la pena realmente; lo cual, hoy por hoy, trasciende las barreras de la existencia a través de su huella

en mis recuerdos. Así mismo, mi sentimiento de gratitud con mi abuelito Abraham González, que me ha enseñado el aprecio y valor de la vida silvestre y por entregarme las mejores experiencias, anécdotas y alegrías que he podido recibir en mi vida, así como la inspiración para estudiar esta profesión.

Agradezco a mi padre Juan Carlos Vaca, a mi madre Rosa González, por cuidarme y demostrarme lo que es el verdadero amor por los hijos, por la formación, valores y principios propiciados, por la luminiscencia de su sabiduría y conocimiento en mi existencia, por anteponer mi bienestar y el de mis hermanos al suyo y por todos los años que espero contar con ellos. También agradezco a mi hermano Carlos, por ser un modelo a seguir y velar, desde mi infancia, por mí en los buenos y en los malos momentos, a mi hermano Jefferson porque me motiva a ser una mejor versión de mí mismo día tras día para ser un buen guía en el sendero de su vida y sin olvidar, a mis tíos, tías, primos y primas por su confianza, impulso permanente y por celebrar mis metas conmigo. Todo lo que he conseguido, logrado y vivido se lo debo a ustedes, a su inefable entrega y esfuerzo, porque son mi mayor fortuna y no alcanzarían las palabras ni las páginas para expresar cuán agradecido estoy de tenerlos a mi lado.

Por último, pero no menos importante, mi mayor sentido de gratitud hacia mis amigos; en especial a Michelle, Xavier, Alisson, Yadira, Camila, Tannya y María Fernanda por su incondicional y valiosa amistad sobre todo en mis críticos momentos y, además, por su espíritu de compañerismo y profesionalismo. A

todos ustedes por sus enseñanzas, por impulsarme a salir de mi zona de confort, por sus consejos, preocupaciones, regaños y apoyo; ya que constituyen una de las serendipias más preciadas de mi trayectoria universitaria y del resto de mi vida.

Índice de contenido

Resultados de análisis de Urkund	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de contenido	10
Índice de tablas	14
Índice de figuras	15
Abreviaturas	16
Resumen	18
Abstract	20
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	22
Formulación del problema	22
Justificación del problema	24
Objetivos	26
Objetivo General	26
Objetivos Específicos	27
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	28
Generalidades de <i>Bacteroides</i> spp.	28

	11
Grupo <i>Bacteroides fragilis</i>	29
Comensalismo	30
<i>Bacteroides</i> spp. como patógeno	30
Factores de virulencia	31
Importancia clínica	33
Pronóstico	34
Infecciones	35
Tratamiento	36
Selección de antimicrobianos	36
Antibióticos aplicados en infecciones anaerobias	37
Resistencia en <i>Bacteroides</i> spp.	38
Mecanismos de acción y resistencia a los antibióticos	39
β -lactámicos	39
Fenicoles (Cloranfenicol)	40
Tetraciclinas (Tetraciclina)	41
Lincosamidas (Clindamicina)	41
Nitroimidazoles (Metronidazol)	41
Bombas de eflujo	43
Pruebas de susceptibilidad	43
Microdilución en caldo	45
Antibióticos en las pruebas de susceptibilidad	45

	12
Hipótesis	47
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	48
Participantes	48
Zona de estudio	48
Período de investigación	48
Recolección e identificación de cepas previo al estudio	49
Conservación de muestras	49
Desarrollo experimental	51
Descongelamiento de cepas	51
Preparación del inóculo	51
Montaje de antibiogramas	52
Inoculación del panel de microdilución	52
Desarrollo analítico	53
Lectura de placa Sensititre ANO2B	53
Categorización de los niveles de susceptibilidad	54
Análisis estadístico	54
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	55
Reactivación de cepas	55
Aislamiento de muestras	55
Resistencia de <i>Bacteroides</i> spp.	56
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	59

	13
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	72
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	74
BIBLIOGRAFÍA	75

Índice de tablas

Tabla 1	Frecuencia de las especies de 32	
Tabla 2	Antibióticos indicados para el tratamiento de infecciones polimicrobianas	37
Tabla 3	Puntos de corte de antianaerobios según la guía M100-S21 CLSI (2021)	46
Tabla 4	Distribución de los aislados por sitio anatómico y frecuencia de las especies encontradas	50
Tabla 5	Porcentajes de resistencia de los 46 aislados de 56	
Tabla 6	Distribución de las especies MR	58
Tabla 7	Contraste de las tasas de resistencia descritas para cada antibiótico en varios estudios de América, Europa y Asia	68

Índice de figuras

Figura 1 Tinción Gram de un hemocultivo con presencia de	26
Figura 2 Número y frecuencia relativa de los aislamientos por cada sitio anatómico	50
Figura 3 Placa Sensititre™ para pruebas de susceptibilidad desarrollada por ThermoFisher Scientific (2021)	52
Figura 4 Antibiograma de un ejemplar de	52
Figura 5 Ejemplar de cepa de	54
Figura 6 Frecuencia de aislamiento de las especies de	55
Figura 7 Distribución de las especies MR	58
Figura 8 Comparación de porcentajes de resistencia de las penicilinas	60
Figura 9 Comparación de porcentajes de resistencia de los agentes β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas	62
Figura 10 Comparación de porcentajes de resistencia en las cefemas	63
Figura 11 Comparación de porcentajes de resistencia en carbapenémicos	65
Figura 12 Comparación de porcentajes de resistencia para CLI (lincosamidas), TET (tetraciclinas), CHL (fenicoles) y MRD (metronidazol)	66

Abreviaturas

A/S2: Ampicilina/Sulbactam

AMP: Ampicilina

API: Índice de Perfil Analítico, por sus siglas en inglés

AUG2: Amoxicilina/Ácido clavulánico

BFT: Toxina de *Bacteroides fragilis*, por sus siglas en inglés

CHL: Cloranfenicol

CLI: Clindamicina

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, por sus siglas en inglés.

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

Da: Dalton

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos, por sus siglas en inglés

FOX: Cefoxitina

I: Intermedio

IL: Interleucina

IMI: Imipenem

MERO: Meropenem

MR: Multirresistente

MRD: Metronidazol

P/T4: Piperacilina/Tazobactam

PBP: Proteínas de Unión a la Penicilina, por sus siglas en inglés.

PEN: Penicilina

PIP: Piperacilina

PMN: Polimorfonucleares

RND: Resistencia-Nodulación-División

S: Sensible

SDS: Dodecil-Sulfato de Sodio

TANS: Cefotetan

tARN: ARN de transferencia

TES: Tris-EDTA-SDS

TET: Tetraciclina

TNF: Factor de Necrosis Tumoral

TSB: Caldo tróptico de soya, por sus siglas en inglés

Resumen

Bacteroides spp. es un género de bacterias comensales de la microbiota del tracto gastrointestinal principalmente; sin embargo, es catalogado como un patógeno oportunista porque su salida hacia otros sitios anatómicos diferentes de su nicho habitual, por lesiones en la barrera tisular del órgano, desencadena el desarrollo de infecciones anaerobias. El tratamiento se realiza de manera empírica con base en el criterio médico y los estudios de vigilancia de los patrones de resistencia antimicrobiana de *Bacteroides* particularmente, debido a su elevada frecuencia de aparición en aislados clínicos y porque ha descrito niveles de resistencia mayores en comparación con otros anaerobios. En Ecuador no se cuenta con información acerca de este fenómeno que sirva de fundamento en la decisión terapéutica. Para conocer el estado actual, se planteó como objetivo la evaluación de la resistencia de cepas del grupo *Bacteroides*. Para empezar, se realizó la reactivación de las cepas congeladas aisladas previamente entre 2019 y 2020 en Zurita & Zurita Laboratorios. A continuación, se utilizó el método de microdilución como prueba de susceptibilidad y con base en la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida de los ensayos de cada una de las cepas, se las categorizó como susceptible (S), intermedio (I) o resistente (R). Luego, los porcentajes de resistencia de cada antibiótico fueron contrastados con los reportes realizados en otros países y continentes. El porcentaje de cepas multirresistentes fue de 89.1% (n=41), de las cuales una cepa de *B. fragilis*, aislada de un hemocultivo, presentó resistencia a 12 de los antibióticos evaluados. En definitiva, se comprobó que las tasas de resistencia de *Bacteroides* varían con respecto a otras regiones geográficas y; en consecuencia, se corrobora la necesidad de realizar un monitoreo continuo de su susceptibilidad antibiótica, principalmente por su influencia en el campo médico.

Palabras claves:

- **BACTEROIDES**
- **PORCENTAJES DE RESISTENCIA**
- **CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA**
- **INFECCIONES**
- **ANTIBIÓTICOS**

Abstract

Bacteroides spp. is a genus of commensal bacteria that are mainly part of the microbiota of the gastrointestinal tract; however, it is classified as an opportunistic pathogen since its outflow, due to events that compromise the tissue barrier of the organ, to other anatomical sites that do not correspond to its usual habitat triggers the development of anaerobic infections. The treatment of this type of infections is performed empirically based on medical criteria and surveillance studies of antimicrobial resistance patterns of this genus in particular, due to its high frequency of occurrence in clinical isolates and because it has been described that their resistance levels are highest between anaerobes. In Ecuador, there is no information about this phenomenon to serve as a basis for therapeutic decisions. In order to know the current status, the objective of this work was to evaluate the resistance of strains of the *Bacteroides* group. To begin with, reactivation of frozen strains that were previously isolated between 2019 and 2020 at Zurita & Zurita Laboratories was performed. Next, the microdilution method was used as a susceptibility test and based on the minimum inhibitory concentration (CMI) obtained from the assays of each of the strains, they were categorized as susceptible (S), intermediate (I) or resistant (R). Then, the resistance percentages of each antibiotic were contrasted with reports made in other countries and continents. The percentage of multiresistant strains was 89.1% (n=41), of which one strain of *B. fragilis*, isolated from a blood culture, showed resistance to 12 of the antibiotics evaluated. Summary, it was found that the resistance rates of this genus vary with respect to other geographical regions and, consequently, the necessity of continuous monitoring of this phenomenon is corroborated, mainly in view of its influence in the medical field.

Key words:

- **BACTEROIDES**
- **RESISTANCE PERCENTAGES**
- **MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION**
- **INFECTIONS**
- **ANTIBIOTICS**

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Formulación del problema

Bacteroides spp. es un género conformado por bacterias gramnegativas anaerobias, las cuales componen aproximadamente el 25% de la microbiota comensal gastrointestinal del ser humano (Brook, 1989; Jasemi et al., 2021; Wexler, 2007) así como otros sitios anatómicos (Rasmussen et al., 1993; Shah, 1992; Smith et al., 2006).

Por otro lado, también se catalogan como patógenos oportunistas dado que su escape desde el órgano de colonización, por acontecimientos que comprometen la barrera tisular, produce infecciones anaerobias monomicrobianas o polimicrobianas como sucede en el 80.3% de los casos clínicos (Park et al., 2009; Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011) derivando en una amplia variedad de cuadros clínicos tales como sepsis o abscesos (Jasemi et al., 2021; Wexler, 2007). *Bacteroides* spp. es el microorganismo etiológico del 55% de bacteriemias reportadas por anaerobios (Salonen et al., 1998) y, en particular, el grupo de *Bacteroides fragilis* compone el 41.8% de toda la microbiota anaerobia aislada de infecciones polimicrobianas (Park et al., 2009).

El tiempo medio hasta el deceso de un paciente con infección anaerobia es de 10.7 días, la tasa de mortalidad oscila entre 29.7% hasta 60% y, si se aplica una terapia antibiótica inadecuada, alcanza el 32.5% (Park et al., 2009; Wexler, 2007); en donde la edad avanzada o la presencia de enfermedades subyacentes son agravantes de los pronósticos clínicos favorables (Park et al., 2009). En bacteriemias anaeróbicas, la mortalidad puede alcanzar el 55% si no existe una terapia antibiótica adecuada

(Salonen et al., 1998); por otra parte, según los informes de Kim et al. (2016) la tasa de supervivencia asciende hasta 82% con una terapia antimicrobiana adecuada.

Las especies de *Bacteroides* predominantes en los aislados clínicos de infecciones anaerobias son: *B. fragilis*, *B. theta* y *B. vulgatus* entre 42.1% a 63%, 14% a 18.8% y 7% a 7.7%, respectivamente (Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011); además Hedberg et al. (2003) y Byun et al. (2019) lo señalan como el grupo bacteriano más resistente de los anaerobios con la capacidad de presentar multiresistencia.

El tratamiento de las infecciones anaeróbicas se realiza empíricamente basado en los criterios del médico y en datos microbiológicos de vigilancia nacional disponibles (Brook, 2007; Schapiro et al., 2004). En las infecciones anaerobias monomicrobianas se utilizan antibióticos de espectro reducido como metronidazol; sin embargo, en una infección mixta se requerirá del uso de fármacos con un amplio espectro o la combinación de varios agentes antimicrobianos que cubran toda la diversidad de especies, por lo cual, generalmente se utiliza penicilinas, cefemas, carbapenémicos, cloranfenicol, macrólidos, lincomicina, clindamicina, metronidazol, tetraciclina, tigeciclina, quinolonas o combinaciones de penicilinas con inhibidores de β -lactamasa (Brook, 2007).

Según las descripciones de Brook (2007), en el tratamiento de *Bacteroides* β -lactamasa negativos, la penicilina es una adecuada elección primaria y como alternativa se puede recurrir al metronidazol, clindamicina o cloranfenicol; y si se trata de β -lactamasa positivos se debe utilizar metronidazol, carbapenémicos, penicilinas en combinación con un inhibidor de β -lactamasas, clindamicina, cefoxitina o cloranfenicol.

El uso de antimicrobianos induce el desarrollo de mecanismos de resistencia en los microorganismos (Cloete, 2003). En el caso de *Bacteroides*, los reportes de resistencia emergieron desde la década de 1960 y se encuentran hasta la actualidad (Byun et al., 2019; Gao et al., 2019; Rasmussen et al., 1993). Por lo tanto, se requiere el monitoreo de las variaciones de las tasas de resistencia a los antibióticos aplicados en *Bacteroides* spp. para permitir a los médicos la selección de la terapia y el régimen de tratamiento adecuado para sus pacientes (Brook, 2007) porque los patrones de resistencia son impredecibles y difieren entre países, regiones e incluso entre instituciones médicas (Hecht, 2006; Wexler, 2007).

Justificación del problema

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno ampliamente extendido alrededor del mundo para muchas especies bacterianas que amenaza la probabilidad de tratar exitosamente una enfermedad infecciosa bacteriana y se limita por el escaso desarrollo de nuevos agentes antibióticos (Brüssow, 2017). Este problema se fomenta por la venta de antibióticos de mala calidad o adulterados, la ausencia de regulaciones apropiadas, la prescripción innecesaria o en exceso, falta de educación por proveedores, automedicación y el uso inadecuado dentro de la industria animal (Ayukekbong et al., 2017). Dentro de la amplia variedad de antibióticos disponibles para el tratamiento de anaerobios, la selección es más sencilla cuando se dispone de un cultivo e identificación del microorganismo confiable; no obstante, a pesar de que la medicación apropiada contribuye a la reducción de la mortalidad, los antibiogramas de anaerobios no se ejecutan rutinariamente (Kim et al., 2016; Park et al., 2009), por consiguiente, las infecciones por anaerobios se tratan de forma empírica y con base en el estado actual descrito por la vigilancia de los patrones de susceptibilidad (Brook,

2007). *Bacteroides* spp. es el género predominante en infecciones anaerobias y presenta mayores niveles de resistencia con respecto a otros anaerobios (Byun et al., 2019; Rasmussen et al., 1993), por esta razón, la selección de la terapia se hace con base en su perfil (Wexler, 2007).

Según Schapiro et al. (2004) varias evaluaciones de vigilancia siguen recomendando algunos antibióticos como una alternativa adecuada para tratamiento como sucede con metronidazol o cefotetan, por otro lado, Solomkin et al. (2010) señala que los incrementos registrados en las tasas de resistencia han hecho necesaria limitar el uso de estos dos para tratar una patología causada por *B. fragilis*. Además, esta especie posee varios mecanismos de resistencia, transferibles a otras bacterias; y, en conjunto con sus factores de virulencia, le permiten persistir en la infección, principalmente cuando se ha dado paso a la formación de abscesos (Brook, 2007; Hecht, 2006; Wexler, 2007).

Los monitoreos de la evolución de la resistencia se han documentado en E.E.U.U. (Snydman et al., 2010), Europa (Nagy et al., 2011) y Polonia (Kierzkowska et al., 2020), otras investigaciones realizadas en España (García-Rodríguez et al., 2003), estudios multicéntricos de varios países europeos (Hedberg et al., 2003) y más recientemente en Japón (Takesue et al., 2018), India (Vishwanath et al., 2019), China (Gao et al., 2019), Rumania (Pricop et al., 2020), Irán (Jasemi et al., 2021) y Austria (König et al., 2021) describen el estado de la resistencia en un determinado momento y ubicación geográfica. En Latinoamérica se cuenta con investigaciones antiguas (Bolaños et al., 1988; Nakano & Avila-Campos, 2004) y algunas recientes como en Argentina (Fernández-Canigia et al., 2012), Costa Rica (Cordero-Laurent et al., 2012) y

Colombia (Salazar et al., 2014) que han analizado grupos limitados de antibióticos de todas las categorías recomendadas para el tratamiento de anaerobios.

Con base en las investigaciones realizadas sobre *Bacteroides* y los antibióticos, se ha evidenciado que las tasas de resistencia tienden a incrementarse o mantenerse (Kierzkowska et al., 2020; Nagy et al., 2011; Snyderman et al., 2010) haciendo impredecible a su perfil de resistencia (Brook et al., 2013) ante lo cual el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) recomienda un monitoreo continuo anualmente de los niveles de resistencia con base en los métodos aprobados para este propósito con el objetivo de proveer de información oportuna en el tratamiento de infecciones anaerobias (Hecht, 2006; Salonen et al., 1998).

Hasta el momento, Ecuador no cuenta con una investigación directa sobre los porcentajes de resistencia actualizados de las especies del grupo *B. fragilis* porque las investigaciones acerca de este género no se han enfocado en esta área (Amenyogbe et al., 2021; Cárdenas et al., 2020; Carvajal-Aldaz et al., 2017; Gerhard et al., 2017; Hong et al., 2011; M. F. Zurita et al., 2020), con excepción de una que describe la detección de una cepa con resistencia al metronidazol (J. Zurita et al., 2019). Por ende, el *statu quo* de los porcentajes de resistencia propios de *Bacteroides* spp. en nuestro país es desconocido y no existe información reciente para fundamentar la decisión de la terapia antimicrobiana.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la resistencia a antibióticos de cepas congeladas del grupo *Bacteroides* previamente recolectadas y aisladas entre 2019 y 2020 en Zurita & Zurita Laboratorios.

Objetivos Específicos

- Determinar la Concentración inhibitoria mínima (CMI) para las especies de *Bacteroides* obtenidas del cepario, mediante la técnica de microdilución en caldo.
- Interpretar la CMI de acuerdo a los puntos de corte establecidos en las pautas del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute*).
- Establecer el porcentaje de resistencia de *Bacteroides* spp. a penicilinas, combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas, cefemas, carbapenémicos, tetraciclina, lincosamidas, fenicoles y nitroimidazoles

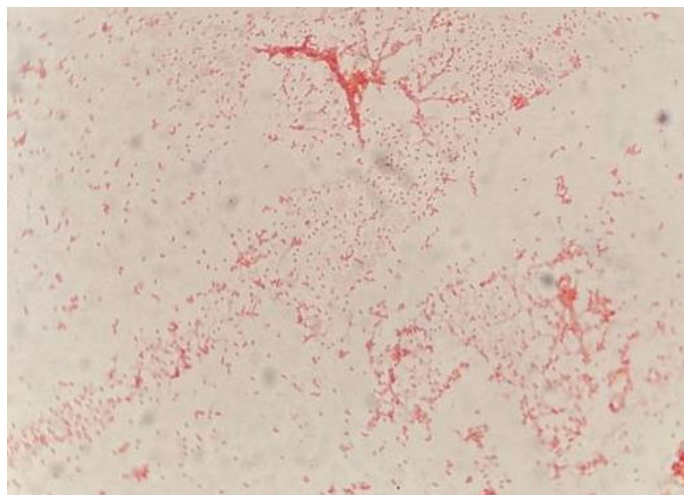
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Generalidades de *Bacteroides* spp.

Bacteroides es un género conformado por bacilos Gram-negativos (Figura 1), anaerobios obligados, no formadores de esporas, no hemolíticos y sin motilidad (Rasmussen et al., 1993). El tamaño de las colonias varía de 1 a 3 mm, son lisas y su color es entre gris y blanco. Son quimiorganotróficos, con actividad sacarolítica y proteolítica; pueden crecer en medios con bilis al 20% y poseen la capacidad de hidrolizar la esculina. El ácido m-diaminopimélico predomina en este género y su contenido de Guanina-Citosina (mol %) en el ADN varía entre 39% a 49% (Song et al., 2015). Al tratarse de bacterias anaerobias, para proveer de un entorno adecuado se requiere que la atmosfera posea concentraciones menores a 0,5% de O₂, 5% a 10% de CO₂, 5% a 10% de H₂ y el resto con N₂; similar a las condiciones provistas por el tracto gastrointestinal humano (Bacic & Smith, 2008).

Figura 1

Tinción Gram de un hemocultivo con presencia de Bacteroides (100X)



Los lugares en donde *Bacteroides* coloniza son: la cavidad oral, tracto genital femenino, sistema respiratorio, cérvix y uretra (Rasmussen et al., 1993; Shah, 1992; Smith et al., 2006); en particular, las especies del grupo *B. fragilis* se encuentran en el tracto gastrointestinal, localizándose desde la zona distal del estómago hasta el recto (Rasmussen et al., 1993; Smith et al., 2006) formando parte de la microbiota endógena en conjunto con un consorcio variado de géneros como *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium* y *Prevotella* (Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011). Alrededor del 90% de las bacterias de la microbiota intestinal está constituida por anaerobios (Ndongo et al., 2020), el 25% de ésta corresponde a *Bacteroides* (Wexler, 2007) y entre el 1% al 2% de la microbiota total está representada por *B. fragilis* (Ghotaslou et al., 2018).

Grupo *Bacteroides fragilis*

Actualmente, el género *Bacteroides* se encuentra limitado a las especies que forman parte del grupo de *B. fragilis* las cuales son de interés clínico porque predominan en la microbiota de las infecciones anaerobias y consta de 13 especies: *B. fragilis*, *B. caccae*, *B. nordii*, *B. salyersiae*, *B. dorei*, *B. massiliensis*, *B. eggerthii*, *B. stercoris*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. uniformis* y *B. pyogenes*, mientras que el resto de especies, anteriormente ubicadas en este género, han sido reclasificadas como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Campylobacter*, *Tanerrella*, entre otras (Brook & Goldstein, 2012). *Parabacteroides distasonis* (anteriormente *B. distasonis*) y *Parabacteroides merdae* (anteriormente *B. merdae*) también son parte de la microbiota del tracto gastrointestinal y de las infecciones de tejidos simultáneamente con las especies de *Bacteroides*, por consiguiente, de igual manera son incluidas dentro del grupo de *B.*

fragilis y de los estudios de los patrones de resistencia (Jamal et al., 2020; Niestępski et al., 2019).

Comensalismo

La microbiota intestinal es capaz de proveer moléculas sencillas como carbohidratos, aminoácidos y vitaminas que, de otra manera, no serían accesibles (Shah, 1992). Las especies de *Bacteroides* contribuyen con el metabolismo de polisacáridos y proteínas (almidón, celulosa, hemicelulosa, pectina y péptidos) utilizando diversas enzimas (glucosidasas, xilanasas, elastasas, gelatinasa, entre otras), las cuales tienden a unirse y degradar a los sustratos poniendo a disposición moléculas más sencillas (monosacáridos y aminoácidos) para otros microorganismos presentes en la microbiota como *Bifidobacterium longum* pueden utilizar o incluso para el propio hospedero (Smith et al., 2006). También es capaz de estimular el desarrollo de la respuesta inmune a través de las células T, evita la colonización de otras bacterias patógenas en el intestino mediante bacteriocinas y regula la actividad de las células de Paneth (Wexler, 2007).

***Bacteroides* spp. como patógeno**

Al tratarse de bacterias comensales, son inofensivas; sin embargo, ya sea por eventos que comprometan la integridad de la barrera epitelial del órgano (roturas, traumatismos o procesos quirúrgicos), por alguna patología (apendicitis, peritonitis o neoplasias) o por su introducción en algún tejido que permitan su diseminación hacia otros órganos, cavidades o fluidos; y, en conjunto con sus factores de virulencia, pueden provocar una infección (Smith et al., 2006; Wexler, 2007) de naturaleza monomicrobiana o polimicrobiana (ésta última en el 80.3% de los casos clínicos) con

bacterias aerobias y anaerobias (Park et al., 2009; Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011).

Factores de virulencia

Son un conjunto de moléculas bacterianas necesarias para el establecimiento y progresión de una infección en sus huéspedes (Casadevall & Pirofski, 2009). Los factores de virulencia descritos en *Bacteroides* spp., que le dotan de potencial patogénico, incluyen: apéndices superficiales (fimbrias), lipopolisacárido, cápsula bacteriana y la producción de enzimas intra y extracelulares (Vishwanath et al., 2019).

Adherencia

Bacteroides spp. es capaz de unirse a los tejidos del hospedero debido a la presencia de adhesinas (pilis y fimbrias peritricas) y polisacáridos capsulares en la superficie bacteriana, otorgándole una capacidad de adherencia hasta cinco veces mayor en comparación con cepas que carecen de estas estructuras; asegurando su establecimiento, multiplicación y progresión tanto en el tracto gastrointestinal como en el sitio de infección (Smith et al., 2006; Yekani et al., 2020).

Aerotolerancia

Bacteroides es un organismo estrictamente anaerobio, posee aerotolerancia a concentraciones nanomolares de O₂ mediado por su respuesta frente al estrés oxidativo que le facilita la proliferación en diferentes regiones del huésped ajenas a su hábitat e induce la formación de abscesos (Bacic & Smith, 2008). Esta respuesta está constituida por la expresión de 28 enzimas cuya variedad incluye: ribonucleótido reductasa, fumarato reductasa, catalasa, alquil-hidroperóxido reductasa, superóxido dismutasa, tiorredoxina peroxidasa, citocromo C peroxidasa, tiol peroxidasa, proteínas no

específicas de unión al ADN, ferritina y citocromo oxidasa (Wexler, 2007; Yekani et al., 2020).

Cápsula bacteriana

La cápsula bacteriana está compuesta por mucopolisacáridos, se asocia con una mayor capacidad de adherencia al tejido (Onderdonk et al., 1978), provee de resistencia a la fagocitosis evadiendo la respuesta inmune e induce la formación de abscesos. La presencia del polisacárido capsular de *B. fragilis* desata una respuesta por parte del sistema inmunitario (leucocitos) por medio de la producción de citoquinas tales como el Factor de Necrosis Tumoral Alpha (TNF- α) e Interleucina 8 (IL-8), que fomenta el reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y un incremento de la moléculas de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) en el tejido donde se encuentran adheridas (Smith et al., 2006), finalmente una membrana fibrosa recubre a todos los PMN acumulados como restos celulares, bacterias aledañas del entorno y se forma el absceso (Wexler, 2007). También reduce la susceptibilidad al estrés oxidativo que resulta en una mayor aptitud de supervivencia y por lo tanto una mayor probabilidad de virulencia (Smith et al., 2006).

Enzimas extracelulares

El grupo de enzimas extracelulares de *Bacteroides* incluye: hialuronidasa, condroitín sulfatasa, desoxirribonucleasa, proteasas, fosfatasas y lipasas (Yekani et al., 2020) las cuales actúan sobre la matriz extracelular del huésped y permiten la penetración bacteriana, también expresan hemolisinas (HlyA y HlyB) con actividad hemolítica sinérgica que le proporcionan de hierro de células dañadas y eritrocitos (Wexler, 2007). Incluso poseen neuraminidasa encargada de la digestión de la mucina

proveyendo de polisacáridos que son usados como fuente de glucosa para el crecimiento (Yekani et al., 2020).

La liberación de vesículas de membrana también forma parte de este mecanismo de virulencia por su variedad de contenido capaz de transportar: fosfatasa alcalinas y ácidas, lipasa-esterasa, fosfohidrolasa, glucosaminidasa, β -glucuronidasa y α y β -galactosidasa que inducen hemaglutinación para entregar el contenido a las células del hospedero e inducir daño tisular (Smith et al., 2006).

Enterotoxina

Algunas cepas de *B. fragilis* generan una enterotoxina denominada también como fragilisina o BFT (Toxina de *Bacteroides fragilis*), una metaloproteasa de zinc de 20 kDa, con la capacidad de desintegrar la E-cadherina de las uniones intercelulares del epitelio intestinal y de los adherentes de zónula induciendo cambios morfológicos en las células del epitelio intestinal debido a la reordenación de la actina del citoesqueleto dando como resultado diarreas e inflamaciones en la mucosa (Jamal et al., 2020; Smith et al., 2006).

Importancia clínica

Las especies del grupo de *Bacteroides fragilis* son relevantes a nivel clínico por la regularidad de su presencia en los aislados y por sus mayores niveles de resistencia a los antimicrobianos con respecto a otros anaerobios (Byun et al., 2019; Hedberg et al., 2003). Las principales especies y la frecuencia con la que se presentan en las muestras clínicas son: *B. fragilis* (42.1% a 63%), seguido de *B. thetaiota* (14% a 18.8%) y *B. vulgatus* (7% a 7.7%) en conjunto con otras especies menores como se describe en

la Tabla 1 (Liu et al., 2003; Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011).

Tabla 1

Frecuencia de las especies de Bacteroides en muestras clínicas

Especie	% de aislamiento
<i>B. fragilis</i>	42.1 - 63
<i>B. thetaiotaomicron</i>	14 - 18.8
<i>B. vulgatus</i>	7 - 7.7
<i>B. ovatus</i>	5.8 - 7
<i>B. distasonis</i>	6 - 6.6
<i>B. uniformis</i>	2

Nota. La tabla describe la predominancia de *Bacteroides fragilis* en los aislados con respecto a otras especies de este grupo. Tomado de *Anaerobic infections (General): Epidemiology of anaerobic infections* (p. 8), por Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011, *Journal of Infection and Chemotherapy*; y *Rapid identification of the species of the Bacteroides fragilis group by multiplex PCR assays using group- and species-specific primers* (p. 9), por C. Liu, Y. Song, M. McTeague, A. Vu, H. Wexler & S. Finegold, 2003, *FEMS Microbiology Letters*.

Pronóstico

En una infección anaerobia, la tasa de mortalidad varía entre 25% al 44% con un promedio de 10.7 días hasta el deceso del paciente. Tras un tratamiento inadecuado, la tasa reportada es de 32.5% (Park et al., 2009); en bacteriemias anaeróbicas es del 30.7%, alcanzando un 55% en caso de no proveerse una terapia antibiótica adecuada (Aldridge & O'Brien, 2002; Cheng et al., 2009; Salonen et al., 1998; Schapiro et al., 2004); asimismo, Aldridge & O'Brien (2002) describieron que la tasa de mortalidad en una bacteriemia puede variar dependiendo de la especie de *Bacteroides* predominante,

siendo de 24% a 31% cuando se trata de *B. fragilis*; 50%, con *P. distasonis* y 100%, con *B. thetaiotaomicron*, respectivamente; además Park et al. (2009) establece que la edad y la presencia de enfermedades subyacentes son factores negativos para un pronóstico favorable en este tipo de infecciones. Por otro lado, Kim et al. (2016) señala que con una terapia antimicrobiana adecuada la tasa de supervivencia es de 82%.

Infecciones

En general, las infecciones en las que se encuentran involucrados los anaerobios son de tipo mixto conformadas por aerobios como *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp. y anaerobios como *Clostridium* spp. y *Peptostreptococcus* spp. cuya frecuencia alcanza el 80.3% de los casos clínicos (Park et al., 2009; Solomkin et al., 2010). Los cuadros infecciosos provocados por *Bacteroides* spp. incluyen sepsis intraabdominal, apendicitis perforada y gangrenosa, infecciones ginecológicas, abscesos, infecciones epiteliales y de tejidos blandos y bacteriemias (Wexler, 2007).

El grupo de *B. fragilis* constituye el 41.8% de toda la microbiota aislada de infecciones anaerobias polimicrobianas (Park et al., 2009); entre 15% al 54%, en infecciones abdominales; 32% al 68%, de abscesos perirrectales y 26% al 50%, de las úlceras de decúbito; en regiones sobre el cuello y en la cabeza, alcanzan el 3%; en los aspirados transtraqueales y líquido pleural, el 4%; y no se ha descrito su presencia en infecciones dentales (Shah, 1992); asimismo, Salonen et al. (1998) señala que este género se asocia como la causa del 55% de los casos de bacteriemia por anaerobios.

Particularmente, la formación de un absceso contribuye con la resistencia a ciertos antimicrobianos porque el entorno que se desarrolla en el interior del mismo puede comprometer la estabilidad de los medicamentos ya sea creando una barrera

fibrótica (dificulta el ingreso de los antibióticos), presentando un bajo pH (perjudica a los aminoglucósidos) o por la presencia de enzimas inactivadoras como las β -lactamasas (Brook, 2007).

Tratamiento

Las infecciones generadas por anaerobios son tratadas empíricamente con base en los criterios del médico y en datos microbiológicos de vigilancia locales disponibles (Brook, 2007). En las infecciones monomicrobianas se utilizan antibióticos de espectro reducido dirigidos específicamente para el microorganismo identificado, en el caso de anaerobios, comúnmente se utiliza metronidazol; por otro lado, en una infección mixta se requerirá del uso de fármacos con un amplio espectro o la combinación de varios agentes antimicrobianos que cubra toda la variedad de especies presentes entre las que se encuentran: penicilinas, cefemas, carbapenémicos, cloranfenicol, lincomicina, clindamicina, tetraciclina, combinaciones de penicilinas con inhibidores de β -lactamasa, moxifloxacino, tigeciclina, macrólidos o quinolonas (Brook, 2007), en donde, los primeros 11 grupos mencionados anteriormente describen específicamente actividad antianaerobia (Schuetz, 2014).

Selección de antimicrobianos

Debido al desarrollo de infecciones de tipo mixto, las terapias se administran para cubrir organismos aerobios y anaerobios evitando complicaciones por persistencia o recaída. Los criterios utilizados en la selección de la terapia antibiótica son: la efectividad contra los organismos objetivo, minimizar el riesgo de desarrollar resistencia, la administración a dosis que permitan alcanzar los niveles necesarios en el sitio de la

infección, presentar una toxicidad mínima o nula, así como poseer una máxima estabilidad y permanencia en el hospedero (Brook et al., 2013).

Se ha descrito resistencia en los anaerobios a diferentes antimicrobianos tales como penicilina, fluoroquinolonas, clindamicina y cefemas, incluso el desarrollo de ella durante el tratamiento del paciente (Brook et al., 2013; Takesue et al., 2018). Las infecciones por anaerobios generalmente requieren una terapia prolongada que puede ir desde las tres semanas hasta los tres meses en función del lugar y de la gravedad del cuadro clínico (Brook et al., 2013).

Antibióticos aplicados en infecciones anaerobias

El grado de actividad de los medicamentos descritos para el tratamiento de infecciones anaerobias se limita únicamente a anaerobios (como sucede con metronidazol) o para tratar a los aerobios, de ser necesario (Tabla 2).

Tabla 2

Antibióticos indicados para el tratamiento de infecciones polimicrobianas

Antibiótico	Nivel de actividad (0 a +++)			
	Anaerobios		Aerobios	
	Bacilos Gram negativos	Otros anaerobios	Cocos Gram positivos	Enterobacterias
Penicilina	0	+++	+	0
Cloranfenicol	+++	+++	+	+
Cefoxitina	++	+++	++	++
Carbapenémicos	+++	+++	+++	+++
Clindamicina	++	+++	+++	0
Amoxicilina/Ácido clavulánico	+++	+++	++	++
Piperacilina/Tazobactam	+++	+++	++	++
Metronidazol	+++	+++	0	0

Nota. La tabla describe el nivel de actividad en el tratamiento de infecciones mixtas. Tomado de *Treatment of anaerobic infection* (p. 993), por I. Brook, 2007, Expert Review of Anti-infective Therapy.

Resistencia en *Bacteroides* spp.

El uso de una terapia antianaerobia adecuada conduce a un resultado exitoso en el tratamiento de una infección, por ello, la elección del fármaco, o un grupo de ellos, de forma apropiada es crucial (Yekani et al., 2020) debido a que una terapia inactiva da como resultado una mortalidad del 55% en bacteriemias (Salonen et al., 1998).

La resistencia de *Bacteroides* fue reportada por primera vez en la década de los 1960 empezando por la penicilina y posteriormente se extendió a otros antibióticos como tetraciclina (1972), clindamicina (1976), cefoxitina y carbapenémicos (1983) y, en 1984, en clindamicina (Rasmussen et al., 1993).

Debido a los informes sobre estos eventos, la variabilidad de la susceptibilidad antibiótica y la importancia clínica de *Bacteroides*, se ha realizado el seguimiento a través de encuestas y evaluaciones de monitoreo continuo sobre el fenómeno durante extendidos períodos de tiempo (≥ 10 años) en diferentes países tales como Estados Unidos (Snydman et al., 2010), Europa (Nagy et al., 2011) y Polonia (Kierzkowska et al., 2020). También se han reportado las tasas de resistencia mediante investigaciones individuales en España (García-Rodríguez et al., 2003) o multicéntricas realizadas en Europa (Hedberg et al., 2003) y recientemente en Japón (Takesue et al., 2018), India (Vishwanath et al., 2019), China (Gao et al., 2019), Rumania (Pricop et al., 2020), Irán (Jasemi et al., 2021) y Austria (König et al., 2021). De igual manera, se han presentado reportes de varios países latinoamericanos como Costa Rica (Bolaños et al., 1988) y

Brasil (Nakano & Avila-Campos, 2004). Otros países como Argentina (Fernández-Canigia et al., 2012), Costa Rica (Cordero-Laurent et al., 2012) y Colombia (Salazar et al., 2014) han hecho análisis más recientes; sin embargo, no reportan las tasas de resistencia para todos los antimicrobianos recomendados en anaerobios, por lo cual se dificulta el seguimiento de las tendencias de resistencia.

Considerando la descripción de Magiorakos et al. (2012) acerca de bacterias multirresistentes (MR), son aquellas que presentan resistencia al menos a un antibiótico de al menos tres categorías o grupos farmacológicos distintos de antibióticos; las cepas MR de *Bacteroides* han sido encontradas en varios casos y se han atribuido a la presencia de varios mecanismos específicos (Graham et al., 2020; Jasemi et al., 2021; Kaeuffer et al., 2021; Merchan et al., 2016; Sherwood et al., 2011; Urbán et al., 2015), llegando a conformar hasta en un 18.26% (Wang et al., 2020) y 50% de los aislados (Niestępski et al., 2019).

Mecanismos de acción y resistencia a los antibióticos

En *Bacteroides* se han reportado diferentes mecanismos de resistencia para los distintos fármacos utilizados terapéuticamente (Yekani et al., 2020) que comprenden: modificaciones en las Proteínas de Unión a la Penicilina (PBP), enzimas inactivadoras, disminución de la captación de medicamentos, transportadores de hierro de poca eficiencia y mutaciones diversas.

β -lactámicos

Este tipo de antibióticos tiene como objetivo mimetizar la sección D-Alanina con su anillo β -lactámico (el sitio de acción de las PBP) de tal manera que no se pueda llevar a cabo la transpeptidación para vulnerar la estabilidad del peptidoglicano dejando

susceptible a la bacteria a su degradación por enzimas hidrolíticas, fagocitosis o a su ruptura por lisis osmótica (Kapoor et al., 2017).

Brook et al. (2013) señala que los mecanismos de resistencia de los anaerobios a este grupo de fármacos son las enzimas inactivadoras (β -lactamasas), PBP de baja afinidad y mutaciones en las porinas que alteran la permeabilidad y bombas de eflujo.

El conjunto de β -lactamasas, incluye penicilinasas y cefalosporinasas, las cuales actúan sobre el enlace amida por hidrólisis dejándolo inactivo, y se ha descrito que entre el 76% al 96% de las cepas de *B. fragilis* producen cefalosporinasas constitutivamente; siendo la más común una cefalosporinasa de tipo 2e susceptible a los inhibidores de β -lactamasas (Wexler, 2007). Amoxicilina, ampicilina y piperacilina, son fármacos de tipo de penicilina que pueden suministrarse en conjunto con estos inhibidores como ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, respectivamente; los cuales al unirse con la β -lactamasa la inactivan e impiden la hidrólisis del anillo del compuesto β -lactámico (Khanna & Gerriets, 2021).

Con respecto a los carbapenémicos, éstos son vulnerados por carbapenemasas, enzimas de tipo metalo- β -lactamasas de clase B, con la capacidad actuar sobre otros antibióticos β -lactámicos y no son vulnerables a los inhibidores; a pesar de ello, los porcentajes de resistencia establecidos para este grupo no excede el 1% (Sóki et al., 2004).

Fenicoles (Cloranfenicol)

Este antibiótico ejerce su efecto a través de su unión con la secuencia 23S de la subunidad 50S del ribosoma para impedir la transpeptidación por parte de la peptidil-

transferasa obteniéndose como resultado cadenas cortas de aminoácidos que no son funcionales (Trevor et al., 2015).

El cloranfenicol se usa escasamente y los eventos de resistencia son poco frecuentes. El proceso de resistencia consiste en la modificación del principio activo por la enzima cloranfenicol-acetil-transferasa que acetila los grupos hidroxilo de la molécula y, de este modo, no permite su unión con al ribosoma (Kapoor et al., 2017).

Tetraciclinas (Tetraciclina)

La diana de acción de las tetraciclinas corresponde a la secuencia de 16S de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano para impedir la unión entre el tARN y sitio A del complejo ribosomal y, en consecuencia, bloquean la transpeptidación y la síntesis proteica (Brook et al., 2013). El mecanismo de resistencia que se ha reportado incluye bombas de eflujo, así como la protección del sitio de acción en el ribosoma por parte de la proteína TetQ (Wexler, 2007).

Lincosamidas (Clindamicina)

La clindamicina inhibe la formación de nuevas proteínas al unirse a la secuencia 23S de la subunidad 50S del ribosoma e impide la transpeptidación por parte de la peptidil-transferasa (Castle, 2007; Trevor et al., 2015). Los mecanismos de resistencia descritos para este fármaco incluyen la metilación de la secuencia 23S del rRNA, la modificación enzimática y la expulsión activa (Kapoor et al., 2017; Trevor et al., 2015).

Nitroimidazoles (Metronidazol)

Este compuesto es utilizado con frecuencia en el tratamiento de infecciones anaerobias y de forma preventiva en procedimientos quirúrgicos (Vishwanath et al.,

2019). Entra por difusión pasiva al entorno celular como un profármaco (estado inactivo) y, por medio de la acción de un donante de electrones (flavodoxina o ferredoxina), que obtiene sus electrones del compuesto piruvato-ferredoxina-reductasa (componentes del sistema de transporte de electrones), proporcionan sus electrones al metronidazol que se transforma en un radical libre nitro con la capacidad de dañar la molécula de ADN por oxidación induciendo la ruptura de las hebras simples y dobles; de esta manera, se inhibe la replicación del material genético y conduce a la muerte del microorganismo (Ghotaslou et al., 2018).

La resistencia se debe a la producción de una nitroimidazol reductasa que se encarga de la transformación de 4- o 5-nitroimidazol en 4- o 5-aminoimidazol evitando la acción del medicamento; de igual manera, se encuentra la reparación del ADN mediante recombinación homóloga por la expresión de una proteína RecA para revertir los daños provocados por metronidazol (Ghotaslou et al., 2018).

De acuerdo con Ghotaslou et al. (2018), metronidazol también es susceptible a las bombas de eflujo por su potencial para expulsar diversos fármacos, uno de los sistemas de bombas corresponde a aquellas de tipo RND (resistencia-nodulación-división). De acuerdo con las descripciones de Wexler (2012), una bomba de tipo RND denominada bmeRABC5 identificada en *B. fragilis* se asocia con el eflujo de múltiples fármacos incluidos metronidazol; además, la ausencia de transportadores de hierro FeoAB se asocia con un incremento de la CMI y una reducción de la transformación de metronidazol.

Bombas de eflujo

Las bombas de eflujo son proteínas transmembranales encargadas de expulsar antibióticos desde el interior de la célula para reducir la concentración interna previniendo el alcance del sitio diana, se ha descrito que varios fármacos son susceptibles de este sistema y por su capacidad de bombear múltiples fármacos contribuyen a la aparición de bacterias MR (Kapoor et al., 2017). Se han encontrado alrededor de 16 homólogos de bombas RND en *B. fragilis* denominadas como bmeABC1 hasta bmeABC16 (Wexler, 2007).

HMP-1 y Omp200 son dos proteínas de membrana con función porina y aunque las modificaciones en las proteínas porinas se correlaciona con resistencia a fármacos, todavía no se ha caracterizado el mecanismo en *B. fragilis* (Wexler, 2012)

Pruebas de susceptibilidad

Según Salonen et al. (1998), una terapia de bacteriemia, causada por *Bacteroides*, con un agente inactivo se asocia con una tasa de mortalidad de 55% y Brook et al. (2013) indica que el porcentaje de fracaso terapéutico es del 82% y la persistencia del microorganismo se presenta hasta en el 42% de los casos.

Las pruebas de susceptibilidad permiten conocer la respuesta de un microorganismo frente a un determinado antibiótico y, con base en ello, guiar la decisión de terapia antimicrobiana para el paciente (Schumacher et al., 2018; Van Belkum & Dunne, 2013). Según Brook et al. (2013) y Schuetz (2014), las situaciones en las que se deben realizar las pruebas de susceptibilidad son:

- Infecciones de gravedad y que puedan derivar en muerte
- Cuando no hubo una respuesta favorable con la terapia empírica

- Cuando se presenta una recaída tras la terapia empírica
- Cuando existe un agente clave en el tratamiento del paciente
- Cuando no existe antecedentes para guiar la terapia empírica
- Cuando los datos sobre susceptibilidad son escasos
- Cuando se informa de resistencia frecuente a diversos antibióticos
- Cuando la terapia se aplicará por un tiempo extendido al paciente

Además, Brook et al. (2013) también señala que estas pruebas se deben considerar para los microorganismos clínicamente importantes y cuya susceptibilidad es impredecible y variable o poseen un elevado potencial de virulencia como es el caso de *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Bilophila wadsworthia* y *Sutterella wadsworthensis*; asimismo en cuadros clínicos en donde se incluyan muestras de sangre, abscesos, inflamaciones del endocardio e infecciones de prótesis o huesos.

La ejecución de las pruebas para anaerobios como parte de diagnóstico no es práctico debido al prolongado tiempo requerido hasta la obtención de resultados y la poca rentabilidad; por otro lado, son un componente esencial de los estudios epidemiológicos y de seguimiento de resistencia que, por lo general, se aplican en encuestas nacionales y particulares para realizar un seguimiento, pero no se describen por localidades y, en limitadas situaciones, por instituciones (Brook et al., 2013).

El CLSI provee de guías en donde se establece el procedimiento recomendado del desarrollo de las pruebas de susceptibilidad, puntos de corte de estudio y evaluación de resultados (Schuetz, 2014). Los métodos sugeridos con el fin de evaluar la resistencia antimicrobiana en anaerobios de acuerdo con el CLSI (2018) son la dilución en agar y la microdilución en caldo (Brook et al., 2013; CLSI, 2018; Schuetz, 2014); de igual manera, enfatiza en su pedido de realizar al menos un análisis por año a fin de

conocer el estado actual de las tasas de resistencia de los patrones locales (Hecht, 2006).

Microdilución en caldo

Es una metodología recomendada por el CLSI para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de un microorganismo, pero está limitada para *Bacteroides* spp. y *Parabacteroides* spp. porque otros anaerobios presentan un bajo crecimiento y sus resultados no se correlacionan adecuadamente con la técnica estándar (Schumacher et al., 2018; Van Belkum & Dunne, 2013). Consiste en la dilución de un determinado fármaco en concentraciones seriadas que se colocan en un orden definido en la placa de poliestireno de 96 pocillos (Schuetz, 2014).

Las ventajas de este método incluyen la disminución de la cantidad de reactivos, tiempo de procesamiento y la complejidad de ejecución, la posibilidad de evaluar varios antimicrobianos simultáneamente, la posibilidad de personalizar los paneles conforme a los requerimientos de cada laboratorio o ensayo y la disponibilidad de paneles comerciales como Sensititre (Trek Diagnostics Systems, Thermo Fisher Scientific), recomendados solo con fines de investigación debido a que la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) no permite su uso en diagnósticos clínicos (Brook et al., 2013; Schuetz, 2014).

Antibióticos en las pruebas de susceptibilidad

El conjunto de medicamento dirigidos a las bacterias anaerobias en la guía M100 del CLSI sugeridos para evaluarse en las pruebas de susceptibilidad pertenecen a diferentes grupos farmacológicos tales como β -lactámicos (penicilinas, carbapenémicos, cefemas), combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -

lactamasas, lincosamidas, nitroimidazoles y fenicoles; y permiten la categorización de los aislados como Susceptibles (S), Intermedio (I) y Resistentes (R) mediante sus respectivos puntos de corte indicados en la Tabla 3 (CLSI, 2021; Schuetz, 2014).

Tabla 3

Puntos de corte de antianaerobios según la guía M100-S21 CLSI (2021)

Grupo farmacológico	Antibiótico	Punto de corte por categoría		
		S	I	R
Penicilinas	Ampicilina	≤ 0.5	1	≥ 2
	Penicilina	≤ 0.5	1	≥ 2
	Piperacilina*	≤ 32	64	≥ 128
β-lactámicos con inhibidores de β-lactamasa	Amoxicilina/ácido clavulánico	≤ 4/2	8/4	≥ 16/8
	Ampicilina/Sulbactam	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
	Piperacilina/Tazobactam	≤ 16/4	32/4–64/4	≥ 128/4
	Ticarcilina/Ácido clavulánico	≤ 32/2	64/2	≥ 128/2
	Imipenem/Relebactam	≤ 4/4	8/4	≥ 16/4
Cefemas	Cefotetan	≤ 16	32	≥ 64
	Cefoxitina	≤ 16	32	≥ 64
	Ceftizoxima	≤ 32	64	≥ 128
	Ceftriaxona	≤ 16	32	≥ 64
	Cefmetazol	≤ 16	32	≥ 64
	Cefoperazona	≤ 16	32	≥ 64
	Cefotaxima	≤ 16	32	≥ 64
Carbapenémicos	Doripenem	≤ 2	4	≥ 8
	Ertapenem	≤ 2	4	≥ 8
	Imipenem	≤ 2	4	≥ 8
	Meropenem	≤ 2	4	≥ 8
Tetraciclinas	Tetraciclina	≤ 4	8	≥ 16
Fluoroquinolonas	Moxifloxacino	≤ 2	4	≥ 8

Grupo farmacológico	Antibiótico	Punto de corte por categoría		
		S	I	R
Lincosamidas	Clindamicina	≤ 2	4	≥ 8
Fenicoles	Cloranfenicol	≤ 8	16	≥ 32
Nitroimidazoles	Metronidazol	≤ 8	16	≥ 32

Nota. La tabla describe los puntos de corte para cada antibiótico extraídos de la 31^a edición de la guía M100 del CLSI (2021) y los puntos de corte de PIP obtenidos de la 30^a edición de la guía M100 del CLSI, porque fueron retirados en la versión actual. Tomado de Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (p. 111 y 112), por CLSI, 2021, CLSI M100-ED31.

Hipótesis

Bacteroides spp. presenta resistencia a penicilinas, combinaciones de β-lactámicos con inhibidores de β-lactamasas, cefemas, carbapenémicos, tetraciclina, lincosamidas, fenicoles y nitroimidazoles.

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

Participantes

El proyecto de titulación fue desarrollado por el Sr. Juan Pablo Vaca González bajo la conducción y monitoreo de la Dra. Jeannete Zurita, médica microbióloga, en conjunto con el personal del área de Microbiología y Biología Molecular de Zurita & Zurita Laboratorios, igualmente el aporte de los resultados de antibiogramas de 40 cepas de *Bacteroides* realizados previamente para el incremento de la base de datos de este trabajo.

También se contó con la colaboración de la Lic. Alma Koch Ms. C. durante el desarrollo de este proyecto en calidad de directora asignada por la ESPE.

Zona de estudio

El proyecto se ejecutó en el Área de Investigación de Microbiología de Zurita & Zurita Laboratorios – Matriz, ubicado en Av. Prensa N49-221 y Manuel Valdiviezo, Sector Antiguo Aeropuerto, parroquia La Concepción, cantón Quito, Provincia de Pichincha (Coordenadas S0°8'51.1747"; W78°29'28328"), en donde, previamente a este proyecto, también se llevó a cabo la recolección y congelamiento de las muestras.

Período de investigación

Las cepas utilizadas fueron recolectadas y congeladas a partir de muestras clínicas procesadas en el área de Microbiología de Zurita & Zurita Laboratorios entre 2019 y 2020, eliminando la necesidad de hacer una etapa de recolección y de esta manera reducir el tiempo requerido para la elaboración de la parte experimental del trabajo de titulación.

La ejecución del proyecto se compuso de dos etapas. La primera etapa fue el desarrollo experimental que contempla el descongelamiento de las muestras, preparación del inóculo y la siembra en las placas Sensititre™. La segunda etapa incluyó la parte analítica y de revisión bibliográfica en donde se realizó la recolección de datos, procesamiento de resultados y la discusión de los mismos.

Recolección e identificación de cepas previo al estudio

Se incluyeron muestras que provenían de diferentes fuentes de aislamiento en pacientes con infecciones cuyos cultivos describieron la presencia de microorganismos anaerobios o provenían de sitios con una alta probabilidad de poseer anaerobios. Se utilizó la técnica de agotamiento para el aislamiento de colonias, un control aerobio y la identificación se realizó mediante el Índice de Perfil Analítico (API) 20C ANA y secuenciación del gen 16S rRNA.

Conservación de muestras

Se prepararon viales de 1.5 mL que fueron identificados con el código de manejo interno de las muestras del área de Microbiología, y se dispensó 500 µL de caldo tríptico de soya (TSB) en ellos, el cual fue preparado acorde a las especificaciones de la casa comercial.

Luego, con la ayuda de un asa de siembra, se tomaron la mayor parte de colonias aisladas previamente en agar Wilkins & Chalgren, se colocaron en el vial con TSB con un movimiento vigoroso del asa, seguidamente se agitó en un vortex por tres segundos a fin de permitir su homogeneización. Posteriormente se adicionó 500 µL de glicerol, se agitó nuevamente en un vortex por tres segundos y se almacenaron en refrigeración a - 80 °C en un congelador. De esta manera, se llegó a disponer de un total de 46 cepas clasificadas por los sitios anatómicos descritos por Wexler (2007) con

las respectivas especies de *Bacteroides* identificadas (Tabla 4). Los diferentes tipos de muestras que se procesaron fueron: hemocultivos, quistes, secreciones, abscesos, piel, tejidos blandos y fluidos (Figura 2).

Tabla 4

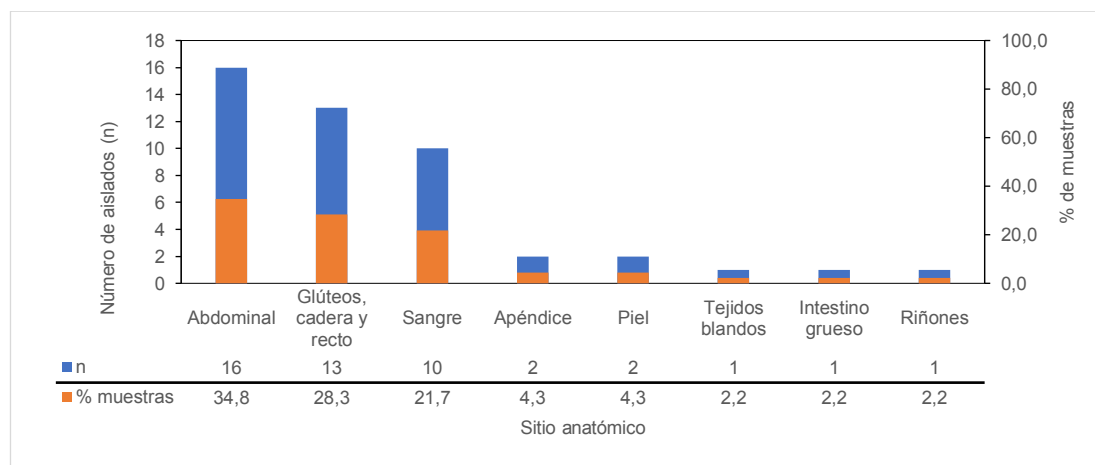
Distribución de los aislados por sitio anatómico y frecuencia de las especies encontradas

Sitio anatómico	n	% muestras	Porcentaje de especies aisladas por muestra												
			<i>B. caccae</i>		<i>B. fragilis</i>		<i>B. ovatus</i>		<i>B. vulgatus</i>		<i>P. distasonis</i>		<i>B. stercoris</i>		
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Abdominal	16	34,8	2	12,5	10	62,5	2	12,5				1	6,3	1	6,3
Glúteos, cadera y recto	13	28,3			8	61,5	2	15,4	2	15,4	1	7,7			
Sangre	10	21,7			9	90,0	1	10,0							
Apéndice	2	4,3			2	100									
Piel	2	4,3			1	50,0					1	50,0			
Tejidos blandos	1	2,2			1	100									
Intestino grueso	1	2,2									1	100			
Riñones	1	2,2			1	100									
Total por especie (n, %)			2	4,3	32	69,6	5	10,9	2	4,3	4	8,7	1	2,2	

Nota. Clasificación de los aislamientos con respecto al sitio anatómico en las categorías descritas por Wexler (2007). El porcentaje de cada especie dentro del cuerpo de la tabla representa la frecuencia relativa con respecto al número de muestras de un sitio anatómico. El porcentaje de la fila de totales indica la frecuencia relativa en relación al total de aislamientos.

Figura 2

Número y frecuencia relativa de los aislamientos por cada sitio anatómico



Nota. La figura describe la distribución de los aislados procesados en esta investigación y su frecuencia relativa al total de los mismos.

Desarrollo experimental

Descongelamiento de cepas

El descongelamiento y reactivación de las cepas se realizó por cultivo en agar Wilkins & Chalgren y un control aerobio en Agar Chocolate. Utilizando un asa de 10 μ L, se tomó una alícuota del vial de almacenamiento de cada cepa, se colocó un inóculo en cada caja Petri y se sembró por el método de agotamiento para promover la separación en colonias puras. Luego, la caja Petri de Wilkins & Chalgren fue colocada en un kit de anaerobiosis BD BBL™ GasPak™ y la caja de agar chocolate se cultivó en condiciones aerobias. Todas las cajas se llevaron a la incubadora por 48 h a 37 °C y el vial de la cepa fue devuelto al congelador.

Preparación del inóculo

Se dispensó 5 mL de medio lítico para anaerobios BD BACTEC™ en un tubo de 8 mL para medir la absorbancia inicial del medio con un nefelómetro, posteriormente

con la ayuda de un hisopo se tomó de 3 a 5 colonias aisladas de la caja Petri y se colocaron en el medio BD BACTEC™ hasta lograr un estándar en la escala de McFarland de 0.5 considerando la absorbancia entregada por el medio inicialmente.

Con una micropipeta se tomaron 20 μ L del inóculo previamente preparado y se transfirieron a un tubo con 11 mL de caldo Mueller Hinton Sensititre™ con tampón TES (Tris-EDTA-SDS), se agitó cinco veces por inversión y se vertió en una caja Petri.

Montaje de antibiogramas

La CMI de las cepas de *Bacteroides* se obtuvieron utilizando la técnica de microdilución en caldo recomendada por el manual de CLSI (2018). El proceso se llevó a cabo con las especificaciones de ThermoFisher Scientific (2021) para el panel comercial Sensititre (Trek Diagnostics Systems, Thermo Fisher Scientific). El panel incluye diferentes medicamentos de distintas categorías como: penicilinas (Ampicilina - AMP, Penicilina - PEN, Piperacilina - PIP), agentes β -lactámicos combinados con inhibidores de β -lactamasa (Ampicilina/Sulbactam - A/S2, Amoxicilina/Ácido clavulánico - AUG2, Piperacilina/Tazobactam - P/T4), cefemas (Cefotetan - TANS, Cefoxitina - FOX), Carbapenémicos (Imipenem - IMI, Meropenem - MERO), Lincosamidas (Clindamicina - CLI), Tetraciclinas (Tetraciclina - TET), Fenicoles (Cloranfenicol - CHL) y Nitroimidazoles (Metronidazol - MRD).

Inoculación del panel de microdilución

Con la ayuda de una micropipeta multicanal se procedió a tomar 100 μ L y se inocularon en los 96 pocillos de la placa Sensititre™ (Figura 3). Por último, se colocó el sello adhesivo en la placa y se introdujo en un kit de anaerobiosis BD BBL GasPak para ser incubado a 37 °C por 48 h.

Figura 3

Placa Sensititre™ para pruebas de susceptibilidad desarrollada por ThermoFisher Scientific (2021)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	A/S 0.5/0.25	A/S 1/0.5	A/S 2/1	A/S 4/2	A/S 8/4	A/S 16/8	AUG 0.5/0.25	AUG 1/0.5	AUG 2/1	AUG 4/2	AUG 8/4	AUG 16/8	Antimicrobianos
B	TANS 4	TANS 8	TANS 16	TANS 32	TANS 64	PEN 0.06	PEN 0.12	PEN 0.25	PEN 0.5	PEN 1	PEN 2	PEN 4	A/S2 Ampicilina/Sulbactam proporción 2:1
C	IMI 0.12	IMI 0.25	IMI 0.5	IMI 1	IMI 2	IMI 4	IMI 8	MERO 0.5	MERO 1	MERO 2	MERO 4	MERO 8	AUG2 Amoxicilina/Ácido clavulánico proporción 2:1
D	CLI 0.25	CLI 0.5	CLI 1	CLI 2	CLI 4	CLI 8	FOX 1	FOX 2	FOX 4	FOX 8	FOX 16	FOX 32	TANS Cefotetan Na
E	MRD 0.5	MRD 1	MRD 2	MRD 4	MRD 8	MRD 16	CHL 2	CHL 4	CHL 8	CHL 16	CHL 32	CHL 64	PEN Penicilina
F	AMP 0.5	AMP 1	AMP 2	AMP 4	AMP 8	AMP 16	PIP 4	PIP 8	PIP 16	PIP 32	PIP 64	PIP 128	IMI Imipenem
G	TET 0.25	TET 0.5	TET 1	TET 2	TET 4	TET 8	MEZ 4	MEZ 8	MEZ 16	MEZ 32	MEZ 64	MEZ 128	MERO Meropenem
H	P/T 0.25/4	P/T 0.5/4	P/T 1/4	P/T 2/4	P/T 4/4	P/T 8/4	P/T 16/4	P/T 32/4	P/T 64/4	P/T 128/4	POS	POS	CLI Clindamicina
													FOX Cefoxitina
													MRD Metronidazole
													CHL Cloramfenicol
													AMP Ampicilina
													PIP Piperacilina
													TET Tetraciclina
													MEZ Mezlocilina
													P/T4 Piperacilina/Tazobactam
													POS Positive control

Nota. Distribución de antibióticos en el panel de microdilución. Tomado de *Sensititre™ Anaerobe MIC Plate ANO2B* (p. 1), por ThermoFisher Scientific, 2021.

Desarrollo analítico

Lectura de placa Sensititre ANO2B

Según Hedberg et al. (2003) y Vishwanath et al. (2019), la CMI se define como la concentración más baja de cada antibiótico en donde se visualiza una disminución en el crecimiento de la bacteria en la placa con respecto a los pocillos de control.

Transcurridas las 48 h, se realizó la inspección por pares de la placa en un visualizador manual Sensititre™ para registrar el crecimiento en cada pocillo empezando por los controles (11H y 12H) continuando con el resto de filas correspondiente a los antibióticos evaluados para establecer las CMI de las cepas evaluadas (Figura 4).

Figura 4

Antibiograma de un ejemplar de Bacteroides



Nota. La figura muestra un antibiograma de *Bacteroides* spp. en la placa Sensititre™ tras 48 h de incubación.

Categorización de los niveles de susceptibilidad

La descripción del nivel de susceptibilidad de las especies de *Bacteroides* se realizaron con base en las CMI encontradas en los paneles y de acuerdo a los puntos de corte de la 31ª edición de la guía M100-S21 del CLSI (2021) detallados en la Tabla 3 para cada uno de los fármacos definidos en anaerobios.

Según Hombach et al. (2013) y el CLSI (2018), los microorganismos pertenecientes a la categoría intermedia son aún susceptibles a los antibióticos pero no a las dosis estándar del mismo porque requieren una acumulación del fármaco en el sitio de la infección para obtener una respuesta favorable. En consecuencia, este proyecto solo se trabajó con los porcentajes de resistencia que se encontró en cada cepa sin incluir la categoría intermedia.

Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se utilizó estadística descriptiva con el fin de evaluar los niveles de susceptibilidad a través de porcentajes y diagramas de los niveles de susceptibilidad categorizados de cada cepa con respecto a los antibióticos del ensayo y permitir el contraste con los reportes de otros países y continentes.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Reactivación de cepas

Las cepas inoculadas en el medio Wilkins & Chalgren y agar chocolate se presentaron como colonias redondeadas de color grisáceo blanquecino (Figura 5). Se descartaron los cultivos de crecimiento rápido (≤ 24 h) porque *Bacteroides* tarda al menos 48 h en crecer y también aquellas cepas que crecieron en el control aerobio (CLSI, 2018; ThermoFisher Scientific, 2021; Wexler, 2007).

Figura 5

Ejemplar de cepa de Bacteroides reactivada en agar Wilkins & Chalgren



Nota. El recuadro rojo señala las colonias aisladas de *Bacteroides* tras el descongelamiento utilizadas para la preparación del inóculo.

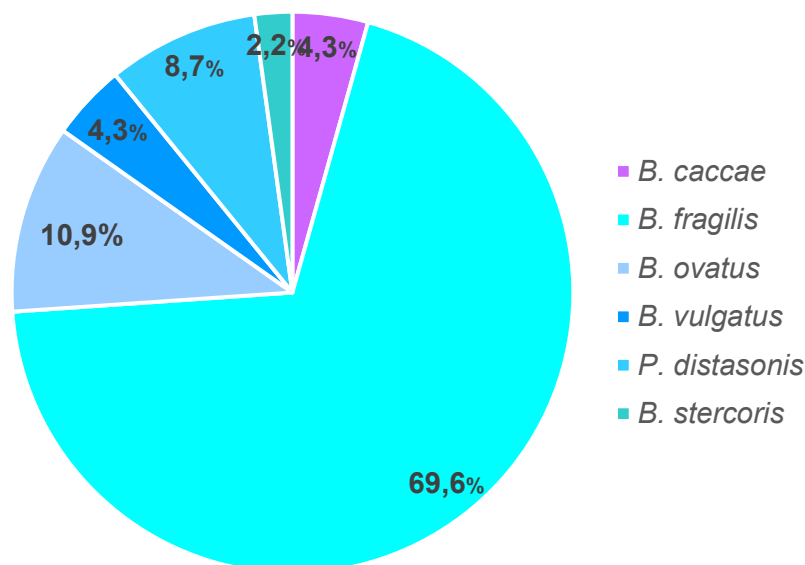
Aislamiento de muestras

Los aislamientos con una mayor frecuencia fueron de tres sitios anatómicos: abdominal (n=16, 34.8%); zona pélvica, que incluyó glúteos, cadera o recto, (n=13, 28.3%) y sangre o hemocultivo (n=10, 21.7%). De los 46 ejemplares obtenidos, la

especie sobresaliente en la mayoría de ellos fue *B. fragilis* (n=32, 69.6%), seguido de *B. ovatus* (n=5, 10.9%) y *P. distasonis* (n=4, 8.7%) definidos en la Tabla 4 y la Figura 6.

Figura 6

Frecuencia de aislamiento de las especies de Bacteroides



Resistencia de *Bacteroides* spp.

En el grupo de las penicilinas, las mayores tasas de resistencia se presentaron en AMP (n=44, 95.7%) y TET (n=44, 95.7%). En el caso de la combinación con inhibidores de β -lactamasas, el mayor porcentaje de resistencia se obtuvo en AUG2 (n=18, 39.1%); para las cefemas y carbapenémicos, la tasa de mayor resistencia se encontró en TANS y MERO con 19.6% (n=9) en los dos. Particularmente, TET, CLI, CHL y MRD, fueron los únicos antibióticos representativos de sus categorías con porcentajes de 82.6% (n=38), 60.9% (n=28), 8.7% (n=4) y 23.9% (n=11), respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5

Porcentajes de resistencia de los 46 aislados de Bacteroides spp.

Grupo farmacológico	Antibiótico	Categorías de las cepas evaluadas					
		S		I		R	
		n	%	n	%	n	%
Penicilinas	AMP	2	4,3			44	95,7
	PEN	2	4,3			44	95,7
	PIP	19	41,3			27	58,7
Agentes β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas	A/S2	26	56,5	7	15,2	13	28,3
	AUG2	26	56,5	2	4,3	18	39,1
	P/T4	35	76,1	4	8,7	7	15,2
Cefemas	TANS	32	69,6	5	10,9	9	19,6
	FOX	33	71,7	5	10,9	8	17,4
Carbapenémicos	IMI	40	87,0			6	13,0
	MERO	36	78,3	1	2,2	9	19,6
Tetraciclinas	TET	7	15,2	1	2,2	38	82,6
Lincosamidas	CLI	17	37,0	1	2,2	28	60,9
Fenicoles	CHL	42	91,3			4	8,7
Nitroimidazoles	MRD	33	71,7	2	4,3	11	23,9

Magiorakos et al. (2012) describe como MR aquellas con resistencia al menos a un antibiótico de al menos tres categorías o grupos farmacológicos de antimicrobianos.

En este estudio se encontró que el 89.1% (n=41) de las cepas evaluadas presentaron multirresistencia, de las cuales el 80.4% (n=37) presentaron resistencia entre tres y cinco categorías de antibióticos, por otro lado, el 19.6%(n=9) presentaron resistencia entre 6 y 7 categorías que se detalla en la Tabla 6 (Figura 7).

Tabla 6

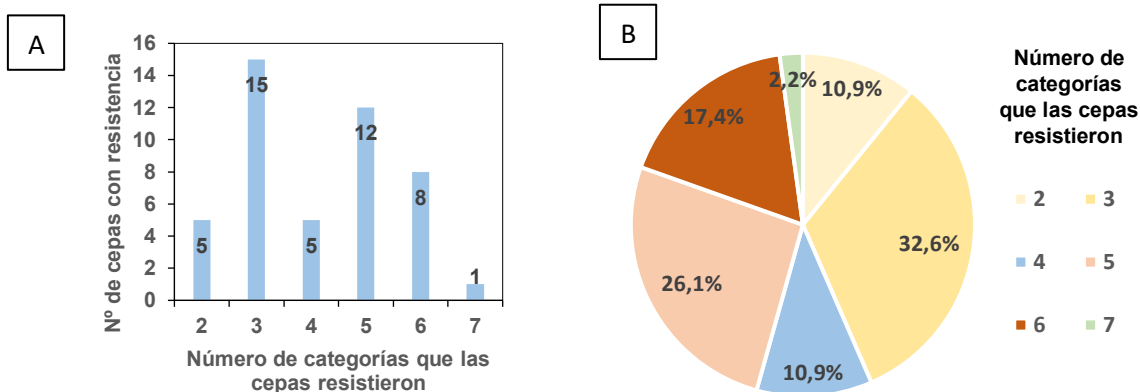
Distribución de las especies MR

Nº de categorías a las que presentaron resistencia	Cepas resistentes	
	n	%
2	5	10,9
3	15	32,6
4	5	10,9
5	12	26,1
6	8	17,4
7	1	2,2

Nota. Se presenta el número de aislados que mostraron resistencia a más de un grupo farmacológico en sus respectivas categorías.

Figura 7

Distribución de las especies MR



Nota. Se detalla la distribución de los aislamientos conforme al número de categorías de antimicrobianos que resistieron las cepas (A) y el porcentaje de cepas MR en cada categoría con respecto a las 46 cepas (B).

Particularmente, tres aislados de *B. fragilis* tuvieron resistencia a varios antibióticos. Las tres cepas fueron susceptibles de CHL y MRD. Dos cepas (aisladas de un absceso y del tejido de muslo derecho) resistieron a 11 fármacos; en particular, la primera describió adicionalmente sensibilidad a CLI y la segunda, a AUG2. La tercera cepa describió resistencia a 12 antibióticos.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

B. fragilis es la especie con mayor predominancia en los aislamientos clínicos (Sociedad Japonesa de Quimioterapia & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas, 2011; Wexler, 2007). En este estudio, *B. fragilis* representó el 69.6% del total de muestras, seguido de *B. ovatus* (10.9%) y *P. distasonis* (8.70%). *Bacteroides* posee un potencial patogénico y la capacidad para producir infecciones y enfermedades graves; a pesar de ello, las pruebas de susceptibilidad no se hacen rutinariamente y su terapia se basa en tratamientos empíricos con antibióticos de amplio espectro (Nagy et al., 2011).

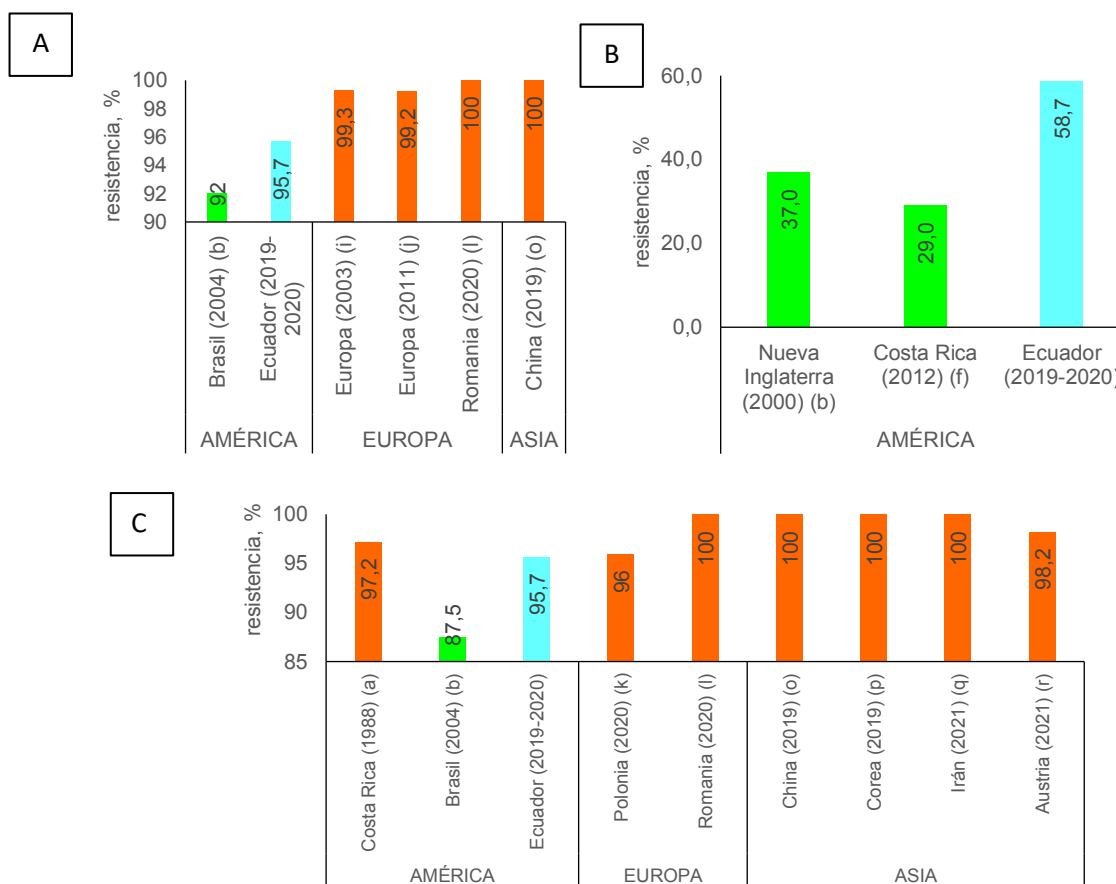
Una encuesta en Estados Unidos realizada desde 1981 hasta 2007 por Snyderman et al. (2010) encontró que los porcentajes de resistencia para los antibióticos podían incrementarse como sucedió con CLI (5% a 35%) o FOX (4% a 9%) o podían mantenerse como en el caso de IMI (<1%), P/T4 (<1%) o CHL (0%). De igual manera, un monitoreo de Nagy et al. (2011) de 10 años realizado en Europa describe incrementos de las frecuencias de aislados resistentes para FOX (12,8% a 27,1%), CLI (33,5% a 47,9%), moxifloxacino (6% a 25%) y AUG (5% a 17,9%). Los porcentajes de resistencia de este proyecto contrastados con otros estudios presentados en la discusión, se especifican en la Tabla 7 con sus respectivas referencias.

AMP, PEN y PIP fueron los tres compuestos de tipo penicilina evaluados con las 46 cepas de *Bacteroides*. En el caso de AMP, el porcentaje de resistencia obtenido (n=44, 95.7%) denota un incremento al 92% reportado en Brasil (Nakano & Avila-Campos, 2004); sin embargo, varias publicaciones describen tasas mayores que se ubican entre 99.2% y 100% en revisiones europeas, Rumania y China (Gao et al., 2019; Hedberg et al., 2003; Nagy et al., 2011; Pricop et al., 2020) representado en la Figura 8A.

Con respecto a PIP, las evaluaciones de Cordero-Laurent et al. (2012) y Nguyen et al. (2000) registraron resistencias de 29% y 37%, respectivamente; las cuales son inferiores en contraste con el 58.7% (n=27) encontrado con las pruebas de susceptibilidad (Figura 8B). Por otro lado, como se puede observar en la Figura 8C, los porcentajes de PEN en países europeos, asiáticos y Costa Rica oscilan desde 96% al 100% (Bolaños et al., 1988; Byun et al., 2019; Gao et al., 2019; Jasemi et al., 2021; Kierzkowska et al., 2020; König et al., 2021; Pricop et al., 2020) asemejándose al resultado de esta investigación (n=44, 95.7%) y situándose sobre Brasil que describió un porcentaje menor de 87.5% (Nakano & Avila-Campos, 2004).

Figura 8

Comparación de porcentajes de resistencia de las penicilinas



Nota. En la figura se contrastan las tasas reportadas por otros países o continentes con respecto a los porcentajes obtenidos para AMP (A), PIP (B) y PEN (C). En varios estudios, se han encontrado frecuencias de resistencia mayores (rojo) o menores (verde) en comparación con el porcentaje obtenido en este proyecto (cian). La referencia de los estudios se especifica con una letra del alfabeto entre paréntesis de acuerdo con la Tabla 7.

La combinación de agentes β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas ha resultado ser una opción adecuada para mantener niveles de resistencia con máximo de 10%, a pesar de ello, en ciertas localidades se encuentran porcentajes mayores como se evidencia en la Figura 9. En el caso de A/S2, se han determinado frecuencias con un máximo de 9.1% (Fernández-Canigia et al., 2012; García-Rodríguez et al., 2003; Jasemi et al., 2021; Pricop et al., 2020), con la excepción de los resultados de Takesue et al. (2018) en Japón (24.6%) que se aproxima al 28.3% (n=13) de los aislados de este proyecto (Figura 9A).

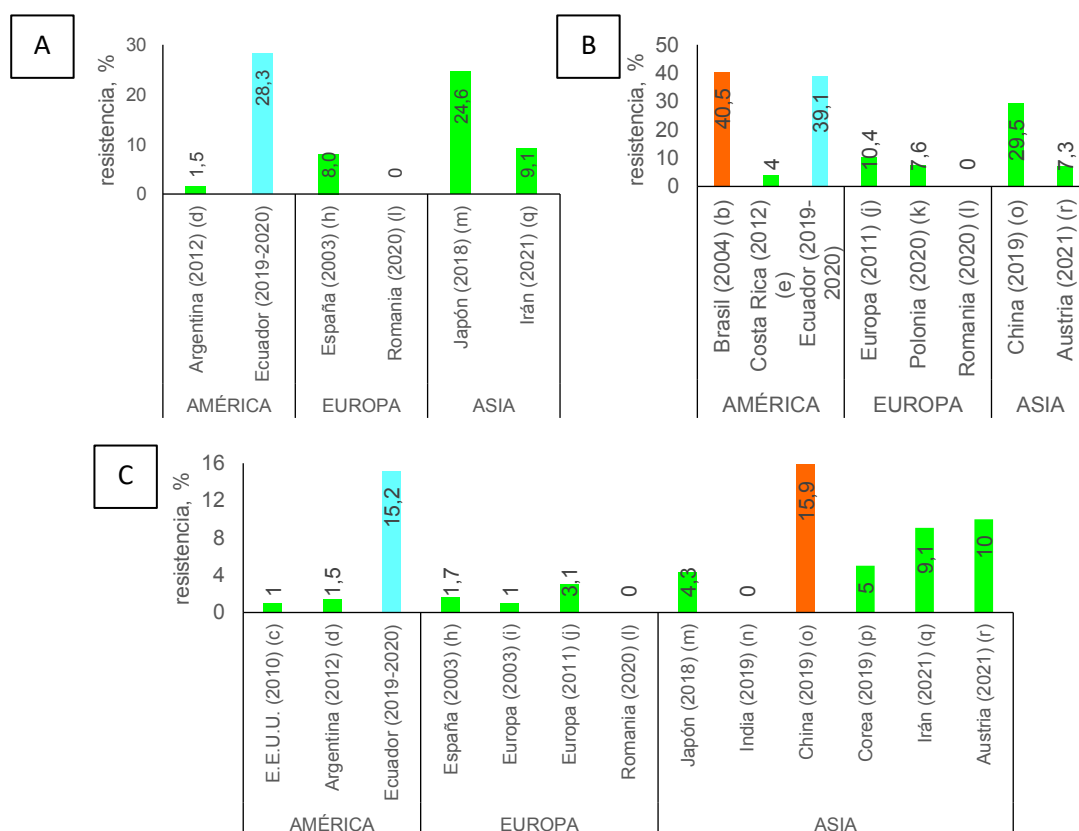
Cordero-Laurent et al. (2012), Kierzkowska et al. (2020), König et al. (2021) y Nagy et al. (2011) describen un nivel de resistencia para AUG en el rango entre 4% y 10.4%. No obstante, los ensayos revelaron un incremento sobre este rango detallando que el 39.1% (n=18) de las cepas de *Bacteroides* resistieron a AUG, tal como se ha descrito anteriormente con la investigación realizada por Gao et al. (2019) en China en donde informó una tasa de 29.5% y; del mismo modo, Nakano & Avila-Campos (2004) en Brasil (40.5%) que se refleja en la Figura 9B.

En Asia, Europa y América se indican proporciones de P/T4 variables entre 0% y 10% (Byun et al., 2019; Jasemi et al., 2021; König et al., 2021; Takesue et al., 2018; Vishwanath et al., 2019). Con un punto de corte $\geq 32/16$ mg/L, el 15.2% (n=7) de los

aislados presentaron resistencia; un hallazgo similar se informó recientemente por Gao et al. (2019) en China con un 15.9% (Figura 9C).

Figura 9

Comparación de porcentajes de resistencia de los agentes β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas



Nota. La figura describe los porcentajes indicados por diferentes países o continentes para A/S2 (A), AUG (B) y P/T4 (C). En rojo se marcan los niveles mayores y en verde los menores con respecto a la tasa encontrada en este proyecto que se señala en cian. La referencia de los estudios se especifica con una letra del alfabeto entre paréntesis de acuerdo con la Tabla 7.

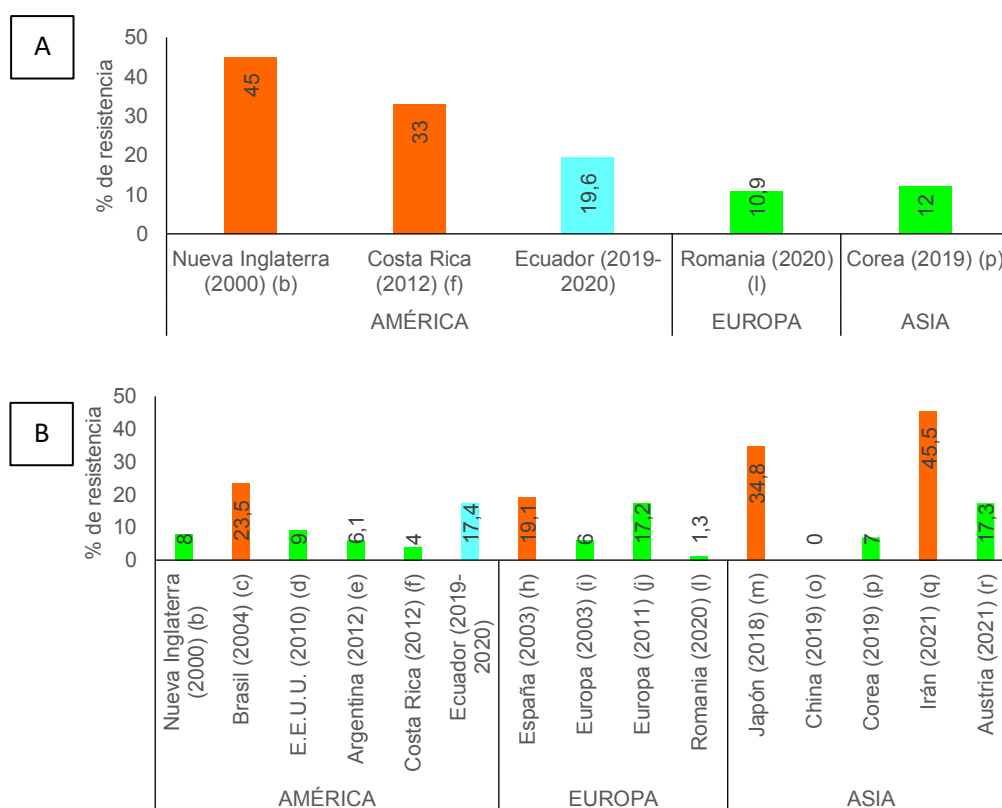
Para la cefemas TANS y FOX, de acuerdo con varios autores, la resistencia alcanza hasta un 45.5% (Jasemi et al., 2021; Nguyen et al., 2000). En particular, las

cepas del presente ensayo mostraron un 19.6% (n=6) de resistencia para TANS indicando niveles por debajo de la situación de Costa Rica con un 45% y Nueva Inglaterra con un 33% (Cordero-Laurent et al., 2012; Nguyen et al., 2000) como se muestra en la Figura 10A.

El nivel más alto de resistencia a FOX (45.5%) fue determinado por Jasemi et al., (2021) a partir de un experimento con 78 aislados, siendo mayor al porcentaje de este proyecto (17.4%) que presenta una tendencia paralela a los informes del monitoreo europeo multicéntrico y una publicación en Austria con un 17.2% y 17.3%, respectivamente (König et al., 2021; Nagy et al., 2011) como se observa en la Figura 10B.

Figura 10

Comparación de porcentajes de resistencia en las cefemas



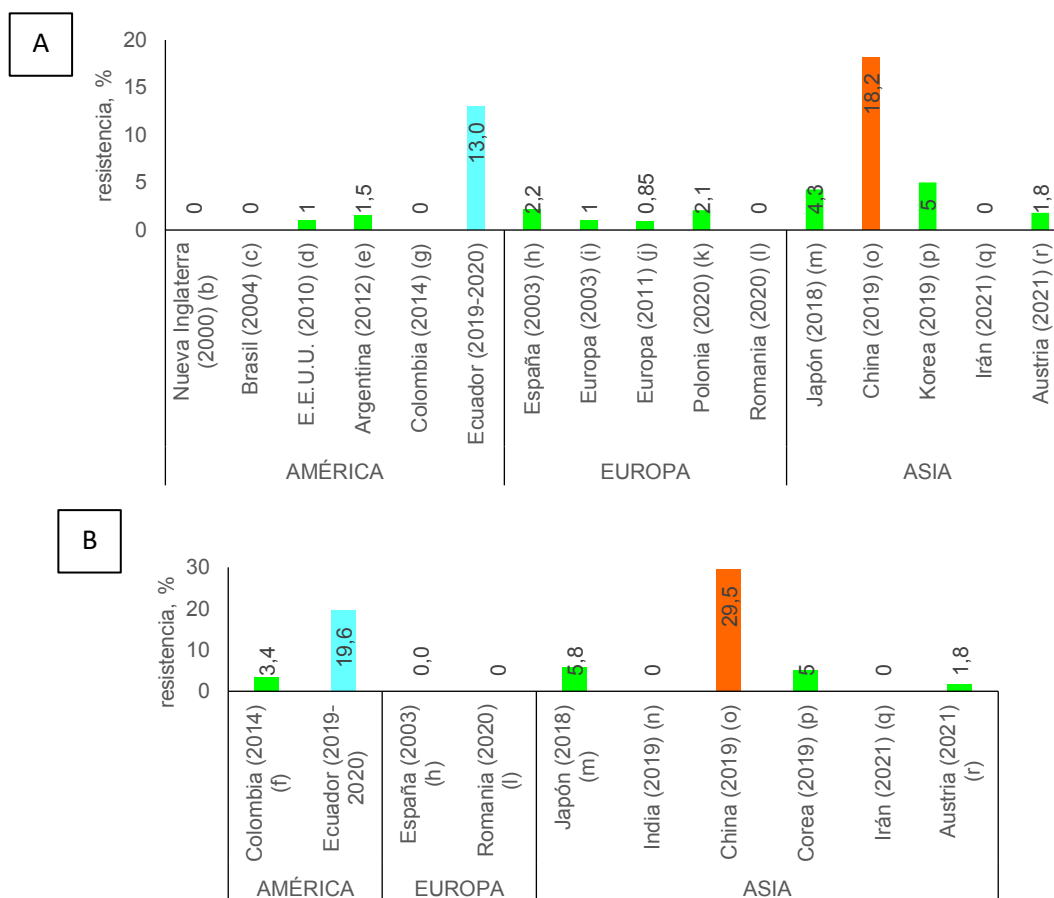
Nota. La figura muestra los porcentajes de resistencia presentados por diferentes investigaciones alrededor del mundo para TANS (A) y FOX (B). El color verde señala las tasas mayores y el rojo, las menores, en relación al resultado de las pruebas de susceptibilidad. La referencia de los estudios se especifica con una letra del alfabeto entre paréntesis de acuerdo con la Tabla 7.

Los carbapenémicos son una opción terapéutica adecuada en el tratamiento de infecciones debido a que su resistencia es <1% (Snydman et al., 2010). Las pruebas de susceptibilidad indicaron que el 13% (n=6) de los aislados de *Bacteroides* presentaron resistencia a IMI ubicándose por encima de varios países de Europa, Asia y América en donde la tasa oscila entre 0% y 5% (Byun et al., 2019; Fernández-Canigia et al., 2012; García-Rodríguez et al., 2003; Hedberg et al., 2003; Jasemi et al., 2021; Kierzkowska et al., 2020; König et al., 2021; Nakano & Avila-Campos, 2004; Nguyen et al., 2000; Pricop et al., 2020; Snydman et al., 2010; Sóki et al., 2004; Takesue et al., 2018); con excepción del reporte de China que encontró un nivel de 18.2% (Gao et al., 2019) como se indica en la Figura 11A.

Por otro lado, el 19.6% (n=9) de los aislados resistieron a MERO y, a pesar de que varias publicaciones anteriores informaron una nula resistencia en Europa (García-Rodríguez et al., 2003; Jasemi et al., 2021; Pricop et al., 2020; Vishwanath et al., 2019) o porcentajes inferiores que varían entre 0% y 5.8% en Asia (Byun et al., 2019; König et al., 2021; Takesue et al., 2018) y en Colombia (3.4%) para *Bacteroides* según Salazar et al. (2014); también se ha descrito una tasa mayor 29.5% (Gao et al., 2019) en concordancia con los resultados del presente estudio, descrito en la Figura 11B.

Figura 11

Comparación de porcentajes de resistencia en carbapenémicos



Nota. La ilustración contrasta las tasas reportadas en varios artículos para IMI (A) y MERO (B), que fueron mayores (rojo) o menores (verde) con respecto al porcentaje obtenido en este proyecto (cian). La referencia de los estudios se especifica con una letra del alfabeto entre paréntesis de acuerdo con la Tabla 7.

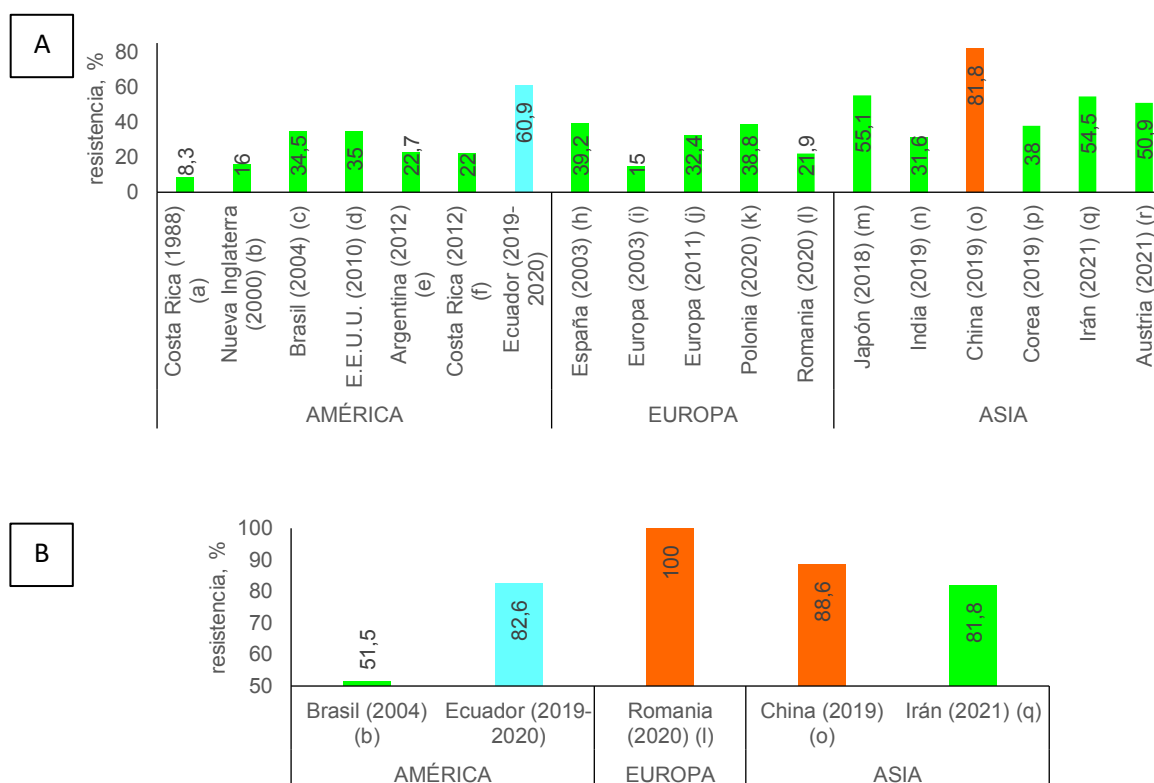
CLI, del grupo de las lincosamidas, presenta porcentajes de resistencia variables en distintos sitios alrededor del mundo. En Europa, los registros señalan razones que van desde el 15% hasta el 39.2% (García-Rodríguez et al., 2003; Hedberg et al., 2003); en Asia, oscilan entre 31.6% y 81.8% (Gao et al., 2019; Vishwanath et al., 2019) y; en América, entre 8.3% a 35% (Bolaños et al., 1988; Snyderman et al., 2010), de tal manera,

que la frecuencia de los aislados resistentes del ensayo (n=28, 60.9%) se ajustan al rango suscrito en Asia (Figura 12A).

En 2004 en Brasil, Nakano & Avila-Campos obtuvieron un 51.5% de cepas con resistencia a TET. Recientemente, Pricop et al. (2020) señaló un porcentaje de 100% y Jasemi et al. (2021) apuntó 81.8%, el cual se aproxima al nivel descrito en este proyecto (n=38, 82.6%) como se puede ver en la Figura 12B.

Figura 12

Comparación de porcentajes de resistencia para CLI (lincosamidas) y TET (tetraciclinas)



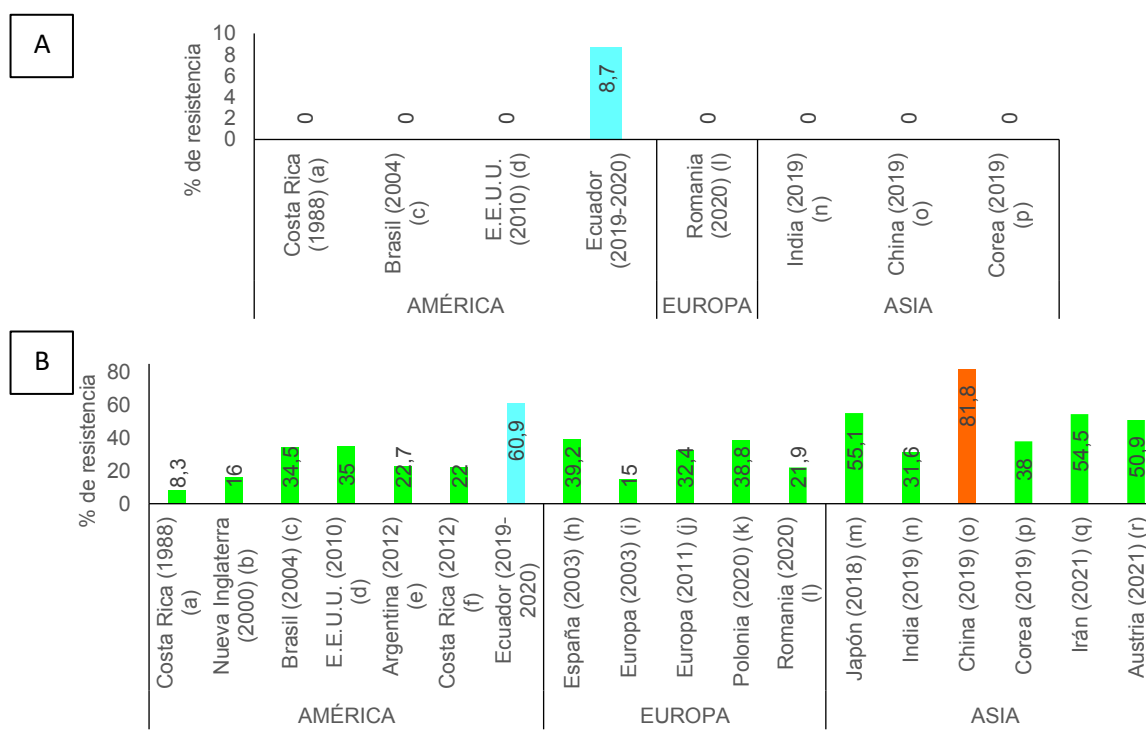
Nota. La figura ilustra las tasas reportadas para CLI (A) y TET (B) en otros países o continentes. Se encontraron porcentajes mayores (rojo) o menores (verde) con respecto a los resultados obtenidos en este proyecto (cian). La referencia de los estudios se especifica con una letra del alfabeto entre paréntesis de acuerdo con la Tabla 7.

Múltiples investigaciones realizadas hasta el momento informan una resistencia de 0% en CHL (Bolaños et al., 1988; Byun et al., 2019; Gao et al., 2019; Nakano & Avila-Campos, 2004; Pricop et al., 2020; Snyderman et al., 2010; Vishwanath et al., 2019); sin embargo, en estas pruebas se encontró una tasa de 8.7% (n=4) a este agente (Figura 13A).

MRD es el antibiótico que se ha utilizado con mucha frecuencia en el tratamiento de anaerobios por aproximadamente 56 años (Löfmark et al., 2010); sin embargo, varios artículos señalan la resistencia emergente a este antibiótico (Cordero-Laurent et al., 2012; García-Rodríguez et al., 2003; Hedberg et al., 2003; König et al., 2021). El nivel mayor de resistencia fue descrito recientemente en India por Vishwanath et al. (2019) con un 7%; en este ensayo, alcanzó el 23.9% (n=11) de las cepas (Figura 13B).

Figura 13

Comparación de porcentajes de resistencia para CHL (fenicoles) y MRD (metronidazol)



Nota. La figura representa los porcentajes informados CHL (A) y MRD (B) en otros países o continentes. Los porcentajes mayores (rojo) o menores (verde) son referidos con respecto a los resultados obtenidos en este proyecto (cian). La referencia de los estudios se especifica con una letra del alfabeto entre paréntesis de acuerdo con la Tabla 7.

Tabla 7

Contraste de las tasas de resistencia descritas para cada antibiótico en varios estudios de América, Europa y Asia

Continente	País	Año	% resistencia para cada antibiótico													Referencias			
			Penicilinas			Agentes combinados			Cefemas		Carbapenémicos		Lincosamidas	Tetraciclinas	Fenicoles		Nitroimidazoles		
			AMP	PEN	PIP	A/S2	AUG2	P/T4	TANS	FOX	IMI	MERO	CLI	TET	CHL		MRD		
AMERICA	Costa Rica	1988	97,2										8,3		0	0	(Bolaños et al., 1988) a		
	Nueva Inglaterra	2000	37						45	8	0			16		0	(Nguyen et al., 2000) b		
	Brasil	2004	92	87,5		40,5			23,5		0	34,5		51,5	0		(Nakano & Avila-Campos, 2004) c		
	E.E.U.U.	2010							<1		9	<1	35		0	0	(Snydman et al., 2010) d		
	Argentina	2012				1,5			1,5		6,1		1,5	22,7			0	(Fernández-Canigia et al., 2012) e	
	Costa Rica	2012	29			4			33		4			22			3	(Cordero-Laurent et al., 2012) f	
	Colombia	2014									0	3,4						(Salazar et al., 2014) g	
Ecuador	2019-2020	95,7	95,7	58,7	28,3	39,1	15,2	19,6	17,4	13,0	19,6	60,9	82,6	8,7	23,9	Este estudio			
EUROPA	España	2003				8,0			1,7		19,1		2,2	0,0		39,2		5,8	(García-Rodríguez et al., 2003) h
	Europa (*)	2003	99,3						<1		6		<1	15			<1	(Hedberg et al., 2003) i	
	Europa (*)	2011	99,2			10,4			3,1		17,2		0,85	32,4			0,25	(Nagy et al., 2011) j	
	Polonia	2020	96			7,6					2,1		38,8			0	(Kierzkowska et al., 2020) k		
Romania	2020	100	100	0	0	0	0	10,9	1,3	0	0	21,9	100	0	0	(Pricop et al., 2020) l			

Continente	País	Año	% resistencia para cada antibiótico												Referencias		
			Penicilinas			Agentes combinados			Cefemas		Carbapenémicos		Lincosamidas	Tetraciclinas		Fenicoles	Nitroimidazoles
			AMP	PEN	PIP	A/S2	AUG2	P/T4	TANS	FOX	IMI	MERO	CLI	TET		CHL	MRD
	Japón	2018				24,6		4,3		34,8	4,3	5,8	55,1			0	(Takesue et al., 2018) m
ASIA	India	2019						0				0	31,6		0	7	(Vishwanath et al., 2019) n
	China	2019	100	100		29,5	15,9		0	18,2	29,5	81,8	88,6	0	0	0	(Gao et al., 2019) o
	Corea	2019		100				5	12	7	5	5	38		0	0	(Byun et al., 2019) p
	Irán	2021		100		9,1		9,1		45,5	0	0	54,5	81,8		0	(Jasemi et al., 2021) q
	Austria	2021		98,2			7,3	10		17,3	1,8	1,8	50,9			2,7	(König et al., 2021) r

Nota. Los estudios multicéntricos realizados en Europa involucraron diferentes países en cada uno de ellos. La investigación realizada en 2003 recolectó muestras de Dinamarca, Finlandia, Islandia, Suecia, Grecia, Francia, Italia, España, Bulgaria, Croacia, República Checa, Hungría, Polonia, Eslovenia, Austria, Alemania, Gran Bretaña, Países Bajos y Suiza (*); mientras que la publicación de 2007 incluyó a Bélgica, Croacia, República Checa, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Italia, España, Suecia, Países Bajos y Turquía. Las referencias correspondientes a cada investigación se especifican conforme a lo descrito en los diagramas de barras comparativos de la sección de la Discusión.

Wexler (2007) señala que los perfiles de resistencia de *Bacteroides* pueden variar entre países, regiones e incluso entre instituciones de atención médica. De acuerdo con el planteamiento de Brook et al. (2013) y Hecht (2006), los patrones de susceptibilidad de este género son impredecibles y, conforme con las recomendaciones del CLSI, se debería hacer un monitoreo periódico de este fenómeno para conocer las tendencias de resistencia y guiar de manera adecuada las terapias antibióticas. Basado en la literatura presentada, se evidencia la variabilidad existente en las tasas de resistencia de un mismo fármaco en diferentes continentes e incluso en diferentes países próximos a Ecuador.

Snydman et al. (2010) señaló que la variabilidad de resistencia corresponde a los diferentes patrones de prescripción en los individuos de diferentes poblaciones. También contribuye a esta variabilidad la recategorización constante de las especies de *Bacteroides* la cual ha desplegado a muchas de ellas a otros géneros que se evalúan por separado; así como la distribución de los determinantes de resistencia tanto horizontalmente en la misma especie y con otras especies, como verticalmente (Wexler, 2012).

Los informes acerca de *Bacteroides* MR se han manifestado reciente y esporádicamente, a partir de fuentes como sangre (Ank et al., 2015), líquido intraperitoneal (Graham et al., 2020), úlceras, heridas, fluidos o una diversidad de muestras clínicas (Sárvári et al., 2018), en conjunto con el incremento de las tasas de resistencia, genera un problema de salud grave en el futuro cercano por su potencial desarrollo. En 2015 se registró en Hungría un caso de infección con una cepa de *B. fragilis* resistente a 10 antibióticos (Boyanova et al., 2019). Por otro lado, un estudio realizado en un hospital de China encontró que el 18.26% de los aislados fueron MR (Wang et al., 2020) y recientemente Niestępski et al. (2019) reportó un 50% de aislados

resistentes a múltiples antimicrobianos. Sin embargo, los porcentajes no se asemejan al resultado de este proyecto (n=41, 89.1%) lo cual puede atribuirse a la presencia de uno o varios determinantes de resistencia (Wexler, 2012), corroborando la necesidad de un monitoreo continuo de las tendencias de resistencia.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

El cultivo microbiológico de muestras clínicas demostró que *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides ovatus* y *Parabacteroides distasonis* son las especies con mayor frecuencia (69.6%, 10.9% y 8.7%, respectivamente) en los aislamientos de abscesos, tejidos blandos, piel, sangre y fluidos; y, por otro lado, *Bacteroides caccae*, *Bacteroides vulgatus* y *Bacteroides stercoris* se presentan con una menor proporción (4.3%, 4.3% y 2.2%, en el orden mencionado).

La técnica de microdilución permitió conocer el nivel de actividad de distintos antibióticos en *Bacteroides* spp. con base en su CMI determinada por el cambio perceptible en el crecimiento de los cultivos a una concentración establecida del fármaco, con respecto al control.

Los ensayos de susceptibilidad con la técnica de microdilución en conjunto con los puntos de corte, descritos por el CLSI, permiten categorizar el estado de resistencia de los aislados clínicos del género *Bacteroides* basándose en la CMI de varios grupos de antimicrobianos y; de este modo, contrastarlo con las situaciones reportadas en otros lugares.

Las especies del género *Bacteroides* presentaron resistencia a varias categorías de antibióticos (penicilinas, agentes combinados con inhibidores de β -lactamasas, cefemas, carbapenémicos, lincosamidas, tetraciclinas, fenicoles y nitroimidazoles); específicamente, con las 46 cepas evaluadas, las mayores tasas de resistencia se encontraron para AMP y PEN (95.7%) y; por el contrario, las menores se determinaron para CHL (8.3%) e IMI (13.0%).

El contraste de los porcentajes de resistencia encontrados con reportes de Europa, Asia y América describió que, considerando el presente estudio, AMP (95.7%),

PEN (95.7%), AUG (39.1%), P/T4 (15.2%), IMI (13%), MERO (19.6%), CLI (60.9%) y TET (82.6%) se encontraron próximas a las mayores tasas registradas en otras investigaciones; mientras que PIP (58.7%), A/S2 (28.3%), CHL (8.7%) y MRD (23.9%) mostraron una frecuencia ubicada por encima del resto de reportes, y; solo TANS (19.6%) y FOX (17.4%) presentaron una tendencia similar a otras publicaciones.

La evaluación de una misma cepa frente a varios antibióticos describió que 41 ejemplares (89.1%) fueron resistentes a múltiples fármacos indicando la presencia de varios determinantes de resistencia en las especies provenientes de aislados clínicos.

La impredecible variación de los porcentajes de resistencia en diferentes grupos farmacológicos de antibióticos frente a otras localidades y la emergencia de cepas MR corroboró la necesidad de un monitoreo continuo de los niveles de resistencia para la selección de tratamientos acoplados a la realidad de Ecuador.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Realizar un monitoreo en los años posteriores a este proyecto a fin de llevar un seguimiento de la evolución de los patrones de resistencia tanto en la comunidad y las instituciones de salud, de esta manera contar con información actualizada para la selección adecuada de tratamientos con antibióticos por parte de los expertos de la salud y reducir la presión selectiva en el desarrollo de resistencia.

Llevar a cabo estudios moleculares con el objetivo de caracterizar los determinantes de resistencia presentes en Ecuador para contribuir a la adecuada selección de antimicrobianos.

Efectuar evaluaciones epidemiológicas que permitan establecer estadísticas capaces de evidenciar fielmente la realidad del país con relación a la morbilidad y mortalidad asociada a este tipo de microorganismos.

Concientizar en los expertos de la salud y la comunidad en general, sobre las consecuencias del uso indiscriminado e inapropiado de antibióticos y la importancia de la responsabilidad social; con el fin de mejorar los pronósticos sobre infecciones asociadas a estos microorganismos, reducir la estancia en las casas de salud, así como el costo que representa el tratamiento de estos cuadros clínicos para el paciente y el Sistema Sanitario y de Salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Aldridge, K. E., & O'Brien, M. (2002). In vitro susceptibilities of the *Bacteroides fragilis* group species: Change in isolation rates significantly affects overall susceptibility data. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(11), 4349–4352.
<https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.4349-4352.2002>
- Amenyogbe, N., Dimitriu, P., Smolen, K. K., Brown, E. M., Shannon, C. P., Tebbutt, S. J., Cooper, P. J., Marchant, A., Goetghebuer, T., Esser, M., Finlay, B. B., Kollmann, T. R., & Mohn, W. W. (2021). Biogeography of the relationship between the child gut microbiome and innate immune system. *MBio*, *12*(1), 1–18.
<https://doi.org/10.1128/mBio.03079-20>
- Ank, N., Sydenham, T. V., Iversen, L. H., Justesen, U. S., & Wang, M. (2015). Characterisation of a multidrug-resistant *Bacteroides fragilis* isolate recovered from blood of a patient in Denmark using whole-genome sequencing. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *46*(1), 117–120.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.02.024>
- Ayukekbong, J. A., Ntemgwa, M., & Atabe, A. N. (2017). The threat of antimicrobial resistance in developing countries: Causes and control strategies. In *Antimicrobial Resistance and Infection Control* (Vol. 6, Issue 1, pp. 1–8). BioMed Central Ltd.
<https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>
- Bacic, M. K., & Smith, C. J. (2008). Laboratory maintenance and cultivation of *Bacteroides* species. In *Current Protocols in Microbiology: Vol. 0 13* (Issue SUPPL. 9). NIH Public Access. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc13c01s9>
- Bolaños, H., Boza, R., Campos, E., Mora, J., Piza, M., & Sánchez, O. (1988). Susceptibilidad a los antibioticos de los principales grupos de bacterias aisladas de

pacientes con sepsis intraabdominal en dos hospitales generales de Costa Rica.

<https://repositorio.binasss.sa.cr/repositorio/bitstream/handle/20.500.11764/3688/art3v9n1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Boyanova, L., Markovska, R., & Mitov, I. (2019). Multidrug resistance in anaerobes.

<https://doi.org/10.2217/Fmb-2019-0132>, 14(12), 1055–1064.

<https://doi.org/10.2217/FMB-2019-0132>

Brook, I. (1989). *Pathogenicity of the Bacteroides fragilis Group**. 19(5).

Brook, I. (2007). Treatment of anaerobic infection. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* (Vol. 5, Issue 6, pp. 991–1006). Expert Rev Anti Infect Ther.

<https://doi.org/10.1586/14787210.5.6.991>

Brook, I., & Goldstein, E. J. (2012). Diseases Caused by Non-Spore-Forming Anaerobic Bacteria. In *Goldman's Cecil Medicine: Twenty Fourth Edition* (Vol. 2, pp. 1847–1851). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1604-7.00305-5>

Brook, I., Wexler, H. M., & Goldstein, E. J. C. (2013). Antianaerobic antimicrobials: Spectrum and susceptibility testing. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(3), 526–546.

<https://doi.org/10.1128/CMR.00086-12>

Brüssow, H. (2017). Infection therapy: the problem of drug resistance – and possible solutions. *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1041–1046. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12777>

Byun, J.-H., M.D., Kim, M., Ph.D., Lee, Y., M.D., Lee, K., M.D., Chong, and Y., & Ph.D. (2019). Antimicrobial Susceptibility Patterns of Anaerobic Bacterial Clinical Isolates From 2014 to 2016, Including Recently Named or Renamed Species. *Annals of Laboratory Medicine*, 39(2), 190–199. <https://doi.org/10.3343/ALM.2019.39.2.190>

- Cárdenas, P. A., Garcés, D., Prado-Vivar, B., Flores, N., Fornasini, M., Cohen, H., Salvador, I., Cargua, O., & Baldeón, M. E. (2020). Effect of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 as complementary treatment of *Helicobacter pylori* infection on gut microbiome. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 39(7), 1365–1372. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03854-3>
- Carvajal-Aldaz, D. G., Guice, J. L., Page, R. C., Raggio, A. M., Martin, R. J., Husseneder, C., Durham, H. A., Geaghan, J., Janes, M., Gauthier, T., Coulon, D., & Keenan, M. J. (2017). Simultaneous delivery of antibiotics neomycin and ampicillin in drinking water inhibits fermentation of resistant starch in rats. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(3). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600609>
- Casadevall, A., & Pirofski, L. A. (2009). Virulence factors and their mechanisms of action: The view from a damage-response framework. In *Journal of Water and Health* (Vol. 7, Issue SUPPL. 1, pp. S2–S18). IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/wh.2009.036>
- Castle, S. S. (2007). Clindamycin. In *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (pp. 1–4). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61482-5>
- Cheng, C.-W., Lin, H., Yang, C., Chiang, P., Wu, T., & Lee, M. (2009). *Clinical significance of and outcomes for Bacteroides fragilis bacteremia - PubMed*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19812858/>
- Cloete, T. E. (2003). Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51(4), 277–282. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00042-8](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00042-8)
- CLSI. (2018). *M11: Anaerobic Bacteria Antimicrobial Susceptibility*.

<https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m11/>

CLSI. (2021). *M100Ed31 | Estándares de desempeño para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, 31a edición.*

<https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>

Cordero-Laurent, E., Rodríguez, C., Rodríguez-Cavallini, E., Gamboa-Coronado, M., & Quesada-Gómez, C. (2012). *Resistance of Bacteroides isolates recovered among clinical samples from a major Costa Rican hospital between 2000 and 2008 to β -lactams, clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol - PubMed.*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23303257/>

Fernández-Canigia, L., Litterio, M., Legaria, M. C., Castello, L., Predari, S. C., Di Martino, A., Rossetti, A., Rollet, R., Carloni, G., Bianchini, H., Cejas, D., Radice, M., Gutkind, G., Bottiglieri, M., Rocchi, M., Marqués, I. A., Machain, M., Mauro, M. C., Nuñez, M. R., & Ballester, D. (2012). First national survey of antibiotic susceptibility of the *Bacteroides fragilis* group: Emerging resistance to carbapenems in Argentina. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(3), 1309–1314.

<https://doi.org/10.1128/AAC.05622-11>

Gao, Q., Wu, S., Xu, T., Zhao, X., Huang, H., & Hu, F. (2019). Emergence of carbapenem resistance in *Bacteroides fragilis* in China. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 53(6), 859–863.

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.02.017>

García-Rodríguez, J., Casal, M., Rodríguez, F., Torroba, L., Zaballa Serv de Microbiología, A., Virgen del Camino, H., Rodríguez, J., & Moreno, A. (2003). Evolución de la resistencia antibiótica de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis* (1997-2001). In J.M. Zarauz (Serv. de Microbiología (Vol.

16, Issue 4). <http://www.seq.es/seq/0214-3429/16/4/421.pdf>

Gerhard, W. A., Choi, W. S., Houck, K. M., & Stewart, J. R. (2017). Water quality at points-of-use in the Galapagos Islands. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(2), 485–493. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.01.010>

Ghotaslou, R., Bannazadeh Baghi, H., Alizadeh, N., Yekani, M., Arbabi, S., & Memar, M. Y. (2018). Mechanisms of *Bacteroides fragilis* resistance to metronidazole. In *Infection, Genetics and Evolution* (Vol. 64, pp. 156–163). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.020>

Graham, C., Eshaghi, A., Sarabia, A., Zittermann, S., Stapleton, P., Kus, J. V., & Patel, S. N. (2020). Identification and characterization of invasive multi-drug-resistant (MDR) *Bacteroides* genomospecies in Canada. *Access Microbiology*, 2(5), e000111. <https://doi.org/10.1099/ACMI.0.000111>

Hecht, D. W. (2006). Anaerobes: Antibiotic resistance, clinical significance, and the role of susceptibility testing. In *Anaerobe* (Vol. 12, Issue 3, pp. 115–121). Anaerobe. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2005.10.004>

Hedberg, M., Nord, C. E., Feierl, G., Marina, M., Kalenic, S., Chmelar, D., Bremmelgaard, A., Brazier, J., Jousimies-Somer, H., Dubreuil, L., Lozniewski, A., Mory, F., Claros, M., Bezirtzoglou, E., Lajos, Z., Nagy, E., Todorova, R., Kristinsson, K. G., Menozzi, M. G., ... Zbinden, R. (2003). Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(6), 475–488. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00674.x>

Hombach, M., Böttger, E., & Roos, M. (2013). The critical influence of the intermediate category on interpretation errors in revised EUCAST and CLSI antimicrobial susceptibility testing guidelines. *Clinical Microbiology and Infection : The Official*

Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 19(2). <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12090>

Hong, P. Y., Wheeler, E., Cann, I. K. O., & Mackie, R. I. (2011). Phylogenetic analysis of the fecal microbial community in herbivorous land and marine iguanas of the Galápagos Islands using 16S rRNA-based pyrosequencing. *ISME Journal*, 5(9), 1461–1470. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.33>

Jamal, W., Khodakhast, F. B., Alazmi, A., Sóki, J., Alhashem, G., & Rotimi, V. O. (2020). Prevalence and antimicrobial susceptibility of enterotoxigenic extra-intestinal *Bacteroides fragilis* among 13-year collection of isolates in Kuwait. *BMC Microbiology*, 20(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1703-4>

Jasemi, S., Emaneini, M., Ahmadinejad, Z., Fazeli, M. S., Sechi, L. A., Sadeghpour Heravi, F., & Feizabadi, M. M. (2021). Antibiotic resistance pattern of *Bacteroides fragilis* isolated from clinical and colorectal specimens. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00435-w>

Kaeuffer, C., Ruge, T., Diancourt, L., Romain, B., Ruch, Y., Jaulhac, B., & Boyer, P. H. (2021). First case of bacteraemia due to carbapenem-resistant *Bacteroides faecis*. *Antibiotics*, 10(3), 319. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030319>

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. In *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology* (Vol. 33, Issue 3, pp. 300–305). Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15

Khanna, N. R., & Gerriets, V. (2021). *Beta Lactamase Inhibitors*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557592/>

- Kierzkowska, M., Majewska, A., & Mlynarczyk, G. (2020). Trends and Impact in Antimicrobial Resistance among *Bacteroides* and *Parabacteroides* Species in 2007-2012 Compared to 2013-2017. *Microbial Drug Resistance*, 26(12), 1452–1457. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0462>
- Kim, J., Lee, Y., Park, Y., Kim, M., Choi, J. Y., Yong, D., Jeong, S. H., & Lee, K. (2016). Anaerobic bacteremia: Impact of inappropriate therapy on mortality. *Infection and Chemotherapy*, 48(2), 91–98. <https://doi.org/10.3947/ic.2016.48.2.91>
- König, E., Ziegler, H. P., Tribus, J., Grisold, A. J., Feierl, G., & Leitner, E. (2021). Surveillance of antimicrobial susceptibility of anaerobe clinical isolates in southeast austria: *Bacteroides fragilis* group is on the fast track to resistance. *Antibiotics*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050479>
- Liu, C., Song, Y., McTeague, M., Vu, A. W., Wexler, H., & Finegold, S. M. (2003). Rapid identification of the species of the *Bacteroides fragilis* group by multiplex PCR assays using group- and species-specific primers. *FEMS Microbiology Letters*, 222(1), 9–16. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00296-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00296-9)
- Löfmark, S., Edlund, C., & Nord, C. E. (2010). Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections. *Clinical Infectious Diseases*, 50(Supplement_1), S16–S23. <https://doi.org/10.1086/647939>
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

Merchan, C., Parajuli, S., Siegfried, J., Scipione, M. R., Dubrovskaya, Y., & Rahimian, J. (2016). Multidrug-Resistant *Bacteroides fragilis* Bacteremia in a US Resident: An Emerging Challenge. *Case Reports in Infectious Diseases*, 2016, 1–4. <https://doi.org/10.1155/2016/3607125>

Nagy, E., Urbán, E., & Nord, C. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(3), 371–379. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03256.x>

Nakano, V., & Avila-Campos, M. J. (2004). Virulence markers and antimicrobial susceptibility of bacteria of the *Bacteroides fragilis* group isolated from stool of children with diarrhea in São Paulo, Brazil. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(3), 307–312. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000300012>

Ndongo, S., Khelaifia, S., Lagier, J. C., & Raoult, D. (2020). From anaerobes to aerointolerant prokaryotes. In *Human Microbiome Journal* (Vol. 15, p. 100068). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.humic.2019.100068>

Nguyen, M. H., Yu, V. L., Morris, A. J., McDermott, L., Wagener, M. W., Harrell, L., & Snyderman, D. R. (2000). Antimicrobial Resistance and Clinical Outcome of *Bacteroides* Bacteremia: Findings of a Multicenter Prospective Observational Trial. *Clinical Infectious Diseases*, 30(6), 870–876. <https://doi.org/10.1086/313805>

Niestępski, S., Harnisz, M., Korzeniewska, E., Aguilera-Arreola, M. G., Contreras-Rodríguez, A., Filipkowska, Z., & Osińska, A. (2019). The emergence of antimicrobial resistance in environmental strains of the *Bacteroides fragilis* group. *Environment International*, 124, 408–419. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.056>

- Onderdonk, A. B., Moon, N. E., Kasper, D. L., & Bartlett, J. G. (1978). Adherence of *Bacteroides fragilis* in vivo. *Infection and Immunity*, 19(3), 1083–1087.
<https://doi.org/10.1128/iai.19.3.1083-1087.1978>
- Park, Y., Choi, J. Y., Yong, D., Lee, K., & Kim, J. M. (2009). Clinical features and prognostic factors of anaerobic infections: A 7-year retrospective study. *Korean Journal of Internal Medicine*, 24(1), 13–18.
<https://doi.org/10.3904/kjim.2009.24.1.13>
- Pricop, G. R., Gheorghe, I., Pircalabioru, G. G., Cristea, V., Popa, M., Marutescu, L., Chifiriuc, M. C., Mihaescu, G., & Bezirtzoglou, E. (2020). Resistance and virulence features of *Bacteroides* spp. Isolated from abdominal infections in Romanian patients. *Pathogens*, 9(11), 1–10. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110940>
- Rasmussen, B. A., Bush, K., & Tally, F. P. (1993). Antimicrobial resistance in *Bacteroides*. *Clinical Infectious Diseases*, 16, S390–S400.
https://doi.org/10.1093/clinids/16.Supplement_4.S390
- Salazar, C. L., Cataño, J. C., Molina, D., Sierra, P., & Correa, M. (2014). Prevalence of in vitro susceptibility to carbapenems among clinical isolates of the *Bacteroides fragilis* group from a Colombian tertiary hospital. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(1), 49–51. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.09.002>
- Salonen, J. H., Eerola, E., & Meurman, O. (1998). Clinical significance and outcome of anaerobic bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*, 26(6), 1413–1417.
<https://doi.org/10.1086/516355>
- Sárvári, K. P., Sóki, J., Kristóf, K., Juhász, E., Miszti, C., Meleg, S. Z., Latkóczy, K., & Urbán, E. (2018). Molecular characterisation of multidrug-resistant *Bacteroides* isolates from Hungarian clinical samples. *Journal of Global Antimicrobial*

Resistance, 13, 65–69. <https://doi.org/10.1016/J.JGAR.2017.10.020>

Schapiro, J. M., Gupta, R., Stefansson, E., Fang, F. C., & Limaye, A. P. (2004). Isolation of metronidazole-resistant *Bacteroides fragilis* carrying the nimA nitroreductase gene from a patient in Washington State. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(9), 4127–4129. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.4127-4129.2004>

Schuetz, A. N. (2014). Antimicrobial resistance and susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 59(5), 698–705. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu395>

Schumacher, A., Vranken, T., Malhotra, A., Arts, J. J. C., & Habibovic, P. (2018). In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. In *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (Vol. 37, Issue 2, pp. 187–208). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3089-2>

Shah, H. N. (1992). The Genus *Bacteroides* and Related Taxa. In *The Prokaryotes* (pp. 3593–3607). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2191-1_34

Sherwood, J. E., Fraser, S., Citron, D. M., Wexler, H., Blakely, G., Jobling, K., & Patrick, S. (2011). Multi-drug resistant *Bacteroides fragilis* recovered from blood and severe leg wounds caused by an improvised explosive device (IED) in Afghanistan. *Anaerobe*, 17(4), 152–155. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.02.007>

Smith, C. J., Rocha, E. R., & Paster, B. J. (2006). The Medically Important *Bacteroides* spp. in Health and Disease. In *The Prokaryotes* (pp. 381–427). Springer New York. https://doi.org/10.1007/0-387-30747-8_14

Snydman, D. R., Jacobus, N. V., McDermott, L. A., Golan, Y., Hecht, D. W., Goldstein,

E. J. C., Harrell, L., Jenkins, S., Newton, D., Pierson, C., Rihs, J. D., Yu, V. L., Venezia, R., Finegold, S. M., Rosenblatt, J. E., & Gorbach, S. L. (2010). Lessons learned from the anaerobe survey historical perspective and review of the most recent data (2005-2007). *Clinical Infectious Diseases*, 50(SUPP.1), S26–S33.
<https://doi.org/10.1086/647940>

Sociedad Japonesa de Quimioterapia, & Asociación Japonesa de Enfermedades Infecciosas. (2011). Chapter 1-1. Anaerobic infections (General): Epidemiology of anaerobic infections. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17, 4–12.
<https://doi.org/10.1007/s10156-010-0169-y>

Sóki, J., Fodor, E., Hecht, D. W., Edwards, R., Rotimi, V. O., Kerekes, I., Urbán, E., & Nagy, E. (2004). Molecular characterization of imipenem-resistant, *cfiA*-positive *Bacteroides fragilis* isolates from the USA, Hungary and Kuwait. *Journal of Medical Microbiology*, 53(5), 413–419. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05452-0>

Solomkin, J. S., Mazuski, J. E., Bradley, J. S., Rodvold, K. A., Goldstein, E. J. C., Baron, E. J., O'Neill, P. J., Chow, A. W., Patchen Dellinger, E., Eachempati, S. R., Gorbach, S., Hilfiker, M., May, A. K., Nathens, A. B., Sawyer, R. G., & Bartlett, J. G. (2010). Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: Guidelines by the surgical infection society and the infectious diseases society of America. In *Clinical Infectious Diseases* (Vol. 50, Issue 2, pp. 133–164). Oxford Academic. <https://doi.org/10.1086/649554>

Song, Y., Liu, C., & Finegold, S. M. (2015). *Bacteroides*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1–24). John Wiley & Sons, Inc.
<https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00238>

Takesue, Y., Kusachi, S., Mikamo, H., Sato, J., Watanabe, A., Kiyota, H., Iwata, S.,

- Kaku, M., Hanaki, H., Sumiyama, Y., Kitagawa, Y., Nakajima, K., Ueda, T., Uchino, M., Mizuguchi, T., Ambo, Y., Konosu, M., Ishibashi, K., Matsuda, A., ... Yanagihara, K. (2018). Antimicrobial susceptibility of common pathogens isolated from postoperative intra-abdominal infections in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 24(5), 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.02.011>
- ThermoFisher Scientific. (2021). *Sensititre™ Anaerobe MIC Plate*.
<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/AN02B#/AN02B>
- Trevor, A., Katzung, B., & Kruidering-Hall, M. (2015). *Chloramphenicol, Tetracyclines, Macrolides, Clindamycin, Streptogramins, & Linezolid | Katzung & Trevor's Pharmacology: Examination & Board Review, 11e | AccessPharmacy | McGraw Hill Medical*.
<https://accesspharmacy.mhmedical.com/Content.aspx?bookId=1568§ionId=95703949>
- Urbán, E., Horváth, Z., Sóki, J., & Lázár, G. (2015). First Hungarian case of an infection caused by multidrug-resistant *Bacteroides fragilis* strain. *Anaerobe*, 31, 55–58.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.09.019>
- Van Belkum, A., & Dunne, W. M. (2013). Next-generation antimicrobial susceptibility testing. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 51, Issue 7, pp. 2018–2024). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/JCM.00313-13>
- Vishwanath, S., Shenoy, P., & Chawla, K. (2019). Antimicrobial resistance profile and Nim gene detection among *Bacteroides fragilis* group isolates in a university hospital in South India. *Journal of Global Infectious Diseases*, 11(2), 59–62.
https://doi.org/10.4103/jgid.jgid_116_18
- Wang, Y., Han, Y., Shen, H., Lv, Y., Zheng, W., & Wang, J. (2020). Higher Prevalence of

Multi-Antimicrobial Resistant *Bacteroides* spp. Strains Isolated at a Tertiary Teaching Hospital in China. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1537.

<https://doi.org/10.2147/IDR.S246318>

Wexler, H. (2007). *Bacteroides*: The good, the bad, and the nitty-gritty. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 20, Issue 4, pp. 593–621). American Society for Microbiology (ASM). <https://doi.org/10.1128/CMR.00008-07>

Wexler, H. (2012). Pump it up: Occurrence and regulation of multi-drug efflux pumps in *Bacteroides fragilis*. *Anaerobe*, 18(2), 200–208.

<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.12.017>

Yekani, M., Baghi, H. B., Naghili, B., Vahed, S. Z., SÓki, J., & Memar, M. Y. (2020). To resist and persist: Important factors in the pathogenesis of *Bacteroides fragilis*. In *Microbial Pathogenesis* (Vol. 149, p. 104506). Academic Press.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104506>

Zurita, J., Sevillano, G., Paz y Miño, A., Flores, F., & Bovera, M. (2019). Draft Genome Sequence of a Metronidazole-Resistant *Bacteroides fragilis* Strain Isolated in Ecuador. *Microbiology Resource Announcements*, 8(49).

<https://doi.org/10.1128/mra.01125-19>

Zurita, M. F., Cárdenas, P. A., Sandoval, M. E., Peña, M. C., Fornasini, M., Flores, N., Monaco, M. H., Berding, K., Donovan, S. M., Kuntz, T., Gilbert, J. A., & Baldeón, M. E. (2020). Analysis of gut microbiome, nutrition and immune status in autism spectrum disorder: a case-control study in Ecuador. *Gut Microbes*, 11(3), 453–464.

<https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1662260>