

PREVALENCIA Y PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE MICROORGANISMOS AISLADOS DE INFECCIONES EN PIE DIABÉTICO

PREVALENCE AND RESISTANCE PROFILE TO ANTIBIOTICS OF DIABETIC FOOT INFECTIONS ISOLATED MICROORGANISMS

**Alejandro Espinoza-Tavera¹,
Guillermo Hernández-Gracia²,
Rubén Celerino
Cantú-Ramírez³,
Arelly Díaz-López³,
Selene Ávila-Aguilar¹,
Edgar Alonso García-García²,
Gildardo Rivera-Sánchez⁴ y
Virgilio Bocanegra-García^{4*}**

¹Unilab Laboratorio de Análisis Clínicos y Servicios de Referencia, Rayón 6 y 7 No. 600, Zona Centro, H. Matamoros, Tamaulipas, México, C.P. 87300.

²Unidad Médica de Especialistas, González 1 y 2 Zona Centro No. 126, H. Matamoros, Tamaulipas, México, C.P. 87300.

³Universidad Autónoma de Tamaulipas, UAM Reynosa Aztlán, Calle 16 y Lago de Chapala, col. Aztlán Reynosa, Tamaulipas, México, C.P. 88740.

⁴Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica, Boulevard del Maestro s/n, esq. Elías Piña, col. Narciso Mendoza, Reynosa, Tamaulipas, México, C.P. 88710.

***Autor para correspondencia:
vbocanegg@yahoo.com**

Fecha de recepción: 13 de febrero de 2014 / Fecha de aceptación: 10 de octubre de 2014.

RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que afecta a un porcentaje considerable de la población, y la diabetes tipo II constituye un gran problema de salud pública en México actualmente. El pie diabético es una secuela grave de la diabetes por su prevalencia, la frecuencia con que se presentan infecciones y por los enormes costos económicos y sociales. En este estudio se examinaron 382 cepas aisladas de infecciones a partir de 284 pacientes con

pie diabético, para determinar su identidad mediante pruebas bioquímicas y perfil de fármaco-resistencia. De las 382 cepas, 186 (48.6 %) fueron bacterias Gram positivas, 182 (47.6 %) bacterias Gram negativas y 14 (3.6 %) *Candida* sp. En 158 de las 284 muestras (55.6 %), se obtuvo solo un tipo de bacteria; en 113 muestras (39.7 %) se obtuvo un cultivo mixto, y dentro de estas, siete tenían crecimiento de bacteria y levadura y 13 muestras resultaron negativas. Los patógenos más prevalentes fueron *Staphylococcus*

aureus y *Pseudomonas aeruginosa*. El 63.9 % de los aislados de *S. aureus* resultó resistente a la meticilina (MRSA), 44.1 % resistentes a la vancomicina y un 18.6 % resistentes al imipenem. *P. aeruginosa* fue el Gram negativo aislado con mayor frecuencia, mostrando multifármaco-resistencia. Los perfiles de fármaco-resistencia mostraron que la mayoría de *S. aureus* fue MRSA y en los aislados de *P. aeruginosa* prevalecieron las cepas resistentes a todos los antibióticos probados.

PALABRAS CLAVE: pie diabético, infecciones, fármaco-resistencia.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease that affects a considerable portion of the population and type 2 diabetes represents a serious current public health problem in Mexico. Diabetic foot is a severe consequence of diabetes for its prevalence, the frequency of resulting infections, and the high social and economic costs. In this study we examined 382 isolated families of infections in 284 patients to determine their identity by biochemical tests and their drug resistance profile. Of the 382 isolates, 186 samples (48.6 %) were positive Gram bacteria; 182 samples (47.6 %) were negative Gram bacteria; and 14 (3.6 %) were *Candida* sp. In 158 of the 284 samples (55.6 %) only one type of bacteria was identified; in 113 samples (39.7 %) a mixed culture was found, with 7 samples containing both bacteria and yeast and 13 samples resulting negative. The most prevalent pathogens were *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. In *S. aureus* isolates, 63.9 % was resistant to MRSA; 4.1 % was resistant to vancomycin; and 18.6 % was resistant to imipenem. *P. aeruginosa* was the most prevalent Gram negative isolated and also the one with the most drug resistance. Drug-resistance analysis showed that the majority of *S. aureus* were MRSA and in *P. aeruginosa*, families resistant to all tested antimicrobials prevailed.

KEYWORDS: diabetic foot, infections, drug-resistance.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad

crónica que afecta a un porcentaje importante de la población, y la diabetes tipo II constituye un gran problema de salud pública en México actualmente (Kuri y col., 2001). La Organización Mundial de la Salud (OMS), calculó que el número de personas con diabetes en el mundo es de 171 000 000 y pronostica que aumentará a 366 000 000 en el año 2030 (Wild y col., 2004). En estudios realizados durante la década pasada se previó que la prevalencia se encontraba entre 8 % y 9 % en la población mexicana (Aguilar-Salinas y col., 2001; Lerman y Rull, 2001) y se estima que podría llegar a 12.3 % en el año 2025. La diabetes es la causa más frecuente de ceguera, insuficiencia renal terminal, amputaciones no traumáticas e incapacidad prematura. En México más del 80 % de las amputaciones en miembros inferiores son por causa de DM (Secretaría de Salud, 2001).

El pie diabético como secuela de la diabetes es un problema de salud pública por su prevalencia, pues el riesgo de tener una úlcera diabética es superior al de sufrir un infarto al miocardio, y por sus enormes costos sanitarios y sociales (Ricco y col. 2013; Varaiya y col., 2009). Aproximadamente el 20 % de los pacientes diabéticos desarrollan úlceras de pie diabético, debido a una neuropatía periférica. Las Infecciones de Pie Diabético (IPD) más severas pueden llegar a producir ulceraciones, gangrena, artroculación de Charcot, y son un factor de riesgo importante para la amputación (Korzon y Dziemidok, 2011; Rooh y col., 2003; Rao y Lipsky, 2007).

La mayoría de las IPD son polimicrobianas

La prevalencia de la flora microbiana presente depende de factores metabólicos del paciente, la higiene del pie y el uso de antibióticos (Chincholikar y Pal, 2002;

Richard y col., 2011). La terapia óptima para el control de las IPD aún no se ha establecido, pero autores coinciden que el aislamiento y la identificación del agente microbiano infectante es esencial para una terapia antibiótica apropiada, de acuerdo a los patrones de sensibilidad, para evitar complicaciones crónicas (Grayson, 1995; Bansal y col., 2008; Sagray y col., 2014).

En este estudio se analizó la prevalencia y susceptibilidad a antibióticos de bacterias patógenas aisladas de muestras de infecciones del pie diabético en pacientes de Matamoros, Tamaulipas, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se incluyeron 284 pacientes ambulatorios, adultos, varones y mujeres, diabéticos, con presentación de heridas en pie clínicamente infectadas, de moderadas a severas, admitidos en la Unidad Médica de Especialidades de la ciudad de Matamoros, Tamaulipas en México, durante el período de 2005 a 2008. Los pacientes admitidos en el estudio fueron pacientes con complicación de úlcera en pie diabético, que habían recibido tratamiento médico y antibiótico a partir de instituciones gubernamentales de salud.

Métodos microbiológicos

Las muestras para cultivo fueron tomadas del sitio de la lesión después de una cuidadosa limpieza superficial inicial, seguida de desbridamiento quirúrgico y toma de exudados. La toma de la muestra se realizó por raspado en el centro de la lesión en plano profundo con cureta estéril. Una vez tomadas las muestras fueron enviadas al laboratorio para el cultivo de bacterias aerobias, en un lapso de tiempo no mayor a una hora. Los especímenes fueron transportados al laboratorio en medio Stuart (Becton

Dickinson de México). El cultivo se realizó en agar Columbia CNA (colistina, ácido nalidixico) (Becton Dickinson de México) incubándose durante 24 h a 48 h a 37 °C, en una atmósfera de 5 % de CO₂, agar chocolate, agar Mac Conkey y agar sangre (BD Bioxon, México). A todos los aislados se les realizó tinción de Gram y fueron identificados en un panel de pruebas bioquímicas, usando las tarjetas GNI y GPI ("gram negative" y "gram positive Id", respectivamente), mediante método automatizado Vitek (Biomeriux, Francia).

Pruebas de susceptibilidad

De cada aislado se realizó una suspensión bacteriana al 0.5 de la escala de Mc Farland, en solución salina fisiológica estéril, para la elaboración de la prueba de susceptibilidad por el método de difusión en disco estándar en agar Mueller Hinton, de acuerdo a la National Committee for Clinical Laboratory Standards. Los antibióticos utilizados fueron: amikacina, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina, ácido nalidixico, ampicilina/sulbactam, azitromicina, aztreonam, cefaclor, cefalotina, cefoperazona, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima, ciprofloxacina, claritromicina,

clindamicina, cloranfenicol, dicloxacilina, doxicilina, eritromicina, gentamicina, imipenem, kanamicina, levofloxacina, lemovloxacina, minocilina, netilmicina, nitrofurantoina, norfloxacina, penicilina, ofloxacina, tetraciclina, ticarciclina/ácido clavulánico, trimetropin/sulfametoxazol, tobramicina y vancomicina, marca Biorad Life Sciences SA y Becton Dickinson BBL sensidisc, con las concentraciones y condiciones recomendadas por el manual (NCCLS, 2002).

RESULTADOS

Se estudió un total de 284 pacientes con infección de pie diabético, de los cuales 165 (58 %), eran hombres y 119 (42 %), eran mujeres, con un rango de edad entre los 37 y los 92 años de edad. De estos 284 pacientes se aislaron 382 cepas de agentes patógenos. Los pacientes presentaron diferentes tipos de lesiones como se muestra en la Tabla 1. La clasificación de Wagner y el tipo de flora presente en las lesiones se muestran en la Tabla 2.

De 1136 cultivos (cuatro por cada muestra) se obtuvieron 382 cepas, de las cuales, 186 (48.6 %), fueron bacterias Gram positivas, 182 (47.6 %) bacterias Gram negativas y 14 (3.6 %) *Candida* sp. En 158 muestras (55.6 %), se obtuvo sólo un tipo de bacteria, en 113 muestras (39.7%), se obtuvo un cultivo mixto, y dentro de estas, siete tenían una levadura (*Candida* sp.), y 13 muestras (4.5 %) fueron negativas para cultivo. La frecuencia de los organismos se muestra en la Tabla 3.

En las Tablas 4 y 5 se muestran los porcentajes respectivos para resistencia y sensibilidad para Gram positivos y Gram

negativos. En las bacterias Gram positivas, el 100 % de los aislados de *S. aureus* (n = 86), fueron resistentes a la dicloxacilina, seguida por la penicilina con 98.8 %, mientras el 74.4 % mostraron tener una sensibilidad a la amoxicilina/ácido clavulánico y la nitrofurantoina, 100 % de los aislados de *Enterobacter faecalis* (n = 47) fueron resistentes a la dicloxacilina, seguido por 93.6 % resistentes a la amikacina y ceftazidima, y 82.9 % fueron sensibles a la ampicilina/sulbactam y 78.7% a la amoxicilina/ácido clavulánico (Tabla 4). Por otro lado, en las bacterias Gram negativas, el 100 % de los aislados de *P. aeruginosa* (n = 84) fue resistente a ácido nalidixico, cefaclor y tetraciclina, y el 90.4 % y 98.8 % resistente a kanamicina y a la ampicilina respectivamente; los organismos aislados fueron sensibles a la tobramicina y ticarciclina/ácido clavulánico en un 32.1 % y 28.5 % respectivamente, y el 100 % de las cepas de *Escherichia coli* (n = 29) fue resistente a ampicilina, doxiciclina y tetraciclina, y el 96.5 % a ácido nalidixico, mientras que el 72.4 % mostraron sensibilidad al imipenem y 68.9% a la gentamicina.

DISCUSIÓN

Las IPD son un problema médico y social, y son una causa de hospitalización y amputación en el mundo que ha incrementado su gravedad (Citron y col., 2007; Gadepalli y col., 2006). Se estima que 25 % de pacientes con diabetes padecerán ulceración en pies (Khanolkar y col., 2008). Los resultados muestran concordancia con reportes previos que señalan a las bacterias aerobias Gram positivas como predominantes en IPD (Lipsky

Tabla 1

Características clínicas de los pacientes.
Table 1. Clinical data from patients.

	Número de pacientes (%)
Edad: Rango: Medía de años:	37 años a 92 años 64.1 años
Sexo: Femenino Masculino	119 (42) 165 (58)
Tipo de Diabetes: Tipo II	284 (100)
Tipo de lesión: Úlceras Heridas Úlceras varicosas Necrobiosis Isquemia Úlcera neuropática Otros / no especificado	222 (78.1) 24 (8.4) 16 (5.6) 7 (2.4) 4 (1) 3 (1) 8 (2.8)

Tabla 2

Clasificación Grado Wagner y cultivos.
Table 2. Wagner Grades and cultures.

Grado Wagner	Número de pacientes	Cultivo		
		Monomicrobiano	Polimicrobiano	Negativo
I	96	68	21	7
II	58	22	30	6
III	124	65	59	0
IV	6	3	3	0
Total	284	158	113	13

Tabla 3

Frecuencia de aislamiento de los agentes patógenos.
Table 3. Isolating frequency of the pathogen agents.

Bacteria	Número de Aislados (%)
Bacterias Gram Positivas	186 (48.6)
- <i>Staphylococcus aureus</i>	86 (46.2)
- <i>Enterococcus faecalis</i>	47 (25.2)
- <i>Staphylococcus epidermidis</i>	22 (11.8)
- <i>Enterococcus sp.</i>	7 (3.7)
- <i>Streptococcus pyogenes grupo A</i>	6 (3.2)
- <i>Streptococcus sp</i>	14 (6.9)
- <i>Staphylococcus sp</i>	4 (2.1)
Bacterias Gram Negativas	182 (47.6)
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84 (46.1)
- <i>Escherichia coli</i>	29 (15.9)
- <i>Proteus mirabilis</i>	11 (6)
- <i>Proteus vulgaris</i>	10 (5.4)
- <i>Enterobacter cloacae</i>	9 (4.9)
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 (4.3)
- Otras bacterias Gram negativas	31 (17)
Hongos	14 (3.6)
- <i>Candida sp</i>	14 (3.6)

y col., 2004; Abdulrazak y col., 2005; Esposito y col., 2008; Richard y col., 2011). En este estudio, los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron bacterias aerobias Gram positivas (48.6 %), valor ligeramente superior a la frecuencia de aislamiento de las Gram negativas (47.6 %).

S. aureus fue el patógeno aislado con mayor frecuencia (46.2 %) en los Gram positivos y *P. aeruginosa* (46.1 %) el más frecuente en los Gram negativos. Estudios previos muestran que *S. aureus* es el patógeno más frecuentemente encontrado en IPD, como agente infeccioso único, o formando parte de infección mixta (Gardner y Frantz, 2008; Martínez-Gómez y col., 2009), pudiéndose recuperar entre 23 % y 76 % de las úlceras de pie diabético (Gadepalli y col., 2006), en infecciones leves o severas (Omar y col., 2008). Otros estudios también concuerdan en señalar que *P. aeruginosa* es el patógeno Gram negativo aislado con mayor frecuencia en lesiones de IPD, en ocasiones incluso más que *S. aureus* (Shankar y col., 2005; Citron y col., 2007).

Las IPD son de naturaleza polimicrobiana, sin embargo, en pacientes que han recibido tratamiento antibiótico, la naturaleza de los

Tabla 4

Sensibilidad / resistencia a los antibióticos para las bacterias Gram positivas más prevalentes.
Table 4. Susceptibility / resistance to antibiotics of most prevalent Gram Positive bacteria.

Antibióticos	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>Enterococcus sp.</i>	
	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)
Amikacina	47.6	34.8	4.2	93.6	68.1	22.7	28.5	57.1
Amoxicilina/ácido clavulánico	74.4	18.6	78.7	17	81.8	13.6	100	0
Ampicilina	3.4	96.5	57.4	40.4	9	90.9	57.1	28.5
Ampicilina/sulbactam	47.6	34.8	82.9	14.8	72.7	27.2	100	0
Cefaclor	23.2	67.4	6.3	87.2	31.8	68.1	42.8	42.8
Cefoxitina*	36	63.9	6.3	91.4	59	22.7	57.1	14.2
Ceftazidima	23.2	50	4.2	93.6	40.9	36.3	28.5	57.1
Cefuroxima	23.2	50	6.3	91.4	36.3	40.9	57.1	14.2
Cloranfenicol	65.1	30.2	40.4	53.1	72.7	27.2	85.7	14.2
Dicloxacilina	0	100	0	100	0	95.4	0	100
Doxicilina	59.3	31.3	17	82.9	63.6	27.7	28.5	71.4
Imipenem	63.9	18.6	72.3	21.2	68.1	18.1	83.7	16.2
Nitrofurantoina	74.4	19.7	65.9	25.5	77.2	13.6	85.7	14.2
Norfloxacina	18.6	80.2	21.2	61.7	31.8	54.5	48.8	57.1
Penicilina	1.16	98.8	44.6	55.3	0	100	57.1	42.8
Ticarciclina/ácido clavulánico	61.6	13.9	63	8.5	90.9	4.5	85.7	0
Trimetropin/sulfametoxazol	44.1	54.6	10.6	89.3	22.7	77.2	27.5	72.4
Vancomicina	48.8	44.1	23.4	44.6	63.6	31.8	28.5	71.4

*Indicador de MRSA

El porcentaje faltante para alcanzar 100 % representa a los aislados con resistencia intermedia.

aislados es generalmente monomicrobiana, debido a la presión selectiva ejercida por el tratamiento a favor de los microorganismos resistentes (Bansal y col., 2008). Además, se ha visto también que la naturaleza polimicrobiana es más común en lesiones de pie severas o crónicas (Rao y Lipsky, 2007). En este estudio se observó una mayor prevalencia de infecciones monomicrobianas (158 aislados) y 113 aislados de naturaleza polimicrobiana, siendo estas frecuencias más altas a las encontradas por Raja (2007). El 45 % de los pacientes fueron clasificados en grados III y IV de Wagner, sin embargo, aun en estos pacientes predominó el aislamiento de un solo microorganismo por

cultivo, indicando que la complejidad de la infección no es dependiente del número de microorganismos presentes, sino más bien del grado de daño que puede causar un solo microorganismo bien establecido o que ha sido seleccionado artificialmente debido a tratamientos no exitosos.

La emergencia y dispersión de patógenos resistentes a antimicrobianos representan un grave problema de salud pública (Hartemann-Heurtier y col., 2004; Bonomo y Szabo, 2006). *S. aureus* es un patógeno que presenta una elevada prevalencia de multifármaco resistente (MDR) en úlceras de pie diabético (Tentolouris y col., 2006). Gadepalli y col. (2006), reportan una prevalencia de MDR

Tabla 5

Sensibilidad / Resistencia a los antibióticos para las bacterias Gram Negativas más prevalentes.
Table 5. Susceptibility and resistance to antibiotics of most prevalent Gram Negative bacteria.

Antibióticos	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>P. vulgaris</i>	
	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)
Ácido nalidíxico	0	100	0	96.5	18.1	72.7	60	30
Amikacina	26.1	69	44.8	48.2	54.5	36.3	70	20
Amoxicilina/ácido clavulánico	7.1	92.8	31	65.5	63.6	27.2	30	70
Ampicilina	1.1	98.8	0	100	18.1	72.7	0	90
Aztreonam	27.3	53.5	37.9	41.3	63.6	18.1	80	0
Cefaclor	0	100	20.6	65.5	56.3	54.5	0	70
Cefalotina	0	100	13.7	68.9	18.1	72.7	0	70
Cloranfenicol	3.5	95.2	55.1	41.3	27.2	54.5	60	40
Doxicilina	2.3	96.4	0	100	9	90.9	20	70
Kanamicina	7.1	90.4	17	67	18	72	40	30
Gentamicina	25	73.8	68.9	31	36.3	54.5	60	30
Imipenem	3.5	21.4	72.4	24.1	63.6	36.3	60	40
Minocilina	3.5	94	3.4	89.6	0	100	0	90
Netilmicina	16.6	80.9	60	36.4	72.7	27.2	60	40
Nitrofurantoina	2.3	97.6	62	34.4	0	100	20	80
Norfloxacin	27.3	70.2	13.7	82.7	45.4	45.4	60	40
Tetraciclina	0	100	0	100	9	90.9	10	80
Ticarciclina/ácido clavulánico	28.5	58.3	27.5	34.4	45.4	27.2	80	10
Tobramicina	32.1	67.8	13.7	75.8	36.3	63.6	80	20
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.1	98.8	6.8	93.1	30.3	69.6	40	60

El porcentaje faltante para alcanzar 100 % representa a los aislados con resistencia intermedia.

del 72 % de los aislados totales, y entre esos *S. aureus* (MRSA), con una prevalencia del 56 %.

Un alto porcentaje de los pacientes en este estudio presentó infecciones por MDR (66.7 %). Estudios previos reportan que los MDRs son muy comunes en pacientes hospitalizados con úlceras en pie diabético debido a contaminación cruzada. Pero hay pocos estudios de fármaco-resistencia en pacientes con IPD ambulatorios. En este estudio todos los pacientes fueron ambulatorios. A pesar de que el ingreso a hospitalización es el principal factor de riesgo para la adquisición de MDRs (Ramakant y col., 2011; Islam y col., 2013).

Con base en la resistencia detectada a cefoxitina, se encontró un total de 63.9%

de *S. aureus* resistente a la metilina (MRSA, por sus siglas en inglés), que por definición se considera MDR; un 44.1% resistentes a la vancomicina y un 18.6 % resistentes al imipenem. Estos altos rangos de aislamiento de MDRs pueden deberse a una selección de microorganismos resistentes, debido al uso de una terapéutica previa no efectiva, con antibióticos de amplio espectro (Tascini y col., 2011).

El papel de *Pseudomonas* sp. multi fármaco-resistentes en IPD es controversial, ya que algunos autores la mencionan como microorganismo colonizador, debido a su presencia en infecciones polimicrobianas y a la falta de tratamiento específico, le restan importancia como verdadero patógeno, sin embargo, otros la consideran patogénica en

determinadas condiciones, como en caso de ser aislada en muestras quirúrgicas, su presencia en cultivos monobacterianos, y su aislamiento repetido del sitio de la lesión (Grayson, 1995; Citron y col., 2007; Khanolkar y col., 2008). En este estudio, *P. aeruginosa* fue el segundo patógeno aislado con mayor frecuencia (84 aislados, 46.1 %), mostrando MDR 34 de aislados, y de estos, 22 resultaron panresistentes (resistentes a todos los antibióticos probados).

Los resultados muestran una alta prevalencia de MDRs y cultivos monomicrobianos. Además del aislamiento de las 22 cepas de *P. aeruginosa* panresistentes, también 1 *Acinetobacter calcoaceticus* y 2 *E. cloacae* resultaron panresistentes. Lo anterior bien puede ser reflejo de una falta de

programas de control sobre el uso adecuado de antibióticos, o la no optimización del tratamiento con base en las características microbiológicas del agente infectante. Los resultados urgen un adecuado manejo de antibióticos en orden a disminuir la elevada incidencia de aislados MDR y muestran que

cepas panresistentes están en circulación en pacientes con pie diabético.

CONCLUSIONES

Se detectó que la mayoría de los microorganismos aislados presentan perfiles altos de resistencia a los

antibióticos disponibles en el mercado para el tratamiento de Infecciones de pie diabético. La mayoría de los organismos *S. aureus* aislados fueron cepas MRSA; y las cepas de *P. aeruginosa* fueron en su mayoría resistentes a todos los antibióticos probados. ■

REFERENCIAS

- Abdulrazak, A., Bitar, Z. I., Al-Shamali, A. A., and Mobasher, L. A. (2005). Bacteriological study of diabetic foot infections. *Journal of Diabetes Complications*. 19(3): 138-141.
- Aguilar-Salinas, C. A., Vázquez-Chávez, C., Gamboa-Marrufo, R., García-Soto, N., Ríos-González, J. J., and Holguín, R. (2001). Prevalence of obesity, diabetes, hypertension and tobacco consumption in an urban adult Mexican population. *Archives Medical Research*. 32(1): 446-453.
- Bansal, E., Garg, A., Bhatia, S., Attri, A. K., and Chander, J. (2008). Spectrum of microbial flora in diabetic foot ulcers. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 51(2): 204-208.
- Bonomo, R. A. and Szabo, D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases*. 43(1): 49-56.
- Chincholikar, D. A. and Pal, R. B. (2002). Study of fungal and bacterial infections of the diabetic foot. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 45(1): 15-22.
- Citron, D. M., Goldstein, E. J., Merriam, C. V., Lipsky, B. A., and Abramson, M. A. (2007). Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(9): 2819-2828.
- Esposito, S., Leone, S., Novello, S., Fiore, M., Ianniello, F., Felaco, F. M., Romagnoli, F., and Sarli, E. (2008). Complications foot infections in diabetes (DFIs) in the out-patient setting: an Italian multicentre observational survey. *Diabetic Medicine*. 25: 979-984.
- Gadepalli, R., Dhawan, B., Sreenivas, V., Kapil, A., Ammini, A. C., and Chaudhry, R. (2006). A clinical-microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital. *Diabetes Care*. 29(8): 1727-32.
- Gardner, S. E. and Frantz, R. A. (2008). Wound bioburden and infection related complications in Diabetic foot ulcers. *Biological Research for Nursing*. 10(1): 44-53.
- Grayson, M. L. (1995). Diabetic foot infections. Antimicrobial therapy. *Infectious Disease Clinics of North America*. 9(1): 143-161.
- Hartemann-Heurtier, A., Robert, J., Jacqueminet, S., Ha, Van G., Golmard, J. L., Jarlier, V., and Grimaldi, A. (2004). Diabetic foot ulcer and multidrug-resistant organisms: risk factors and impact. *Diabetic Medicine*. 21: 710-715.
- Islam, S., Cawich, S. O., Budhoooram, S., Harnarayan, P., Mahabir, V., Ramsewak, S., and Naraynsingh, V. (2013). Microbial profile of diabetic foot infections in Trinidad and Tobago. *Primary Care in Diabetes*. 7(4):303-308.
- Khanolkar, M. P., Bain, S. C. and Stephens, J. W. (2008). The diabetic foot. *QJM*. 101(9): 685-695.
- Korzon-Burakowska, A. and Dziemidok, P. (2011). Diabetic foot - the need for comprehensive multidisciplinary approach. *Annals of Agriculture and Environment Medicine*. 18(2): 314.
- Kuri, M. P., Vargas, C. M., Zárate, H. M. y Juárez, V. P. (2001). *La Diabetes en México*. Dirección General de Epidemiología, Secretaría de salud.
- Lerman-Garber, I. and Rull-Rodrigo, J. A. (2001). Epidemiology of diabetes in Mexico and associated coronary risk factors. *The Israel Medical Association Journal*. 3(5): 369-373.
- Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Deery, H. G., Embil, J. M., Joseph, W. S., Karchmer, A. W., LeFrock, J. L., Lew, D. P., Mader, J. T., Norden, C., and Tan, J. S. (2004). Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 7(1): 212S-238S.
- Martínez-Gómez, D. A., Ramírez-Almagro, C., Campillo-Soto, A., Morales-Cuenca, G., Pagán-Ortiz, J. y Aguayo-Albasini, J. L. (2009). Infecciones del pie diabético. Prevalencia de los distintos microorganismos y sensibilidad a los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27(6): 317-321.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twelfth International Standard*. M100-S12, vol. 22, no. 1. Villanova, PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Omar, N. S., El-Nahas, M. R., and Gray, J. (2008). Novel antibiotics for the management of diabetic foot infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 31(5): 411-419.
- Raja, N. S. (2007). Microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Malaysia: a retrospective study of 194 cases. *Journal of Microbiology and Immunology of Infections*. 40(1): 39-44.
- Ramakant, P., Verma, A. K., Misra, R., Prasad, K. N., Chand, G., Mishra, A., Agarwal, G., Agarwal, A., and Mishra, S. K. (2011). Changing microbiological profile of pathogenic bacteria in diabetic foot infections: time for a rethink on which empirical therapy to choose? *Diabetologia*. 54(1):58-64.
- Rao, N. and Lipsky, B. A. (2007). Optimizing antimicrobial therapy in diabetic foot infections. *Drugs*. 67(2):195-214.
- Ricco, J. B., Thanh Phong, L., Schneider, F., Illuminati, G., Belmonte, R., Valagier, A., Régnault, and De La Mothe G. (2013). The diabetic foot: a review. *Journal Cardiovascular Surgery*. 54(6):755-762.
- Richard, J. L., Sotto, A., and Lavigne, J. P. (2011). New insights in diabetic foot infection. *World Journal of Diabetes*. 15:2(2):24-32.
- Rooh-Ul-Muqim, Ahmedn M., and Griffin, S. (2003). Evaluation and management of diabetic foot according to Wagner's classification. A study of 100 cases. *Journal of Ayub Medical Collage Abbottabad*. 15(3): 39-42.
- Sagray, B. A., Malhotra, S., and Steinberg, J. S. (2014). Current therapies for diabetic foot infections and osteomyelitis. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*. 31(1): 57-70.
- Secretaría de Salud (2001). Estadística de egresos hospitalarios de la Secretaría de Salud 2000. *Salud Pública Mexicana*. 43: 494-510.
- Shankar, E. M., Mohan, V., Premalatha, G., Srinivasan, R. S., and Usha, A. R. (2005). Bacterial etiology of diabetic foot infections in South India. *European Journal of Internal Medicine*. 16(8):567-570.
- Tascini, C., Piaggi, A., Tagliaferri, E., Iacopi, E., Fondelli, S., Tedeschi, A., Rizzo, L., Leonildi, A., and Menichetti, F. (2011). Microbiology at first visit of moderate-to-severe diabetic foot infection with antimicrobial activity and a survey of quinolone monotherapy. *Diabetes research and clinical practice*. 94(1): 133-139.
- Tentolouris, N., Petrikos, G., Vallianou, N., Zachos, C., Daikos, G. L., Tsapogas, P., Markou, G. and Katsilambros, N. (2006). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in infected and uninfected diabetic foot ulcers. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 12(1): 178-196.
- Varaiya, A. Y., Dogra, J. D., Kulkarni, M. H., and Bhalekar, P. N. (2009). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in diabetic foot infections. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 51(3):370-372.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., and King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 27(1): 1047-1053.