

112387

Autorizada por la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM para difundir en formato electrónico e impreso.  
Autor: Leoncio Peregrino Bejarano  
FECHA: 2-10-03  
FIRMA: [Signature]

[Signature]

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE POSGRADO  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL POR *Klebsiella pneumoniae* PRODUCTORAS Y NO PRODUCTORAS DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEEs). FACTORES ASOCIADOS A FALLA TERAPÉUTICA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIÓN POR *K. pneumoniae*.**

I. M. S. S. C. M. N.  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA  
OCT. 1 2003  
D. T. O. DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

[Signature]

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN  
INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA  
DR. LEONCIO PEREGRINO BEJARANO

TUTOR: DRA. MARÍA GUADALUPE MIRANDA NOVALES  
ASESOR: DR. GUSTAVO SÁNCHEZ HUERTA.

[Signature]



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
ANTECEDENTES	5
OBJETIVOS	11
MATERIAL Y MÉTODOS	12
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS	31

## Resumen

**Introducción:** *Klebsiella pneumoniae* es un patógeno nosocomial aislado frecuentemente en pacientes inmunocomprometidos, con enfermedades crónicas y en recién nacidos. Uno de los problemas principales ha sido la existencia de BLEEs, que podría influir en la respuesta terapéutica. La frecuencia de estas enzimas es muy elevada en cepas del Hospital de Pediatría. **Objetivos:** 1. Describir las características clínicas de los pacientes con infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs y no productoras de BLEEs. 2. Identificar los factores de riesgo asociados a falla terapéutica en pacientes con infección nosocomial por *K. pneumoniae*. **Material y métodos. Diseño:** Objetivo 1. Transversal descriptivo. Objetivo 2. Casos y controles. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de infección nosocomial por *K. pneumoniae* hospitalizados del período comprendido de septiembre 2001 a agosto 2003. Los casos fueron los pacientes con infección por *K.pneumoniae* con falla terapéutica y los controles, pacientes con infección por *K.pneumoniae* con respuesta favorable al tratamiento. Se realizó la confirmación fenotípica de BLEEs en el laboratorio con la técnica de microdilución en caldo. Análisis estadístico: estadística descriptiva, cálculo de intervalos de confianza 95%, razones de momios, chi-cuadrada de Mantel-Haenzel y prueba exacta de Fisher. **Resultados.** Durante el periodo de estudio se incluyeron 99 episodios de infección por *K.pneumoniae*, de ellas 61 fueron productoras de BLEEs y 38 no. Las características de los pacientes en ambos grupos fueron similares. La mayoría de ellos eran lactantes (md edad 5 meses), hospitalizados en unidades de terapia intensiva, con inmunocompromiso y

comorbilidades subyacentes. La letalidad fue mayor en el grupo BLEEs positivas (19.6% vs 5.2%  $p=0.003$ ). El esquema inicial de tratamiento fue cefotaxima/amikacina en 63% de los pacientes, el cual tuvo que modificarse en 55% del grupo BLEEs positivas y 27% en el grupo BLEEs negativas ( $p= 0.01$ ). Con relación a los factores asociados a falla terapéutica se encontró en el análisis univariado que la infección con una cepa BLEEs positiva, el haber recibido un tratamiento inadecuado, y el estado crítico del paciente se asociaron significativamente a falla terapéutica. **Conclusiones:** En conclusión, para un paciente que adquiera una infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae*, durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos, y que haya recibido esquemas antimicrobianos previos, ante la elevada probabilidad de tener una cepa productora de BLEEs, deberá recibir como esquema inicial, un carbapenémico (imipenem o meropenem) más amikacina, o una quinolona más amikacina, y posteriormente al tener el resultado, podría modificarse al mejor tratamiento disponible.

## Abstract.

**Introduction:** *Klebsiella pneumoniae* is a nosocomial pathogen, frequently identified in immunocompromised patients, with chronic diseases and in newborns. One of the main problems is the occurrence of ESBLs (extended-spectrum beta-lactamases), that can interfere with the therapeutic response. The frequency of these enzymes is unusually high in strains isolated in the Pediatric hospital.

**Objective:** 1. To describe the clinical characteristics of the patients with nosocomial infection due to ESBL-producing and ESBL-non producing *K. pneumoniae* 2. Identify risk factors associated to treatment failure in patients with nosocomial infection due *K. pneumoniae*. **Materials and methods. Design:**

Objective 1. Cross-sectional study. Objective 2. Case and control study. Patients with nosocomial infection due to *K. pneumoniae* hospitalized during the period between September 2001 to August 2003. Cases: patients with infection due to *K.pneumoniae* with therapeutic failure and controls: patients with infection due to *K.pneumoniae* with adequate treatment response. Phenotypic confirmation of ESBL-producing strains was performed with the microdilution broth method. Statistical analysis. Descriptive statistics, calculating 95% confidence interval, odds ratio, Mantel-Haenzel square-chi and exact Fisher test. **Results.** During the study period 99 episodes of nosocomial infection were included, of them 61 corresponded to ESBL-producing strains and 38 to ESBL-non producing strains. Demographic characteristics of patients in both groups were similar. Most of them were infants, (median of age 5 months), hospitalized in intensive care units, immunocompromised and with underlying conditions. Letality was higher in the ESBL-producing strains group (19.6% vs 5.2% p=0.003). Initial therapy regimen

was ceftoxime/amikacin in 63% of the patients, and was modified in 55% of the patients in the ESBL-producing strains group and in 27% of the ESBL-non producing strains group ( $p= 0.01$ ). With respect to the risk factors associated to therapeutic failure, the bivariate analysis showed that infection with a ESBL-producing strains, in a critical patient, and with inadequate antimicrobial regimen were significantly associated to therapeutic failure. **Conclusions:** if a patient acquires a nosocomial infection due to *Klebsiella pneumoniae*, during the hospitalization in an intensive care unit, and has previously received antimicrobial treatments, due to the high possibility of having a ESBL-producing strain, the initial antimicrobial regimen must include a carbapenem (imipenem or meropenem) plus amikacin or a quinolone plus amikacina, and with the susceptibility test results, modify to the best available treatment.

## ANTECEDENTES.

Las infecciones nosocomiales son complicaciones que pueden presentar todos los pacientes internados en las unidades de atención médica.<sup>1</sup> La frecuencia varía de acuerdo al tipo de hospital y condición subyacente, las tasas reportadas en diferentes hospitales de México van de 2.5 a 18.9 infecciones por 100 egresos.<sup>2</sup> En hospitales pediátricos las tasas son más elevadas, sobre todo en recién nacidos y aquellos hospitalizados en unidades de cuidados intensivos, asociándose además a una tasa de mortalidad de 10.5 a 11.7 por cada 100 infecciones.<sup>3,4</sup> La etiología es diversa y las fuentes de infección son múltiples. *Klebsiella pneumoniae* es uno de los patógenos bacterianos que se identifica con mayor frecuencia, sobre todo en pacientes inmunocomprometidos, con enfermedades crónicas y en recién nacidos.<sup>5</sup> Esta bacteria es causante de bacteremias nosocomiales endémicas y en menor frecuencia de brotes intrahospitalarios,<sup>6</sup> sobre todo en unidades de cuidados intensivos, asociándose a una mortalidad elevada (25-55%).<sup>7-8</sup>

Recientemente ha cobrado mayor importancia debido a la descripción de cepas de *K. pneumoniae* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs), que se relacionan aparentemente con una morbilidad y mortalidad mayor que las infecciones por cepas sin esta característica.<sup>9-10</sup> Su aparición se ha atribuido al uso generalizado de antimicrobianos de amplio espectro, principalmente cefalosporinas de tercera generación.<sup>11-12</sup> La mayoría de estas

cepas se han encontrado en unidades de cuidados intensivos, unidades de oncología y unidades de pacientes geriátricos o crónicos.<sup>13-14</sup>

La producción de beta-lactamasas es uno de los principales mecanismos de resistencia contra los beta-lactámicos, causando la destrucción del anillo beta-lactámico. Estas enzimas se clasifican de acuerdo a aspectos funcionales, y a la secuencia de nucleótidos en los genes que las codifican. TEM-1 y SHV-1 son las enzimas constitutivas en las enterobacterias, confieren resistencia a ampicilina y cefalosporinas de bajo espectro. Como un ejemplo clásico de mutación y selección de determinantes de resistencia, al incrementar su actividad, estas enzimas se denominaron de espectro extendido (BLEEs), por inhibir cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos. La primera BLEEs contra cefalosporinas de tercera generación se identificó en 1983; otras enzimas como ampC en exceso, pudieran inhibir estos fármacos, y para distinguir las de la presencia de BLEEs, se requiere la inhibición de la actividad de la enzima al adicionar ácido clavulánico. Las BLEEs se encuentran con mayor frecuencia en *K. pneumoniae* debido a que la bacteria sobrevive por mayor tiempo en superficies y piel, lo cual favorece la diseminación de varias cepas epidémicas, plásmidos y genes de resistencia; también se han encontrado en *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, y *Salmonella* spp. Las mutaciones puntuales que resultan en la sustitución de 1 a 4 aminoácidos en los genes *bla*<sub>TEM</sub> y *bla*<sub>SHV</sub> inducen cambios en el sitio activo de la enzima, ampliando así su espectro. Hasta la fecha se han descrito 120 BLEEs, y recientemente algunas que no están relacionadas con TEM y SHV.<sup>15,16</sup>

Debido a la existencia de estas BLEES, las guías del NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) recomiendan que se investigue su presencia en todos los aislamientos de *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, y *E. coli*, que tengan concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)  $\geq 2$ mg/L para cefpodoxima, ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona. Si el resultado es positivo, indica que la bacteria cuenta con el mecanismo de resistencia contra estos fármacos y no deberían utilizarse en el tratamiento del paciente, a pesar de ser susceptible *in vitro* a alguno de ellos. Se han desarrollado varias pruebas para confirmar su presencia (ensayo de difusión con doble disco, tiras E, sistemas automatizados). En cada prueba, el decremento en la concentración mínima inhibitoria de la oximino cefalosporina o monobactámico al agregar el ácido clavulánico sugiere la presencia de BLEEs. La detección de BLEEs puede ser difícil, ya que hay falsos positivos y negativos en todos los ensayos. Actualmente una de las pruebas de escrutinio fenotípico de mayor confiabilidad es la microdilución en caldo, para determinar la CMI para el beta-lactámico antes y después de agregar ácido clavulánico, y que es accesible a laboratorios de rutina. Con fines de investigación, la detección de los genes que codifican para BLEES se ha efectuado con diversas técnicas de biología molecular. Además de codificar para BLEEs, en estos genes se encuentra habitualmente información que le confiere a la bacteria la capacidad de ser resistente a otros antimicrobianos, por ejemplo aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclinas.<sup>17-20</sup>

En México se han realizado pocos estudios que abordan el problema de las cepas de enterobacterias productoras de BLEEs. En el primero de ellos<sup>21</sup>, Silva y cols.

encontraron enzimas derivadas de la clase TEM y SHV, y otra diferente, generalmente codificadas en plásmidos. Las cepas de *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *E.coli* fueron colectadas de tres hospitales de tercer nivel de atención.

En nuestro hospital se han analizado en estudios previos las infecciones por *K.pneumoniae*, inicialmente debido a un incremento en el número de aislamientos durante los años 1996 y 1997,<sup>22</sup> cuando se demostró mediante electroforesis en gel por campos pulsados (PFGE) que una clona endémica (clona A) era responsable de un 47% (91/190) de las infecciones, y que el predominio de esta clona se ubicó en pacientes de la unidad de cuidados intensivos neonatales y lactantes (68%). La resistencia en estos aislamientos fue elevada, ampicilina 99%, gentamicina 80%, amikacina 60%, ceftazidima 63%, cefotaxima 30%, ceftizoxima 30%, imipenem y meropenem 1%, norfloxacin 5% y cefepime 20%. Para detectar la existencia de BLEEs en estas cepas, se tomó una muestra de 50 de ellas, encontrándose que la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación en los aislamientos clínicos de *K.pneumoniae* del hospital se debía a la producción de  $\beta$ -lactamasas SHV-2 y SHV-5, que se encuentran codificadas en un plásmido autotransferible de 170 kb, y que la diseminación de esta resistencia era de origen clonal, por el predominio de cepas de la clona A.<sup>23</sup>

En un segundo estudio realizado con 80 cepas durante 1999 y 2000 se encontró que el 76% de las cepas identificadas como causantes de infección nosocomial

eran resistentes a ceftazidima, y que la resistencia estaba codificada en un plásmido de 84kb, la BLEE corresponde a SHV-5. Se demostró que hubo gran diversidad clonal durante el periodo de estudio, a diferencia de lo observado en cepas de 1996 y 1997.<sup>24</sup> Estas frecuencias de detección de BLEEs se encuentran entre las más elevadas reportadas en la literatura mundial, una explicación tentativa es que en el hospital, el esquema empírico utilizado para pacientes con fiebre y neutropenia desde 1992 incluye ceftazidima. El uso generalizado de cefalosporinas de tercera generación es un factor determinante en la generación de cepas productoras de BLEEs, posterior a cuatro años del uso de ceftazidima en el hospital se ve el incremento en el porcentaje de resistencia (del 26% a 40%), esto aunado a la identificación de una clona epidémica en más de la mitad de los pacientes con infección nosocomial durante 1996 y 97, parece haber contribuido notablemente a la diseminación de los plásmidos y permanencia de los mismos en las cepas hospitalarias.

Habitualmente en la práctica clínica el médico realiza toma de decisiones con el reporte *in vitro* de la sensibilidad a cefotaxima, que es la cefalosporina de 3ª generación habitualmente utilizada en combinación con amikacina, para el tratamiento de las infecciones por *K. Pneumoniae*. Al no reportarse rutinariamente la presencia de BLEEs por parte del laboratorio clínico, el médico pudiera obviar la recomendación de no utilizar beta-lactámicos ante aquellas cepas con CMIs mayores a 2 mg/L a ceftazidima. Esto puede repercutir tanto en la permanencia de cepas BLEEs positivas que estén transfiriendo la información a otras enterobacterias y también en la respuesta terapéutica del paciente, si esta

cepa expresara la resistencia a cefotaxima durante el tratamiento, condicionando falla terapéutica.

Los factores de riesgo asociados a la adquisición de cepas productoras de BLEEs ha sido motivo de varios estudios en la última década.<sup>24-26</sup> Entre los factores mencionados se encuentran las condiciones del paciente (estado de gravedad, enfermedad subyacente, inmunocompromiso), las relacionadas al entorno hospitalario (área de hospitalización, días de estancia, tratamientos previos con antimicrobianos de amplio espectro) y las características de las cepas. Algunos investigadores además, han tratado de establecer una posible relación entre un tratamiento antimicrobiano inadecuado y un desenlace fatal. Siendo la respuesta al tratamiento antimicrobiano multifactorial, y debido a los escasos estudios en la población pediátrica, aún existen dudas sobre cual sería el mejor tratamiento para las infecciones por *K.pneumoniae* productoras de BLEEs.

Ya que *K. pneumoniae* se encuentra dentro de los primeros cinco agentes etiológicos nosocomiales más frecuentes en el hospital de Pediatría, es necesario profundizar en el comportamiento y desenlace de las infecciones por estos microorganismos, con la finalidad de proponer estrategias para su control y prevención y optimizar el tratamiento.

**OBJETIVOS:**

1. Describir las características clínicas de los pacientes con infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs y no productoras de BLEEs.
2. Identificar los factores de riesgo asociados a falla terapéutica en pacientes con infección nosocomial por *K. pneumoniae*.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

**Diseño:** objetivo 1, transversal descriptivo, objetivo 2. casos y controles.

**Lugar donde se realizó el estudio:**

Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, centro hospitalario de tercer nivel de atención. El estudio fue aprobado por el Comité Local de Investigación.

**Universo de estudio:** todos los pacientes que ingresaron al hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional SXXI, que desarrollaron infección por *K.pneumoniae* durante el periodo comprendido de septiembre 2001 a agosto 2003.

**Criterios de Inclusión:** pacientes que desarrollaron infección nosocomial por *K.pneumoniae* productoras de BLEEs y no productoras de BLEEs. **No inclusión:** pacientes que desarrollaron infección por *K.pneumoniae* adquirida en otro hospital.

**Exclusión:** aquellos pacientes en los cuales no se encuentre en expediente clínico o bien los datos anotados sean insuficientes para el análisis.

### Definición de las variables:

- Infecciones causadas por *K. pneumoniae*.
  1. Bacteremia asociada a CVC: aislamiento de *K. pneumoniae* en hemocultivo central y periférico, en un paciente con fiebre, hipotermia o distermias, con o sin datos de respuesta inflamatoria sistémica. Cuantitativa nominal.
  2. Bacteremia y/o sepsis por *K. pneumoniae*: aislamiento de *K.pneumoniae* en hemocultivo periférico, en un paciente con fiebre, hipotermia o distermias, con o sin datos de respuesta inflamatoria sistémica. Cuantitativa nominal.
  3. Ependimitis asociada a catéter de derivación ventriculoperitoneal o de ventriculostomía (CDV): desarrollo de *K.pneumoniae* en cultivo de líquido cefalorraquídeo. Cuantitativa nominal.
  4. Meningitis por *K.pneumoniae*. Aislamiento del microorganismo en líquido cefalorraquídeo, acompañado de signos meníngeos. Cuantitativa nominal.
  5. Neumonía con derrame. Aislamiento del microorganismo en líquido pleural, en un paciente con datos clínicos e imagen radiológica de neumonía. Cuantitativa nominal.
  
- Aspectos microbiológicos.
  1. *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEEs: cepa de *K.pneumoniae* que requiere una concentración mínima inhibitoria de ceftazidima  $\geq 2$  mg/L, y que al agregar ácido clavulánico, la concentración mínima inhibitoria disminuye más

de 3 veces la inicial.<sup>29</sup> Cuantitativa nominal dicotómica. Categoría: productora de BLEEs, no productora de BLEEs.

2. *Klebsiella pneumoniae* resistente: cepa de *K.pneumoniae* que requiere una concentración mínima inhibitoria por arriba de los valores de corte recomendados por la NCCLS para considerarla sensible.<sup>29</sup> Cuantitativa nominal dicotómica. Categoría: resistente, sensible.

• **Terapéutica y desenlace:**

Tratamiento antimicrobiano adecuado: aquel esquema que incluya fármacos con actividad contra *Klebsiella pneumoniae* siempre y cuando se reporte sensible *in vitro* por lo menos a uno de los mismos. Ej. Cefotaxima-amikacina, ciprofloxacina-amikacina, imipenem-amikacina, meropenem-amikacina, cefepime-amikacina. Para las cepas BLEEs positivas excluye cefotaxima y ceftazidima. Cualitativa nominal dicotómica. Categoría: si, no.

1. Falla al tratamiento antimicrobiano: Cualitativa nominal. Categorías: si, no.

▪ En pacientes con ependimitis: persistencia de cultivos positivos para el mismo microorganismo posterior a 72 h de tratamiento antimicrobiano adecuado, independientemente de los datos clínicos.

▪ En pacientes con peritonitis asociada a diálisis peritoneal: persistencia de cultivos positivos para el mismo microorganismo, o bien citológico de líquido de diálisis con más de 100 células/mm<sup>3</sup> posterior a las 72 h de tratamiento antimicrobiano adecuado independientemente de los datos clínicos.

- En pacientes con bacteremia y/o sepsis asociada a catéter: progresión de la infección o falta de mejoría de acuerdo a datos clínicos presentes cuando se estableció el diagnóstico y/o persistencia de cultivos positivos para el mismo microorganismo posterior a 72 h de tratamiento antimicrobiano adecuado.
- En pacientes con neumonía: persistencia de los datos clínicos que se encontraron al inicio del tratamiento posterior a 72 h de tratamiento antimicrobiano adecuado.
- Muerte: relacionada a la infección por *K.pneumoniae* , de acuerdo a lo registrado en el certificado de defunción.
- Curación: resolución total de los signos y síntomas de infección y cultivos de control negativos al finalizar el esquema antimicrobiano.

#### **DEFINICIÓN DE CASO Y CONTROL.**

Para el análisis los casos se consideraron aquellos pacientes con infección por *K.pneumoniae* que presentaron falla terapéutica, y los controles los pacientes con infección por *K.pneumoniae* que no presentaron falla terapéutica.

#### **Variables independientes.**

1. Leucemia aguda.
2. Inmunocompromiso.
3. Condición clínica del paciente.
4. Tratamiento antimicrobiano adecuado.
5. Neumonía.

6. Cirugía previa.
7. Area de hospitalización.
8. Antimicrobianos previos de amplio espectro.

**Variable dependiente.**

1. Falla terapéutica.

**TAMAÑO DE MUESTRA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Se realizó el cálculo de tamaño de muestra con el programa EPI-INFO 2000, con un nivel de confianza (1-alpha) de 90%, una diferencia esperada entre ambos grupos de 20% (con relación al tratamiento adecuado en uno y otro grupo), y un poder de la prueba de 80%, obteniéndose un total de 54 pacientes para cada grupo (total 108).

Se utilizó estadística descriptiva para la presentación de los datos demográficos, para estadística inferencial se calcularon Intervalos de confianza 95%, razones de momios, y la diferencia mediante chi-cuadrada de Mantel-Haenzel y prueba exacta de Fisher cuando el número en cada casilla fue menor a 5.

### **Descripción general del estudio.**

Se revisaron las libretas del laboratorio clínico para obtener la información de todas las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de pacientes hospitalizados durante el periodo de estudio, se recabó la información de los expedientes clínicos, obteniéndose de la historia clínica, las notas médicas del ingreso correspondientes al episodio de la infección por *K. pneumoniae*, los registros de enfermería y los resultados de los análisis de laboratorio y gabinete. La respuesta terapéutica se registró de acuerdo a la opinión de los médicos tratantes. El desenlace se registró de acuerdo a lo anotado en la nota de egreso y defunción en su caso. Se diseñó una base de datos en el programa Microsoft Excel (Office v. 2000) para el vaciamiento de los registros. Las cepas con CMI de ceftazidima  $\geq 2$  mg/L fueron analizadas adicionando acido-clavulánico para corroborar la producción de BLEEs.

### **ASPECTOS ÉTICOS.**

Por tratarse de un estudio retrospectivo de revisión de expedientes clínicos, corresponde a investigación de riesgo mínimo, de acuerdo a la Ley General de Salud, y no requiere consentimiento informado por parte de los padres y/o tutores. La información recolectada será manejada en forma confidencial, evitando el uso de identificadores (nombre completo del paciente), y será analizada únicamente por los investigadores participantes.

## RESULTADOS.

Durante el periodo de estudio se incluyeron un total de 120 episodios de infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae*, de los cuales se obtuvieron datos suficientes para el análisis de 99 expedientes. De ellos, 61 correspondieron a infecciones por *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs y 38 a *K.pneumoniae* no productoras de BLEEs. Solamente se registró un episodio por paciente. Los episodios predominaron en pacientes de sexo masculino, con una relación de 1.6:1 contra los pacientes de sexo femenino, el 45% de ellos adquirió la infección durante su hospitalización en un servicio de terapia intensiva (Terapia intensiva pediátrica o Terapia intensiva neonatal), el 100% de los episodios se presentaron en pacientes con alguna enfermedad subyacente (16% de los pacientes tenían más de una comorbilidad ) y el 77% eran inmunocomprometidos. El intervalo para la edad fue de 6 días hasta 15 años 10 meses (mediana 5 meses). Las características demográficas fueron muy similares en los dos grupos (Cuadro 1). Los pacientes en el grupo de episodios de infección por cepas productoras de BLEEs eran de menor edad, se ubicaron más frecuentemente en áreas de terapia intensiva (unidad de cuidados intensivos neonatales), y con mayor frecuencia padecían una enfermedad gastrointestinal (malformaciones de tubo digestivo, insuficiencia hepática, síndrome de intestino corto, entre otras). No hubo predominio en pacientes con enfermedades hemato-oncológicas.

**Cuadro 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes con infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs y no productoras de BLEEs.**

Característica	Grupo BLEEs positiva 61	Grupo BLEEs negativa 38	Valor de p*
Sexo (no. M:no. F)	35:26	26:12	0.35
Edad en meses (md)	4	12	0.03
Inmunocompromiso (%)	78.6	76	0.77
<b>Enfermedad subyacente</b> (n)			
Leucemia aguda	7	7	0.38
Tumor sólido	5	5	0.39
E.neurológica	9	3	0.42
E.nefrológica	2	4	0.07
Cardiopatía congénita.	16	10	0.85
E.pulmonar	5	2	0.56
E. gastrointestinal	19	8	0.03
Otras	5	5	0.39
Previa estancia en terapia intensiva	50.8%	36%	0.04

El tipo de infección más frecuente fue la bacteremia asociada a catéter y en segundo lugar la bacteremia primaria. Dieciséis pacientes tuvieron además de bacteremia, focalización en otro sitio (neumonía, sistema nervioso central, abdomen). Siete pacientes tuvieron una infección focalizada, sin bacteremia. No hubo diferencia en cuanto a la presentación clínica de la infección en ambos grupos. Si bien el porcentaje de pacientes que desarrollaron una respuesta inflamatoria sistémica y choque durante el episodio fue similar en ambos grupos, la letalidad asociada a la infección fue significativamente mayor en los pacientes con *K.pneumoniae* productoras de BLEEs (cuadro 2). Además de la hospitalización en áreas de cuidado intensivo, los factores de riesgo asociados a la presencia de infección, fueron la existencia de un dispositivo intravascular, con mayor frecuencia en el grupo BLEEs positiva, y el antecedente de haber sido sometidos a un procedimiento quirúrgico durante la presente hospitalización, en la mitad de los pacientes de ambos grupos, de los cuales 20-30% correspondieron a cirugía de abdomen.

**Cuadro 2. Características de la infección, desenlace e intervenciones en pacientes con cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs y no productoras de BLEEs.**

Tipo de infección	Grupo BLEEs positiva 61	Grupo BLEEs negativa 38	Valor de p*
Bacteremia asociada a catéter	33(54%)	20(52.6%)	0.89
Bacteremia	24(39%)	15(39.4%)	0.88
Bacteremia más otro sitio de infección	9(14.7%)	7(18.4%)	0.67
Focalización sin bacteremia	4(6.5%)	3(7.8%)	0.75
Neumonía c/derrame	1	-	
Peritonitis	-	2	
Ependimitis	2	-	
Artritis séptica	1	1	
<b>SRIS* Choque</b>	46(75%) 17(27.8%)	26(68%) 10(26.3%)	0.56 0.87
<b>Defunciones -asociadas a la infección</b>	12(19.6%) 11(18%)	2(5.2%) 2	0.003
Dispositivo IV	44(72%)	20(52.6%)	0.04
Cirugía previa	31(50.8%)	20(52%)	0.89
Cx.abdominal	14(22.9%)	12(31%)	0.07

SRIS\*=síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

Los pacientes en el grupo de *K.pneumoniae* productoras de BLEEs habían recibido al menos un esquema antimicrobiano en los 15 días previos a la presentación clínica de la infección. El promedio de esquemas por paciente fue de 1.3, siendo el esquema más utilizado cefotaxima más amikacina (44%). En comparación, el 84% de los pacientes en el grupo de cepas no productoras de BLEEs habían recibido esquemas antimicrobianos previos. De los 61 pacientes en el grupo BLEEs positivas, 56 recibieron tratamiento antimicrobiano para el episodio actual, en cinco no se administró tratamiento, ya que la infección se limitó al retirar el catéter intravascular, sin embargo 2 fueron ingresados nuevamente al hospital en los siguientes 30 días y fallecieron con diagnóstico de sepsis sin documentarse la etiología.

El esquema inicial preferido fue cefotaxima más amikacina, independientemente de la presencia de BLEEs, y del antecedente de haber recibido otros esquemas antimicrobianos (cuadro 3). Del grupo BLEEs positiva en 31/56 (55%) fue necesario modificar el esquema antimicrobiano inicial debido a falla terapéutica. Del grupo BLEEs negativas, 36 pacientes recibieron tratamiento antimicrobiano, en 10/36 fue necesario modificarlo debido a falla. El esquema habitualmente utilizado en casos de falla fue imipenem/amikacina en la mayoría de los pacientes (63.4%), otros esquemas incluyeron ciprofloxacina/amikacina, imipenem/ciprofloxacina y cefepime/amikacina.

**Cuadro 3. Esquemas antimicrobianos previos y terapéutica empleada.**

Terapéutica antimicrobiana	Grupo BLEEs positiva 61	Grupo BLEEs negativa 38	Valor de p*
<b>No. esquemas previos</b>	70 (1.3/pac - >100%)	32(84%)	0.04
Cefotaxima/amikacina	27(44.2%)	15(39.4%)	
Dicloxacilina/amikacina	16(26.2%)	3(7.8%)	
Ampicilina/amikacina	14(22.9%)	3(7.8%)	
Cefalotina/amikacina	13(21.3%)	5(13.1%)	
Diversos*	9(14.7%)	6(15.7%)	
<b>Esquema inicial para el episodio actual</b>	56	36	
Cefotaxima/amikacina	38(67.8%)	20(55%)	0.23
Imipenem/amikacina	10(17.8%)	6(16.6%)	0.69
Otros+	8(14%)	10(27.7%)	0.04
<b>Modificación del esquema inicial por falla</b>	31(55%)	10(27.7%)	0.01

Diversos\*= incluye imipenem/amikacina, vancomicina/amikacina, dicloxacilina/cloranfenicol, ceftazidima/amikacina.

Otros+= incluye ceftazidima/amikacina, ciprofloxacina/amikacina, imipenem/ciprofloxacina, cefotaxima.

## ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS.

En total se recuperaron 103 cepas, de estas 92 se aislaron de sangre, cuatro de LCR, 4 de líquido de diálisis peritoneal, una de líquido pleural y dos de líquido articular. Como se mencionó anteriormente, algunos pacientes tuvieron más de un aislamiento (p.ej. sangre y LCR).

La resistencia fue más elevada en las cepas BLEEs positivas, siendo una gran parte de ellas multiresistentes (resistentes a amikacina, cefalosporinas norfloxacin. Las cepas BLEEs negativas fueron sensibles a todos los beta-lactámicos, con excepción de dos cepas que fueron resistentes a imipenem, pero sensibles a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y a norfloxacin.

**Cuadro 4. Porcentajes de resistencia antimicrobiana en 103 cepas de *Klebsiella pneumoniae***

Antimicrobiano	BLEEs Positivas 64	BLEES Negativas 39	Total 103
Amikacina	84.3%	20.5%	60.1%
Cefotaxima	37.5%	0%	23.3%
Ceftazidima	100%	0%	62.1%
Cefepima	23.4%	0%	14.5%
Imipenem	3.2%	5.1%	3.8%
Meropenem	1.5%	0%	0.9%
Norfloxacin	9.3%	0%	5.8%

Para corroborar fenotípicamente la presencia de BLEEs, se realizó el ensayo de microdilución en placa, en el cual se encontró que el 100% de las cepas resistentes a ceftazidima fueron positivas al adicionar el ácido clavulánico. La CMI90 para estas cepas fue  $\geq 64$  mg/L. Se seleccionaron además aquellas cepas resistentes a ceftazidima, pero sensibles a cefotaxima (39 cepas), y se probaron para sensibilidad a piperacilina sola y combinada con tazobactam, todas las cepas fueron resistentes, con una CMI90  $\geq 512$  mg/L, y a la combinación piperacilina/tazobactam  $\geq 512/4$  mg/L, la CMI no se modificó al adicionar el tazobactam en ninguna de ellas.

#### **Respuesta terapéutica y desenlace.**

Los 92 pacientes que recibieron tratamiento antimicrobiano fueron evaluables para respuesta terapéutica, ya que recibieron al menos 48 h del esquema inicial. El tratamiento antimicrobiano se consideró adecuado cuando el microorganismo era sensible *in vitro* al menos a uno de los fármacos utilizados, o bien si la cepa era BLEEs positiva, se hubiera indicado un carbapenémico, ciprofloxacina o cefepima. Los factores significativamente asociados a falla terapéutica en el análisis univariado fueron el estado crítico del paciente, la infección por una cepa

productora de BLEEs, y el tratamiento antimicrobiano inadecuado (cuadro 5), con mayor riesgo para este último, y con riesgo mayor a 1 para inmunocompromiso, cirugía previa, hospitalización en terapia intensiva y esquema antimicrobiano previo, sin alcanzar significancia estadística.

La leucemia aguda como enfermedad subyacente y neumonía no se asociaron como factores de riesgo.

**Cuadro 5. Análisis univariado de los factores asociados a falla terapéutica.**

Factor	OR	Intervalo de confianza 95%	Valor de p
Inmunocompromiso	2.09	0.65-6.93	0.17
Estado crítico	5.34	1.82-16.11	0.0004
Neumonía	0.34	0.05-1.88	0.16
Leucemia aguda	0.5	0.12-2.01	0.28
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLEEs positiva	3.22	1.20-8.70	0.009
Tratamiento inadecuado	6.95	2.43-20.47	0.00003
Cirugía previa	1.58	0.63-3.95	0.28
Esquema antimicrobiano previo de amplio espectro	2.06	0.81-5.26	0.09
Hospitalización en terapia intensiva	1.77	0.71-4.45	0.17

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

Desde las primeras descripciones de brotes asociados a *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs se han propuesto diferentes alternativas terapéuticas para estos microorganismos, con la finalidad de obtener la mejor respuesta terapéutica, controlar la diseminación y al mismo tiempo evitar el sobreuso de antimicrobianos de espectro extendido.<sup>24-26</sup> Actualmente las recomendaciones favorecen el uso de carbapenémicos, desafortunadamente no existen ensayos clínicos controlados donde se demuestre la superioridad de los mismos, y algunos autores han cuestionado esta medida, ya que han surgido reportes de incremento en el número de infecciones por bacilos gram-negativos multirresistentes, como *Stenotrophomonas maltophilia* y *Acinetobacter baumannii*.<sup>26,27</sup>

Posterior al delineamiento de las poblaciones en riesgo para la adquisición de cepas productoras de BLEEs, que han sido consistentes en todos los estudios,<sup>5-9</sup> y a las descripciones de las características moleculares de los genes que codifican para estas beta-lactamasas en diferentes enterobacterias,<sup>14,15,18</sup> las publicaciones más recientes han tratado de evaluar el comportamiento clínico de las infecciones y el desenlace en los pacientes que reciben diferentes esquemas antimicrobianos,<sup>28-30</sup> todos ellos en situaciones diferentes a las epidémicas. En estos trabajos se destaca inicialmente una falla en los laboratorios de rutina para detectar e informar al clínico sobre la existencia de cepas productoras de BLEEs, y si bien en algunos de ellos no se ha observado una diferencia estadísticamente significativa a favor del tratamiento con fármacos diferentes a cefalosporinas de tercera generación, en

la mayoría, se describe un pronóstico desfavorable para aquellos pacientes infectados por una cepa productora de BLEEs.<sup>30</sup> Desde luego este pronóstico se ve influido por el tipo de población afectada (recién nacidos, pacientes hemato-oncológicos, trasplantados, en edad geriátrica).

Ante estas inquietudes, y la frecuencia de aislamiento de *K.pneumoniae* en el hospital, se realizó este primer estudio para tener un panorama general del comportamiento de estas infecciones en nuestros pacientes. Al igual que en otros estudios, la población afectada es principalmente la de pacientes recién nacidos y lactantes con enfermedades subyacentes, los que requieren cuidados intensivos, inmunocomprometidos y que son sometidos a cirugía.<sup>4,9,32</sup> En cuanto a la presentación clínica de las infecciones producidas por cepas de *K.pneumoniae* BLEEs positivas no se observa diferencia con aquellas producidas por cepas no productoras de BLEEs, incluso la respuesta del hospedero (SRIS y evolución a choque) es similar. Sin embargo, es notable la diferencia en cuanto a la letalidad, hecho que se ha destacado en la mayoría de los estudios.<sup>19,30,31</sup>

La detección de BLEEs no se efectúa actualmente en el laboratorio de rutina, la sensibilidad a ceftazidima no se incluye en el reporte de sensibilidad de enterobacterias, ya que de hecho, no se utiliza como alternativa terapéutica. Así estos pacientes podrían recibir tratamiento antimicrobiano inadecuado, al no solicitar la sensibilidad a ceftazidima y basándose solamente en la sensibilidad *in vitro* a cefotaxima, lo cual llevaría a elegir un esquema menos satisfactorio en un 60% de los casos. Las cepas BLEEs positivas, tienen además otros determinantes de resistencia, casi el 90% son resistentes a amikacina, 100% a piperacilina, 20% a cefepime y 9% a norfloxacin, por lo que al elegir un esquema

de cefotaxima más amikacina, el paciente podría estar recibiendo monoterapia, y si durante el tratamiento se induce la expresión de BLEEs, se esperaría una elevada frecuencia de falla terapéutica. Algunos autores han ido más allá tratando de evaluar una disminución en la letalidad cuando se administra carbapenémico dentro de los tres primeros días de diagnosticada la infección y al parecer, se disminuye hasta un 10%. Otro de los argumentos a favor del uso de carbapenémicos, es que una misma cepa puede producir diversos tipos de BLEEs, y que aún con CMI<sub>s</sub> dentro del rango para reportarse como sensibles ( $\geq 8$  mg/L),<sup>30</sup> los pacientes presentan falla al recibir tratamiento con cefalosporinas de amplio espectro.

En este estudio, el factor más relacionado a la presencia de falla terapéutica fue el recibir un esquema antimicrobiano inadecuado, aunado al mismo tratamiento encontramos factores asociados al hospedero: inmunocompromiso, estado crítico y hospitalización en un servicio de cuidados intensivos, los cuales reflejan la gravedad y complejidad de los individuos afectados por estas infecciones.

Las limitaciones de este estudio son la naturaleza retrospectiva del mismo, el no haber completado el tamaño de muestra calculado inicialmente, y una mayor proporción de infecciones debidas a *K.pneumoniae* productoras de BLEEs. Se planea continuar reuniendo pacientes, alcanzar el tamaño de muestra y posteriormente realizar análisis multivariado.

Aún así, se destacan varios aspectos importantes: 1. Existe una elevada frecuencia de bacteremias asociadas a catéter, lo cual habla de la potencial fuente de origen de la infección. 2. La frecuencia de cepas productoras de BLEEs se confirma como mayor al 60%. 3. La letalidad elevada a este tipo de infecciones,

aún es hospederos con similares características, refleja en estos casos, la relevancia de la participación de la bacteria en el desenlace desfavorable del paciente.

Se requiere de mayor información en la edad pediátrica para proponer un ensayo clínico controlado que conteste la pregunta sobre el mejor esquema terapéutico, que logre reducir la morbilidad y mortalidad, repercuta en la disminución de transferencia de resistencia a poblaciones bacterianas endémicas en los hospitales de tercer nivel de atención, y al mismo tiempo, no favorezca la selección de otras bacterias multirresistentes.

En conclusión, para un paciente que adquiriera una infección nosocomial por *Klebsiella pneumoniae*, durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos, y que haya recibido esquemas antimicrobianos previos, ante la elevada probabilidad de tener una cepa productora de BLEEs, deberá recibir como esquema inicial, un carbapenémico (imipenem o meropenem) más amikacina, o una quinolona más amikacina, y posteriormente al tener el resultado, podría modificarse al mejor tratamiento disponible.

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Weber DJ, Rutala WA. Environmental issues and nosocomial infections. En: Wenzel RP ed. Prevention and control of nosocomial infections. 3<sup>rd</sup> ed. Williams and Wilkins. Baltimore, USA. 1997:491.
2. Díaz Ramos R, Solórzano-Santos F, Padilla-Barrón G, Miranda-Novales MG, González Robledo R, Trejo y Pérez JA. Infecciones nosocomiales. Experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. Salud Pública Mex 1999;41 suppl 1:S12-17.
3. Levy, I., Leibovici, L., Drucker, M. et al. 1996. A prospective study of Gram-negative bacteremia in children. *Pediatr Infect Dis J.* 15:117-22.
4. Arredondo, J.L., Díaz, R., Solórzano, F. et al. 1992. Neonatal Septicaemia due to *K. Pneumoniae*. Septicaemia due to *Klebsiella pneumoniae* in newborn infants. Nosocomial outbreak in an intensive care unit. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 34:11-16.
5. Singh, N., Patel, K., Léger, M.M. et al. 2002. Risk of resistant infections with Enterobacteriaceae in hospitalized neonates. *Pediatr Infect Dis J.* 21:1029-33.
6. Shannon, K., Stapleton, P., Xiang, X. et al. 1998. Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains Causing Nosocomial Outbreaks of infection in the United Kingdom. *J.Clin Microbiol.* 36:3105-3110.
7. Gregersen, N., Van Nierop, W., Von Gotterberg, A. et al. 1999. *Klebsiella pneumoniae* with extended spectrum beta-lactamase activity associated with a necrotizing enterocolitis outbreak. *Pediatr Infect Dis J.* 18:963-967
8. Rebuck, J., Olsen, K., Fey, P. et al. 2000. Characterization of an Outbreak Due to Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Pediatric Intensive Care Unit Transplant Population. *Clin. Infect. Dis.* 31:1368-72.
9. Royle, J., Halasz, S., Eagles, G., et al. 1999. Outbreak of extended spectrum beta lactamase producing *klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 80: F64-68.

10. Silva, J., Gatica, R., Aguilar, C. et al. 2001. Outbreak of Infection with Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Mexican Hospital. J. Clin. Microbiol. 39:3193-3196.
11. Meyer, K., Urban, C., Eagan, J. et al. 1993. Nosocomial Outbreak of *Klebsiella* Infection Resistant to Late-Generation Cephalosporins. Ann Intern Med. 119:353-358.
12. Rice, L., Willey, S., Papanicolaou, G. et al. 1990. Outbreak of Ceftazidime Resistance Caused by Extended-Spectrum B-Lactamases at Massachusetts Chronic-Care Facility. Antimicrob. Agents Chemother. 34:2193-2199.
13. Branger, C., Bruneau, B., Lesimple. et al. 1997. Epidemiological typing of extended-spectrum B-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates responsible for five outbreaks in a university hospital. J. Hosp Infect. 36:23-36.
14. D'Agata, E., Venkataraman, L., Degirolami, P. et al. 1998. The Molecular and Clinical Epidemiology of Enterobacteriaceae-producing Extended-spectrum B-lactamase in a Tertiary Care Hospital. J. Infection. 36:279-285.
15. Jacoby, G., Medeiros, A. 1991. More Extended-Spectrum B-Lactamases. 35:1697-1704.
16. Szabó, D., Filetoth, Z., Szentadrassy, J. et al. 1999. Molecular Epidemiology of a Cluster of Cases Due to *Klebsiella pneumoniae* Producing SHV-5 Extended-Spectrum B-Lactamase in the Premature Intensive Care Unit of a Hungarian Hospital. J. Clin. Microbiol. 37:4167-4169.
17. Yuan, M., Aucken, H., Hall, L. et al. 1998. Epidemiological typing of *Klebsiellae* with extended-spectrum B-lactamases from European intensive care units. J. Antimicrobial Chemotherapy. 41:527-539.
18. Monnet, D., Dpharm, P., Biddle, W. et al. 1997. Evidence of Interhospital Transmission of Extended-Spectrum B-Lactam-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States, 1986 to 1993. Infect Control Hosp Epidemiol. 18:492-498.

19. Schiappa, D., Hayden, M., Matushek, M. et al. 1996. Ceftazidime-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Bloodstream Infection: A Case-Control and Molecular Epidemiologic Investigation. *J. Infect. Dis.* 174:529-36.
20. Drusano, G. 1998. Infection in the Intensive Care Unit: B-Lactamase-Mediated Resistance Among Enterobacteriaceae and Optimal Antimicrobial Dosing. *Clin. Infect. Dis.* 27(Suppl 1):S111-6.
21. Silva, J., Aguilar, C., López-Antuñano, F., Garcia, R. 1999. Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Clinical Isolates of Enterobacteria in Mexico. *Microb Drug Resist.* 5:189-193.
22. Valenzuela Flores A. Estudio epidemiológico y molecular de un brote por *Klebsiella pneumoniae* multirresistente. Tesis de Maestría en Ciencias Médicas. UNAM, Septiembre 2001.
23. Miranda G, Castro N, Leaños B, Valenzuela A, Rojas T, Solórzano SF, Chihu L, Silva J. Clonal and horizontal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* expressing SHV-5 extended-spectrum b-lactamase (ESBL) in a mexican pediatric hospital. Aceptado para publicación *J Clin Microbiol.*
24. Alcántar-Curiel MD, Daza C, Tinoco JC, Morfín R, Solórzano F, Rodríguez E, Miranda G, Gayosso C, Santos JI, Alpuche AC. Alta frecuencia de *Klebsiella pneumoniae* nosocomiales productoras de b-lactamasas de espectro extendido (BLEEs) en instituciones mexicanas asociadas a diseminación clonal y horizontal de plásmidos conjugativos. Resumen presentado en el XI Congreso Panamericano de Infectología. Córdoba, Argentina. Mayo 2003.
25. Kim BN, Woo JH, Kim MN, Ryu J, Kim S. 2002 Clinical implications of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Hosp Infect* 52:99-106.
26. Decré, D., Gachot, B., Lucet, J. et al. 2001 Clinical and Bacteriologic Epidemiology of Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae* in a Medical Intensive Care Unit. *Clin. Infect. Dis.* 27:834-44.

27. Paterson, D., Ko, W., Von Gottberg, A. et al. 2001. Outcome of Cephalosporin Treatment for Serious Infections Due to Apparently Susceptible Organisms Producing Extended-Spectrum B-Lactamases: Implications for the Clinical Microbiology Laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 39:2206-2212.
28. Rice, L. 2001. Hospital-acquired infections: realities of risks and resistance. *Chest.* 119.
29. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 9<sup>th</sup> ed. Vol 17. No 1 Approved standard M2-A9. National Committee for Clinical Laboratory standards, Wayne, Pa.1999.
30. Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH, Kim J, Kim JH, Kin ECh. 2002. Bloodstream infections by extended-spectrum b-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agent Chemother* 46:1481-91.
31. Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M, Queenan AM, Lee N, Pegues DA, Quinn J, Bush K. 2002. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *C I D* 34:135-46.
32. Boyle RJ, Nigel C, Nigel K, Dip G, Garland S, Carapetis J. 2002 Clinical implications of inducible beta-lactamase activity in Gram-negative bacteremia in children. *Pediatr Infect Dis J* 21:935-9.